



HAL
open science

Étude intégrative des facteurs environnementaux, de la génétique et de l'épigénétique du patient atteint d'obésité avant et après la chirurgie bariatrique

Darlène Antoine

► To cite this version:

Darlène Antoine. Étude intégrative des facteurs environnementaux, de la génétique et de l'épigénétique du patient atteint d'obésité avant et après la chirurgie bariatrique. Sciences du Vivant [q-bio]. Université de Lorraine, 2020. Français. NNT : 2020LORR0199 . tel-03184544

HAL Id: tel-03184544

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-03184544v1>

Submitted on 29 Mar 2021

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.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

Thèse

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE LORRAINE

Mention : « Sciences de la Vie et de la Santé »

Par: **Darlene ANTOINE**

ÉTUDE INTEGRATIVE DES FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX, DE LA GÉNÉTIQUE ET DE L'ÉPIGÉNÉTIQUE DU PATIENT ATTEINT D'OBÉSITÉ AVANT ET APRÈS LA CHIRURGIE BARIATRIQUE

Le 4 Novembre 2020

COMPOSITION DU JURY

RAPPORTEURS

Frédéric FUMERON

MCF-HDR IMMEDIAB LAB-Centre de Recherche des Cordeliers-
INSERM UMRS1138, Université de Paris, FRANCE

Pr. Jean-Philippe BASTARD

PU-PH Faculté de Santé de Paris Est Créteil, Laboratoire de Biochimie
Hôpitaux Universitaires Henri-Mondor, Créteil, FRANCE

EXAMINATEURS

Pr. Karine CLEMENT

PU- PH Sorbonne Université, INSERM UMRS NutriOmics Hôpital
Pitié-Salpêtrière, Paris, FRANCE

Pr. Christine CLAVEL-CRAVOISIER

PU-PH Université de Reims, INSERM UMR-S 1250 Laboratoire de
Pathologie, Reims, FRANCE

Pr. Laurent BRUNAUD

PU-PH Université de Lorraine et CHRU Nancy, FRANCE

Pr. Jean-Louis GUEANT

PU-PH Directeur NGERE Université de Lorraine et CHRU, NGERE
1256, Nancy, FRANCE

Pr. David MEYRE

PU-PH Co-directeur de thèse Université de Lorraine et CHRU,
NGERE 1256 Nancy, FRANCE

Pr. Rosa-Maria-GUEANT-RODRIGUEZ

PU-PH Directrice de thèse Université de Lorraine et CHRU, NGERE
1256, Nancy France

PENSÉE

« À une époque de COVID-19 en tant que pandémie qui tue des milliers de gens dans le monde, n'oublions pas que l'obésité est aussi une pandémie qui a tué et tue encore des milliers de personnes à travers le monde. Les personnes atteintes d'obésité sont stigmatisées et jugées dans un monde qui ne semble pas pardonner à ceux qui osent avoir une apparence différente »

DÉDICACE

« À mon défunt papa qui me manque tellement »

REMERCIEMENTS

Comme toute relation qui se respecte, ma relation avec la France a duré trois bonnes années (rire), citant Frédéric Beigbeder (Romancier français qui a écrit “l’amour dure trois ans”, et moi j’ajouterais spécialement en temps de confinement(rire)

Cela ne faisait pas longtemps quand j’étais assise dans ma chambre à Ottawa et eus cette conversation Skype avec en premier Pr. Meyre, en deuxième avec le Professeur Guéant et Pr. Rodriguez, et en troisième avec le comité de thèse de l’Université de Lorraine que j’ai réalisé que la France allait être ma prochaine aventure. Et trois ans plus tard, je suis déjà à ce stade où je dois remercier tous ceux qui ont rendu possible cette aventure. Ceci étant dit, mes remerciements vont à :

- Pr. David MEYRE qui m’a offert cette opportunité de poursuivre mon doctorat à Nancy (France) quand je n’avais ni idée qu’une ville nommée Nancy existait sur la carte. Je veux aujourd’hui prendre le temps de vous dire merci.
- Prof. Jean-Louis GUEANT qui a m’a reçue dans son labo. Vous m’avez même hébergée chez votre défunt père à un moment où il faisait très froid et où il était presque impossible de trouver un appartement. Ce geste-là restera à jamais gravé dans mon cœur, et aussi je veux vous remercier pour toutes les fois que vous avez jugées bon de rencontrer tous les acteurs qui travaillaient sur le projet Aldepi/Obesepi afin de vous assurer que tout allait dans le bon sens. Je vous remercie « Grand Manitou »
- Pr. Rosa-Maria Rodriguez-GUEANT qui a toujours été là pour moi. Cette cohorte Aldepi/Obesepi nous a presque rendues folles, les suivis, les mises-à-jour et les ajouts, mais l’essentiel est que on ait survécu à tout cela. Je vous remercie pour votre présence et votre support. Señora, muchísimas gracias por todo.
- Pr. Laurent BRUNAUD qui est l’investigateur de la cohorte Aldepi/Obesepi, pour toutes les fois où je vous ai contacté pour une question particulière sur la cohorte, et vous avez pris le temps d’y répondre, je veux aujourd’hui vous dire merci.
- Jean-Claude CHEVRE avec qui j’ai appris plein de choses et qui m’a aidée en m’envoyant des articles pertinents sur mon projet à chaque fois qu’il en avait l’occasion, ton aide m’était très précieuse. J’espère que tu ne facebookeras ni n’instragrammeras les photos où « j’étais en train de prendre une sieste après le déjeuner et où à chaque fois que tu m’avais eu la main dans le sac ou plutôt les yeux fermés en profond sommeil, je te jurais que je ne dormais pas » (rire), dans ce cas je serai avilie, honte à moi(rire). Merci pour tout mon JC.
- Abderrahim OUSSALAH qui a beaucoup aidé sur les travaux sur le méthylome. Un grand merci à vous de m’avoir donné de votre temps.

- Mes deux examinateurs (Prs. Bertin et Bresler), qui ont pris de leur temps pour lire mes rapports pendant ces trois années. Merci à vous deux.
- Catherine BUI, qui était présente au tout début du projet, tu m'as aidée à naviguer dans le système français pour quelqu'un qui venait tout juste d'arriver et qui était perdue. Tes conseils étaient vraiment utiles. Merci ma Catherine.
- Viola KOSGEI, notre aventure doctorale a pris fin. Pour tous les moments qu'on a partagés ensemble tels par exemple : aller faire nos emplettes les vendredis après le labo, aller boire un coup au centre-ville, et même aller au cinéma voir RAFIKI (ce film basé sur un couple homosexuel qui a fait trembler le Kenya de KENYATTA). Merci pour la compagnie pendant ces trois années.
- Mickael BIACCHI, mon parcours de thèse en France spécialement le temps que j'ai passé dans ton ancien bureau à l'hôpital a été des plus agréables. Le courant amical est passé tout de suite entre nous à cause de ta gentillesse. Pour tous les bavardages et rigolades, je veux te dire merci. Ton ancien bureau était une vraie glacière, mais comme je te l'ai dit une fois : « Ce qui ne te tue pas, te permet de faire une thèse ». Merci bonhomme.
- Céline CHERY et Pierre ROUYER qui m'ont aidée à me mettre dans le bain pour les manips sur l'exome et le méthylome. Merci à vous deux.
- Sandra LOMAZZI et toutes les techniciennes du CRB (Centre de Ressources biologiques), qui étaient toujours disponibles pour préparer les échantillons biologiques afin que je puisse les avoir à temps et réaliser mes manips. Vous êtes certes les travailleuses de l'ombre, rien que pour cela vous méritez mes remerciements les plus sincères, sans votre travail, il aurait été impossible de mener à terme ce projet. Merci beaucoup les filles !
- Sébastien HERGALANT, qui m'a aidée avec mon ancien ordi, et qui a aussi aidé sur l'étude génétique avec R. Merci beaucoup.
- Philippe GERARD, avec qui j'ai appris à quantifier la vitamine B12, B9 et l'insuline. J'ai eu beaucoup de plaisir à travailler avec vous. La rigolade était gratuite en votre compagnie. En passant n'oubliez pas que mon standard était meilleur que le vôtre (rire). Merci Monsieur.
- Élise, Mat'em, Thomas, et Manu. Mes bavardages avec vous à l'heure du déjeuner à l'hôpital étaient des plus agréables. Merci les copains.
- Renée DEBARD, tu m'as appris à extraire l'ADN du sang et l'étiquetage des échantillons spécialement quand on travaille sur les échantillons humains. Votre

patience et votre absence de jugement (compassion) à mon égard m'a fait sentir entre de bonnes mains. Je ne puis que te remercier. Merci beaucoup ma belle Renée.

- Aurélie et Laurence qui travaillent au « Département néonatal », vous étiez toujours prêtes à partager votre bureau avec moi sans jamais vous plaindre quand j'avais besoin d'extraire de l'ADN. Je ne vous oublierai pas. Un grand merci les filles. !
- Nadine FONTAINE, pour le nombre de fois incalculable où vous aviez partagé votre bureau avec moi à l'hôpital afin que je puisse extraire des données dans DxCare. Merci beaucoup.
- Au personnel du secrétariat (Dominique GUILLAUME, Frédérique DESCHAMPS, Catherine TAVERA et Aline CAZÉ) pour toutes les fois où vous avez pris en charge mes déplacements à l'étranger, vous avez fait ça avec une telle rapidité et efficacité qui m'ont toujours impressionnée. Merci du fond du cœur.
- Thierry FONTAINE qui m'a toujours offert son aide pour le transport des échantillons depuis le CRB jusqu'au labo. J'ai toujours refusé parce que je jugeais que c'était mon travail et pas le sien. Merci à toi mon Thierry pour toutes les fois qu'on ait pris le déjeuner ensemble et parlé boutique et politique.
- Au personnel du RU, après avoir passé trois ans à me rendre là-bas, je peux aujourd'hui dire que je connais chacun de vous, j'ai même osé évaluer le chef concernant les repas, surtout quand c'était très bon (rire). J'avais faim pendant trois ans et vous m'avez donné à manger. Vous méritez tout mon respect et mon appréciation.
- Le dernier mais pas le moindre dans cette catégorie" L'Université Lorraine d'Excellence" qui a financé ce projet et moi-même, sans cette bourse il aurait été impossible la réalisation de ces travaux. Mille mercis !

A mes parents, mes sœurs, mes nièces et neveux, et mes amis

- À mon défunt père qui m'a appris les valeurs les plus précieuses qui puissent servir de repères à tout individu telles que : le respect de soi et le respect des autres, la dignité, la loyauté, la persévérance, la générosité, la gratitude, et l'amitié désintéressée, j'aurais aimé que tu sois encore parmi nous, mais j'ai longtemps accepté le fait que tu comptes aujourd'hui parmi les anges qui veillent sur moi. Je ne te remercierai jamais assez pour toutes ces bonnes valeurs que tu m'as inculquées, sans elles ma vie aujourd'hui aurait été pauvre, triste et vide de sens. Merci Pa !
- À ma chère mère qui prie sans cesse pour moi. Je veux que tu saches que mon amour pour toi est infini, et je sais qu'une de tes prières est que je puisse mettre fin à mes folles aventures. Chaque fois que je te parle, tu trouves toujours une manière subtile

de me dire qu'il est pour moi temps de rentrer. Je ne veux rien te promettre, mais si je puis être sûre d'une chose (puisque'on n'est jamais sûr de rien dans la vie) : c'est que cette aventure est la dernière. Je t'aime beaucoup Man !

- À mes alliées les plus fidèles (Ger et Flau), c'est aujourd'hui incalculable le nombre de fois que vous m'avez appelée pendant mon séjour en France. Vous avez rendu cette aventure plus amusante et moins stressante. Je vous parle tellement souvent que beaucoup de fois, j'oublie même que vous êtes de l'autre côté de l'Atlantique. Quelqu'un a écrit que « nous existons parce que quelqu'un quelque part dans le monde pense à nous » Vous m'avez fait sentir exister. Je vous remercie et vous adore.
- À mes autres alliées qui étaient présentes mais pas autant que les deux premières (Souze, Kline et Doddy), je suis désolée mais je dois être juste (ce qui apprendra à Kline à ne pas m'appeler quand elle revenait du bureau et que moi j'étais sur le point de m'endormir à cause du décalage horaire, rire). Vous êtes les plus beaux cadeaux que la vie m'a donnés. Plus je vieillis, plus je me rends compte que mes parents n'étaient pas bêtes en vous me donnant comme sœurs et compagnes dans la vie. On dit souvent que le meilleur cadeau qu'un parent puisse faire à son enfant, c'est de lui donner des frères et sœurs, cela ne pouvait pas être plus vrai. Je vous aime et vous adore toutes sans aucune différence.
- À mes nièces et neveux : Bo, Ky, Be, Machu, Ges, Lay et Ic. Je me suis régalé les dernières vacances que j'ai passées en votre compagnie. Je vous aime grand.
- À mes amis les plus fidèles à travers le monde, Carm, Anita, Cesinha, Alvarito et Yuly, Marc, Jackie, Dona Ana, et Liu, un grand merci pour votre amitié, votre support et pour tous vos appels. Anita, espero verte pronto. Te amo y te extraño amigona.

Darlene Antoine

Université Lorraine
Nancy, France

Ce texte a été écrit à Nancy pendant le confinement (Avril 2020) et traduit en français le
27 août 2020
Août 2020

COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

ARTICLES DE RECHERCHE ORIGINAUX :

1. Darlene, Antoine¹, Zhen LI, Laurent BRUNDAUD^{1,2}, Didier QUILLIOT^{1,3,4}, Anne-Aude SIRVEAUX^{3,4}, David MEYRE¹, Laurent BRUNAUD^{1,2,4}, Jean-Louis GUEANT^{1,5*}, Rosa-Maria Rodriguez-GUEANT^{1,3*}: Medium-term post bariatric surgery deficit of vitamin B12 predicted by deficit time of surgery. *Clinical Nutrition*. June 2020.
2. Darlène Antoine^{1,2}, Rosa-Maria Guéant-Rodriguez^{1,2,*}, Jean-Claude Chèvre^{1,2}, Sébastien Hergalant^{1,2}, Tanmay Sharma³, Zhen Li^{1,2,4}, Pierre Rouyer^{1,2}, Céline Chery^{1,2}, Catherine Bui^{1,2}, Abderrahim Oussalah^{1,2}, Marie-Aude Sirveaux^{1,2,4}, Nicolas Reibel^{1,2,4}, Didier Quilliot^{1,2,4}, Emmanuelle Génin⁵, Laurent Brunaud^{1,2,4}, Jean-Louis Guéant^{1,2}, David Meyre^{1,2,3,6,*}: Rare coding variants associated with body-mass index impact outcomes of bariatric surgery in patients with morbid obesity. *To be submitted to the Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. January 2021.

RÉSUMÉ PUBLIÉ

1. Darlene Antoine, Rosa-Maria Rodriguez- Guéant, Jean-Claude Chèvre, Laurent Brunaud, Jean-Louis Guéant, David Meyre: Genomics of the obese patient before and after bariatric surgery. *Obesity Facts Journal*. Volume 12, Supplement 1. 28 April-01 May 2019. Abstract PO2.063.

COMMENTAIRES PUBLIÉS

1. Jean-Claude Chèvre, Darlene Antoine, Vivian Tam, Laurent Brunaud, Rosa-Maria Rodriguez-Guéant, Jean-Louis Guéant, David Meyre: E- Letter " Comment on: Kleinendorst et al. Genetic obesity: next-generation sequencing results of 1230 patients with obesity. *J Med Genet* 2018 Sep;55(9):578-586."

COMMUNICATIONS AFFICHÉES :

1. Darlene Antoine, Rosa-Maria Rodriguez-Guéant, David Meyre, Jean-Louis Guéant: Integrative study of environmental factors, genomics, epigenomics of the obese patient before and after bariatric surgery. Journee of Lorraine University of Excellence. October 2017. NANCY
2. Darlene Antoine, Rosa-Maria Rodriguez- Guéant, Jean-Claude Chèvre, Laurent Brunaud, Jean-Louis Guéant David Meyre: Genomics of the obese patient before and after bariatric surgery. 26th European Congress on Obesity, Glasgow, SCOTLAND. April 2019

3. Darlene Antoine, Rosa-Maria Rodriguez- Guéant, Jean-Claude Chevre, Laurent Brunaud, Jean-Louis Guéant, David Meyre: Coding variants associated with obesity-related body mass index and lifestyle interventions. EASO New Investigators United Autumn School. Hot Topics in Obesity. Naples, ITALY. September 2019.

PRÉSENTATIONS ORALES :

1. Darlene Antoine, Rosa-Maria Rodriguez- Guéant, Jean-Claude Chèvre, Laurent Brunaud, Jean-Louis Guéant, David Meyre: Nutritional predictors, epigenomics and genomics of morbid obesity. Common Workshop FHU ARRIMAGE-FHU CARTAGE in collaboration with IMPACT GEENAGE. April 2018. Brabois, NANCY.
2. Darlene Antoine, Rosa-Maria Rodriguez- Guéant, Jean-Claude Chevre, Laurent Brunaud, Jean-Louis Guéant, David Meyre: Genomics of the obese patient before and after bariatric surgery. Scientific day of BIOSE Doctorate School. March 2019. Brabois, NANCY
3. Darlene Antoine, Rosa-Maria Rodriguez- Guéant, Jean-Claude Chèvre, Laurent Brunaud, Jean-Louis Guéant, David Meyre: Genomics of the obese patient before and after bariatric surgery. 18th International Conference on Obesity Diet and Nutrition, and the 2nd World Obesity and Diabetes Care Congress. May 2019. Paris, FRANCE.

FINANCEMENT OBTENU:

J'ai reçu une bourse du projet PIA français « Université Lorraine d'Excellence » pour mener à bien ce travail.

ABRÉVIATIONS

ADCY3	Adenyl cyclase 3
ADNm	ADN méthylé
ALAT	Alanine Aminotransférase
ALDEPI	Adiposité Lipide Dystrophie Épidémiologie
ARC	Noyau arqué
ARN	Acide ribonucléique
ASAT	Aspartate Aminotransférase
CB	Chirurgie Bariatrique
CDCV	Maladie Commune Variant Commun
CDRV	Maladie Commune Variant Rare
CpG	Cytosine phosphate Guanine
CQ	Contrôle Qualité
DBP-SD	Diversion Biliopancréatique avec Switch Duodéal
DE	Dépense Énergétique
DOHaD	Origine Développementale de la Santé et des Maladies
DT2	Diabète de Type 2
EHW	Équilibre de Hardy Weinberg
EL	Équilibre de Liaison
EWAS	Étude d'Association Épigénomique
GM	Gastrectomie à Manches
GWAS	Étude d'Association Pangénomique
HDL	Lipoprotéine à Haute Densité
HOMA-IR	Index de HOMA d'Insulino-Résistance
HTA	Hypertension Artérielle
IMC	Indice de Masse Corporelle
KSR2	Gène Suppresseur de la Kinase Ras 2
LDL	Lipoprotéine de Haute Densité
LEP	Leptine
LEPR	Récepteur de Leptine
MAF	Fréquence des Allèles Mineurs
MC3R	Récepteur 3 Mélanocortine
MC4R	Récepteur 4 Mélanocortine
MCV	Maladie Cardiovasculaire
MRAP2	Accessoire du Récepteur 2 de la Mélanocortine
MVB	Maladie de la Vésicule Biliaire
NASH	Stéatohépatite non-alcoolique
NYY	Neuropeptide Y
OBESEPI	Obésité Sévère et Épigénétique
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PCSK1	Gène de la Prohormone Convertase 1
POMC	Pro-Opiomélanocortine
PYY	Peptide YY
RTH	Rapport Taille Hanches
RYGB	Roux en Y Gastrique Bypass
SAH	S-Adenosyl Homocysteine

SAM	S-Adenosyl Methionine
SAOS	Syndrome d'Apnée Obstructive du Sommeil
SG	Score Génétique
SM	Syndrome Métabolique
SNC	Système Nerveux Central
SNP	Polymorphisme Nucléotidique
SRG	Score de Risque Génétique
TT	Tour de Taille

GLOSSAIRE

- **Allèle** : Une des formes différentes que peut prendre un même gène occupant la même position (locus) sur un chromosome.
- **Architecture génétique** : La base génétique sous-jacente d'un trait ou d'une maladie. Elle combine le nombre, le type, la fréquence, la relation entre l'ampleur et l'effet de la variation génétique qui contribue à un trait.
- **Association** : Concept utilisé dans la recherche pour comparer une relation entre deux variables aléatoires afin de montrer une dépendance statistique entre les deux. Cette relation n'est pas nécessairement connue pour être causale
- **Bilan énergétique** : Fait référence à la relation entre l'apport (consommation) de nourriture et le rendement du travail (dépendance énergétique).
- **Corrélation** : La mesure est utilisée pour montrer la force d'une relation entre deux variables. Il existe deux types de coefficients de corrélation qui sont le coefficient de corrélation de Pearson et le coefficient de corrélation de Spearman. Le coefficient de corrélation est défini comme le degré de changement d'une variable basé sur le changement de l'autre variable.
- **Co-ségrégation** : La co-ségrégation entre une mutation et une maladie se caractérise par l'ensemble de 2 gènes ou plus situés sur les mêmes chromosomes. En conséquence, ces gènes peuvent être trouvés dans une très proche proximité physique les uns des autres (c'est-à-dire liés).
- **Déséquilibre de liaison** : Dans les études génétiques, le déséquilibre de liaison est un concept important dont le but est d'identifier et /ou localiser les variants génétiques associés à la susceptibilité d'une maladie. Il est couramment utilisé pour indiquer que deux variants génétiques sont physiquement liés, cependant, la définition stricte de ce concept ne spécifie pas de lien génétique étroit. En tant que définition pratique, le déséquilibre de liaison est la différence entre la fréquence observée d'une combinaison spécifique d'allèles à deux locus et la fréquence attendue pour l'association aléatoire.
- **Empreinte génétique** : Est défini par l'expression de l'allèle paternel ou maternel.
- **Épigénome** : Regroupe un grand nombre de composés chimiques qui influencent le génome. Ces composés chimiques et protéines sont attachés directement à l'ADN, ce qui peut activer ou désactiver des gènes, en contrôlant la production de protéines dans ces cellules particulières
- **Fréquence allélique** : Le nombre de copies d'un allèle dans une population donnée qui peut être exprimé en proportion de la somme des copies de tous les allèles à un locus de cette population donnée.

- **Fréquence des allèles mineurs** : Désigne la deuxième valeur d'allèle la plus fréquente dans une population donnée. En d'autres termes, si 2 allèles sont représentés, avec des valeurs de fréquence de 0.51 et 0.49, le MAF dans ce cas sera rapporté comme 0.49. Les SNP avec une fréquence allélique mineure (MAF) $\geq 5\%$ ont été ciblés par le projet HapMap.
- **Génome** : L'assemblage complet d'ADN qui est d'environ 3 milliards de paires de bases-qui fait l'originalité d'un individu. L'ADN contient les instructions pour la construction de protéines qui peuvent plus tard jouer un rôle clé dans diverses fonctions d'une cellule, en d'autres termes le support du génome est l'ADN, sauf chez certains virus où il s'agit d'ARN.
- **Héritabilité** : Proportion de variation d'un trait qui peut être expliquée par des déterminants génétiques. Elle se réfère également à une mesure de la façon dont les différences dans les gènes des personnes peuvent expliquer les différences dans leur trait. En d'autres termes, l'héritabilité est un concept statistique représenté par H^2 ou h^2 . L'héritabilité au sens large, notée H^2 : représente la part de la variance phénotypique d'origine génétique, et l'héritabilité au sens strict, notée : h^2 est caractérisée par la proportion de la variation du phénotype due à la variabilité d'origine génétique additive. Les estimations d'héritabilité vont de zéro à un. Une héritabilité proche de zéro indique que la génétique n'a rien à voir avec le trait. Une héritabilité proche de 1 indique que la quasi-totalité de la variabilité d'un caractère est due à la génétique, avec peu de contribution des facteurs environnementaux.
- **Incidence** : En épidémiologie, l'incidence fait référence au taux d'apparition de nouveaux cas de maladie, de blessure ou d'autres conditions médicales sur une période donnée, qui est normalement calculé comme un taux ou une proportion. En recherche, elle permet de déterminer les facteurs de risque d'une maladie ou d'une condition médicale.
- **Pénétrance** : Fait référence à la proportion de personnes dans une population donnée qui portent un génotype spécifique et expriment le trait associé. Par conséquent, la pénétrance est une mesure de la relation entre un génotype et un phénotype.
- **Prévalence** : Mesure la proportion d'une maladie ou d'un état présent dans une population donnée à un moment donné. Contrairement à l'incidence, la prévalence comprend à la fois les cas nouveaux et existants. Cette combinaison de nouveaux cas et de cas survivants ne permet pas de savoir si les facteurs de risque sont les causes des cas nouveaux et survivants.
- **Variant codant** : Variant fonctionnel ou régulateur qui peut perturber les fonctions des gènes ou des protéines en agissant *via* des mécanismes complexes d'activation

cis ou *trans*, qui peuvent également influencer l'expression et les fonctions d'autres mutations codantes synonymes, non-synonymes, stop, etc, par exemple toutes les mutations codantes ne sont pas nécessairement fonctionnelles (ex. synonymes)

- **Variant peu fréquent** : Variant génétique qui contribue individuellement le plus souvent à des effets petits-intermédiaires, dont la plupart sont capturés par génotypage et éventuellement par imputation à l'échelle du génome. Variants génétiques à faible fréquence dans le génome humain. Environ 12 millions de SNP ont une faible variation de fréquence, avec un MAF $\geq 0,5\%$ et $<5\%$.
- **Variant rare** : Variant génétique qui peut altérer la fonction du gène, qui se produit à faible fréquence dans une population donnée. Des variants rares sont connus pour jouer un rôle clé dans les maladies complexes et certaines conditions mendéliennes. Les variants rares ont un MAF $<0,5\%$.
- **Polymorphisme nucléotidique unique (SNP)** : Le type le plus courant de variations génétiques dans le génome humain. Dans un seul bloc de construction d'ADN - adénine (A), guanine (G), thymine (T) ou cytosine (C), chaque SNP représente une différence qui est appelée un nucléotide. Par exemple, un SNP est la substitution d'un C par un G dans la séquence nucléotidique AACGAT, qui produit la séquence AACCAT. Les SNP représentent environ 4 à 5 millions de variations dans le génome d'une personne. Plus de 100 millions de SNP se trouvent dans les populations du monde entier.

TABLE DES MATIÈRES

PENSÉE.....	I
DÉDICACE.....	III
REMERCIEMENTS	V
COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES.....	X
ABRÉVIATIONS.....	XIII
GLOSSAIRE	XVI
LISTE DES FIGURES.....	XXVI
LISTE DES TABLES	XXVII
ABSTRACT	XXVIII
RÉSUMÉ	XXXI
CHAPITRE I.....	1
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
OBESITE (L'ETAT DES LIEUX)	2
1. L'OBESITE ET SES DIFFERENTS ASPECTS.....	3
1.2. ASPECTS CLINIQUES	11
1.3. ASPECTS EPIDEMIOLOGIQUES.....	13
1.4. ASPECTS PHYSIOPATHOLOGIQUES DE L'OBESITE.....	20
1.4.1. VOIE CENTRALE IMPLIQUEE DANS LA REGULATION DE L'APPETIT	20
1.4.2. ASPECTS MECANISTIQUES DES CAUSES GENETIQUES LIEES A LA PATHOGENESE DE L'OBESITE VIA LA VOIE DE LA LEPTINE	24
CHAPITRE II.	28
REVUE DE LA LITTÉRATURE	28

LES OPTIONS THERAPEUTIQUES DE L'OBESITE (TRAITEMENTS MEDICAUX ET CHIRURGIE BARIATRIQUE)..... 30

2. TRAITEMENTS MEDICAUX ET CHIRURGICAUX : OPTIONS THERAPEUTIQUES DE L'OBESITE 31

2.1. TRAITEMENTS MEDICAUX DE L'OBESITE..... 31

2.1.1. RÉGIME 31

2.1.2. EXERCICE 32

2.1.3. THERAPIE COMPORTEMENTALE 33

2.2. PROCEDURES CHIRURGICALES DE L'OBESITE..... 34

2.2.1. BYPASS GASTRIQUE AVEC ANSE DE ROUX-EN-Y (RYGB) 35

2.2.2. GASTRECTOMIE À MANCHES (GM) 36

2.3. LES EFFETS DE LA CHIRURGIE BARIATRIQUE..... 39

2.3.1. LES EFFETS A LONG-TERME DE LA CHIRURGIE BARIATRIQUE..... 39

2.3.2. ÉCHEC ET SUCCES DE LA PERTE DE POIDS APRES CB 39

2.3.3. ASPECTS METABOLIQUES DE LA CB 40

2.3.4. TENDANCE DE LA PREVALENCE DE LA CB..... 41

2.4. SECURITE DES PROCEDURES DE CHIRURGIE BARIATRIQUE (CB) 42

2.5. POST- CHIRURGIE ET PROBLEMES NUTRITIONNELS A LONG TERME 43

2.5.1. CARENCES NUTRITIONNELLES EN MACRO ET MICRONUTRIMENTS ET COMPLICATIONS POSTOPERATOIRES 43

2.5.2. PROBLEMES DE SANTE NUTRITIONNELLE APRES CB..... 46

L'OBESITE EST-ELLE HEREDITAIRE? QUELS ROLES JOUENT LA GENETIQUE ET L'EPIGENETIQUE DANS L'OBESITE ?..... 56

2.6. ASPECTS GENETIQUES DE L'OBESITE 57

2.6.1. L'OBESITE EST UNE MALADIE HEREDITAIRE 57

2.6.2. OBESITE MENDELIENNE OU MONOGENIQUE 58

2.6.3. OBESITE POLYGENIQUE 61

2.7. APPROCHES DE LA GENETIQUE DE L'OBESITE AVANT LES GWAS 62

2.7.1. ÉTUDE D'ASSOCIATION DE GENE CANDIDAT 62

2.7.2. ÉTUDE DE LIAISON GENETIQUE 62

2.7.3. CARTOGRAPHIE GENETIQUE DES POPULATIONS METISSEES 63

2.8. ÈRE DE L'ETUDE D'ASSOCIATION PANGENOMIQUE OU GWAS 64

2.9. GENETIQUE DE L'IMC 67

2.9.1. HERITABILITE DE L'IMC 67

2.9.2. GWAS POUR L'IMC 68

2.10. INTERACTION GENE PAR ENVIRONNEMENT (GxE) 71

2.11. ASSOCIATION PANGENOMIQUE DE LA PERTE DE POIDS APRES UNE CHIRURGIE BARIATRIQUE 72

2.11.1. DETERMINANTS GENETIQUES DE LA PERTE DE POIDS APRES CB 72

2.11.2. SCORE DE RISQUE POLYGENIQUE (SRP) POUR LA PERTE DE POIDS APRES CB..... 73

2.12. ASPECTS EPIGENETIQUES DE L'OBESITE..... 75

2.12.1. L'OBESITE EST UNE MALADIE EPIGENETIQUE..... 75

2.12.2. L'HYPOTHESE DE BARKER 76

2.13.	ÉTUDES DE METHYLATION DE L'ADN PRE-ETUDES D'ASSOCIATION A L'ECHELLE DE L'EPIGENOME (EWAS)	77
2.14.	ÉTUDE D'ASSOCIATION A L'ECHELLE DE L'EPIGENOME (EWAS)	78
2.14.1.	APPROCHE EWAS	78
2.14.2.	ASSOCIATION A L'ECHELLE DE L'EPIGENOME DES TRAITS D'OBESITE	80
2.14.3.	ASSOCIATION A L'ECHELLE DE L'EPIGENOME DE L'OBESITE DE LA METHYLATION DE L'ADN AVEC LE VIEILLISSEMENT	81
MOTIVATION ET OBJECTIFS DE L'ÉTUDE		83
2.15.	OBJECTIFS DE LA PRESENTE ETUDE	84
CHAPITRE III.		87
MATÉRIELS ET MÉTHODES		87
3.	MATERIELS ET METHODES	89
3.1.	POPULATION ETUDIEE	89
3.2.	CRITERES DU RECRUTEMENT	89
3.2.1.	CRITERES D'INCLUSION	90
3.2.2.	CRITERES D'EXCLUSION	90
3.3.	TYPE DE CHIRURGIE	90
3.4.	DONNEES	91
3.4.1.	COLLECTE DE DONNEES BIOLOGIQUES	92
3.4.2.	COLLECTE DE DONNEES CLINICO-BIOLOGIQUES	92
3.5.	GESTION DE DONNEES	92
3.5.1.	TRAITEMENT DE L'INFORMATION	92
3.6.	MESURES ET INSTRUMENTS	93
3.6.1.	MESURES ANTHROPOMETRIQUES	93
3.6.2.	MESURES BIOCHIMIQUES	94
3.7.	PROGRAMME DE MODIFICATION DU MODE DE VIE AVANT LA CHIRURGIE	95
3.8.	SUIVI	97
3.9.	ANALYSES STATISTIQUES DE LA PREMIERE ETUDE	98
3.10.	METHODES UTILISEES POUR LES ETUDES GENOMIQUES	99
3.10.1.	RESEAU DE PUCES A BILLES ILLUMINA HUMANEXOME	100
3.11.	GENOTYPAGE ET PROCEDURE DE CONTROLE QUALITE DE LA PUCE A ADN EXOME HUMAIN ILLUMINA	102
3.11.1.	SELECTION D'ÉCHANTILLON	102
3.11.2.	EXTRACTION D'ADN DU SANG	102
3.11.3.	GENOTYPAGE DES MICRO-PUCES HUMANEXOME	103
3.12.	PRESENTATION DU CONTROLE QUALITE DE L'EXOME ARRAY	103
3.12.1.	SECTION I	103
3.12.2.	SECTION II	106
3.13.	ÉCHANTILLONS POUR LE CONTROLE QUALITE (CQ)	108
3.13.1.	TAUX D'APPEL	111

3.13.2.	FREQUENCE D'APPEL.....	111
3.13.3.	VERIFICATION DU SEXE	111
3.13.4.	EXCLUSION DES PERSONNES D'ASCENDANCE NON EUROPEENNE	114
3.13.5.	LIEN DE PARENTE.....	116
3.13.6.	COHERENCE DU GENOTYPAGE.....	116
3.13.7.	ÉQUILIBRE DE HARDY-WEINBERG (EHW).....	117
3.13.8.	MARQUEURS NON AUTOSOMIQUES	118
3.14.	RESUME DES RESULTATS DU CQ	118
3.14.1.	RESULTATS POUR LE TAUX D'APPEL ET LA FREQUENCE D'APPEL	118
3.14.2.	FREQUENCES D'ALLELES MINEURS ET RESULTATS	120
3.14.3.	RESULTATS DE COHERENCE DU GENOTYPAGE : SEXE, ORIGINE GEOGRAPHIQUE, PARENTE 120	
3.14.4.	EFFETS PAR LOTS	123
3.15.	JEU DE DONNEES POST CQ (STRATEGIE DE SELECTION DES SNP)	123
3.15.1.	SELECTION DES VARIANTES (VARIANTES RARES).....	123
3.15.2.	CARACTERISATION FONCTIONNELLE DES SNP CODANTS.....	123
3.16.	CALCULS DU SCORE DE RISQUE POLYGENIQUE (SRP).....	124
3.17.	ANALYSES STATISTIQUES.....	125
3.18.	MECANISME DE METHYLATION L'ADN (ÉTUDE EPIGENOMIQUE)	127
3.18.1	SITES CPG	129
3.18.2.	METHODE UTILISEE POUR MESURER LA METHYLATION	129
3.19.	MATRICE ILLUMINA HUMANMETHYLATION450K.....	130
3.19.1.	PRESENTATION DE LA MATRICE DE PUCE BEADCHIP HUMANMETHYLATION450	130
3.19.2.	SELECTION D'ÉCHANTILLON	132
3.19.3.	EXTRACTION D'ADN	132
3.19.4.	QUANTIFICATION DES NIVEAUX DE METHYLATION (CONVERSION DU BISULFITE) 133	
3.20.	SONDES DE TYPE I ET DE TYPE II	135
3.21.	VALEUR BETA POUR LA DISTRIBUTION DE LA METHYLATION DE L'ADN.....	137
3.22.	CONTROLE DE QUALITE DES DONNEES	137
3.23.	DENSITE DE DISTRIBUTION DE LA VALEUR B.....	140
3.24.	NORMALISATION DES ENSEMBLES DE DONNEES PAR « NORMALISATION DES QUANTILES DE SOUS-ENSEMBLES DANS LE TABLEAU (SWAN)	143
3.25.	ANALYSES STATISTIQUES	143
CHAPITRE IV.....		145
RÉSULTATS.....		145
CONTEXTE DE L'ETUDE I : PREDICTEURS D'UNE CARENCE EN VITAMINE B12 APRES UNE CHIRURGIE BARIATRIQUE.....		
		147
4. PRÉDICTEURS D'UNE CARENCE EN VITAMINE B12 APRES UNE CHIRURGIE BARIATRIQUE.....		
		151
4.1.	CARACTERISTIQUES DES PARTICIPANTS A LA CHIRURGIE	151

4.2. COMPARAISON DU STATUT EN VITAMINE B12 ET D'AUTRES MICRONUTRIMENTS APRES L'OPERATION	152
4.3. PREDICTEURS AU MOMENT DE LA CHIRURGIE DE L'AGGRAVATION DU STATUT EN VITAMINE B12 APRES L'OPERATION	154
CONTEXTE DE L'ETUDE II : IMPACT DE VARIANTS CODANTS RARES ET PEU FREQUENTS ASSOCIES A L'INDICE DE MASSE CORPORELLE SUR LA REPONSE A LA CHIRURGIE BARIATRIQUE CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS D'OBESITE MORBIDE.....	163
.....	167
<u>4. IMPACTS DE VARIANTS CODANTS RARES ET PEU FREQUENTS ASSOCIES A L'INDICE DE MASSE CORPORELLE SUR LA REPONSE A LA CHIRURGIE BARIATRIQUE CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS D'OBESITE MORBIDE.....</u>	168
4.4. CARACTERISTIQUES DES ETUDES FREX ET OBESEPI	168
4.5. PREVALENCE DES VARIANTS CODANTS RARES/PEU FREQUENTS ASSOCIES A L'IMC DANS LES COHORTES FREX ET OBESEPI	170
4.6. VARIANTS CODANTS RARES/PEU FREQUENTS ASSOCIES A L'IMC EN POPULATION GENERALE ET VARIATION DE L'IMC LORS DE LA VISITE PREOPERATOIRE DANS LA COHORTE OBESEPI	171
4.7. VARIANTS CODANTS RARES/ PEU FREQUENTS ASSOCIES A L'IMC EN POPULATION GENERALE ET EN REPONSE A DES MODIFICATIONS DU MODE DE VIE/COMPORTEMENTALES DANS L'ETUDE OBESEPI	171
4.8. VARIANTS CODANTS RARES /PEU FREQUENTS ASSOCIES A L'IMC EN POPULATION GENERALE ET EN REPONSE A LA CHIRURGIE BARIATRIQUE DANS LA COHORTE OBESEPI. CONTEXTE DE L'ETUDE III : ANALYSE A L'ECHELLE DU GENOME DE LA METHYLATION DE L'ADN DANS LE FOIE ET LE TISSU ADIPEUX VISCERAL, AINSI QUE DANS LE SANG TOTAL DANS LA COHORTE OBESEPI	176
<u>4. ANALYSE A L'ECHELLE DU GENOME DE LA METHYLATION DE L'ADN DANS LE FOIE ET LE TISSU ADIPEUX VISCERAL, AINSI QUE DANS LE SANG TOTAL DANS LA COHORTE OBESEPI</u>	180
4.9. CARACTERISTIQUES DE L'ENSEMBLE DES ECHANTILLONS INCLUS DANS CETTE ETUDE	180
4.10. ANALYSE A L'ECHELLE DU GENOME DE LA METHYLATION GLOBALE DE L'ADN DANS LES ECHANTILLONS SANGUINS (CAS/CONTROLES).....	180
4.11. ANALYSE D'ENRICHISSEMENT D'ONTOLOGIE GENETIQUE A L'AIDE DES GENES TROUVES DANS L'ANALYSE PAN-GENOMIQUE DU SANG TOTAL	181
4.12. COMPARAISON A L'ECHELLE DU GENOME AVEC DES ENSEMBLES DE DONNEES INDEPENDANTS SUR LE METHYLOME PROVENANT D'ECHANTILLONS DE FOIE ET DE TISSU ADIPEUX VISCERAL.....	182
<u>CHAPITRE V.....</u>	209
<u>DISCUSSIONS SUR LES TROIS ÉTUDES.....</u>	209

5. DISCUSSION.....	210
5.1. CARENCE EN VITAMINE B12 SUITE A UNE CHIRURGIE BARIATRIQUE.....	210
5.2. VARIANTS CODANTS RARES/PEU FREQUENTS ET REPOSE A LA CHIRURGIE BARIATRIQUE	215
5.3. COMPARAISON DES PROFILS DE METHYLATION DE L'ADN.....	220
CHAPITRE VI	226
DISCUSSION GÉNÉRALE.....	226
CHAPITRE VII.	230
ARTICLES.....	230
ARTICLE I.....	231
ARTICLE II.....	239
CHAPITRE VIII.....	275
CONCLUSIONS & PERSPECTIVES	275
CONCLUSIONS	276
PERSPECTIVES	281
BIBLIOGRAPHIE	286
APPENDICE.....	308
CONTRIBUTION DES COLLABORATEURS	325
DÉCLARATION	326

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Venus de Willendorf 30.000 ac.....	6
Figure 2: Danae Tiziano 1544-46.....	8
Figure 3: Prévalence mondiale de l'obésité.....	16
Figure 4: Augmentation de la prévalence de l'obésité au fil du temps.....	19
Figure 5: Voies de signalisation de l'apport alimentaire et du contrôle de l'énergie.....	23
Figure 6: Gènes impliqués dans la voie leptine-mélanocortine qui ont une influence sur l'apport énergétique et la dépense énergétique.....	27
Figure 7 : Les chirurgies bariatriques habituellement pratiquées.	38
Figure 8: Illustration des modifications anatomiques induites par le RYGB..	44
Figure 9: Illustration du nouveau-né indien..	54
Figure 10: Organigramme de la procédure globale de contrôle qualité..	110
Figure 11: Analyse en composantes principales des sujets non caucasiens de la cohorte.	115
Figure 12: Méthylation de l'ADN.....	128
Figure 13: Vue d'ensemble de HumanMethylation450K:.	131
Figure 14: Résultats du séquençage de l'ADN après un traitement au bisulfite.....	134
Figure 15: Conception de la sonde de la matrice HumanMethylation450K..	136
Figure 16: Contrôles de qualité des échantillons...	139
Figure 17: Analyse en composantes principales (ACP) de l'ensemble de données sur le méthylome..	142
Figure 18: Organigramme du design de l'étude # 1.....	150
Figure 19: Évolution de la concentration de vitamine B12 lors des visites de suivi, 1, 2, 3, 4..	162
Figure 20: Organigramme du design de l'étude # 2.....	167
Figure 21: Organigramme du design de l'étude # 3.....	179
Figure 22: Comparaison à l'échelle du génome du sang d'ALDEPI vs Martha (cas / témoin).....	184
Figure 23: Cette figure représente l'analyse de corrélation des trois tissus utilisés dans l'étude.	186
Figure 24: Comparaison des profils de méthylation de l'ADN de 7 loci significatifs trouvés dans le sang. te.	194
Figure 25: Comparaison du sang à l'échelle du génome (cas/contrôle vs foie (cas/contrôle).. ..	197
Figure 26: Comparaison des profils de méthylation de l'ADN de 7 gènes significatifs trouvés dans le sang.	205

LISTE DES TABLES

Table 1: La classification internationale de l'insuffisance pondérale, du surpoids et de l'obésité chez l'adulte selon l'IMC	12
Table 2: Informations sur le marqueur.....	101
Table 3: Paramètres de contrôle de qualité de GenomeStudio.....	105
Table 4: Aperçu du protocole	107
Table 5: 14 suspects avec des sorties de vérification du sexe utilisant PLINK	113
Table 6: Résumé de SNV CQ dans les données du tableau d'exome ALDEPI / OBESEPI	119
Table 7: Distributions de fréquences alléliques mineures.....	121
Table 8: Résumé du contrôle qualité (CQ) dans la cohorte ALDEPI / OBESEPI.....	122
Table 9: Données démographiques de base des participants selon le type de chirurgie.....	155
Table 10: Caractéristiques cliniques et biologiques des participants selon le statut en vitamine B12 au départ.....	156
Table 11: Évolution des indicateurs anthropométriques pré et post chirurgie bariatrique, visites 1, 2, 3, 4.....	157
Table 12: Évolution de la concentration en micronutriments et pourcentage de carence en B12 au moment de la chirurgie a la visite V.....	158
Table 13: Caractéristiques au départ selon une faible concentration B12 à la visite 3. ...	159
Table 14: Déterminants de la vitamine B12 dans les analyses univariées et multivariées	160
Table 15: Caractéristiques générales des études OBESEPI et FREX.....	174
Table 16: Association entre les scores génétiques de risque / protection et les résultats de l'étude.....	175
Table 17: Loci trouvés dans l'analyse du profil de méthylation dans le sang total	185
Table 18: Analyse d'enrichissement de l'ontologie génétique à l'aide des gènes (NAP1L5, MEST, H19, MEG3, CATSPER2, PEG3, NNAT) trouvés dans le sang	195
Table 19: Ensembles de données indépendants sur le méthylome provenant de GEO	196
Table 20: Description des sondes CpG les plus significatives dans l'étude d'association à l'échelle de l'épigénome qui a comparé les profils de méthylome sanguin chez les patients OBESEPI et les témoins de la cohorte MARTHA.....	206

ABSTRACT

Obesity is a complex, multifactorial disease, with genetic, and environmental origins, which increases risk of debilitating morbidity and mortality. In 2016, more than 1.9 billion adults, 18 years and older, were overweight. Of these, over 650 million were obese. Obesity is associated with multiple risk factors such as depression, sleep apnea, osteoarthritis, type 2 diabetes, non-alcoholic steatohepatitis, hypertension, cardiovascular diseases, gallbladder disease, and cancers. To date, several therapeutic options are available to combat obesity such as lifestyle and behavioral modifications, pharmacotherapy, and bariatric surgery. Obesity surgery, the most effective treatment to date, results in long-term weight loss, increased quality of life and decreased mortality. However, it is associated with the onset of side effects such as long-term nutritional complications.

Based on the observation that patients undergoing bariatric surgery are at a higher risk of presenting micronutrient deficiency, the first aim of this thesis was to assess the determinants of vitamin B₁₂ deficiency in a cohort of severe/morbid patients undergoing 2 different types of bariatric surgery (laparoscopic gastric bypass or laparoscopic sleeve gastrectomy), and this study demonstrated that vitamin B₁₂ concentration at baseline was the only predictor of vitamin B₁₂ concentration at visit 3 post-surgery.

Obesity is a heritable disease, and the contribution of genetic variants plays also a key role in the development of the disease. Recently, a study identified 14 rare/low-frequency coding variants that are associated with body mass index (BMI) in adults of European ancestry. Therefore, the second aim of this thesis focused on genotyping these 14 rare/low-frequency coding variants in the “obésité sévère et épigénétique” (OBESEPI) French cohort as cases with severe/morbid obesity, and in the French Exome (FREX) cohort as controls from the general population, this aim was performed by building a risk and protective GS based on 6 BMI-increasing and 5 BMI-decreasing coding variants. This study demonstrated that BMI-decreasing rare/low-frequency coding variants were significantly less frequent in patients with severe/morbid obesity than in healthy controls. It also showed that neither the risk nor the protective GS were not found to be associated with BMI prior to intervention in patients with severe/morbid obesity or having an effect on BMI change in response to a lifestyle/behavioral modification program. The protective GS was associated with faster BMI decrease following bariatric surgery. The risk and protective GS were associated with a higher and lower risk of BMI regain after bariatric surgery respectively.

The assessment of epigenetic variation is another important factor known to be a contributor to obesity development, and particularly DNA methylation is well known to influence the obesity outcomes. Hence, the third aim of this thesis focused on the importance of DNA methylation comparison profiles in the obese from the « obésité sévère

et épigénétique » (OBESEPI) to healthy individuals from the MARseille Thrombosis Association (MARTHA) in different tissues sets such as liver, visceral adipose tissue, and blood. To address this, a pseudo-genotypic approach was used in the genome-wide comparison of methylation profiles, this approach consists of finding epigenomic signals by reducing any background noise that may be found in the dataset. In this method, the methylome data are transformed into pseudo-genotypic data in order to reflect the biallelic methylation profile. This study demonstrated that the genome-wide comparison of DNA methylation profiles of obese individuals was similar between the liver, the visceral adipose tissue, and the whole blood, compared to those of healthy individuals in blood. The genome-wide DNA methylation also enabled the identification of 7 significant loci found in the blood, where 5 of these top significant signatures were also found to be consistent in the liver.

Altogether, my Ph.D. thesis has clearly expanded our understanding of the obese phenotype, and also provided evidence of the interaction between genetic and environments factors in obesity-outcomes. This thesis has put together some work that may be helpful for future investigations designed at deciphering the pathophysiology of the obese phenotype.

Keywords: Obesity, bariatric surgery, B12, rare/low-frequency genetic coding variants, epigenetics, DNA methylation.

RÉSUMÉ

L'obésité est une maladie complexe et multifactorielle, d'origine génétique et environnementale, qui augmente le risque de morbidité et de mortalité. En 2016, plus de 1,9 milliard d'adultes étaient en surpoids. Parmi ceux-ci, plus de 650 millions étaient obèses. L'obésité est associée à de multiples comorbidités telles que la dépression, l'apnée du sommeil, l'arthrose, le diabète de type 2, la stéatohépatite non alcoolique, l'hypertension, les maladies cardiovasculaires, la maladie de la vésicule biliaire(cholécystite) et les cancers. À ce jour, plusieurs options thérapeutiques sont disponibles pour lutter contre l'obésité telles que les modifications du mode de vie et du comportement, la pharmacothérapie et la chirurgie bariatrique. La chirurgie de l'obésité, le traitement le plus efficace à ce jour, entraîne une perte de poids à long terme, une meilleure qualité de vie et une diminution de la mortalité. Cependant, elle est associée à l'apparition d'effets secondaires tels que les complications nutritionnelles à long terme.

Sur la base de l'observation que les patients subissant une chirurgie bariatrique courent un risque plus élevé de présenter une carence en micronutriments, le premier projet de cette thèse était d'évaluer les déterminants de la carence en vitamine B12 dans une cohorte de patients atteints d'obésité sévère/morbide subissant 2 types différents de chirurgie bariatrique (pontage gastrique laparoscopique ou gastrectomie longitudinale laparoscopique), et cette étude a démontré que la concentration de vitamine B12 à la visite préopératoire était un prédicteur de la concentration de vitamine B12 à la visite 3 postopératoire, qui était également associée à l'âge, à l'aspartate d'amino-transférase et au score-APRI.

L'obésité est une maladie héréditaire, et la contribution des variantes génétiques joue également un rôle clé dans le développement de la maladie. Récemment, une étude a identifié 14 variants génétiques rares associés à l'indice de masse corporelle (IMC) chez les adultes d'ascendance européenne. Ainsi, la seconde étude de cette thèse s'est focalisée sur le génotypage de ces 14 variants génétiques rares dans la cohorte française « obésité sévère et épigénétique » (OBESEPI) comme cas d'obésité sévère/morbide, et dans la cohorte French Exome (FREX) en tant que témoins de la population générale. Cet objectif a été atteint en construisant deux scores génétiques à risque et protecteur basés sur 6 variants codants augmentant l'IMC et 5 diminuant l'IMC chez les patients souffrant d'obésité sévère/morbide que chez les témoins sains. Le score génétique protecteur présentait des valeurs significativement moins élevées chez les patients souffrant d'obésité sévère/morbide que chez les témoins sains. Il a été montré que ni le score génétique à risque ni le score protecteur n'étaient associés à l'IMC avant l'intervention chez les patients atteints d'obésité sévère/morbide ou avaient un effet sur la modification de l'IMC en

réponse à un programme de modification du mode de vie/comportement. Le score génétique-protecteur était associé à une diminution plus rapide de l'IMC après une chirurgie bariatrique. Les scores génétiques à risque et protecteur étaient respectivement associés à un risque plus élevé et plus faible de regain d'IMC après une chirurgie bariatrique respectivement.

La variation épigénétique est un autre facteur important connu pour contribuer au développement de l'obésité et la méthylation de l'ADN en particulier est bien connue pour influencer l'obésité. Ainsi, la troisième étude de cette thèse a porté sur la comparaison de la méthylation de l'ADN chez les patients atteints d'obésité de la cohorte « obésité sévère et épigénétique » (OBESEPI) et les individus sains de la MARseille Thrombosis Association (MARTHA) dans trois tissus différents, le foie, le tissu adipeux viscéral et le sang. Pour déterminer le profil de méthylation de l'ADN, une approche pseudo-génotypique a été utilisée dans la comparaison à l'échelle du génome, cette approche consiste à trouver des signaux épigénomiques en réduisant tout bruit de fond pouvant être trouvé dans l'ensemble de données. Avec cette méthode, les données du méthylome sont transformées en données pseudo-génotypiques afin de refléter le profil de méthylation biallélique. Cette étude a démontré que la comparaison à l'échelle du génome des profils de méthylation de l'ADN d'individus obèses était similaire entre le foie, le tissu adipeux viscéral et le sang total, par rapport à ceux d'individus sains dans le sang. La méthylation de l'ADN à l'échelle du génome a également permis l'identification de 7 loci significatifs trouvés dans le sang, où 5 de ces signatures les plus significatives se sont également révélées cohérentes dans le foie.

En résumé, mon travail de doctorat a clairement élargi la compréhension du phénotype obèse et a également fourni des preuves de l'interaction entre les facteurs génétiques et environnementaux dans la réponse aux traitements de l'obésité. Cette thèse a rassemblé des travaux qui pourraient être utiles pour de futures investigations visant à déchiffrer la physiopathologie du phénotype obèse.

Mots clés : Obésité, chirurgie bariatrique, vitamine B12, variants génétiques rares, épigénétique, méthylation de l'ADN

CHAPITRE I.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Obésité (L'état des lieux)

Ce chapitre fournira un large aperçu sur l'obésité et ses différents aspects, de la physiopathologie de la maladie, et de son mécanisme *via* la voie de la leptine.

1. L'obésité et ses différents aspects

L'appellation obésité n'a fait son apparition dans le dictionnaire que vers le XVIIe siècle pour désigner un excès de gras corporel. L'obésité n'a commencé à avoir un impact mesurable au sein des populations qu'au XVIIIe siècle. Cependant, au milieu du dix-neuvième siècle, l'obésité a été reconnue comme un problème de santé, et ce n'est que dans la première décennie du vingtième siècle que les recherches ont commencé sur la maladie en raison de ses comorbidités et de son taux de mortalité élevé. Le taux d'obésité a augmenté au cours des 60 dernières années à un point tel que l'Organisation mondiale de la santé (OMS) l'a déclarée comme une pandémie mondiale et un problème de santé publique majeur (World Health Organization, 2005).

Ses manifestations et symptômes extérieurs font de l'obésité un tueur non silencieux, ainsi que facile à détecter, ce qui rend la prévention de ses conséquences plus pratique. Néanmoins, la prévention est une tâche compliquée, et les résultats restent une « bombe à retardement à désamorcer » (G. A. Bray, 1998). Il y a près de 30 000 ans, à l'âge de pierre, l'obésité avait une interprétation esthétique et culturelle, à tel point que les mystérieuses figurines féminines nues aux traits sexuels exagérés étaient dépeintes comme un fétiche précoce de la fertilité. Ceux-ci évoquent une culture qui vénérait une déesse mère. La figurine qui représentait le mieux la forme humaine a été trouvée à Willendorf, en Autriche en 1908. Cette figurine connue sous le nom de Vénus de Willendorf se caractérise par un corps trapu, des seins largement agrandis et pendants, de grandes fesses et cuisses, et un estomac proéminent, peut être considéré comme beau par les traits physiques d'un corps

d'une femme qui expriment la fertilité et la fécondité. Toute la corpulence de cette statuette représente un statut élevé dans une société de chasseurs-cueilleurs, et sa fertilité évidente pourrait être considérée comme un emblème de sécurité et de succès. Pris ensemble, cette figurine dépeint l'interprétation primitive de l'obésité grossière (Bonafini & Pozzilli, 2011). (Figure 1).



Figure 1: Venus de Willendorf 30.000 ac. (Image basée sur (Bonafini & Pozzilli, 2011), avec autorisation.

Culturellement parlant, l'excès de graisse a été considéré comme un signe de santé et de prospérité financière tout au long de l'histoire humaine lorsque la nourriture était rare. Cet excès de poids corporel était considéré comme souhaitable et était donc décrit dans les arts, la littérature et la politique de l'époque. Cependant, l'obésité grossière de la déesse mère s'est estompée et n'a pas dépassé l'âge du Pléistocène. Par exemple, pour Hippocrate (communément appelé le père de la médecine), la tendance à se fatiguer facilement était due à un excès de poids corporel. Il a également commenté les risques pour la santé de l'obésité, suggérant que dans le cas des hommes, le manque de désir sexuel est dû à l'humidité de leur constitution et à la douceur et à la froideur de leur ventre, tandis que pour les femmes, ce manque de libido est dû à la graisse et à la mollesse (D. Haslam & Rigby, 2010).

L'idéal féminin a été perçu différemment au cours de l'histoire de l'humanité, et les statuettes féminines et les sculptures grecques du Ve siècle ont montré un nouveau standard de beauté basé sur la précision et les proportions géométriques et l'imperfection des formes corporelle. Par exemple, « Danae » Tiziano (1544-1546) qui représentait un corps gras de femme nue allongée était considérée par la société occidentale comme représentant la sensualité et la fécondité. Cette posture de Danae aux jambes ouvertes illustre son consentement à être inséminée par Jove (Bonafini & Pozzilli, 2011). (Figure 2).



Figure 2: Danae Tiziano 1544-46. (Image basée sur Jove (Bonafini & Pozzilli, 2011), avec autorisation.

Partout dans la littérature, cette graisse et cette corpulence idéales reflétaient également le corps des hommes et ont également été représentés pendant les premières décennies du XXe siècle par des auteurs comme Cervantes «Sancho Panza» (un personnage fictif avec un gros ventre décrit par l'écrivain espagnol Don Miguel de Cervantes Saavedra 1605 dans le roman Don Quichotte) et Shakespeare «Falstaff» (un personnage de fiction considéré comme les prototypes ancestraux du bouffon au théâtre et dans la littérature remontent à l'antiquité). La corpulence des anciens présidents américains reflétait également ces tendances où le fait d'avoir un corps gras était un symbole de bonne forme, de richesse et de pouvoir (Eknoyan, 2006).

Par rapport aux siècles précédents, l'excès de graisse est aujourd'hui associé à la pauvreté, à la négligence, au manque de volonté, au stress, à la dépression et à la misère (BROWN & KONNER, 1987). Aujourd'hui, la société est obsédée par la maigreur, qui est mise en évidence par les concours de beauté, la mode et une culture qui façonne la perception de la société concernant l'idéal féminin de la beauté, entre autres le corps, le poids et la forme des femmes. Par conséquent, cet idéal féminin de beauté s'accompagne de nouveaux problèmes tels que le manque de satisfaction de l'image corporelle et l'anorexie (Bonafini & Pozzilli, 2011).

La stigmatisation qui entoure l'obésité date de Galien (vers 130 après JC - vers 210 après JC), mieux connu sous le nom de Galen de Pergame. Ce médecin, chirurgien et philosophe grec de l'Empire romain croyait que les personnes en surpoids et atteintes d'obésité devraient assumer la responsabilité de leur état. Shakespeare dans l'une de ses pièces Henry IV a créé

Falstaff, un personnage fictif qui était considéré comme le prototype ancestral du bouffon dans le théâtre et dans la littérature remontant à l'antiquité. Falstaff était affublé de noms insultants tels que « gras d'esprit », « briseur de chaise » et « jument paralysée » - (Friedman, 2004). En outre, Shakespeare, comme beaucoup d'autres auparavant, ont souvent perçu ou considéré l'obésité comme hilarante, un phénotype physique dont on peut facilement se moquer (Buchwald & Knatterud, 2000).

Par conséquent, l'obésité n'est pas une maladie d'aujourd'hui, comme beaucoup le perçoivent, mais le XXI^e siècle avec toutes les prouesses scientifiques de l'épidémiologie, du métabolisme, de la clinique, de l'environnement, de la physiologie, du mécanisme, de la génétique à l'épigénétique, a contribué à améliorer les connaissances et traitements de cette maladie.

Hippocrate a une fois formulé : « L'excès de corpulence n'est pas seulement une maladie en soi, mais le signe avant-coureur de tous les maux » qui perçoit l'obésité comme un problème médical qui est également lié à de nombreuses comorbidités. Par conséquent, cette association est d'une grande importance pour les sujets malades, mais la morbidité associée est un fardeau pour la société. Au regard de la prévalence croissante de l'obésité dans le monde, il est particulièrement intéressant de nous interroger sur la « définition de l'obésité ».

1.2. Aspects cliniques

L'OMS (World Health Organization, 2005) définit le surpoids et l'obésité comme une accumulation anormale ou excessive de graisse pouvant nuire à la santé. L'anthropométrie est la technique la plus élémentaire utilisée pour évaluer la composition corporelle. Les mesures anthropométriques déterminent la masse corporelle, la taille, la forme et le niveau d'adiposité. Bien que le poids puisse varier en fonction de la taille, l'anthropométrie permet à tout chercheur ou clinicien d'évaluer adéquatement le niveau d'adiposité d'un sujet (Duren et al., 2008).

La classification actuelle de l'obésité proposée par l'OMS est basée sur l'indice de masse corporelle (IMC), qui correspond à la relation entre le poids exprimé en kilos et le carré de la taille, exprimé en mètres. De cette façon, les personnes dont le calcul de l'IMC est égal ou supérieure à 30 kg/m^2 sont considérées comme atteintes d'obésité (Table 1). (Villareal, Apovian, Kushner, & Klein, 2005). Selon les multiples panels de santé, l'obésité a été stratifiée selon les seuils d'IMC suivants. (Tableau 1).

Table 1: La classification internationale de l'insuffisance pondérale, du surpoids et de l'obésité chez l'adulte selon l'IMC

Classification	IMC (kg/m ²)	
	Principaux points de seuil	Points de seuil additionnels
Sous-poids	<18.50	<18.50
Fourchette normale	18.50-24.99	18.50-22.99
		23.00-24.99
Surpoids	≥ 25.00	≥25.00
Pre-obèse	25.00-29.99	25.00-27.49
		27.50-29.99
Obèse	≥ 30.00	≥ 30.00
Classe I	30.00-34.99	30.00-32.49
		32.50-34.99
Classe II	35.00-39.99	35.00-37.49
		37.50-39.99
Classe III	≥ 40.00	≥ 40.00

Tableau basé sur WHO(World Health Organization, 2005).

1.3. Aspects épidémiologiques

L'obésité est aujourd'hui une maladie pandémique, et elle est décrite comme une épidémie qui se propage dans toutes les régions géographiques et touche un grand nombre de personnes dans le monde. En 2018, l'OMS a indiqué que les taux d'obésité avaient triplé chez les adultes depuis 1975 (World Health Organisation, 2018). En 2016, plus de 1,9 milliard d'adultes de 18 ans et plus étaient en surpoids. Sur ce nombre, plus de 650 millions étaient atteints d'obésité (World Health Organisation, 2018). Les pays en développement avec l'essor général de l'urbanisation et de la modernisation sont les plus touchés, et le surpoids et l'obésité y tuent maintenant plus de personnes que l'insuffisance pondérale. Bien que l'obésité soit plus présente chez les adultes, les enfants et les adolescents sont également touchés par la maladie, par exemple plus de 340 millions d'entre eux âgés de 5 à 19 ans étaient en surpoids ou atteints d'obésité en 2016 (World Health Organisation, 2018).

En termes de prévalence, d'incidence et de fardeau économique, l'obésité est considérée comme une menace sérieuse pour la santé publique dans le monde entier (Tremmel, Gerdtham, Nilsson, & Saha, 2017). La prévalence de l'obésité a considérablement augmenté dans le monde au cours des 50 dernières années pour atteindre des niveaux pandémiques (Blüher, 2019). Par exemple, les pays industrialisés les plus riches, en particulier les États-Unis, le Royaume-Uni, l'Australie et le Canada, font actuellement partie des pays qui comptent le plus de personnes atteintes d'obésité (Abarca-Gómez et al., 2017). En Asie, par exemple, l'obésité augmente également. Néanmoins, la prévalence de l'obésité par rapport à l'Europe occidentale et à l'Amérique du Nord est encore faible (World Health

Organization, 2005). Par exemple, en Chine, l'ensemble des hommes et des femmes souffrant d'obésité en 2013 était estimé à 3,8% et 5,0%, et au Japon, ces chiffres s'élevaient à 4,5% et 3,3%. La prévalence de l'obésité a augmenté d'environ 10 à 40% dans la plupart des pays européens au cours des 10 dernières années. Cependant, le Royaume-Uni est depuis longtemps le pays où la prévalence a augmenté le plus au cours des dernières décennies (Rössner, 2002). En Europe occidentale, les chiffres de la prévalence sont estimés à 61,3% pour les hommes et 47,6% pour les femmes sur la base d'un IMC ≥ 25 kg/m², et une estimation de 21,0% d'obésité dans la population générale adulte pour les hommes et les femmes (M. Ng, 2014). (Figure 3).

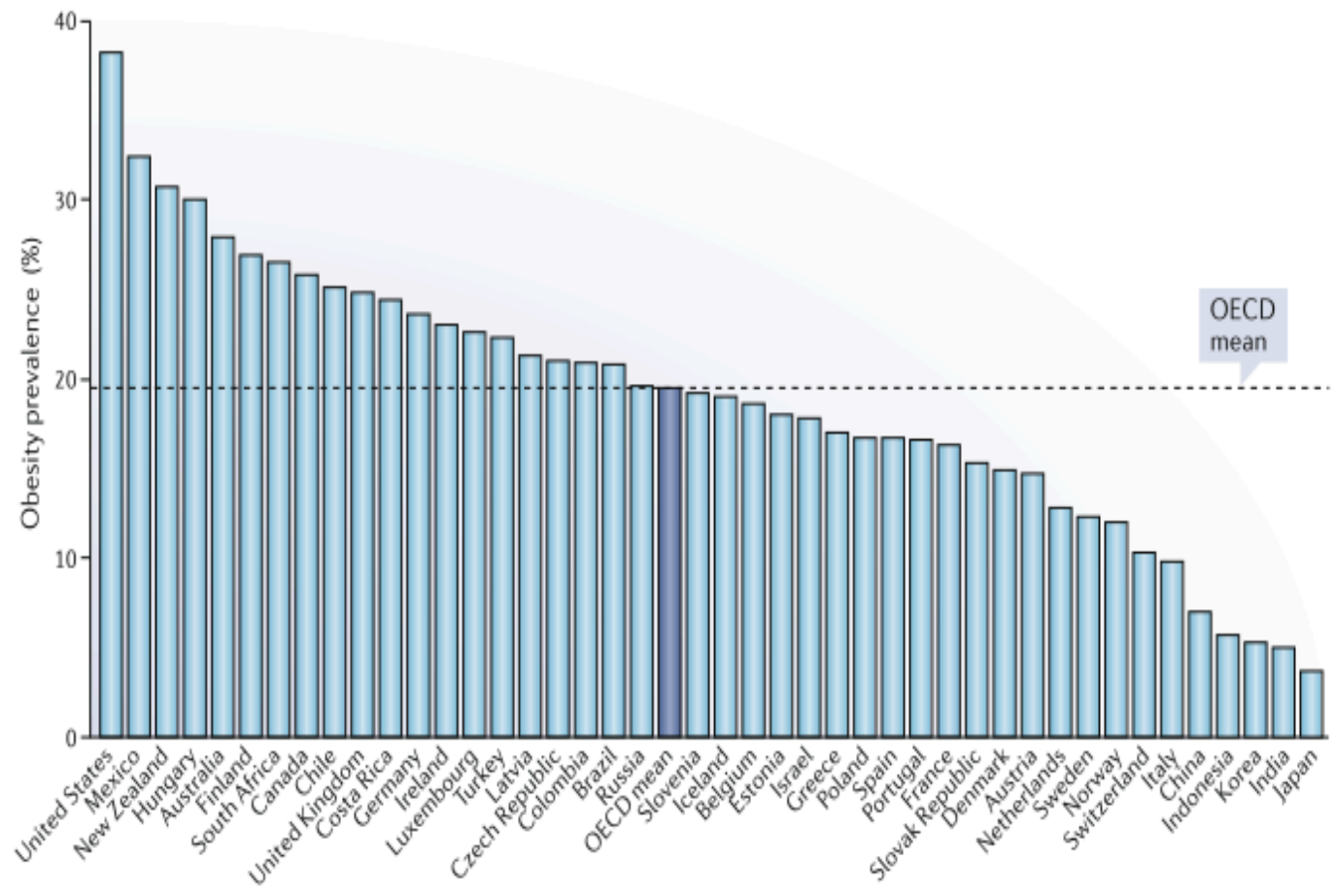
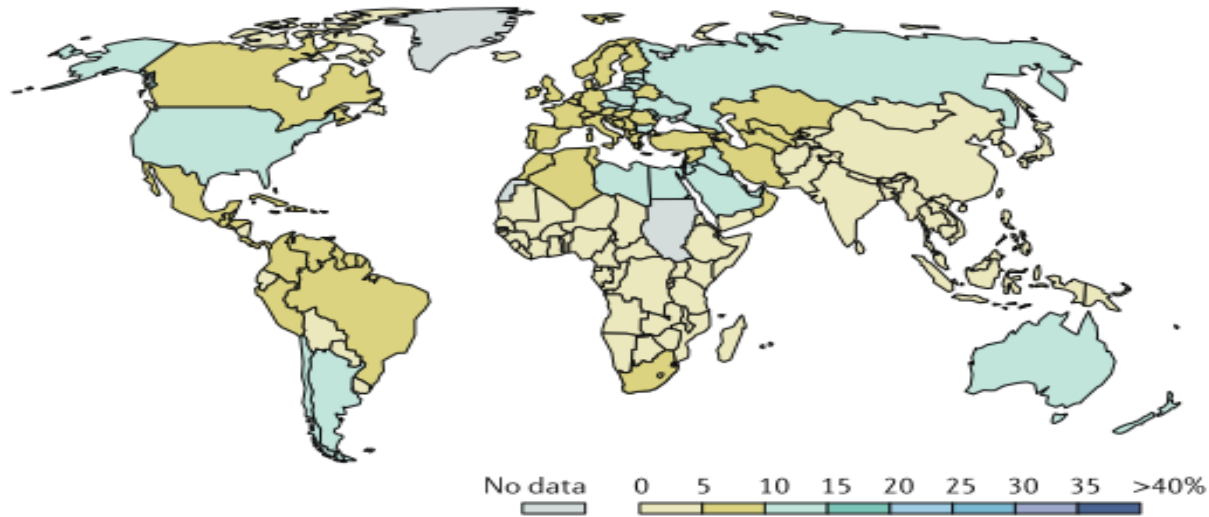


Figure 3: Prévalence mondiale de l'obésité. Selon l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) 2017, la prévalence de l'obésité ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) varie d'un pays à l'autre. Cette figure montre le pourcentage d'adultes souffrant d'obésité à partir des données mesurées. En 2015, dans les pays de l'OCDE, la prévalence moyenne de l'obésité chez les adultes était de 19,5% (ligne pointillée) et variait de moins de 6% au Japon à plus de 30% aux États-Unis. Figure basée sur (Blüher, 2019), avec autorisation.

Le pourcentage de décès par an attribuable à l'obésité est de 5% dans le monde (D. W. Haslam & James, 2005). Des études récentes ont révélé des tendances de l'IMC pour la plupart des pays du monde sur la base des données de 128,9 millions d'adultes, d'adolescents et d'enfants, et ont démontré que la prévalence de l'obésité a augmenté entre 1975 et 2016 dans tous les pays (Abarca-Gómez et al., 2017). Il a été démontré chez des adultes que l'IMC augmente au fil du temps selon les chercheurs du groupe « Collaboration sur les facteurs de risque des maladies non transmissibles » (MNT). (Figure 4).

a Percentage of adults defined as obese, 1975



b Percentage of adults defined as obese, 2014

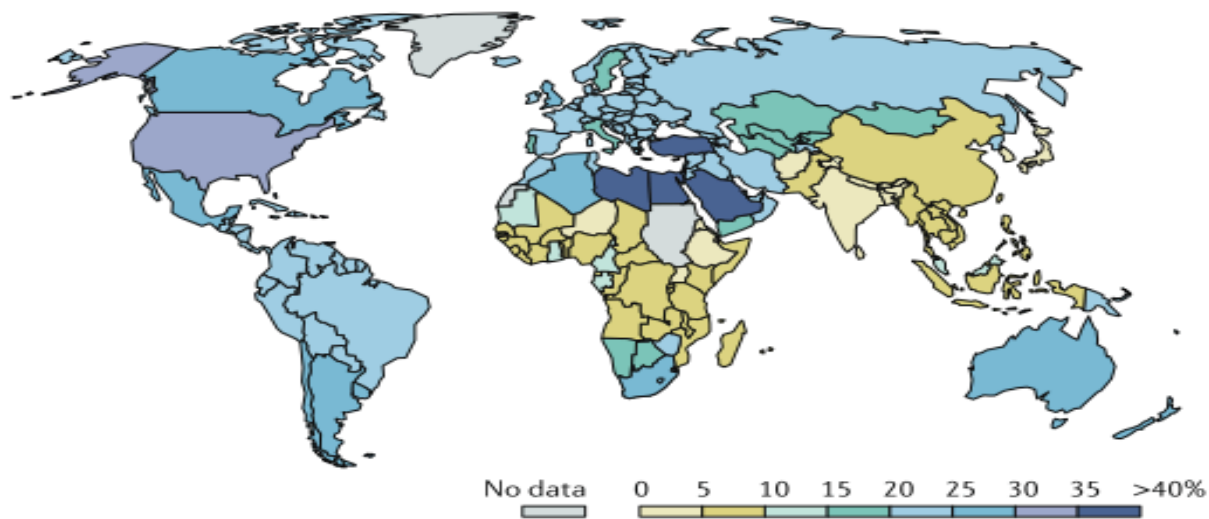


Figure 4: Augmentation de la prévalence de l'obésité au fil du temps. Au cours des années 1975 (partie a) et 2014 (partie b), le pourcentage d'adultes atteints d'obésité a considérablement augmenté. Selon les auteurs, les données proviennent de l'OMS. (Figure basée sur (Blüher, 2019), avec autorisation).

1.4. Aspects Physiopathologiques de l'obésité

1.4.1. Voie centrale impliquée dans la régulation de l'appétit

Ces dernières années, les signalisations neuro-hormonales tissu adipeux-cerveau, pancréas-cerveau et intestin-cerveau ont été d'un intérêt particulier pour la compréhension de la physiopathologie de l'obésité. Il est bien connu que les signaux hormonaux à long et à court termes provenant de la périphérie agissent sur le système nerveux central pour avoir un effet sur le comportement alimentaire. Tout d'abord, l'une des principales régions impliquées est l'hypothalamus qui est un régulateur clé de la régulation de l'appétit. La fonction de l'hypothalamus est d'interpréter et d'intégrer la signalisation *via* différents neurotransmetteurs afin de coordonner l'alimentation et la dépense énergétique en fonction des variables métaboliques. Les voies neuronales jouent un rôle dans la régulation à court terme de l'appétit et de la satiété, tandis que le contrôle du poids à long terme semble reposer sur des stimuli hormonaux libérés par le tractus gastro-intestinal et le tissu adipeux (Waseem, Mogensen, Lautz, & Robinson, 2007).

De plus, le noyau arqué (ARC) est un petit noyau triangulaire, adjacent au troisième ventricule et à l'éminence médiane. Sa fonction dans l'hypothalamus est de recevoir et d'intégrer de nombreux signaux neuronaux périphériques. L'ARC possède une concentration particulièrement élevée de récepteurs pour plusieurs hormones circulantes provenant d'organes périphériques, notamment la leptine, la ghréline et l'insuline. À l'intérieur de l'ARC, deux principales populations de neurones participent à la régulation de la consommation alimentaire, notamment les neurones pro-opiomélanocortine

inhibant l'appétit (*POMC*) et le neuropeptide Y stimulant l'appétit (*NPY*) et le peptide lié à l'agouti (*AgRP*) connue dans la co-expression des neurones. Le *POMC* donne naissance à un peptide anorectique, une hormone α -mélanocytaire stimulante (*α -MSH*) qui co-exprime le transcrite peptidique régulé par la cocaïne et l'amphétamine (*CART*) (qui est exprimé dans diverses zones du cerveau, dont la concentration principale se trouve dans l'hypothalamus). *AgRP* est un contre-mécanisme physiologique à long terme pour contrer les effets des neurones *POMC*. Au contraire, le *NPY* est un peptide neuronal orexigénique puissant et à court terme. Les neurones sont réceptifs aux signaux circulants de faim et de satiété, notamment la ghréline (*GHR*), la cholécystokinine (*CCK*) et le peptide YY (*PYY*), qui sont également régulés par des signaux de réserves d'énergie corporelle à long terme tels que la leptine et l'insuline (Druce, Small, & Bloom, 2004; Ganesan & Xu, 2018; Waseem et al., 2007). (Figure 5).

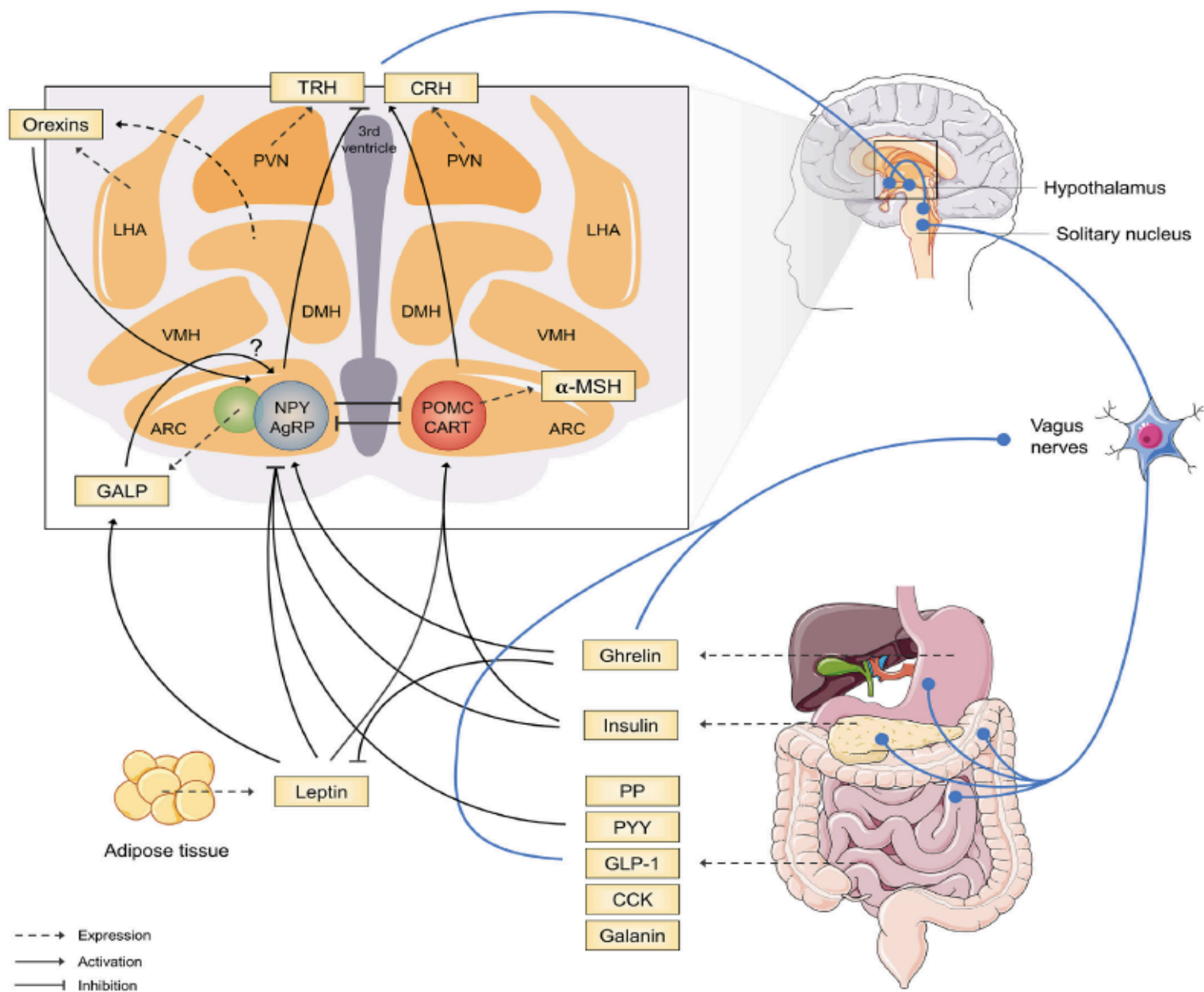


Figure 5: Voies de signalisation de l'apport alimentaire et du contrôle de l'énergie – L'hypothalamus est le principal contrôleur de ces voies, différentes sous-unités participant par expression ou étant ciblées par les neuropeptides et les hormones peptidiques impliqués. Ces sous-unités comprennent le noyau arqué (ARC), le noyau paraventriculaire (PVN), le noyau hypothalamique ventromédial (VMH), noyau hypothalamique dorsomédial (DMH) et zone hypothalamique latérale (LHA). La communication du noyau solitaire (SN) avec l'hypothalamus est essentielle pour traduire les stimuli qui sont reçus du tractus gastro-intestinal. L'ARC est responsable du contrôle de la prise alimentaire, de la stimulation des neurones peptidiques orexigéniques liés à l'agouti (*AgRP*) et neuropeptide Y (*NPY*), et par conséquent, stimuler l'appétit. Contre cet effet, la proopiomélanocortine (*POMC*), par métabolisation en α -mélanocyte stimulating hormone (α -*MSH*), et les neurones à transcription régulée par les amphétamines et la cocaïne (*CART*), qui ont un effet anorexigène (action de suppression de l'appétit). Lors de la prise alimentaire, les signaux de satiété sont émis et les niveaux de leptine, d'insuline et de glucagon-like peptide-1 (*GLP-1*) augmentent, induisant une activité anorexigène. Au niveau du tractus gastro-intestinal, le polypeptide pancréatique (*PP*), le peptide YY (*PYY*) et la cholécystokinine (*CCK*) sont les principales molécules responsables qui, *via* le nerf vague, communiquent ces signaux au cerveau. Lorsque la leptine, l'insuline et les niveaux de *GLP-1* diminuent, les signaux exigéniques sont stimulés, en libérant de la ghréline (sécrétée dans l'estomac) et de la galanine (exprimée dans le tractus gastro-intestinal), qui promeut la prise alimentaire et la réduction des dépenses énergétiques (Meneguetti et al., 2019). (Article publié dans *Pharmacotherapy & Therapeutics*)

1.4.2. Aspects mécanistiques des causes génétiques liées à la pathogenèse de l'obésité *via* la voie de la leptine

Les études sur l'obésité chez les paires de jumeaux , les enfants adoptés et les familles ont révélé que 40% à 75% du risque associé à l'obésité est héréditaire (Stryjecki, Alyass, & Meyre, 2017). Des arguments concordants soutiennent l'idée que le génome humain est enrichi en allèles « économes » qui permettent le stockage d'énergie et limitent la perte de poids qui peuvent affecter la masse grasse, et conduiraient à une altération de l'efficacité de la reproduction (Schwartz et al., 2017). La recherche génétique sur l'obésité a conduit à l'identification et à la caractérisation par clonage moléculaire des mutations *ob* et *db* qui inactivent les gènes codant pour la leptine et son récepteur. La voie leptine-mélanocortine joue un rôle clé dans de nombreux processus tels que les processus endocriniens et homéostatiques, en particulier dans l'apport et la dépense énergétiques (Heymsfield & Wadden, 2017; Schwartz et al., 2017). Les agonistes de la mélanocortine sont issus du gène de la proopiomélanocortine (*POMC*) prohormone. Les prohormones convertases *PC1* et *PC2* clivent le *POMC* pour générer une série de peptides qui comprennent des membres des familles des opioïdes et des mélanocortines. Les peptides mélanocortine dérivés de *POMC*, incluant l'hormone adrénocorticotrophique (*ACTH*) et les hormones activant les mélanocytes alpha, bêta et gamma (*MSH*) se lient à une famille de cinq récepteurs de la mélanocortine appariés aux protéines G, et jouent le rôle d'agonistes des *MC3R* et *MC4R* exprimés dans les neurones. Le mot « mélanocortine » signifie que tous ces peptides présentent une activité mélanotrope et /ou adrénocorticotrope (Ellacott & Cone, 2006).

De plus, les porteurs de mutations hétérozygotes et homozygotes de gènes de la voie leptine-mélanocortine présentent plusieurs différences de phénotypes. Comme dans l'illustration de la (figure 6), les mutations homozygotes dans la *LEP* sont caractérisées par une insuffisance gonadotrope et thyrotrope et une altération de la fonction immunitaire, tandis que les porteurs homozygotes de mutations délétères dans le gène *LEPR* présentent des phénotypes tels que l'insuffisance gonadotrope, thyrotrope et somatotrope ainsi qu'une altération de la fonction immunitaire. En outre, des mutations de perte de fonction sous formes homozygotes/ hétérozygotes composées dans le *LEP*, *LEPR*, *POMC*, *PCSK1* et *MC4R* ont également été rapportées, et une inactivation complète de ces gènes entraîne une hyperphagie sévère et une forme entièrement pénétrante d'obésité extrême précoce chez l'homme (ces formes récessives d'obésité sont extrêmement rares et sont le plus souvent identifiées dans les familles à fort taux de consanguinité) (Hélène Choquet & Meyre, 2011).

L'obésité en tant que maladie épidémique a longtemps été associée à une morbidité et une mortalité accrue. La dépression, le syndrome d'apnée obstructive du sommeil (SAOS), l'arthrose, le diabète de type 2 (DT2), la stéatose hépatique non alcoolique (NASH), l'hypertension (HTA), les maladies cardiovasculaires (MCV), le syndrome métabolique (SM), les maladies de la vésicule biliaire, (MVB) et les cancers font partie des innombrables complications de santé de l'obésité sévère. En outre, l'obésité est liée à des complications plus méconnues telles que le DT1, l'incontinence, le reflux gastrique et l'infertilité.

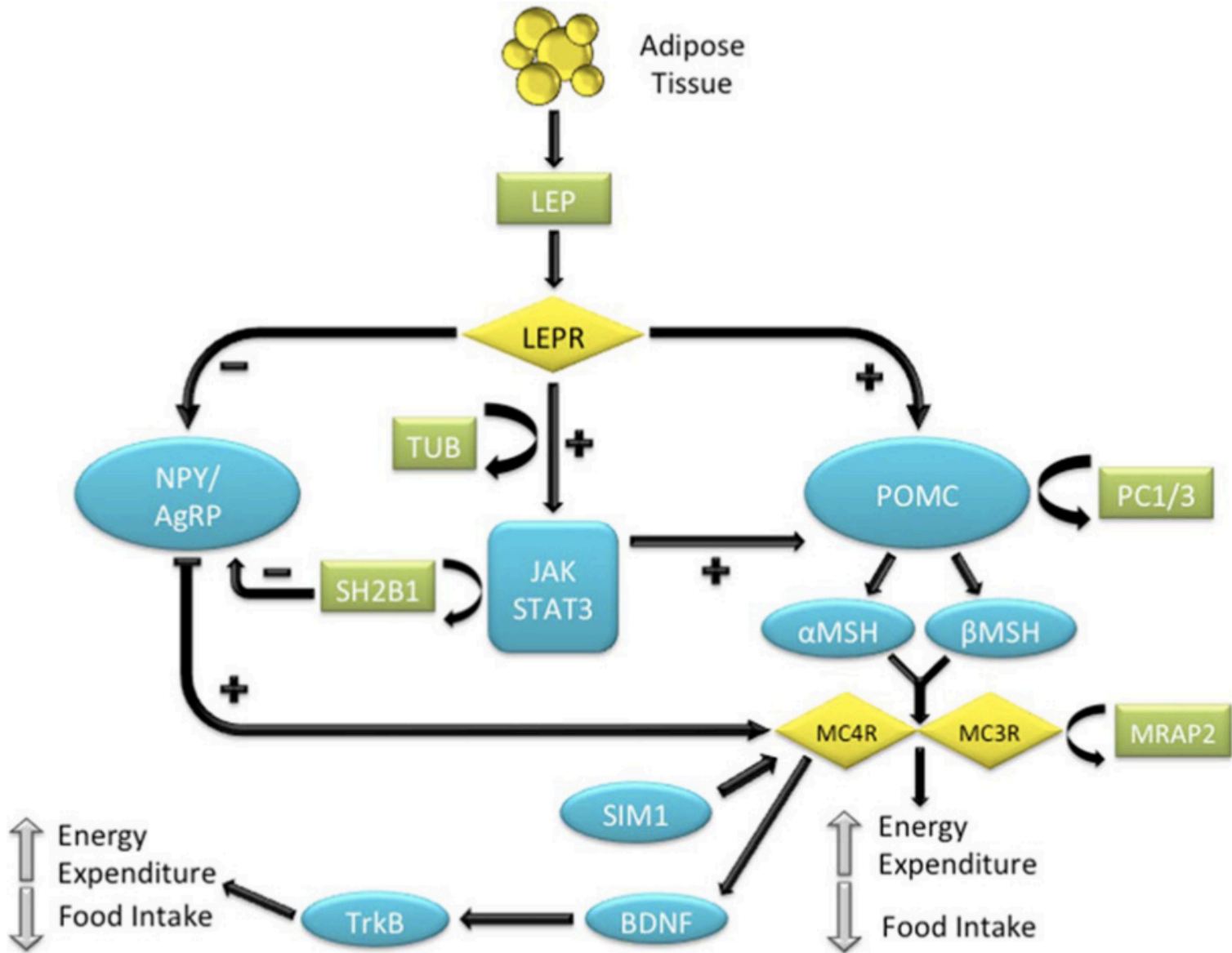


Figure 6: Gènes impliqués dans la voie leptine-mélanocortine qui ont une influence sur l'apport énergétique et la dépense énergétique. La leptine sécrétée par le tissu adipeux se lie au récepteur de la leptine dans l'hypothalamus. La liaison de la leptine inhibe la production de protéines liées aux neuropeptides Y/agouti (*NPY / AgRP*) et stimule la production de pro-opiomélanocortine (*POMC*), qui subit des modifications post-traductionnelles pour produire des peptides tels que les hormones alpha et bêta-mélanocytaires (α et β)-*MSH*) via le traitement de la prohormone convertase 1 (*PC1 / 3*). L'alpha et la β -*MSH* se lient aux récepteurs de la mélanocortine 3 et de la mélanocortine 4 (*MC3R* et *MC4R*) et induisent leur activité. La protéine accessoire 2 du récepteur de la mélanocortine 2 (*MRAP2*) peut réduire la réactivité du *MC3R* et du *MC4R* à l' α - et β -*MSH* et entraîner l'obésité. D'autre part, le résolu 1 (*SIM1*) agit comme un facilitateur de l'activité *MC4R*. L'augmentation des activités *MC3R* et *MC4R* se traduit par une diminution de l'apport alimentaire et une augmentation des dépenses énergétiques. L'activité *MC4R* stimule également la libération de facteur neurotrophique dérivé du cerveau (*BDNF*) qui se lie au récepteur neurotrophique (*TrkB*) et influence sur la prise alimentaire et la dépense énergétique. Outre l'activation du *POMC*, la liaison de la leptine à son récepteur active également le transducteur Janus kinase/signal et l'activateur de la signalisation de la transcription (*JAK / STAT*). Cette voie, à l'aide de l'homologie Src 2 B adapter protein 1 (*SH2B1*), entraîne l'activation du transducteur de signal et de l'activateur de transcription 3 (*STAT3*). *STAT3* migre ensuite vers le noyau à l'aide du facteur de transcription bipartite Tubby (*TUB*) et active ses gènes cibles liés à l'homéostasie énergétique et intervient dans les effets anorexigènes de la leptine (**Figure basée sur (Pigeyre et al., 2016) publiée par Portland press journal (Hybrid open article d'accès distribué sous les termes de la licence Creative Commons Attribution-Noncommercial (CC BY-NC), pour laquelle aucune autorisation officielle n'est nécessaire).**

CHAPITRE II.

REVUE DE LA LITTÉRATURE

Ce chapitre fournira une revue de la littérature basée sur la chirurgie bariatrique, la génétique et l'épigénétique.

Les options thérapeutiques de l'obésité (Traitements médicaux et chirurgie bariatrique)

2. Traitements médicaux et chirurgicaux : options thérapeutiques de l'obésité

2.1. Traitements médicaux de l'obésité

L'obésité est un problème de santé publique grave qui peut nuire à la qualité de vie. Ainsi, l'objectif du traitement de personnes atteintes d'obésité est de réhabiliter le fonctionnement normal du métabolisme ainsi que des organes. La thérapie anti-obésité ne permet pas seulement de réduire le poids, mais contribue également à réduire la mortalité et l'invalidité, ce qui augmente donc la qualité de vie. Les traitements non chirurgicaux tels que le régime alimentaire, l'exercice, la thérapie comportementale et la pharmacothérapie sont des approches de base qui aident à la prise en charge de l'obésité mais ils ne constituent pas la seule thérapie (Fisher & Schauer, 2002). A noter, la pharmacothérapie ne sera pas mentionnée car en France (mis à part l'orlistat connu pour être un inhibiteur de la lipase pancréatique, qui inhibe l'absorption des graisses dans l'intestin), il n'y a pour le moment pas de traitement médical recommandé de l'obésité.

2.1.1. Régime

Les personnes souffrant de surpoids ou d'obésité ont souvent tendance à rechercher le « meilleur régime » dans la quête d'une perte de poids corporelle rapide. Cependant, dans un environnement où les aliments riches en calories sont abondants et faciles à obtenir, les résultats de plusieurs programmes de régime montrent la difficulté inhérente à laquelle les personnes en surpoids et atteintes d'obésité sont confrontées pour perdre du poids et maintenir cette perte de poids sur le long terme. Cependant, selon une évaluation critique

de plusieurs programmes diététiques par le National Institute of Health (NIH), la réduction des calories alimentaires et les changements de régime peuvent favoriser la perte de poids (Atallah et al., 2014). Par exemple, les régimes hypocaloriques (LCD) représentant 1 000 à 1 200 kcal/jour peuvent réduire le poids corporel total de 8% en moyenne sur 3 à 12 mois. De plus, toute modification de la composition du régime alimentaire par réduction des graisses est également liée à une perte de poids. Par exemple, les régimes pauvres en graisses (LFD) constitués de 20% à 30% de calories provenant des graisses, aident à favoriser la perte de poids (Heshmatpour, 2015; Mun et al., 2001). Cependant, il convient de souligner que le régime cétogène (faisant référence à un faible apport en glucides et à un apport élevé en graisses ou en protéines pour induire la cétose, qui fait référence à un état métabolique où la graisse fournit la majeure partie du carburant pour le corps, peut également aider les patients à perdre du poids (Ting, Dugré, Allan, & Lindblad, 2018). Il a été prouvé que les régimes étaient également efficaces pour favoriser une perte de poids cliniquement significative et le maintien de la perte de poids sur une période de 2 ans (Sacks, Bray, et al., 2009).

2.1.2. Exercice

L'exercice et l'activité physique sont des facteurs clés pour réduire la perte de poids. L'augmentation de l'activité physique est un facteur clé pour perdre du poids, car elle augmente la dépense énergétique (DE). Par exemple, le maintien de la perte de poids est facilité par l'exercice régulier (Heshmatpour, 2015). De plus, l'activité physique joue un rôle important dans la réduction du risque de maladie cardiaque plus que ne le permet la seule

perte de poids. La majorité des gens peuvent avoir besoin de pratiquer 45 à 60 minutes d'activité d'intensité modérée par jour, s'il n'y a pas de réduction de la consommation d'énergie. Cependant, les personnes précédemment atteintes d'obésité peuvent avoir besoin de pratiquer 60 à 90 minutes d'activité par jour pour éviter toute reprise de poids (NICE, 2013). Il convient de noter qu'un nombre variable d'activités et ou de tâches ménagères telles que la marche, la danse, le jardinage et les sports d'équipe ou individuels, ainsi que certaines activités professionnelles (par exemple le bûcheronnage et la construction) peuvent également contribuer à réduire le poids. Cependant, si l'activité physique ne s'accompagne pas d'un apport énergétique modéré, elle ne parvient pas à maintenir un poids corporel dans une fourchette normale. Une bonne illustration serait les guerriers sumos qui sont des personnes atteintes d'obésité et très actives consommant 5 repas par jour (Heshmatpour, 2015).

2.1.3. Thérapie comportementale

Cette forme de thérapie cherche à identifier et modifier des comportements autodestructeurs ou malsains conduisant à la prise de poids. Les stratégies comportementales spécifiques comprennent l'auto-surveillance, la gestion du stress, le contrôle des stimuli, la résolution des problèmes, la gestion des contingences, la restructuration cognitive et le soutien social. Par conséquent, dans l'obésité, la thérapie comportementale cherche à identifier les fringales afin de réduire ou de déconnecter les événements stimulants qui favorisent la suralimentation. Les preuves existantes

soutiennent que la thérapie comportementale peut être un traitement d'appoint pour perdre du poids ainsi que pour maintenir la perte de poids (Heshmatpour, 2015).

2.2. Procédures chirurgicales de l'obésité

Le terme « chirurgie bariatrique » (CB) décrit différentes procédures de perte de poids chirurgicale soutenue. Lorsqu'elle est pratiquée, la chirurgie bariatrique modifie la voie gastro-intestinale afin de contrôler la quantité de nourriture que l'estomac peut ingérer (restriction) ainsi que la quantité de nutriments absorbés par le tractus intestinal (malabsorption) (Elder & Wolfe, 2007). La recherche confirme que la CB est une technique efficace de perte de poids à long terme pour les personnes atteintes d'obésité morbide (Nguyen & Varela, 2016). Pour la majorité des patients atteintes d'obésité morbide, la CB peut aider à améliorer non seulement la perte de poids, mais aussi les comorbidités associées à l'obésité telles que le DT₂, la HTA, le SAOS, ainsi que la qualité de vie et la diminution du risque de mortalité global (Elder & Wolfe, 2007). En 1991, le National Institute of Health (NIH) dans sa déclaration de conférence de consensus a recommandé la CB pour les personnes atteintes d'obésité sévère qui avaient un IMC > 35 kg /m² présentant au moins une comorbidité liée à l'obésité qui comprend DT₂, HTA, et SAOS, ou avec un IMC > 40 kg/m² (National, 1991) avec ou sans comorbidités. Selon le NIH, la sélection des patients pour CB nécessite une équipe multidisciplinaire avec une évaluation médicale, chirurgicale, psychiatrique et nutritionnelle (Nguyen & Varela, 2016).

À ce jour, les procédures de CB contemporaines incluent l'anneau gastrique ajustable (AGB), la dérivation gastrique de Roux-en-Y (RYGB), la gastrectomie en manchon (GM) et

la dérivation biliopancréatique avec interrupteur duodéanal (DBP-SD), cependant seules le RYGB et la GM seront abordées ici. L'immense majorité de ces interventions chirurgicales utilisent une technique appelée « laparoscopie » qui se caractérise par l'insertion d'un instrument à fibre optique à travers la paroi abdominale pour observer les organes situés dans l'abdomen ou permettre une chirurgie à petite échelle (Merdan, 2013). Il y a plusieurs avantages à cette technique comme la récupération rapide, la réduction de la douleur postopératoire et la diminution des complications associées à la plaie, par rapport à la chirurgie ouverte (Nguyen & Varela, 2016).

2.2.1. Bypass gastrique avec anse de Roux-en-Y (RYGB)

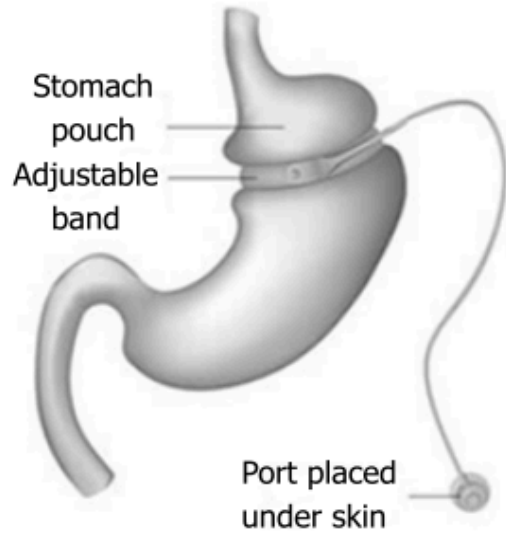
Le RYGB est l'une des premières procédures bariatriques apparues au milieu des années 1960 et développée par Edward Mason en réaction à une augmentation des taux de complications suite à un pontage intestinal iléojéjunal. Cette technique fait référence à une malabsorption, une consommation alimentaire réduite et des bénéfices considérables liés à la perte de poids, mais des taux de complications déraisonnables (Wolfe et al., 2016). Cette procédure est basée sur la transection de l'estomac pour créer une poche gastrique qui mesure relativement 28 grammes. Après la gastro-jéjunostomie de Roux-en-Y (qui est une procédure peu invasive où un long tube semblable à un cathéter (appelé gastro-jéjunostomie) est inséré à travers l'abdomen et dans l'intestin grêle), la nourriture ingérée est redirigée du corps de l'estomac au duodénum et jéjunum proximal. Ainsi, cette procédure ne modifie pas les troncs vagues (appelés nerfs antérieurs et postérieurs dans lesquels le plexus œsophagien se fraye un chemin en longeant le diaphragme). Cependant,

une fraction inconstante de branches au corps de l'estomac est séparée lors du processus de division de l'estomac. La malabsorption de l'énergie constituée de nutriments est significativement faible, ainsi que la malabsorption d'autres micronutriments tels que le calcium, le fer et la vitamine B12 (Wolfe et al., 2016).

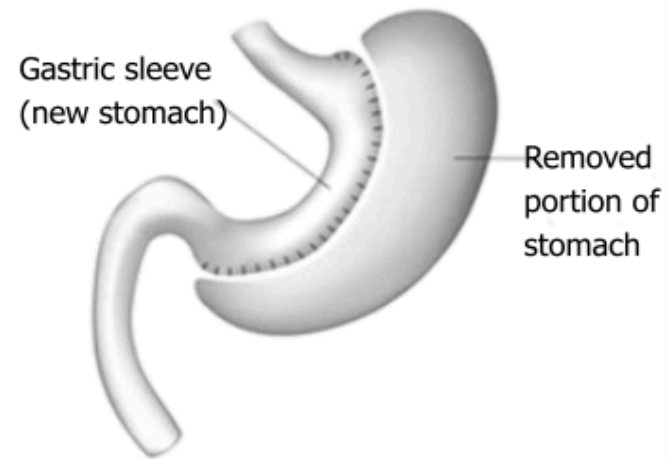
2.2.2. Gastrectomie à manches (GM)

La GM également connue sous le nom de manche gastrique ou par son nom anglais « sleeve » est un type de chirurgie bariatrique de perte de poids qui réduit l'estomac. Cette procédure consiste à retirer près de 80% de l'estomac afin de laisser un mince manchon vertical (semblable à une banane), ou tube, au lieu de l'estomac de taille normale. Cela conduit à une incapacité à ingérer la quantité habituelle de nourriture comme avant la procédure. Cette procédure ne nécessite pas d'anastomose (qui est dans ce cas la connexion entre le gastro-intestinal et l'intestin grêle). Ainsi, elle peut restreindre la consommation alimentaire. Cependant, la vidange gastrique (qui est l'éjection du contenu de l'estomac) est augmentée (Wolfe et al., 2016). Actuellement, la GM est l'une des procédures bariatriques les plus courantes aux États-Unis et dans le monde (Nguyen & Varela, 2016). (Figure 7).

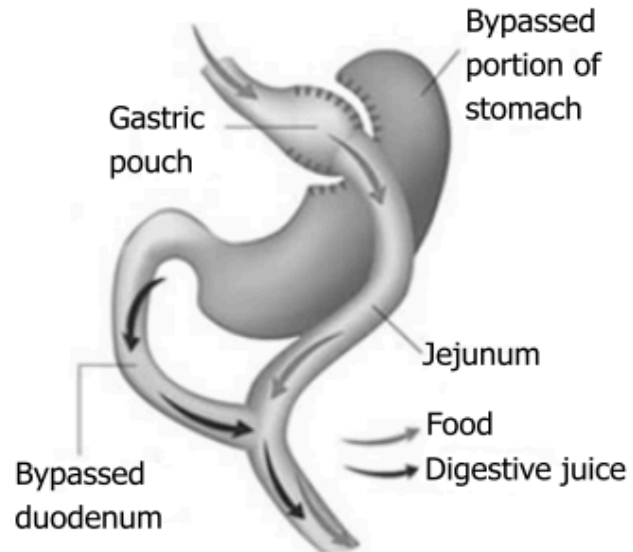
Adjustable gastric band



Sleeve gastrectomy



Roux-en-Y gastric bypass



Biliopancreatic diversion

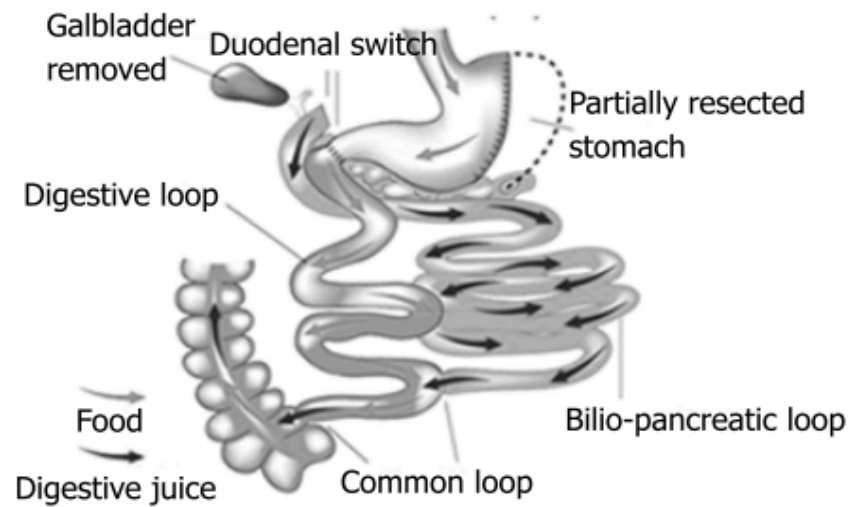


Figure 7 : Les chirurgies bariatriques habituellement pratiquées (Adjustable gastric band= Anneau gastrique ajustable; Sleeve gastrectomy = gastrectomie à manchon; Roux-en-Y gastric bypass= Bypass gastrique de Roux-en Y; Bilopancreatic diversion=Diversion bilopancreatique). Basé sur (Akoh, 2011) (article publié par World Journal of Diabetes (une revue en libre accès qui est distribuée sous les termes de la licence Creative Commons Attribution-Noncommercial (CC BY-NC 4.0), pour laquelle aucune autorisation officielle n'est nécessaire pour la reproduction).

2.3. Les effets de la chirurgie bariatrique

2.3.1. Les effets à long-terme de la chirurgie bariatrique

Les effets liés à la CB comprennent la perte de poids, les changements de comorbidités associées à l'obésité, les changements de qualité de vie et la survie à long terme. La perte de poids est considérée comme l'objectif principal de la CB, et elle conduit fréquemment à une amélioration ou à une rémission de plusieurs complications associées à l'obésité (Nguyen & Varela, 2016). Des données probantes provenant des États-Unis et d'Europe ont révélé que la perte de poids après RYGB est proche de 15,9% du poids corporel total à trois ans. La perte de poids après DBP-SD a tendance à être très légèrement supérieure à celle de la perte de poids après RYGB. Par exemple, la perte de poids après GM et RYGB est légèrement moindre aux États-Unis et en Europe en comparaison de l'Australie (Wolfe et al., 2016). Un autre résultat important de la CB est l'amélioration de la qualité de vie. Une étude menée par l'Université catholique de Rome a révélé que les patients assignés à la chirurgie bariatrique présentaient des scores de qualité de vie significativement plus élevés dans les domaines de la santé ($P < 0,05$) que les patients traités médicalement (G. et al., 2012).

2.3.2. Échec et succès de la perte de poids après CB

Pour les patients atteints d'obésité sévère présentant un IMC $>35\text{kg}/\text{m}^2$ et souffrant d'autres comorbidités, la CB représente l'option thérapeutique la plus efficace dans le but d'atteindre une perte de poids significative et une rémission des complications liées à l'obésité. Cependant, les patients bénéficiant de CB n'atteignent pas toujours l'objectif visé

dans leur processus de perte de poids qui est caractérisé par une perte de poids d'au moins de 50% de l'excès de poids dans les deux années suivant la CB, et le pourcentage de patients n'atteignant pas cet objectif est estimé à 15-35% (Cadena-Obando et al., 2020). Plusieurs facteurs sont souvent associés à cet échec, tels par exemple les problèmes de comportement, les facteurs sociaux et démographiques, la technique chirurgicale et même les polymorphismes génétiques. Il a été rapporté que l'âge est l'un des facteurs prédictifs les plus consistants, les personnes plus âgées ayant souvent une moins bonne réponse à la CB. Plusieurs études ont montré que les patients ayant un IMC initial très élevé sont les moins susceptibles d'atteindre un poids normal. Un $IMC > 50 \text{ kg/m}^2$ est par exemple un facteur de risque d'échec après CB (Barhouch et al., 2016; Cazzo, Da Silva, Pareja, & Chaim, 2014; Nickel et al., 2019). En revanche, il a été considéré que le respect des plans nutritionnels et d'exercice sont des facteurs de bon pronostic pour une perte de poids significative (Sheets et al., 2015).

2.3.3. Aspects métaboliques de la CB

La CB n'a pas seulement pour effets bénéfiques une perte de poids soutenue et une meilleure qualité de vie. Les autres avantages connus de la CB sont une réduction de toutes les comorbidités tels qu'un profil métabolique plus favorable, impliquant une nette amélioration de la qualité de vie et la résolution des facteurs de risque cardiovasculaires avec des taux de triglycérides inférieurs et des taux de HDL-C plus élevés chez la plupart des patients 1 an après la chirurgie (Cornejo-Pareja, Clemente-Postigo, & Tinahones, 2019). Des études ont exploré les changements métaboliques qui peuvent se produire après les différentes techniques chirurgicales, et leur exploration ont montré que

ces nombreuses techniques normalement utilisées en CB conduisent à une rémission partielle ou totale du T2D, estimée à 34-85,3%, dépendamment des critères utilisés pour définir la rémission en T2D, et le succès du control glycémique global a été estimé à 95%. La comparaison entre plusieurs techniques chirurgicales a montré que la DBP est la technique chirurgicale la plus efficace pour le traitement du T2D. Il a été rapporté que la DBP conduit à de meilleurs résultats liés à la perte de poids soutenue, au contrôle glycémique et à l'amélioration du profil lipidique que toute autre technique chirurgicale incluant le BGRY (Cornejo-Pareja, Clemente-Postigo, & Tinahones, 2019).

2.3.4. Tendances de la prévalence de la CB

À ce jour, le nombre de procédures métaboliques et bariatriques est actuellement estimé dans le monde à > 1% de la population éligible souffrant d'obésité sévère (Bhandari et al., 2019). L'American Society for Metabolic and Bariatric Surgery (ASMBS) a rapporté que le nombre d'opérations bariatriques effectuées aux États-Unis était passé de 158000 procédures en 2011 à 193000 procédures en 2014, tandis que dans le monde, le nombre estimé de CB pratiquées en 2013 atteignait 468609 dont la plupart a été réalisée aux États-Unis et au Canada. Actuellement, le RYGB est la procédure la plus courante réalisée dans le monde avec une estimation de 45% suivie de la GM (37%) (Welbourn et al., 2019).

2.4. Sécurité des procédures de chirurgie bariatrique (CB)

Au cours des deux dernières décennies, la sécurité des CB s'est considérablement améliorée. Jusqu'aux années 1990, le taux de mortalité associé à la CB était de 0,5 à 1,0% (Nguyen, Vu, Kim, Bodunova, & Phelan, 2016). Ce taux de mortalité était substantiellement élevé pour un traitement de perte de poids contre l'obésité. De plus, ce taux de mortalité élevé lié à la CB est resté élevé jusqu'au début des années 2000 avec les progrès et la diffusion de la technique dite de « laparoscopie » pour la CB. Ainsi, ce taux de mortalité élevé était plus associé à l'inexpérience des chirurgiens pratiquant cette procédure qu'à la technique elle-même. Depuis lors, la mortalité liée à la CB a été réduite à 0,1-0,3%, ce qui peut s'expliquer par de multiples facteurs tels qu'une meilleure formation des chirurgiens médicaux pour réduire les effets indésirables considérables au cours du processus d'apprentissage, et l'exécution de la procédure laparoscopique RYGB (Nguyen & Varela, 2016; Nguyen et al., 2016).

De multiples complications à moyen et long terme liées aux procédures de CB ont été rapportées telles que l'obstruction intestinale, l'ulcère marginal, les vomissements, le syndrome de dumping, la malnutrition, la hernie et les calculs biliaires (Wolfe et al., 2016). En outre, il existe des complications métaboliques telles que la néphrolithiase (calculs rénaux) ou les hypoglycémies. Des carences en minéraux et en vitamines comme le fer, le calcium, le cuivre, les vitamines (notamment la vitamine B12), le cuivre et la thiamine sont également rapportées chez un grand nombre de patients (Mechanick et al., 2013).

2.5. Post- chirurgie et problèmes nutritionnels à long terme

2.5.1. Carences nutritionnelles en macro et micronutriments et complications postopératoires

La CB n'est pas sans conséquences puisqu'elle peut entraîner ou aggraver des complications nutritionnelles qui finiront par apparaître à long terme, ce qui pourrait induire des séquelles importantes pour la santé des patients. Indépendamment de la technique utilisée, la CB remodèle dans une certaine mesure l'anatomie et la physiologie du tractus gastro-intestinal, ce qui rend les patients bariatriques plus vulnérables au développement de complications nutritionnelles telles que des carences en macro et micronutriments (Akoh, 2011).

Les carences nutritionnelles de certains micronutriments et macronutriments après la CB sont un problème pour les patients depuis des décennies, mais elles sont largement différentes en termes de prévalence et de gravité dépendant du type de chirurgie. Parmi les conséquences éventuelles, les carences nutritionnelles sont connues pour être parmi les plus étudiées. La CB induit une réduction de l'apport et / ou une malabsorption des nutriments, qui apparaissent normalement après des techniques malabsorptives ou mixtes quant aux techniques restrictives (Xanthakos, 2009). (Figure 8).

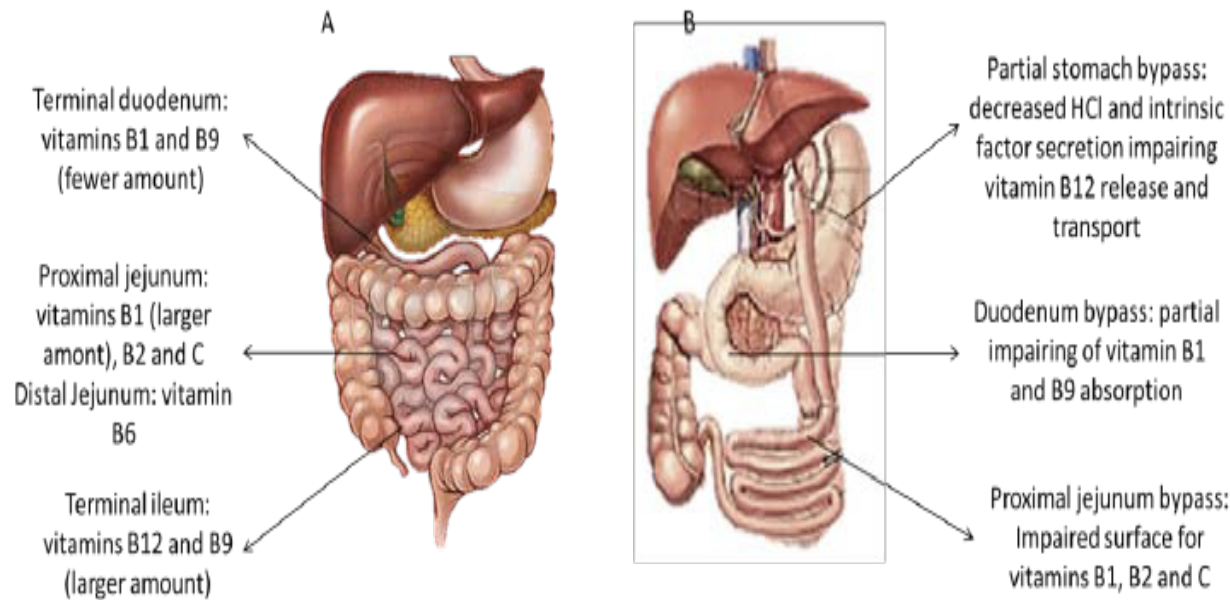


Figure 8: Illustration des modifications anatomiques induites par le RYGB. La figure illustre les modifications anatomiques induites par la chirurgie du pontage gastrique de Roux-en-Y (RYGB) et son impact sur l'absorption des micronutriments dans le tract-gastro-intestinal, (a) et la disposition anatomique du trac-gastro-intestinal après RYGB (b). (Barcelos et al., 2015). (Article publié dans Austin Journal of Nutrition and Metabolism) Hyrticle d'accès distribué sous les termes de la licence Creative Commons Attribution-Noncommercial (CC BY-NC), pour laquelle aucune autorisation officielle n'est nécessaire pour la reproduction).

Il est également connu que certains patients présentent des complications postopératoires avec des répercussions cliniques et nutritionnelles plus ou moins importantes. Ces complications peuvent être précoces ou tardives. Les complications précoces surviennent dans les 30 premiers jours suivant la chirurgie, notamment le syndrome de dumping et les intolérances alimentaires, et les complications tardives surviennent des mois / années après la chirurgie, y compris des carences en macronutriments et en micronutriments, des complications nutritionnelles à long terme telles que l'ostéoporose, des complications neurologiques, des maladies cardiovasculaires, une perte de poids et/ou une reprise excessive de poids (DI, 2016)

2.5.1.1. Complications précoces après CB

Le syndrome de dumping est caractérisé par l'arrivée soudaine d'aliments à haute osmolarité dans le jéjunum, provoquant une surcharge osmotique. Elle peut être classée comme suit : précoce lorsqu'elle survient pendant ou juste après un repas, ou tardive lorsqu'elle survient d'une à trois heures après la consommation alimentaire. Les symptômes les plus courants sont les douleurs et crampes abdominales, les nausées, les maux de tête, les vomissements, la diarrhée, la transpiration et la tachycardie, mais étourdissements, asthénie et fatigue peuvent également survenir dans le syndrome de dumping tardif. Pour de nombreux patients, ces interactions ou complications indésirables les rendent plus conscients de leurs choix alimentaires. Néanmoins, d'autres patients peuvent devenir aversifs à certains aliments liés au syndrome, en particulier avec des teneurs élevées en énergie, en lactose et en sucres ajoutés (DI, 2016).

Après une chirurgie bariatrique, on sait que plusieurs patients peuvent développer un certain degré d'intolérance alimentaire qui se caractérise par une réaction physiologique anormale à un aliment qui n'est pas nécessairement associée au syndrome de dumping. Normalement, certaines intolérances alimentaires peuvent être dues à la procédure chirurgicale, ainsi qu'aux habitudes alimentaires postopératoires. Par exemple, le riz, le pain blanc, les bonbons, les pâtes, le lait et le bœuf ne sont généralement pas acceptés par ce groupe de patients intolérants. À l'inverse, l'intolérance aux aliments riches en lactose peut être due au by-pass intestinal, qui nuit à la production de lactase. De plus, l'intolérance alimentaire à la viande rouge peut être liée à une mauvaise mastication ainsi qu'à une faible production gastrique de pepsine. Les intolérances étant plus fréquentes dans les premiers mois suivant la chirurgie, ces aliments précités peuvent être retirés de l'alimentation des patients afin d'éviter la peur ou tout trouble psychologique (DI, 2016).

2.5.2. Problèmes de santé nutritionnelle après CB

La carence nutritionnelle liée à la CB est un sujet d'intérêt particulier chez les patients atteints d'obésité subissant une chirurgie bariatrique en préopératoire et postopératoire.

2.5.2.1. Carence en macronutriments après CB

Il est bien connu que tous les types de CB peuvent réduire l'apport calorique total, en particulier dans les 6 premiers mois suivant CB, variant principalement de 700 à 900 Kcal /jour après RYGB, ce qui peut conduire à une diminution de l'apport de tous les macronutriments, en particulier les protéines (Bavaresco et al., 2010). Les protéines sont

l'un des principaux nutriments affectés par la CB. L'intolérance aux aliments riches en protéines peut provoquer une malnutrition protéique, dont les manifestations cliniques comprennent l'hypoalbuminémie, l'anémie, l'œdème et l'asthénie (Bavaresco et al., 2010). Ces complications sont généralement liées à une malabsorption excessive des segments de contournement de l'intestin grêle (qui est le site d'absorption des protéines) (Richard D. Bloomberg et al., 2005). Alors que la carence en protéines (albumine <3,5 g/dL) est principalement observée dans les procédures de malabsorption telles que DBP-SD, elle peut également survenir après le RYGB (Richard D. Bloomberg et al., 2005).

2.5.2.2. Carence en micronutriments après CB

Les carences en micronutriments sont connues pour être les complications indésirables à long terme les plus probables après la CB, ce qui peut conduire à un large éventail de carences comme décrit ci-dessous.

2.5.2.2.1. Anémie et carence en fer

Entre 33% et 49% des patients subissant une chirurgie bariatrique présentent une anémie dans les 2 ans suivant la chirurgie, et cette anémie post-bariatrique est due dans la plupart des cas à une carence en micronutriments tels que le fer (défaut d'apport ou d'absorption). La carence en fer peut être caractérisée par un large éventail de causes. La réduction de l'absorption du fer est généralement due à l'hypochloridrie et au contournement du duodénum et du jéjunum proximal, où le fer est absorbé (Aarts, Van Wageningen, Janssen, & Berends, 2012; Akoh, 2011).

2.5.2.2.2. Carence en calcium et vitamine D

Il est bien connu qu'une carence en calcium et en vitamine D peut survenir chez les patients subissant une chirurgie bariatrique. Le calcium est absorbé dans le duodénum et le jéjunum proximal, tandis que les sites d'absorption de la vitamine D sont préférentiellement le jéjunum et l'iléon (Richard D. Bloomberg et al., 2005). La CB modifie le métabolisme osseux, ce qui entraîne des changements significatifs, notamment une malabsorption du calcium et de la vitamine D avec hyperparathyroïdie secondaire, des carences nutritionnelles, des changements dans la masse grasse et des modifications des hormones dérivées des graisses et de l'intestin. La réduction de l'absorption du calcium est due à la perte d'action acide. Une augmentation de l'hormone parathyroïdienne (PTH) sérique intacte indique un bilan calcique négatif ou une carence en vitamine D, ou les deux (Ziegler et al., 2009). L'obésité est un facteur de risque causal de la carence en vitamine D, le risque de carence étant amplifié après CB (Vimalaswaran et al., 2013).

2.5.2.2.3. Magnésium, zinc, cuivre et sélénium

Même si peu d'études se concentrent sur ces minéraux essentiels, on sait que leur carence pourrait provoquer diverses manifestations cliniques dans le cerveau, le cœur et l'intestin. On sait que les carences minérales sont plus fréquentes après la CB, bien que la prévalence de ces perturbations dans la plupart des cas puisse déjà être observée avant la CB (Akoh, 2011). Il convient de mentionner que les carences en vitamines telles que A, E et K ne sont pas commune après CB (Ziegler et al., 2009).

2.5.2.2.4. Vitamine B9

Une carence en acide folique est une complication possible des techniques bariatriques pouvant entraîner une anémie. Parmi les manifestations cliniques de la carence en acide folique figurent l'anémie macrocytaire et la leucopénie. Une carence en acide folique peut également entraîner un retard de croissance, et chez la femme enceinte, elle induit des anomalies congénitales (anomalie de fermeture du tube neural). Étant donné que l'absorption de l'acide folique se produit dans l'intestin grêle, de préférence dans la partie proximale de l'intestin, la carence est essentiellement provoquée par un manque d'apport alimentaire au lieu d'une malabsorption. De plus, une carence en acide folique peut être causée par une carence en vitamine B12 car elle est importante pour la conversion du méthyl-tétrahydrofolate inactif en tétrahydrofolate actif (Akoh, 2011; Alvarez-Leite, 2004).

2.5.2.2.5. Vitamine B12

La carence en vitamine B12 est également fréquente après CB essentiellement lorsque des techniques restrictives et malabsorptives sont utilisées. Une carence en vitamine B12 peut résulter d'un manque de sécrétion de facteur intrinsèque, d'une acidité gastrique limitée et principalement du contournement du duodénum, qui est le site d'absorption de la vitamine B12. On sait que le corps humain peut stocker la vitamine B12 pendant plusieurs années, ce qui peut retarder ses manifestations cliniques de carence en B12 après la CB. Les manifestations cliniques de la carence en vitamine B12 comprennent une anémie macrocytaire, des symptômes neurologiques et psychiatriques tels que paresthésie

(sensation de fourmillements ou de brûlure), engourdissement, troubles de la coordination, troubles de la mémoire (Akoh, 2011).

En revanche, certains facteurs de risque peuvent également entraîner une carence en vitamine B₁₂ comme une prolifération bactérienne de l'intestin grêle, des troubles digestifs (p. ex., maladie de Crohn et maladie cœliaque), des médicaments comme la metformine, des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, des inhibiteurs H₂ (réducteurs d'acide), un inhibiteur de la pompe à protons, (colchicine), ainsi que des altérations chirurgicales de l'estomac résultant de la voie métabolique complexe de l'absorption de la vitamine B₁₂ (Frame-Peterson, Megill, Carobrese, & Schweitzer, 2017). Parmi toutes les carences en micronutriments mentionnées ci-dessus, la carence en vitamine B₁₂ est l'une des plus étudiées chez les patients de CB suivis en postopératoire. Lors de l'examen des biomarqueurs du statut B₁₂, dont l'acide méthylmalonique (AMM) et l'holotranscobalamine (HoloTC) après deux types différents de CB (RYGB et GM), une étude récente a montré que l'absorption de B₁₂ est considérablement diminuée (Kornerup, Hvas, Abild, Richelsen, & Nexø, 2019). Dans le même ordre d'idées, une autre étude a révélé que les patients ayant subi un RYGB avaient considérablement diminué l'absorption de la vitamine B₁₂ après une intervention chirurgicale (Yale, Gohdes, & Schilling, 1993).

Il est important de préciser le rôle de la vitamine B₁₂ dans le cycle des monocarbones. Le principal rôle de la vitamine B₁₂ consiste à apporter le groupement méthyl. La vitamine B₁₂ est transportée sous forme de cobalamine dans les cellules pour être libérée sous forme de

transcobalamine II (TCII). En revanche, la cobalamine se transforme en AdoCbl et MeCbl. Par conséquent, deux réactions interviennent dans le métabolisme intracellulaire de la cobalamine, la première se produit dans le cytoplasme où la méthionine synthase étant une enzyme cytoplasmique, utilise la vitamine B₁₂ ou méthyl-cobalamine (MeCbl) comme cofacteur. Cette dernière transfère le groupement méthyle du N-méthyl-tetrahydrofolate, (N₅-METHF) vers l'homocystéine afin de créer la méthionine et le tétrahydrofolate (THF) (Guéant et al., 2013), qui donnera lieu à une réaction de transméthylation jouant un rôle très important dans 2 cycles métaboliques connus sous les noms de cycles de la méthionine et des folates (Green et al., 2017). Il est important de mentionner que cette réaction transforme la MeCbl en cobalamine. Par conséquent, une carence en vitamine B₁₂ a pour conséquence une élévation du N₅-METHF et conséquemment une déplétion du THF, limitant ainsi la synthèse de thymidylate nécessaire à la synthèse d'ADN.

En ce qui concerne la deuxième réaction, cette dernière se produit dans la mitochondrie où la cobalamine adenosyltransférase à l'aide de la cobalamine réductase active la réduction de la cobalamine en AdoCbl. L'AdoCbl étant la coenzyme de la méthylmalonyl-CoA mutase, intervient dans la transformation du méthylmalonyl-CoA en succinyl-CoA (Guéant et al., 2013), ce qui intervient à la fois dans le cycle de Krebs et la néoglucogenèse (Kräutler, 2005). Ces derniers ne sont pas l'objet de cette thèse, donc ils ne seront pas abordés ici.

Une carence en donneurs de groupement méthyles plus particulièrement la vitamine B₁₂ produit une stéatose hépatique, une obésité centrale et une augmentation de l'insulino-

résistance. En effet, dans les pays à faible revenu tels que le Népal et l'Inde, il a été montré que les réserves maternelles en vitamine B₁₂ sont souvent épuisées chez les femmes, en raison des concentrations de vitamine B₁₂ dans le lait maternel qui reflètent les réserves maternelles en vitamines B₁₂ (Gernand, Schulze, Stewart, West, & Christian, 2016; Jiang, Christian, Khatry, Wu, & West, 2005). En outre, il a été aussi rapporté que des concentrations suboptimales de vitamine B₁₂ pendant la grossesse sont indépendamment associées à des complications telles qu'un petit poids à la naissance, un mauvais profil lipidique chez les nouveau-nés, et une forte résistance à l'insuline chez les enfants. Par conséquent, le petit poids à la naissance est un marqueur pour les complications métaboliques telles par exemple l'obésité, le diabète de type 2 et le syndrome métabolique, pouvant affecter la vie de la progéniture à l'âge adulte (Sukumar et al., 2016; C. S. Yajnik et al., 2008a). Donc, il est important de souligner que le phénotype du nouveau-né indien maigre mais adipeux « thin-fat » est associé à des complications métaboliques (Chittaranjan Sakerlal Yajnik & Deshmukh, 2012). (Figure 9). Il faut aussi noter que la prévalence de l'obésité est élevée dans ces populations, et qu'il a été aussi montré une association entre l'obésité et les faibles concentrations de vitamine B₁₂ (Sukumar et al., 2016).

Une étude française ayant créé un modèle de programmation fœtale du déficit en groupement méthyl a montré qu'une déficience en folate et vitamine B₁₂ pendant la gestation et la lactation des mères rats produise un petit poids à la naissance, une augmentation de la masse grasseuse centrale, et une résistance subséquente à l'insuline

dans l'enfance (Bison et al., 2016), cette étude française corrobore les observations faites dans les populations indiennes et népalaises sur la prévalence élevée de la vitamine B12 pendant la grossesse.



Figure 9: Illustration du nouveau-né indien. La figure illustre le nouveau-né indien présentant un phénotype maigre mais adipeux. (C. H. D. Fall, 2011) (Article publié dans *Annals of Human Biology*).

A noter que, mis à part la carence nutritionnelle après CB, des facteurs génétiques et épigénétiques contribuent aussi à la perte de poids après CB, et ces derniers seront abordés dans le chapitre qui suit.

L'obésité est-elle héréditaire? Quels rôles jouent la génétique et l'épigénétique dans l'obésité ?

2.6. Aspects génétiques de l'obésité

2.6.1. L'obésité est une maladie héréditaire

Bien que les facteurs environnementaux jouent un rôle important dans l'obésité, les variations génétiques sont également un facteur clé de sa pathogenèse. Ainsi, cette nature complexe et multifactorielle de l'obésité humaine implique des interactions entre de multiples gènes qui régulent la physiologie de la consommation d'énergie, la dépense énergétique, la digestion, les schémas comportementaux par rapport à la nourriture et l'environnement (Helali, Iti, Ismail, & Haque, 2013; Pigeyre et al., 2016). Des études de jumeaux, d'adoption, de familles, et de populations métissées ou non ont confirmé que les facteurs génétiques de l'obésité représentent 23 à 75% de la variabilité de l'IMC chez les humains (L. Sheng, M. Christopher, 2016; Stryjecki et al., 2017; G. Yang, Sau, Lai, Cichon, & Li, 2014). Ceci est illustré par le fait que les enfants dont les deux parents biologiques souffrent d'obésité présentent un risque 10 fois plus élevé de développer l'obésité que les enfants dont les deux parents ne souffrent pas d'obésité (Cunningham, 1997). Cependant, il convient de souligner que dans les études familiales, ce fait est plus difficile à prouver car cette corrélation peut être due à des facteurs génétiques ou environnementaux (Albuquerque, Nóbrega, Manco, & Padez, 2017). Plusieurs études de jumeaux indiquent que l'environnement familial ne joue pas un rôle important dans l'étiologie de l'obésité, par exemple les comparaisons entre les jumeaux élevés ensemble et les jumeaux élevés séparément ont suggéré qu'un environnement familial partagé ne contribue qu'à très peu de similitude dans l'étude de la masse corporelle (Karri Silventoinen & Konttinen, 2020). En outre, des études d'adoption ont montré que le poids et le mode de vie des parents

adoptifs n'ont qu'une influence limitée sur le poids des enfants adoptés (K. Silventoinen, Rokholm, Kaprio, & Sørensen, 2010). Il est intéressant de noter que l'obésité humaine est généralement classée en différents sous-groupes en fonction de l'étiologie, incluant l'obésité mendélienne ou monogénique, et l'obésité polygénique.

2.6.2. Obésité mendélienne ou monogénique

L'obésité mendélienne ou monogénique concerne des individus porteurs d'un variant génétique rare avec un effet puissant sur l'excès de poids corporel / l'adiposité. Il convient de noter que l'obésité monogénique peut être classée comme syndromique ou non syndromique. L'obésité syndromique désigne une obésité mendélienne accompagnée de caractéristiques cliniques additionnelles telles qu'un retard mental, des caractéristiques dysmorphiques et des anomalies du développement spécifiques à un organe. Ces formes syndromiques d'obésité sont causées par des anomalies chromosomiques ou des mutations ponctuelles, qui peuvent être des troubles autosomiques ou liés à l'X (H. Reddon, Gueant, & Meyre, 2016). Par exemple, le syndrome de Prader-Willi (SPW) est l'une des formes les plus fréquentes d'obésité syndromique induite par une anomalie chromosomique d'une région imprimée sur le chromosome 15q11-q12. Le SPW est caractérisé par une obésité précoce dérivant d'une hyperphagie induite par un dysfonctionnement du système nerveux central (SNC) (Ruth J.F. Loos & Janssens, 2017). À ce jour, 79 formes syndromiques d'obésité ont été identifiées, parmi lesquelles seulement 19 (24,1%) ont été complètement élucidées génétiquement et 11 (13,9%) ont été partiellement élucidées. Un syndrome complètement élucidé peut être défini comme un syndrome dans lequel le ou les gènes responsables de la

maladie ont été identifiés, alors que l'élucidation partielle est définie comme l'identification d'une sous-fraction des gènes pathogènes. 49 sont encore à élucider, parmi eux 27 ont une localisation chromosomique connue, et pour les 22 restants, ni les gènes ni les localisations chromosomiques n'ont encore été identifiés (Kaur, de Souza, Gibson, & Meyre, 2017). L'obésité monogénique non syndromique est caractérisée par des mutations délétères ou des variations structurelles des gènes qui jouent un rôle dans la voie leptine/mélanocortine. La leptine est une hormone digestive peptidique produite par le tissu adipeux qui circule et à l'aide de son récepteur spécifique se fixe au niveau du noyau arqué de l'hypothalamus, ce qui stimule l'action du gène *POMC* produisant l'alpha-MSH ; la mélanocortine accélère son récepteur membranaire (*MC4R*) lié aux protéines G enchainant un processus de contrôle négatif de l'appétit (Froguel, 2015); ces formes d'obésité se caractérisent principalement par une obésité hyperphagique précoce, et dans certains cas des anomalies endocriniennes telles que l'hyperinsulinémie et l'augmentation de la croissance linéaire (Paolacci et al., 2019; H. Reddon et al., 2016).

Les gènes monogéniques les plus étudiés sont *LEP*, *LEPR*, *POMC*, *PCSK1*, *MC4R*, *MC3R*, *ADCY3*, *MRAP2* et *KSR2*. Ces gènes représentent les formes les plus courantes d'obésité monogénique. A titre d'illustration, les porteurs de mutations homozygotes/hétérozygotes composites *LEP* et *LEPR* développent une obésité extrême précoce (2 ans). Des porteurs de mutations homozygotes /hétérozygotes composites de *POMC* ont été décrits dans des populations d'ascendance européenne, arabe, sud-asiatique et africaine avec des effets cliniques qui peuvent être observés chez le nouveau-né et une insuffisance hépatique en

plus de l'obésité hyperphagique précoce, tandis que les porteurs homozygotes/hétérozygotes composites de mutations de perte de fonction dans *PCSK1* ont été rapportées dans des populations d'Europe, d'Afrique et d'Arabie, avec des caractéristiques cliniques telles que l'hyperphagie, l'hypoglycémie postprandiale, l'hypothyroïdie centrale, le diabète insipide et le dysfonctionnement intestinal. Concernant le gène *MC3R*, des mutations hétérozygotes ont été observées chez des enfants d'origines ethniques différentes (Singapour, Amérique du Nord, Italie et France), et chez des adultes d'ascendance européenne et nord-africaine. Les mutations *MC3R* de perte de fonction sont associées à une forme monogénique d'obésité à pénétrance incomplète. La forme la plus courante d'obésité monogénique concerne le gène *MC4R*. Cliniquement, les sujets porteurs de mutations de perte de fonction homozygotes et hétérozygotes composites présentent une hyperphagie et une prise de poids rapide au début de la vie, ainsi qu'une augmentation de la croissance linéaire, de la masse osseuse et de la masse corporelle maigre et grasse, et une diminution de la pression artérielle. Les porteurs hétérozygotes de mutations de perte de fonction *MC4R* présentent une forme plus bénigne d'obésité monogénique à pénétrance incomplète. Les mutations non-sens ou faux-sens (hétérozygotes) dans *KSR2* montrent une obésité précoce sévère, tandis que les mutations frameshift homozygotes dans *KS2R* présentent une hyperphagie, une résistance à l'insuline, un faible taux métabolique basal et une oxydation limitée du glucose et des acides gras. Alors que les mutations codantes hétérozygotes dans *MRAP2* présentent une obésité précoce sévère, une mutation hétérozygote de perte de fonction dans *ADCY3* conduit à l'obésité (Lunsky & Meyre, 2019).

2.6.3. Obésité polygénique

Pour la majorité de la population, l'obésité est polygénique. Cette forme d'obésité est caractérisée par de multiples variants génétiques qui sont plus ou moins fréquents et ont chacun un effet modeste sur la susceptibilité à prendre du poids, particulièrement si la nourriture est abondante et l'exercice physique limité (Alonso, Farías, Alvarez, & Cuevas, 2015; H. Reddon et al., 2016).

La recherche de variants génétiques liés aux formes polygéniques d'obésité a été conduite selon les hypothèses « Common Disease Common Variant » (CDCV) et « Common Disease Rare Variant » (Schork, Murray, Frazer, & Topol, 2009). Le raisonnement (CDCV) énonce que les facteurs clés qui contribuent aux maladies communes sont des variants génétiques avec une fréquence importante dans la population et une faible pénétrance (la probabilité qu'un porteur du variant pertinent exprime la maladie). Le CDRV, quant à lui, énonce que de nombreux variants génétiques rares, chacun ayant une pénétrance relativement élevée, sont des facteurs clés qui contribuent à la susceptibilité génétique aux maladies chroniques (Pierre & Génin, 2014; Schork et al., 2009). Contrairement aux formes monogéniques d'obésité, l'accumulation de nombreux variants génétiques à risque provenant de différentes régions chromosomiques est un facteur clé dans la définition du phénotype obèse polygénique. Quatre approches principales ont été réalisées pour identifier de nouveaux variants génétiques liés à l'obésité polygénique, telles que le gène candidat, la liaison à l'échelle du génome, la cartographie génétique dans les populations métissées et les études d'association à l'échelle du génome.

2.7. Approches de la génétique de l'obésité avant les GWAS

2.7.1. Étude d'association de gène candidat

Avant 2007, les études d'association de gènes candidats se concentraient sur les gènes susceptibles de jouer un rôle dans la régulation du métabolisme et de la prise alimentaire. L'étude d'association de gène candidat implique des études d'association génétique se concentrant sur les associations entre la variation génétique au sein de gènes d'intérêt préétablis et les phénotypes ou les traits de maladies. Cette approche a été très utilisée pour étudier des caractères complexes, mais s'est révélée peu fructueuse. Par exemple, la sélection de plusieurs centaines de gènes candidats appropriés pour l'obésité était basée sur des preuves biologiques, physiologiques ou pharmacologiques dans la régulation du poids corporel; ces signaux d'association positifs révélés pour la première fois n'ont pour la plupart pas été répliqués de manière cohérente dans les études de réplication de suivi, principalement en raison de la petite taille des échantillons (Helene Choquet & Meyre, 2011; Day & Loos, 2011). On peut cependant citer quelques succès notables dans le domaine de l'obésité, confirmés plus tard par les GWAS, tels que l'association des variants V103I (*MC4R*), V66M (*BDNF*) avec l'IMC (Gunstad, Paul, Cohen, Tate, & Gordon, 2006; Stutzmann et al., 2007).

2.7.2. Étude de liaison génétique

L'étude de liaison génétique fait référence à une méthode basée sur les familles utilisée pour cartographier un trait à un emplacement génomique en déterminant la co-ségrégation

de la maladie avec des marqueurs génétiques de localisation chromosomique connue ; ces emplacements établis, s'ils co- ségrégent avec la maladie, indiquent un déséquilibre de liaison avec un variant génétique causal. Cette approche a conduit à l'identification réussie de plus de 1 200 gènes contribuant aux maladies humaines mendéliennes, mais son application dans l'analyse de traits génétiques complexes est connue pour être plus discutable. Contrairement aux approches gènes candidats, qui sont fondés sur des hypothèses, l'étude de liaison génétique ne repose pas nécessairement sur une hypothèse scientifique et son but est d'identifier des locus génétiques inconnus auparavant pouvant conduire à une nouvelle compréhension de la biologie. Semblable à l'étude de gène candidat, l'étude de liaison génétique a également en grande partie échoué dans les études de répllication de suivi, notamment en raison du fait que de nombreuses études étaient de petite taille dans les échantillons (<1000) et que seules quelques-unes ont été répliquées (Day & Loos, 2011). Une exception notable dans le domaine de l'obésité concerne l'association des variants N221D, Q665E et S690T (*PCSK1*) avec l'obésité (Benzinou et al., 2008), une découverte récemment confirmée par une approche d'association au niveau de l'exome (Turcot et al., 2018).

2.7.3. Cartographie génétique des populations métissées

La cartographie génétique des populations métissées a été utilisée pour identifier des associations entre les loci génétiques et les maladies dans les populations métissées. Cette méthode est basée sur l'observation de la prévalence de certaines maladies ou de la distribution de variations de traits complexes avec l'appartenance ethnique, en partie en raison des différences ethniques dans la fréquence et/ ou l'effet des variants génétiques

causaux. Les marqueurs informatifs d'ascendance (AIM) sont au centre des études de cartographie génétique des populations métissées, car ils sont utilisés à la fois pour déduire l'ascendance locale et identifier les régions génomiques chez les personnes touchées où la proportion d'une ethnie est significativement différente de la moyenne (score LOD ≥ 2). Cette méthode a été principalement conçue pour les populations afro-américaines et hispaniques/latino-américaines, mais elle a été étendue à d'autres populations métissées telles que la population ouïghoure d'Asie centrale. Contrairement à l'analyse de liaison, la cartographie des mélanges a une plus grande puissance pour détecter des variants d'effet modeste, et peut donc être plus appropriée aux enquêtes génétiques sur les maladies polygéniques. Contrairement aux autres approches basées sur les associations, moins de marqueurs sont nécessaires dans les études de cartographie génétique des populations métissées et celles-ci peuvent être conçues comme une étude cas-témoin ou une étude cas uniquement (Tam, Turcotte, & Meyre, 2019).

2.8. Ère de l'étude d'association pangénomique ou GWAS

Semblable à la liaison génétique à l'échelle du génome, l'approche d'ÉTUDES D'ASSOCIATION PANGÉNOMIQUE interroge l'ensemble du génome. L'objectif des GWAS est d'identifier des locus génétiques insoupçonnés auparavant associés à une maladie ou un trait d'intérêt, ainsi que d'élargir nos connaissances de l'étiologie de ces maladies. En outre, les GWAS ciblent le génome entier à des niveaux de densité de marqueurs et de significativité plus importants que l'étude de liaison génétique, ce qui permet d'identifier plus précisément les loci associés. Le GWAS n'exige pas que les

participants soient apparentés, ce qui permet ainsi des échantillons de plus grande taille que les études familiales typiques. Les GWAS ont été rendus possibles par deux avancées majeures : l'une est l'expansion rapide de notre compréhension du génome humain, conjointement avec des progrès importants qui ont été réalisés par la technologie de génotypage à haut débit. Cela a conduit à la possibilité de réaliser des études d'association à l'échelle du génome. Prises ensemble, ces deux avancées majeures ont permis de produire des puces intelligentes qui permettent d'interroger l'ensemble du génome en une seule expérience (Ruth J.F. Loos, 2009). Des études génétiques telles que le séquençage du génome humain et la génération de bases de données de polymorphismes nucléotidiques (SNP), qui incluent le dbSNP (Bolme, Borgstrom, & Carlstrom, 1995) et l'International HapMap (International HapMap Consortium, 2003), ont révolutionné la manière dont les études génétiques étaient menées auparavant.

Cette nouvelle approche est basée sur l'interrogation du génome pour plusieurs centaines de milliers de polymorphismes nucléotidiques uniques (SNPs) sur le génome, qui identifie les SNP qui sont plus souvent présents chez les individus avec une certaine maladie comparés aux sujets sains (en d'autres mots comparaison classique cas-temoins) (Helene Choquet & Meyre, 2011). L'objectif principal du GWAS est d'identifier l'association entre les variants fréquents et les maladies ou traits communs. Cette approche associative a révolutionné le domaine de la génétique des maladies complexes, identifiant un nombre extraordinaire de locus solidement associés au cours des dernières années (Tam et al., 2019; Visscher et al., 2017). Depuis 2007, des GWAS ont été réalisés pour différents traits liés à

l'obésité. Par conséquent, le GWAS s'est révélé être un moyen prometteur d'identifier de nouveaux locus pour l'IMC et le risque d'obésité.

Les GWAS sont aujourd'hui la méthode la plus courante utilisée pour identifier les loci associés à un certain phénotype qui se compose de deux étapes : une étape de découverte, suivie d'au moins une étape de réplification. L'étape de la découverte est celle où plusieurs centaines de milliers de SNPs le long du génome entier sont testés pour trouver une association avec le phénotype étudié. Les études de grandes tailles d'échantillon à ce stade sont connues pour être plus efficaces, en particulier pour les caractères communs à héritabilité modérée, car ces derniers sont plus puissantes pour détecter les associations d'effet modeste (Ruth J.F. Loos, 2009) d'association avec le trait d'intérêt. Les marqueurs les plus prometteurs sont ensuite introduits dans la phase de suivi de l'étude. Dans la deuxième phase qui est la phase de suivi (phase de réplification), les SNPs choisis sont testés pour leur association dans une nouvelle population de taille d'échantillon idéalement au moins aussi voire plus importante que la population de découverte et de conception de préférence similaire. Ensuite, l'association des deux phases (phases de découverte et de réplification) est méta-analysée. L'étape de la découverte est celle où un très grand nombre de tests d'association sont effectués, d'où une grande probabilité de résultats faux positifs. Idéalement, la conception de l'étude, l'ascendance des échantillons de réplification et le trait ou la maladie de découverte et les étapes de réplification sont identiques ou du moins très similaires. En conséquence, pour avoir une puissance statistique suffisante, l'approche GWAS consiste à avoir des échantillons de grande taille pour compenser la perte de

puissance afin d'obtenir une signification stricte à l'échelle du génome entier, ce qui fait que les GWAS ne considèrent que les associations qui atteignent une valeur de $p < 5,0 \times 10^{-8}$.

Les GWAS ont été rendus possibles avec des échantillons plus grands qui permettent la découverte de nouveaux loci et d'effets plus petits, qui fournissent également des estimations plus précises de la taille de l'effet (Day & Loos, 2011). La découverte de variants à petits effets a été rendue possible grâce au processus de réplication qui est une clé dans les principales conclusions des études GWA, et cette approche peut filtrer les variants avec une grande taille d'effet pour finalement révéler un variant avec une petite taille d'effet cohérente qui passe à travers les tests de réplication (McCarthy et al., 2008). Les GWAS ont également été utilisés pour étudier l'architecture génétique des traits liés à l'obésité de la distribution de la graisse corporelle, déterminée par les valeurs de l'indice de masse corporelle (IMC), de tour de taille (TT), ou du rapport taille/hanche (RTH). Ainsi, dix-neuf loci ont été découverts pour le RTH et seuls 5 d'entre eux (*FTO*, *MC4R*, *NRXN3*, *TFAP2B*, *MSRA*) montrent également une association avec IMC/obésité (Tam et al., 2019). Les preuves disponibles soutiennent que l'IMC est hautement polygénique (un nombre élevé de gènes contribuent à son phénotype (Van Der Klaauw & Farooqi, 2015).

2.9. Génétique de l'IMC

2.9.1. Héritabilité de l'IMC

La variation de la graisse corporelle et de la composition corporelle montrent une composante génétique majeure, avec un grand nombre d'études de jumeaux, adoption et

familiales révélant qu'une grande partie (40-75%) de la variation d'IMC est héréditaire (Stryjecki et al., 2017). Bien qu'il ait été révélé dans la littérature que l'héritabilité du poids corporel/de l'adiposité humaine est élevée, les découvertes génétiques n'expliquent pas toute la variabilité de l'IMC. À ce jour, 940 loci génétiques pour l'IMC ont été découverts, qui expliquent 6.5% de la variation totale de l'IMC en population (Vivian Tam et al., 2019).

Des études épidémiologiques sur l'obésité commune ont révélé des héritabilités élevées (l'héritabilité estime le pourcentage de variation d'un trait phénotypique dans une population expliqué par la variation génétique parmi les individus de cette population) pour des mesures distinctes de l'obésité telles que l'IMC- ($h^2 = 0,4-0,75$), l'épaisseur du pli cutané en particulier la partie sous-capsulaire ($h^2 \sim 0,77$), TT ($h^2 \sim 0,76$) et RTH ($h^2 \sim 0,45$). Les études de jumeaux en sont un exemple idéal, le taux de concordance (la présence du même phénotype chez les deux membres d'une paire de jumeaux) pour l'obésité entre les paires de jumeaux monozygotes est plus élevé que celui des paires dizygotes. Cependant, il convient de noter que l'exposition à un environnement obésogène est essentielle pour que l'obésité se développe (Alonso et al., 2015).

2.9.2. GWAS pour l'IMC

Depuis les débuts des GWAS en 2007, une grande partie de l'intérêt dans le domaine de l'obésité a été d'identifier les variants génétiques associés à l'IMC, même si celui-ci n'est pas considéré comme une mesure idéale de l'adiposité. Cependant, l'utilisation de l'IMC est une mesure peu coûteuse et non invasive, et ce paramètre s'est révélé être un outil précieux dans la plupart des contextes de recherche (Day & Loos, 2011).

Après près de 15 ans de GWAS, de multiples efforts ont été faits pour comprendre les bases génétiques de l'adiposité et identifier des cibles potentielles pour de nouvelles thérapies. À ce jour, plusieurs études ont identifié des loci associés à l'IMC/obésité dans des populations d'origines européenne et non européenne afin d'identifier des locus génétiques pour l'IMC / l'obésité. À cet égard, les variants génétiques proches ou dans les gènes *FTO* (masse grasse et obésité associée) et du gène *MC4R* (récepteur 4 de la mélanocortine) ont été les deux premiers loci d'IMC à être détectés par les GWAS (Frayling et al., 2007; R.J.F. Loos et al., 2008). D'autres études comme le consortium GIANT (Genetic Investigation of Anthropometric traits) ont permis de détecter plus de loci génétiques (Willer et al., 2009). Par la suite, les GWAS ont confirmé en plus des signaux *FTO* et *MC4R*, d'autres loci génétiques dans ou à proximité des gènes *TMEM18* (protéine transmembranaire 8), *GNPDA2* (glucosamine-6-phosphate désaminase 2), *BDNF* (facteur neurotrophique dérivé du cerveau) *FAIM2* (fas apoptotic molécule inhibitrice 2), *MAF* (codant pour le facteur de transcription c-MAF) *NPC1* (endosomal / lysosomal Niemann-Pick C1), *SEC16B* (sec16 homologue B), *SH2B1* (SH2B adapter protein 1), *PCSK1*, *PTER* (phosphotriesterase-related gene), *KCTD15* (domaine de tétramérisation des canaux potassiques contenant 15) et *NEGR1* (facteur de croissance neuronale 1), *OLFM4*(le gène codant pour l'olfactoméline 4) et *HOXB5*(le gène codant pour l'homéobox B5); ces loci ont montré une association significative à l'échelle du génome avec l'IMC et l'obésité chez les enfants et les adultes (Bradfield et al., 2012; Meyre et al., 2009b; Thorleifsson et al., 2009; Willer et al., 2009).

Récemment, d'autres méta-analyses de GWAS ont été effectuées pour l'IMC, la taille et la distribution de la graisse corporelle, mesurées par le rapport taille /hanches ajusté pour l'IMC (WHRadjBMI) dans l'ascendance européenne et d'autres ethnies, et comme résultats ces études ont identifié 751 SNPs associés à l'IMC situés dans des locus qui n'ont pas été identifiés auparavant (Hoffmann et al., 2018; Yengo et al., 2018), et 483 signaux dans 346 loci pour la distribution de la graisse corporelle (Pulit et al., 2019). Ces variants génétiques ne représentent qu'environ 6,5% de la variance de l'IMC (Yengo et al., 2018). Par exemple, les GWAS dans des populations non européennes (Asie de l'Est, Afrique) ont confirmé l'implication de loci identifiés chez les Européens mais ont également trouvé de nouveaux loci (Akiyama et al., 2017; Graff et al., 2017; Turcot et al., 2018). D'autres études visant à identifier les loci génétiques associés à l'IMC ont également été menées dans d'autres populations telles que hispaniques/latino-américaines, où la taille des échantillons était plus petite (M. C. Y. Ng et al., 2012; Nicolas W. Cortes-Penfield, Barbara W. Trautner, 2017; Salinas, Wang, & DeWan, 2016); ces études se sont révélées très informatives en ce sens que certains loci de susceptibilité à l'obésité sont spécifiques à un certain groupe ethnique, bien que d'autres puissent affecter n'importe quel groupe ethnique. Ainsi il apparait clairement que l'architecture génétique est différente en fonction de l'ethnie (Day & Loos, 2011). Les études GWAS ont identifié un nombre important de variants génétiques associés à l'obésité, à l'IMC (Müller et al., 2018), ainsi qu'à des loci d'adiposité et des effets génétiques spécifiques au sexe (Rask-Andersen, Karlsson, Ek, & Johansson, 2019), et les recherches sont

désormais concentrées sur d'autres traits incluant la perte de poids en réponse à la chirurgie bariatrique.

2.10. Interaction gène par environnement (GxE)

L'obésité commune est le plus souvent polygénique, impliquant des interactions complexes gène-gène et gène-environnement. En épidémiologie, le concept d'interaction gène-environnement peut avoir une définition statistique et biologique 1) La définition statistique fait référence à une interaction entre deux ou plusieurs facteurs de risque et le coefficient de la somme des produits des facteurs de risque, alors que 2) la définition biologique fait référence à l'interaction entre deux facteurs comme leur participation au même mécanisme causal du développement de la maladie (H. Reddon et al., 2016). Des études sur les interactions gène-par-environnement (GxE) ont démontré que plusieurs loci GWAS découverts précédemment ont des effets contingents au sexe et / ou au mode de vie sur la variation de l'adiposité. Par exemple, des effets génétiques spécifiques au sexe sur l'IMC ont été révélés chez les adolescents et chez les adultes (H. Reddon et al., 2016), et les effets des loci associés au RTH sur l'IMC sont généralement plus visibles chez les femmes que chez les hommes, et la susceptibilité génétique à l'obésité, déterminée par un score de risque génétique de plusieurs loci liés à l'IMC, a montré un effet plus fort chez les personnes qui n'ont pas un mode de vie sain (Lingala & Ghany, 2016).

Les comportements liés au mode de vie et les facteurs socio-économiques sont connus pour être des conditions qui ont également un impact sur les estimations de l'héritabilité. Il a été rapporté que le degré de variabilité de l'IMC attribuable à la variation génétique est

élevé chez les individus qui vivent dans un environnement obésogène (le terme «environnement obésogène» est défini comme un environnement qui contribue à prendre du poids et qui ne contribue pas à perdre de poids au domicile ou au travail de l'individu) (Powell, Spears, & Rebori, 2010; Rokholm, Silventoinen, Ångquist, et al., 2011; Rokholm, Silventoinen, Tynelius, et al., 2011). Par exemple, des études de jumeaux ont démontré que l'exercice effectué régulièrement peut réduire considérablement les effets des facteurs génétiques sur l'IMC chez les adultes jeunes et plus âgés (Mustelin, Silventoinen, Pietiläinen, Rissanen, & Kaprio, 2009). Des recherches socio-économiques suggèrent qu'un niveau d'éducation élevé est lié à une diminution du risque d'obésité (Roskam et al., 2010), mais les estimations de l'héritabilité de l'IMC à la fin de l'enfance/l'adolescence sont modifiées par le niveau d'éducation des parents (Lajunen, Kaprio, Rose, Pulkkinen, & Silventoinen, 2012).

2.11. Association pangénomique de la perte de poids après une chirurgie bariatrique

2.11.1. Déterminants génétiques de la perte de poids après CB

L'utilisation de la CB pour traiter l'obésité sévère a longtemps été un sujet de controverse dans le passé, car la perte de poids ne semblait pas aussi durable que la communauté médicale le percevait. Cependant, la chirurgie bariatrique reste la méthode la plus sûre pour atteindre une perte de poids à long terme (Sacks et al., 2009; Sarzynski et al., 2011). À ce jour, les interventions chirurgicales telles que le RYGB, la GM et la DBP-SD ont permis d'obtenir une perte de poids substantielle et soutenue et de réduire les comorbidités liées

à l'obésité telles que le DT2, le HTA, la dyslipidémie ainsi que la mortalité (Fong et al., 2010b) . Une étude récente a rapporté que la perte de poids après CB montre une variation individuelle importante (Aasbrenn et al., 2019). Des études jumelles d'interventions sur le mode de vie et des études sur la CB ont démontré que les déterminants génétiques peuvent jouer un rôle dans la réduction de poids après une intervention chirurgicale (Bilenberg, Hougaard, Norgaard-Pedersen, Nordenbæk, & Olsen, 2011; Hainer et al., 2001). Par exemple, (Hatoum et al., 2011) dans une cohorte de 848 patients qui ont subi un RYGB a montré qu'une perte de poids similaire (moyenne de 70% de leur excès de poids corporel) était observée au sein de paires d'individus génétiquement liés, tandis que les individus non apparentés avaient beaucoup moins de similitude dans leur perte de poids, ce qui suggère qu'il existe des déterminants génétiques robustes de la perte de poids après RYGB.

Étant donné que le degré de perte de poids dans le groupe de patients bariatriques subissant une chirurgie est très variable, les scientifiques ont recherché les bases génétiques d'une telle variabilité interindividuelle, ce qui les a incités à construire un score de prédisposition génétique (SPG).

2.11.2. Score de risque polygénique (SRP) pour la perte de poids après CB

Plusieurs études ont utilisé des scores de risque polygéniques pour étudier les facteurs génétiques qui contribuent à la variabilité interindividuelle de la perte de poids après une chirurgie bariatrique. Il convient de noter que le score de risque polygénique (SRP) également connu sous le nom de score de risque génétique (SRG) ou de score à l'échelle du génome (SEG) fait référence à un nombre basé sur la variation de plusieurs loci génétiques

et leurs poids associés. En d'autres termes, (SRP) est la somme des poids du nombre d'allèles à risque portés par un individu, pondérés par leurs effets génétiques tels que mesurés dans un GWAS ou une population générale de référence (Torkamani, Wineinger, & Topol, 2018).

Il existe plusieurs SNP connus pour être liés aux traits d'obésité ainsi qu'à la réduction de poids après une intervention chirurgicale. Par exemple, une étude de (Nicoletti et al., 2017) a proposé un score de prédisposition génétique (SPG) pour évaluer la contribution de sept SNP liés à l'obésité aux résultats de la perte de poids 1 an après Bypass gastrique à anse de Roux-en-Y (RYGB), SRG de sept SNP associés à l'obésité (RefSNP cluster [rs] 1801282 de *PPARG2*, rs4994 de *ADRB3*, rs1800592 de *UCP1*, rs659366 et rs669339 de *UCP2*, rs7121 de *GNAS1* et rs5443 de glucose, ainsi que de *GNB3*). Cette étude a rapporté que les patients avec un score plus important ont tendance à présenter un plus grand bénéfice métabolique du RYGB.

Récemment, une étude de (de Toro-Martín et al., 2018), réalisant le score à risque polygénique (SRP) dans une cohorte de 865 patients sur une période de 48 mois a montré que le fond génétique a un impact significatif sur la perte de poids après CB et améliore la prévision de perte de poids avant la chirurgie. Une étude plus récente de (Khera et al., 2019) utilisant un nouveau prédicteur polygénique composé de 2,1 millions de variants communs chez plus de 300 000 individus a montré que l'effet du score polygénique sur l'IMC apparaît tôt dans la vie et augmente à l'âge adulte, et que le score est associé au risque de subir une CB à l'âge adulte.

Comme d'autres facteurs qui ont un impact sur les interactions gène-environnement, les différences épigénétiques ont également été liées à l'obésité, entre autres la variation génétique et une variété de facteurs environnementaux pré et postnataux, et selon (Franks & Ling, 2010; Van Dijk et al., 2015a), les changements épigénétiques sont considérés comme l'un des principaux mécanismes qui sous-tendent les interactions entre les expositions environnementales et la variation génétique.

2.12. Aspects épigénétiques de l'obésité

2.12.1. L'obésité est une maladie épigénétique

L'épigénétique est le terme utilisé pour définir les phénomènes de changements hérités qui affectent l'expression/la fonction des gènes, ces changements n'affectant pas la séquence d'ADN en soi (Bird, 2007). Les marques épigénétiques sont héréditaires par division cellulaire mitotique et peuvent affecter la transcription des gènes dans une cellule. Cela peut se produire *via* de nombreux processus tels que la méthylation de l'ADN (ajout de groupes méthyle à l'ADN) et les modifications post-traductionnelles des protéines histones, comprenant l'acétylation des histones et la méthylation des histones, le remodelage de la chromatine, les ARNm spécifiques qui comprennent de longs ARN non codants (lncRNA) et les petits ARN interférents et les micro-ARN (siARN/miARN). Ces processus épigénétiques jouent un rôle dans la régulation de l'expression génique et d'autres mécanismes épigénétiques (Pigeyre et al., 2016; Van Dijk et al., 2015a). Il convient de noter que la séquence d'ADN chez un individu est largement stable, alors que l'épigénome est

connu pour être modifiable de manière réversible lorsqu'il est exposé à des facteurs nutritionnels et environnementaux.

2.12.2. L'hypothèse de Barker

Le concept selon lequel l'environnement auquel un individu est exposé tôt pendant le développement fœtal peut affecter sa santé plus tard dans la vie est connu sous le nom de l'hypothèse de Barker, ou les origines développementales de la santé et de la maladie (DOHaD). Barker a été le premier à stipuler que des facteurs environnementaux néfastes au tout début de la vie, y compris la malnutrition maternelle ou fœtale, qui peuvent reprogrammer le fœtus et produire des changements biologiques, peuvent prédisposer un individu à des maladies cardio-métaboliques plus tard dans la vie (Barker DJP, 1990). La première étude factuelle à l'appui de l'hypothèse de Barker était les données épidémiologiques de la cohorte de famine hollandaise de 1944 qui associaient directement la malnutrition fœtale à une maladie cardio-métabolique chez l'adulte (Painter, Roseboom, & Bleker, 2005). Cette période de famine a mis en évidence une augmentation de la fréquence d'obésité, de maladies cardiaques, de diabète de type 2 et de dyslipidémie et de lipides comme indicateurs clés que la progéniture était exposée à la famine au début de la conception, ce qui illustre l'impact de la nutrition maternelle sur la santé de la progéniture dans l'enfance et la vie adulte (Painter et al., 2005; Pigeyre et al., 2016).

2.13. Études de méthylation de l'ADN pré-études d'association à l'échelle de l'épigénome (EWAS)

Les expositions environnementales et les modèles de méthylation de l'ADN sont également liés. Par exemple, des études sur des jumeaux monozygotes ont démontré que des individus identiques à la naissance présentaient des marques épigénétiques remarquablement distinctes telles que la méthylation de l'ADN (ADNm) et l'acétylation des histones plus tard dans la vie (Lipman & Tiedje, 2006). De plus, (Tobi et al., 2014) ont démontré que l'IMC maternel et les variations de la supplémentation en donneur de méthyle maternel au moment de la grossesse (qui sont considérés comme des déterminants prénataux), sont associés à des changements de méthylation chez les descendants. Dans le même ordre d'idées, plusieurs études observationnelles ont révélé que les quantités de vitamine B₁₂, de folate et de cobalamine au moment de la grossesse sont liées au poids corporel de la descendance. Il convient de noter que le folate, la vitamine B₁₂ et la choline sont des donneurs de méthyle et sont impliqués dans la synthèse de la S-adénosyl-méthionine, qui est le donneur universel des groupes méthyle nécessaires à l'ADNm (C. S. Yajnik et al., 2008; Chittaranjan Sakerlal Yajnik & Deshmukh, 2012).

En outre, des études ont confirmé que des changements ont été observés dans l'ADNm en réponse à une consommation élevée de graisses, et des profils de méthylation similaires des tissus adipeux et musculaires entre les personnes anciennement atteintes d'obésité et les individus maigres ont également été observés après une chirurgie de réduction de poids (Barres et al., 2013; Benton et al., 2015). Plusieurs loci bien connus liés à l'obésité sont

impliqués dans ces modifications de méthylation entre individus avec et sans obésité, notamment *LEPR*, *STAB1*, *ZNF608*, *HMGA1*, *MSRA*, *TUB*, *NRXN3*, *FTO*, *MC4R* et *BDNF* (Benton et al., 2015; Huang et al., 2015). Fait intéressant, l'émergence de nouvelles approches pour étudier la variation épigénétique, qui comprend des études d'association à l'échelle de l'épigénome (EWAS), a contribué à identifier les modèles de méthylation liés à l'obésité.

2.14. Étude d'association à l'échelle de l'épigénome (EWAS)

2.14.1. Approche EWAS

Malgré les nombreuses tentatives des GWAS pour identifier les loci associés à des maladies courantes telles que l'obésité, les découvertes génétiques n'expliquent pas toute l'héritabilité pour ces traits. Le développement des cartes d'ilots CpG et des technologies pour réaliser la méthylation du génome entier grâce aux puces de méthylation, a fourni des plates-formes pour explorer méthodiquement l'ADNm à travers le génome. Cette nouvelle avancée a conduit à l'EWAS, dont l'objectif est d'identifier les variations de l'ADNm associées aux phénotypes de la maladie. Par conséquent, le rôle de l'EWAS dans ce scénario est de fournir des loci qui ont ou n'ont pas été identifiés dans les GWAS et qui peuvent être susceptibles d'être modifiés par des facteurs environnementaux et de mode de vie affectant la sensibilité aux maladies (Rakyan, Down, Balding, & Beck, 2012).

L'EWAS vise à examiner le profil épigénétique de nombreux loci différents chez un certain nombre d'individus afin d'évaluer si ces loci sont associés ou non à un trait. L'un des objectifs de l'EWAS est l'association entre l'ADNm dans un tissu spécifique et la présence

de maladies ou d'autres caractéristiques qui incluent des contaminants environnementaux. L'EWAS se concentre également sur la chromatine ou les microARN associés, mais ces derniers ne sont pas l'objet principal de cette thèse. L'ADNm est la marque épigénétique la plus étudiée dans le génome des mammifères en relation avec l'expression génique. Ce mécanisme épigénétique implique l'addition covalente d'un groupe méthyle (-CH₃) sur la position cinq de la cytosine, ce qui conduit à la 5-méthylcytosine. Chez les mammifères, la forme principale est la méthylation des cytosines dans le cadre du dinucléotide cytosine-guanine (site CpG), et elle est catalysée par les ADN méthyltransférases (DNMT). Il a été démontré que la méthylation des cytosines est sensible aux stimuli environnementaux tels que les conditions environnementales *in utero* et post-natales (Pilsner et al., 2012; Tobi et al., 2009). De plus, une petite proportion de méthylation peut se produire dans des sites non-CpG (CHG, CHH (Samblas, Milagro, & Martínez, 2019)). Dans le même ordre d'idées, on sait également que la méthylation de CpH (où H = C / A / T) peut être plus fréquente qu'on ne le pensait auparavant. Elle est catalysée par les méthylcytosine dioxygénases Ten Eleven Translocation (TET), la 5-hydroxyméthylation des cytosines (hmC), et elle est encore connue comme une autre forme d'ADNm (Rakyan et al., 2012).

Dans le contexte de l'EWAS, la mesure de l'ADNm est considérée comme une mesure quantitative, ce qui signifie que la méthylation de l'ADN au niveau d'une seule molécule est une marque binaire, où la mesure au niveau des tissus représente en moyenne plus de milliers, voire des millions de copies d'ADN. Le rôle de l'ADNm dans les maladies humaines a d'abord été évalué dans le cadre de l'empreinte génomique, qui se réfère à un phénomène

épigénétique dans lequel les allèles maternels et paternels sont exprimés d'une manière spécifique au parent d'origine; ce phénomène épigénétique est connu pour être stable et héréditaire pendant la mitose (Jin & Liu, 2018).

2.14.2. Association à l'échelle de l'épigénome des traits d'obésité

L'obésité est une maladie complexe dans laquelle l'environnement joue un rôle clé. Plusieurs études de profil de méthylation de l'ADN à l'échelle du génome ont montré que les variants de méthylation peuvent être influencés par des variants génétiques voisins, dans ce cas le gène *FTO* est notamment connu pour être associé à l'obésité (Almén et al., 2012; Xu et al., 2013). L'une des premières études EWAS dans le contexte de l'obésité a été réalisée sur 479 individus d'origine européenne et a montré une association positive entre l'IMC et la méthylation au locus *HIF3A* dans les cellules sanguines et dans le tissu adipeux (Dick et al., 2014). Cette étude a été répliquée dans une population afro-américaine (Demerath et al., 2015). Une autre étude dans une cohorte prospective mexicaine des nouveaux nés a montré que l'ADNm de la progéniture du gène répresseur des récepteurs aryl-hydrocarbures (*AHRR*) chez les enfants est associé à l'IMC maternel, à l'âge gestationnel et au poids à la naissance (Burriss et al., 2015). Une autre étude chez des hommes et des femmes atteints d'obésité sévère a montré que les niveaux d'ADNm des gènes de la leptine et de l'adiponectine dans les tissus adipeux et le sang sont associés à l'IMC, au TT et au cholestérol LDL (Houde et al., 2015). Une étude EWA cas-témoins menée sur un total de 96 personnes afro-américaines a montré que les changements de la méthylation de l'ADN sont également un facteur important dans l'obésité (Xu et al., 2013) ;

cette étude a été l'une des premières EWAS à être menée sur des afro-américains, démontrant que les personnes d'origine africaine sont plus susceptibles de porter un plus grand facteur de risque de maladie chronique comme l'obésité que les personnes d'ascendance européenne (Brancati, Kao, Folsom, Watson, & Szklo, 2000). Une étude récente chez des personnes d'ascendance européenne et afro-américaine a également montré que l'obésité est associée à plusieurs changements dans l'ADNm des leucocytes du sang périphérique (Wang et al., 2010).

2.14.3. Association à l'échelle de l'épigénome de l'obésité de la méthylation de l'ADN avec le vieillissement

Il a été rapporté dans la littérature que les personnes atteintes d'obésité ont un risque accru de plusieurs maladies chroniques liées à l'âge, y compris HTA, MCV, DT2 ainsi que certains types de cancer (D. W. Haslam & James, 2005). L'identification de biomarqueurs capables de capter les variations interindividuelles du vieillissement biologique pourraient être utiles pour évaluer les risques de maladie liés au vieillissement d'une personne. À cet égard, l'ADNm, une modification épigénétique bien étudiée, peut être utilisée comme un biomarqueur du vieillissement biologique. L'un des premiers à avoir étudié « l'âge de la méthylation de l'ADN » ou « l'âge épigénétique » a été Horvath (S Horvath, 2013), dont les travaux ont prouvé que « l'âge de la méthylation de l'ADN » était un bon biomarqueur du vieillissement dans des tissus hétérogènes, y compris le sang total, les cellules mononucléaires (PBMC), cerveau, sein, rein, poumon, salive, ainsi que des types de cellules humaines telles que les cellules T CD4 et les monocytes CD14.

La relation entre l'IMC et le vieillissement accéléré mesuré par les niveaux d'ADNm dans des groupes d'adultes a été étudiée dans la littérature. (C. Li et al., 2019) ont rapporté une association positive significative entre l'IMC et le vieillissement accéléré de l'âge de l'ADNm en utilisant des échantillons de salive d'une cohorte de mères afro-américaines. Une étude précédente du même type a également été rapportée dans des échantillons de foie humain prélevés dans une étude allemande, et elle a révélé une association similaire entre l'IMC et le vieillissement accéléré de l'âge de l'ADNm dans des échantillons de foie humain (Steve Horvath et al., 2014). Ces résultats suggèrent qu'un IMC plus élevé et l'obésité peuvent jouer un rôle important dans l'accélération du vieillissement biologique. Des études plus récentes sur des tissus humains pertinents pour le métabolisme tels que le tissu adipeux, le muscle squelettique, les îlots pancréatiques, le foie et le sang ont également trouvé des signatures épigénétiques liées à l'obésité et au DT2. Ces études suggèrent que le vieillissement et la variation génétique contribuent à la variabilité épigénétique observée chez les personnes atteintes d'obésité ou de DT2 (Ling & Rönn, 2019).

MOTIVATION ET OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

2.15. Objectifs de la présente étude

La chirurgie bariatrique est connue pour être un traitement efficace pour la perte de poids et l'amélioration de la qualité de vie des personnes atteintes d'obésité sévère et morbide (Nguyen & Varela, 2016). Cependant, les patients bénéficiant de la chirurgie bariatrique sont susceptibles d'être exposés à un risque plus élevé de développer des carences nutritionnelles en micronutriments, telle que la carence en vitamine B₁₂ qui peut être plus importante après la CB (Kornerup et al., 2019). En tant que maladie multifactorielle, l'obésité provient d'une combinaison de facteurs génétiques et environnementaux. Ainsi, au cours des dernières décennies, les GWAS ont cherché à identifier les facteurs génétiques associés à des maladies complexes telles que l'obésité (Locke et al., 2015; Meyre et al., 2009a; Thorleifsson et al., 2009). À ce jour, une étude suggère qu'un grand nombre de variants communs ayant un faible effet sur les traits complexes peuvent à certains égards expliquer 40% de l'héritabilité des traits complexes (J. Yang et al., 2015). Il a également été rapporté que l'épigénome, en particulier la méthylation de l'ADN, peut jouer un rôle crucial dans la prédisposition à l'obésité (Rakyan et al., 2012). Dans ce contexte, une approche intégrative est bien adaptée pour mieux décrypter l'interaction complexe entre l'exposition environnementale, génétique et épigénétique sur le phénotype clinique du patient atteint d'obésité.

Pris ensemble, les carences nutritionnelles en micronutriments après la chirurgie bariatrique, et plus particulièrement les variations génétiques et épigénétiques contribuent aux variations du poids. Par conséquent, l'objectif de cette thèse était d'intégrer l'exposition

environnementale, la génétique et l'épigénétique afin de caractériser le phénotype clinique des patients atteints d'obésité avant et après la chirurgie bariatrique.

La première partie de cette thèse est consacrée à l'exploration de la carence en vitamine B12 par rapport aux autres micronutriments lors du suivi des cas français de chirurgie bariatrique sous supplémentation systématique en multivitamines/oligo-éléments afin de déterminer si cette carence est influencée par des caractéristiques cliniques et métaboliques avant la chirurgie.

Il a récemment été démontré dans la littérature que les variants rares sont associés à l'obésité / IMC dans la population générale (Turcot et al., 2018). Cependant, l'impact de ces variants codants sur le risque d'obésité, les variations de l'IMC chez les personnes atteintes d'obésité et la perte de poids en réponse à la CB est inconnu. Par conséquent, la deuxième partie de cette thèse consiste à déterminer l'association de variants codants rares associés à l'obésité/IMC dans une cohorte française d'obésité morbide éligible à la chirurgie bariatrique en construisant un score génétique à risque et protecteur pour l'obésité basé sur 11 variants codants rares diminuant/augmentant l'IMC dans les cohortes OBESEPI et FREX.

Sachant que les facteurs génétiques et environnementaux jouent également un rôle crucial dans l'obésité, la troisième partie de cette thèse consiste donc à déterminer dans quelle mesure les biomarqueurs épigénétiques peuvent être associés à une obésité pathologique en utilisant une approche pseudo-génotypique (qui consiste à transformer le méthylome

en données pseudo-génotypiques afin de refléter le profil biallélique de méthylation), pour examiner les profils de méthylation de l'ADN dans différents ensembles de tissus tels que le foie et la graisse viscérale, ainsi que le sang total.

CHAPITRE III.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Ce chapitre fournira un large aperçu des matériels et des méthodes utilisés dans cette thèse. Dans un premier temps, ce chapitre décrira la cohorte ALDEPI/OBESEPI, ensuite la puce à ADN personnalisé « exome » utilisée pour les études génétiques et la puce de méthylation de l'ADN 450k utilisée pour le méthylome.

3. Matériels et méthodes

3.1. Population étudiée

La cohorte ALDEPI/OBESIPI est une étude de cohorte prospective et monocentrique des sujets atteints d'obésité ($IMC \geq 35 \text{ kg / m}^2$) et ont été hospitalisés dans l'Unité Multidisciplinaire de Chirurgie de l'Obésité (UMCO du CHRU, NANCY), pour une chirurgie bariatrique programmée dans le cadre de leurs soins habituels, avec collecte de données juste avant la CB et post-chirurgie. Les données reposent sur la base de données Lorraine CHRU pour la cohorte française Adiposité, lipide, dystrophie et Épidémiologie/Obésité sévère et épigénétiques (prélèvement de tissus biologiques) (ALDEPI /OBESIPI). Tous les patients inclus dans l'étude ont donné leur consentement écrit et éclairé afin de participer à cette cohorte. Les enquêtes se sont conformées aux principes énoncés dans la Déclaration d'Helsinki et ont reçu l'approbation du comité d'éthique local. Le CHRU, NANCY et le service de chirurgie bariatrique ont reçu l'agrément pour mener ces recherches de leurs commissions institutionnelles respectives comme suit : « Le Comité National de Bioéthique » et « l'Autorité de Protection des Données ». Cette étude a été enregistrée au Ministère de la Santé sous le numéro NCT02663388.

3.2. Critères du recrutement

Les candidats à une chirurgie bariatrique programmée ont été recrutés lors de la consultation préopératoire par un chirurgien senior qui fait également partie de l'étude de cohorte au Département de Chirurgie Digestive, Hépatobiliaire et Endocrinienne, au CHRU, NANCY.

3.2.1. Critères d'inclusion

- Patients bénéficiant d'une chirurgie bariatrique suite à l'évaluation multidisciplinaire par le spécialiste. Label Centre d'obésité (SCO) du CHRU, NANCY
- Âge : entre 18 et 65 ans.
- $IMC \geq 35 \text{ kg/m}^2$.
- Les patients ayant donné leur consentement.
- Affiliation obligatoire à tout système général de sécurité sociale français
- Contrôle pré-médical nécessaire.

3.2.2. Critères d'exclusion

- Patients avec un $IMC \leq 35 \text{ kg/m}^2$.
- Patients ayant refusé de faire partie de l'étude.
- Patients sans biopsie tissulaire (foie et graisse viscérale) quelle qu'en soit la raison.
- Patients concernés par le projet de loi suivant du code de la santé publique : L.112105-L.1128.
- Les patients n'ayant pas l'âge requis, ainsi que les patients sous curatelle et tutelle ou ceux qui sont impliqués dans un essai clinique.

3.3. Type de chirurgie

Les patients recrutés sur cette cohorte ont bénéficié des différentes procédures chirurgicales telles que le bypass gastrique laparoscopique de Roux-en-Y (RYGB) et la gastrectomie laparoscopique en manchon (GLM). Des équipes de chirurgiens bariatriques

ayant une expertise en RYGB et GML ont effectué les interventions chirurgicales. Les données cliniques et biologiques ont été collectées lors de l'évaluation multidisciplinaire préopératoire de la chirurgie bariatrique. De plus, des données cliniques et biochimiques ont été collectées chez tous les patients le matin de leur intervention chirurgicale. Entre les deux, tous les patients ont suivi un programme de recommandation de mode de vie préopératoire d'un an en moyenne.

3.4. Données

Les patients inclus dans cette étude ont été évalués tous les trois mois pendant un an avant l'intervention chirurgicale. Lors de la visite initiale, des informations sur l'âge, le sexe, le lieu de naissance et les antécédents de résidence ont été obtenues. Poids, taille ont été mesurés au départ et aux rendez-vous de suivi après la chirurgie, ainsi que les facteurs de risque cardiovasculaire tels que le tabagisme, l'hypertension artérielle, le diabète, les antécédents familiaux et les maladies cardiaques. Et les comorbidités associées à l'obésité telles que le syndrome d'apnée obstructive du sommeil (SAOS), l'arthrose et le traitement proprement dit, sont également informés dans le dossier médical des patients à tout moment à l'aide de questionnaires écrits lors de la visite de base avec les instructions d'un assistant de santé. Les données cliniques anthropométriques sont également disponibles pour chaque patient dès la première consultation avant la chirurgie (environ un an avant la chirurgie), le jour de la chirurgie, ainsi qu'en postopératoire.

3.4.1. Collecte de données biologiques

Un prélèvement sanguin a été effectué le jour de la chirurgie, centrifugé pour de futures analyses biologiques et génétiques (génotypage et méthylome). Des échantillons tissulaires ont également été collectés pendant la chirurgie, y compris du foie, de la graisse viscérale, de la graisse méésentérique et une biopsie sous-cutanée. Dans l'ensemble, tous les échantillons ont été étiquetés et stockés à -80°C au Centre des ressources biologiques de Lorraine (CRB).

3.4.2. Collecte de données clinico-biologiques

Toutes les données clinico-biologiques ont été cueillies à partir de dossiers médicaux informatiques du CHRU. DxCare.

3.5. Gestion de données

3.5.1. Traitement de l'information

Un fichier électronique est créé pour chaque patient. Toutes les informations nécessaires par le protocole sont toutes fournies dans ce fichier électronique, qui comprend les données nécessaires confirmant le respect du protocole ou détectant des écarts majeurs et toutes les données nécessaires pour des analyses statistiques ultérieures. Le personnel chargé de remplir le fichier électronique peut être l'investigateur ou l'assistant de recherche clinique. L'enquêteur garde une trace de chaque dossier.

3.6. Mesures et instruments

3.6.1. Mesures anthropométriques

Les mesures anthropométriques évaluées dans cette étude sont en particulier le poids, la taille, l'IMC, le TT, le TH, le RTH, le pourcentage de perte de poids en excès, le pourcentage de perte de poids total et la reprise de poids. Un personnel de santé de recherche formé a effectué toutes les mesures anthropométriques. Les participants portaient des vêtements légers et enlevaient leurs chaussures avant toute mesure de poids.

- Le poids a été mesuré à 0,1 kg près à l'aide d'une balance numérique et médicale (Seca, Hambourg, Allemagne).
- La taille a été mesurée à 0,1 cm près à l'aide d'un stadiomètre portable (Seca, Hambourg, Allemagne).
- L'IMC a été calculé en fonction des valeurs de rapport obtenues à partir de la mesure du poids en kilogramme/par taille en mètre carré.
- Le TT a été mesuré après une expiration normale en tenant compte du point médian de la dernière côte palpable et de la partie supérieure de la crête iliaque à 0,1 cm près.
- Le TH a été mesuré à la plus grande partie des fesses à 0,1 cm près à l'aide d'un ruban à mesurer résistant à l'étirement.
- Le RTH a été calculé comme TT divisé par TH.
- Le pourcentage de perte de poids totale (% TWL) a été calculé comme suit :
$$\left(\frac{[\text{poids avant l'opération} - \text{poids après l'opération}]}{[\text{poids avant l'opération}]} \right) * 100$$
- Le pourcentage de perte de poids excessive (% EWL) a été calculé comme suit :

- $[(\text{poids avant l'opération} - \text{poids après l'opération}) / (\text{poids idéal avant l'opération})] * 100.$
- La reprise de poids a été calculée comme suit :
 $[(\text{poids actuel-poids nadir}) / (\text{poids avant opération-poids nadir})] * 100\%.$

3.6.2. Mesures biochimiques

- Les concentrations sériques de vitamine B12 et de folate ont été déterminées par le SNB SimulTRAC-box pour un dosage radio-immunologique avec $[^{57}\text{Co}]$ -vitamine B12/ $[^{125}\text{I}]$ -folate comme traceurs (MP Biomedicals Germany GmbH, Eschwege, ALLEMAGNE).
- Les folates érythrocytaires ont été déterminés en utilisant la même méthode de radio-immunologique après hémolyse totale d'extrait de sang en présence d'acide ascorbique.
- L'homocystéine et l'acide méthylmalonique (MMA) ont été dosés par UPLC-MS/MS, en utilisant une colonne ACQUITY UPLC BEH C18 (1,7 μm , 2,1 mm x 50 mm, Waters Corporation, Guyancourt, FRANCE).
- La vitamine D (25-OH) a été déterminée par le kit de dosage immunologique total Access 25 (OH) Vitamin D Total (Dxl 800, Brea, Californie, USA) sur l'automate DXi Beckman Coulter, France.
- Le sélénium et zinc ont été mesurés par spectroscopie d'absorption atomique (AA) (PinAAcle 900T, Perkin Elmer Inc. Rodgau, GERMNAY).
- Les concentrations plasmatiques de zinc, le coefficient de saturation de la transferrine, de la ferritine, du glucose, du cholestérol, des triglycérides, du

cholestérol HDL, des ASAT/ALAT ont été déterminés à jeun par colo-turbidimétrie sur un appareil AU 2700 Olympus (Beckman Coulter, Brea, Californie, USA).

- Les valeurs de cholestérol LDL ont été calculées en utilisant la formule de Friedwald comme suit :
 - $\text{LDL-cholestérol} = \text{cholestérol total} - \text{HDL-cholestérol} - \text{TG} / 5$ en (g / L).
- L'indice du rapport aspartate aminotransférase / plaquettes (APRI_Score) a été utilisé pour évaluer la présence de NAFLD.
- L'hypertension était définie comme la pression artérielle systolique (TAS) ≥ 130 mm Hg ou la pression artérielle diastolique (TDA) ≥ 85 mm Hg ou le besoin de médicaments antihypertenseurs. L'hypertension a été mesurée par Surveillance Monitor General Electric Dinamap ProCare V100.

3.7. Programme de modification du mode de vie avant la chirurgie

Avant de subir une chirurgie bariatrique, les patients devaient suivre un programme de modification du mode de vie. Ce programme a été réalisé par l'Unité Multidisciplinaire de Chirurgie de l'Obésité (UMCO) du CHRU de Nancy. Programme auquel je n'ai pas participé.

Très brièvement, le programme est le suivant

Si l'indication est conservée : déterminer la durée de la phase de préparation opératoire.

Une prise en charge de 6 mois à 12 mois est un préalable à toute décision chirurgicale. Dans certains cas et en fonction de la présence de troubles alimentaires plus ou moins sévères, cette préparation peut être beaucoup plus longue sans qu'il soit possible de définir une durée approximative. Si un traitement bien géré a déjà eu lieu, la durée de la préparation

préopératoire peut être plus courte et s'adaptera au temps nécessaire à la préparation nutritionnelle et médicale.

Actions :

Thérapeutique :

- Obtenir le meilleur état nutritionnel possible pour l'opération en assurant une couverture protéique correcte, soit 0,8 à 1 g de protéines par kg de poids par jour (poids standardisé correspondant à un IMC de 25).
- Identifier et corriger les déficits en vitamines et minéraux les plus fréquents, à savoir la vitamine D, le fer et le calcium.
- Offrir des conseils d'équilibre alimentaire qui permettront d'optimiser l'équilibre nutritionnel et de stabiliser le poids, ainsi qu'une thérapie comportementale et cognitive concernant les croyances religieuses, les attentes et l'image de soi.
- Travailler sur les liens avec les psychodrames antérieurs par les psychiatres ou les psychologues.

Éducatif :

Un accompagnement pédagogique personnalisé visant à développer de nouvelles compétences chez le patient lors des entretiens individuels ou dans le cadre de programmes individuels ou de groupe. Cela devrait permettre au patient de développer, en plus des compétences techniques et d'auto-prise en charge attendues, des compétences d'adaptation.

- Acquérir les bases d'une alimentation variée et équilibrée.

- Identifier les stratégies à mettre en place pour prendre le temps nécessaire à la consommation des repas et des collations (réduire la tachyphagie): 20 minutes minimum, dans un environnement calme, en position assise.
- Apprenez à bien mâcher en prenant de petites bouchées
- Apprenez à mieux identifier les signaux physiologiques de faim, d'appétit, et de satiété.
- Instance calorique autorégulée en tenant compte des sentiments de faim et de satiété (par exemple avec une dégustation attentive).
- Gérer des situations de prise alimentaire prandiale ou extra-prandiale, qu'elles soient ou non liées à des émotions par une approche cognitivo-comportementale
- Surinvestir dans les résultats attendus.
- Comprendre les objectifs de leur comportement alimentaire et le rôle important des facteurs psychologiques et comportementaux.
- Un bilan est mis en place tout au long de cette prise en charge pour vérifier l'appropriation par le patient de ces connaissances et compétences.

3.8. Suivi

Les données de suivi sont collectées sur une période de 2 ans pour les patients ayant suivi l'un des types de chirurgie bariatrique susmentionnés. Les visites de suivi ont été évaluées en tenant compte des analyses des dossiers médicaux à deux, douze, dix-huit, et vingt-quatre mois après la chirurgie. En postopératoire, tous les patients ont reçu des recommandations standard en matière d'alimentation et de mode de vie, par exemple, il a

été recommandé à chaque patient de recevoir le comprimé d'AZINC (comprimé multivitaminé), 1000 µg de vitamine B12 par semaine et 100 000 UI de vitamine D.

3.9. Analyses statistiques de la première étude

Les variables qualitatives ont été exprimées sous forme de moyennes = / - écarts types et les variables quantitatives en pourcentage. La comparaison de variables quantitatives a été faite par test Chi2. Des tests non paramétriques tels que U de Mann et Whitney ont été réalisés lorsque la distribution des données n'était pas normale. Le test d'ANOVA a été utilisé pour comparer les variables clinico-biologiques avant et après chirurgie. D'autres tests statistiques analytiques tels que des approches univariées et multivariées ont été utilisés pour mettre l'accent sur la corrélation entre les variables catégorielles. Une valeur p bilatérale < 0.05 a été considérée comme significative. Les analyses ont été effectuées à l'aide des logiciels STATS/SE 12.1(Texas USA) et Prism 8 Californie USA.

3.10. Méthodes utilisées pour les études génomiques

Bien que le but de cette thèse ne soit pas de mener une étude GWA, un contrôle de qualité rigoureux de l'ensemble de données a été effectué. Une étude a rapporté que les résultats faussement positifs ou faux négatifs attribuables à des erreurs de génotypage insoupçonnées et à des facteurs de confusion (facteurs pouvant provoquer une association fausse) peuvent être un réel problème pour le GWAS étant donné les signaux faibles associés à des traits complexes et le bruit de fond lié aux génotypages à haut débit (Pluzhnikov et al., 2010). De plus, des problèmes en amont avec l'ensemble de données peuvent compromettre les analyses et les études en aval après le GWAS initial (Turner et al., 2011). Compte tenu de la taille de cette cohorte, l'exploration des associations génétiques au niveau du génome entier n'était pas envisageable. Cependant, l'exploration de scores polygéniques de variants codants était l'un des raisons du choix des puces à billes HumanExome. Par conséquent, la puissance et la validité des analyses SRP dépendent de la qualité des données de base et cibles. Il est recommandé que les deux ensembles de données soient contrôlés pour leur qualité selon les normes élevées mises en œuvre dans les études GWAS, par exemple en supprimant les SNPs en fonction du faible taux de génotypage, de la fréquence ou de l'imputation des allèles mineurs et des individus avec un faible taux de génotypage (S. W. Choi, Mak, & O'Reilly, 2018).

3.10.1. Réseau de puces à billes Illumina HumanExome

3.10.1.1. Présentation de la puce à ADN personnalisé Human Exome-12 v1.2

La conception de la matrice Infinium Human Exome-12 v1.2 est basée sur la couverture de variants exoniques potentiellement fonctionnels putatives sélectionnés parmi plus de 12 000 séquences d'exome individuelles et de génome entier. La couverture exonique se compose de plus de 240 000 marqueurs d'ascendance différente tels que (l'Europe, l'Afrique, l'Asie de l'Est, l'Asie du Sud et l'Amérique centrale et du Sud) ; ces marqueurs sont associés également à des maladies complexes telles que le DT2, le cancer, les troubles métaboliques et psychiatriques. Ces marqueurs sont basés sur les critères suivants : 1) 219 621 SNPs non synonymes. 2) 10,675 SNPs dans les sites d'épissage. 3) 5 637 SNPs non-sens. Le tableau Exome contient également 3 468 marqueurs informatifs d'ascendance, 3 369 d'identité par marqueurs d'ascendance, 470/101/177 marqueurs X / Y / mitochondriaux. (Tableau 2) adapté du site Web d'Illumina (consulté le 30 janvier 2020).

Table 2: Informations sur le marqueur

Catégories de marqueurs	Nombre de marqueurs
Marqueurs totaux	> 240.000
Nombre d'entrées RefSeq uniques couvertes par au moins 1 sonde	> 20,000
SNP non-synonymes (NCBI)	219,621
SNP dans les sites d'épissage	10,675
Variants d'arrêt	5,637
SNP dans les régions promotrices	7,012
SNP dans le CMH étendu	5,158
Marqueur de balise GWAS ^a	4,761
Balises HLA	2,061
Marqueurs informatifs d'ascendance	3,468
Identité par marqueurs d'ascendance	3,369
Marqueurs mitochondriaux X/Y	470/101/177
Indels (Insertion/délétions)	180
Variation capturée ($r^2 > 0.8$) ^b	Fraction
MAF >5.0%	0.10
MAF >2.5%	0.096
MAF >1.0%	0.088

a. Marqueurs associés aux maladies identifiées à partir du GWAS récent

b. Le contenu de l'exome fournit une couverture ciblée des régions exoniques et ne fournit pas une large couverture génomique en dehors des régions codantes.

3.11. Génomage et procédure de contrôle qualité de la puce à ADN exome humain Illumina

Ce chapitre décrit les procédures de contrôle qualité (CQ) effectuées dans le jeu de données de tableau d'exome de l'étude de cohorte ALDEPI/OBESEPI. Un total de 384 participants européens a été génomé sur la plateforme Illumina HumanExome en plus de la collecte de phénotypes tels que le sexe, la taille, le poids, la TG, le cholestérol total, le HDL, le LDL, le HTN, le MetS, le T2DM, etc. Par conséquent, ce chapitre vise à :

- Décrire en détail la procédure de contrôle qualité de la puce Illumina HumanExome.
- Sélectionner des variants rares et peu fréquents pour une analyse plus approfondie concernant la fréquence et la caractérisation fonctionnelle des SNPs codants.

3.11.1. Sélection d'Échantillon

Tous les participants inclus dans la cohorte ALDEPI/OBESEPI disposent d'ADN. Les 384 premiers patients ont été génomés à l'aide de la puce Illumina HumanExome.

3.11.2. Extraction d'ADN du sang

Des échantillons de sang de chaque patient ont été collectés dans des tubes EDTA au moment de la chirurgie bariatrique et conservés à -80°C avant l'extraction de l'ADN. L'extraction d'ADN a été réalisée à l'aide du kit suivant : GE Healthcare Life Sciences Illustra Nucleon BACC Genomic DNA Extraction Kit (Pittsburg, USA) selon les instructions du fabricant. Le contrôle qualité des échantillons a ensuite été effectué et les concentrations d'ADN ont été déterminées à l'aide du protocole Infinium HD Assay Ultra Manual pour la quantification de l'ADN par Picogreen Assay.

3.11.3. Génomage des micro-puces HumanExome

Les patients ont été génotypés en utilisant la version 1.2 d'Infinium HumanExome Beadchip à l'Université de Lorraine, unité INSERM 1256. Les génotypes ont été appelés en utilisant l'algorithme de clustering dans GenomeStudio (version 2011.1). Brièvement l'algorithme de clustering dans GenomeStudio est défini par des génotypes de cluster tels que AA, AB, et BB. Dans cette étude, chaque SNP a été noté en utilisant GenTrain et les critères de sélection de la séparation du cluster. Les signaux véritablement positifs reflétés comme bruit de fond étaient attribués manuellement à leurs clusters respectifs en fonction d'une valeur θ normalisée définie. Les SNPs dits fiables sont les seuls montrant une séparation de cluster distincte, et ont été conservés dans l'ensemble organisé. Les SNPs non inclus dans aucun cluster étaient considérés comme « aucun appel ».

3.12. Présentation du contrôle qualité de l'Exome Array

3.12.1. Section I

Un aperçu des paramètres, dit « contrôle qualité » (CQ) du tableau d'exome utilisés est fourni dans le (tableau 3). En bref, il a été réalisé après le chargement des données dans GenomeStudio en tenant compte des points suivants : (Tableau 4). Tous les CQ ont été réalisés en utilisant le protocole de (Guo et al., 2014).

1. Agrégation visuelle
2. CQ sur les SNP localisés dans un génome haploïde.
3. CQ basé sur le score GenTrain.
4. CQ basé sur la séparation des grappes.
5. CQ basé sur l'erreur mendélienne et l'erreur de réplication.
6. CQ basé sur d'autres critères.

7. Appel de SNP rares.

8. Filtrage final.

9. Exportation depuis GenomeStudio. Il est à noter que tout le contrôle qualité des tableaux HumanExome a été réalisé à l'aide du logiciel PLINK.

Table 3: Paramètres de contrôle de qualité de GenomeStudio

Nom	Type	Minimum	Maximum	Tri	Seuil utilisé
Gen Train	Marge	0	1	Croissant	-
Séparation de cluster	Marge	0	1	Croissant	-
Erreur P-P-C	Nb. entier	0	>100	Décroissant	-
Erreur Rep	Nb. entier	1	>100	Décroissant	-
Freq. AB	Marge	0	1	Décroissant	>0.6
Taux de Freq.	Marge	0	1	Croissant	0.2<0.3
Moy. AA T	Marge	0	1	Les deux	<0.95
Dev AA T	Marge	0	1	Décroissant	> 0.024
Moy. AB T	Marge	0	1	Les deux	0.2<0.3
Dev AB T	Marge	0	1	Décroissant	≥0.07
Moy. BB T	Marge	0	1	Les deux	<0.7
Dev BB T	Marge	0	1	Décroissant	>0.0224
Moy AA R	Marge	0	1	Les deux	<0.2
Dev AA R	Marge	0	1	Décroissant	>0.2
Dev AB R	Marge	0	1	Décroissant	>0.3
Moy BB R	Marge	0	1	Les deux	>0.17
Dev BB R	Marge	0	1	Décroissant	>0.18

3.12.2. Section II

Dans la section post GenomeStudio, le contrôle qualité suivant a été effectué :

1. Identifier et exclure les personnes présentant des discordances entre les sexes biologiques et renseignés.
2. Identifier et exclure les personnes d'ascendance non européenne
3. Identifier et exclure les personnes apparentées.
4. Vérifier les valeurs aberrantes d'équilibre de Hardy-Weinberg (HWE) pour les SNPs.
5. Vérifier la qualité du génotypage. (Tableau 4).

Table 4: Aperçu du protocole

GenomeStudio section	Post-GenomeStudio section
Chargement des données dans GenomeStudio	Conversion de tous les SNP en brin avant
Réalisation d'un clustering automatique	Identifier et exclure les pers. présentant les discordances entre les sexes biologiques et renseignés
CQ sur les SNP localisés dans un génome haploïde	Identifier et exclure les pers. d'ascendance non-EU
CQ basé sur le score Gen Train	Identifier et exclure les personnes apparentées
CQ basé sur la séparation des clusters	Identifier les valeurs aberrantes de EHW
CQ basé sur erreur Mendélienne et erreur de réplication	Identifier les valeurs aberrantes d'hétérozygoté
CQ basé sur d'autres critères	Vérifier la cohérence entre la puce exome et 1000G
Appel des SNP rares	Vérifier la cohérence MAF entre puce +1000GP
Filtrage final	Vérifier des effets par lots
Exportation depuis GenomeStudio	

EHW équilibre de Hardy Weinberg, 1000 GP: 1000 genome project, MAF: minor allele frequency, SNPs: single nucleotide polymorphism

3.13. Échantillons pour le contrôle qualité (CQ)

Le format de données CQ a suivi le format de données de GWAS. (Figure 10).

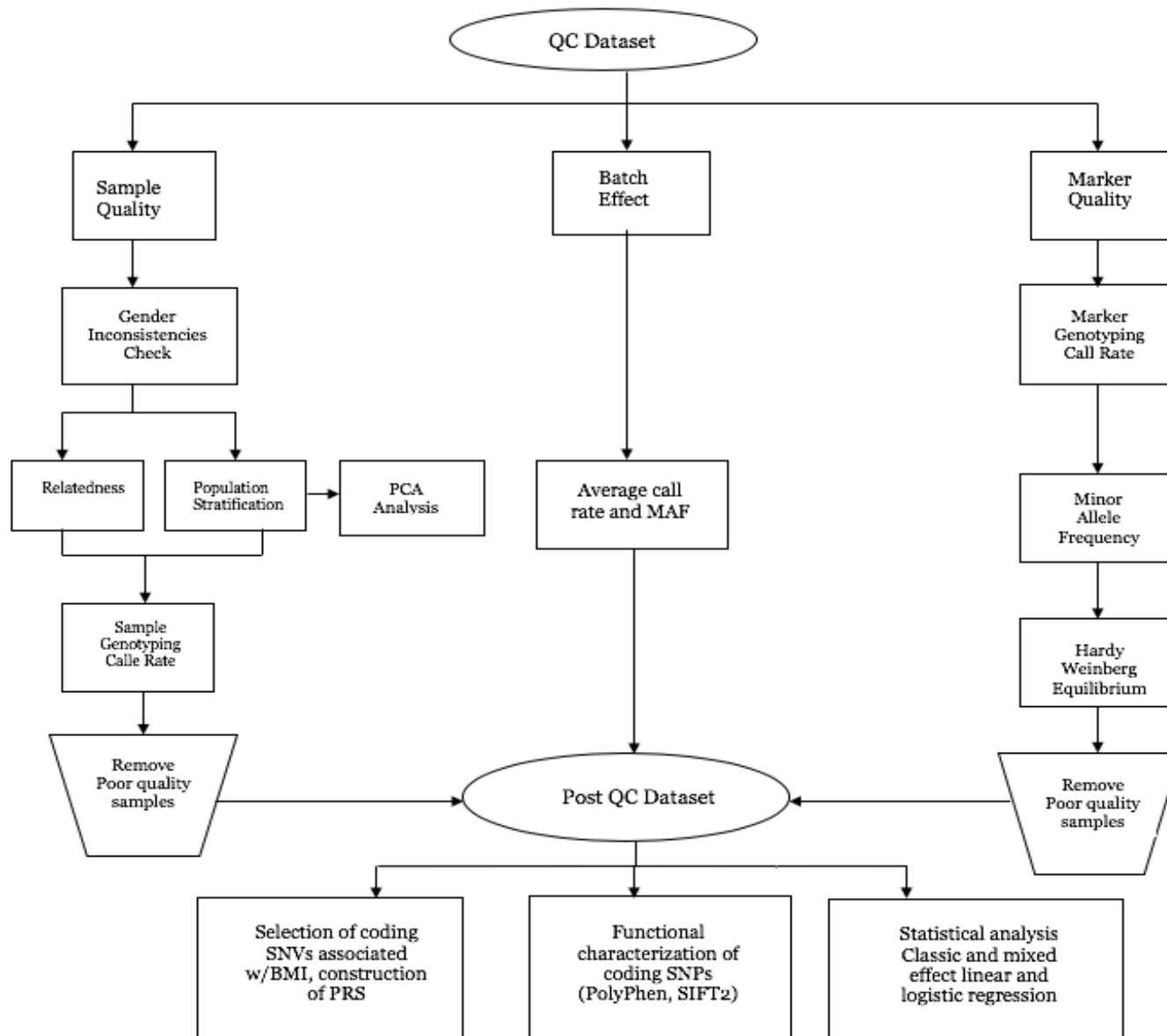


Figure 10: Organigramme de la procédure globale de contrôle qualité. Cet organigramme décrit les étapes effectuées pour la puce de réseau d'exome. Cet organigramme est adapté du format le plus couramment utilisé pour les données génétiques (Turner et al., 2011).

3.13.1. Taux d'appel

Le taux d'appel pour un SNP donné est défini comme la proportion d'individus de l'étude pour lesquels les informations SNP correspondantes ne sont pas manquantes. Dans le GWAS, un faible taux d'appels, ou une portion de variants de nucléotides (SNV) par échantillon, est un bon indicateur de la mauvaise qualité de l'échantillon. Le taux d'appel a été calculé par échantillon à l'aide de PLINK. Cette étape a été réalisée pour l'ensemble des données (384 sujets). Un seuil de 99% a été utilisé, et un seul échantillon a été abandonné pour un faible taux d'appel.

3.13.2. Fréquence d'appel

La fréquence d'appel équivaut au taux d'appel dans les échantillons de GenomeStudio. En conséquence, une faible fréquence d'appel, ou une fraction de SNV appelés par échantillon, peut indiquer une qualité d'échantillon médiocre. La fréquence des appels a également été calculée par échantillon à l'aide de PLINK. Cette étape a également été effectuée pour l'ensemble de données. Un seuil de 95% a été utilisé, et aucun échantillon n'a été abandonné pour une fréquence d'appel basse.

3.13.3. Vérification du sexe

PLINK a été utilisé pour effectuer un contrôle du sexe. Cette étape utilise les données du chromosome X pour déterminer le sexe (c'est-à-dire sur la base des taux d'hétérozygotie) et signale les personnes pour lesquelles le sexe déclaré dans le fichier PED ne correspond pas au sexe estimé (données génétiques). La vérification du sexe par le logiciel PLINK contient des champs tels que :

- FID (Famille ID),

- IID (ID individuel)
- PEDSEX (Sexe tel que déterminé dans le fichier généalogique :

1 = homme

2 = femme

0 = inconnu

Et

SPNSEX (sexe déterminé par le chromosome X),

- Statut (affiche « PROBLÈME » ou « OK » pour chaque individu), F (l'estimation réelle de la consanguinité du chromosome X (homozygotie). Un problème survient si les deux sexes ne correspondent pas, ou si le SPNSEX (données SNP) ou PEDSEX (données d'ascendance) sont ambiguës en ce qui concerne le sexe. Un appel masculin est émis si F est supérieur à 0,8 ; un appel féminin est émis si F est inférieur à 0,2. Dans ce contexte, un total de 14 sujets dont 4 sujets modifiés (individus qui ont été considérés comme des hommes, mais se sont avérés être des femmes *et vice versa*) ont été identifiés durant les analyses, et qui par la suite ont été exclus : (Tableau 5).

Table 5: 14 suspects avec des sorties de vérification du sexe utilisant PLINK

IID	PEDSEX	SNPSEX	STATUT	F	EXPLICATION
1	2	0	PROBLEME	0.2034	Femelle enregistrée, génétiquement inconnue, après vérification, signalée femelle
2	2	0	PROBLEME	0.2798	Femelle enregistrée, génétiquement inconnue, après vérification, signalée femelle
3	2	0	PROBLEME	0.2934	Femelle enregistrée, génétiquement inconnue, après vérification, signalée femelle
4	2	1	PROBLEME	1	Femelle enregistrée, génétiquement mâle
5	1	2	PROBLEME	0.04828	Mâle enregistre, génétiquement femelle
6	2	1	PROBLEME	1	Femelle enregistrée, génétiquement mâle
7	1	2	PROBLEME	-0.01488	Mâle enregistre, génétiquement femelle
8	2	1	PROBLEME	1	Femelle enregistrée, génétiquement mâle
9	2	0	PROBLEME	0.2252	Femelle enregistrée, génétiquement inconnue, après vérification, signalée femelle
10	2	0	PROBLEME	0.2197	Femelle enregistrée, génétiquement inconnue, après vérification, signalée femelle
11	2	1	PROBLEME	1	Femelle enregistrée, génétiquement mâle
12	1	2	PROBLEME	0.06697	Mâle enregistre, génétiquement femelle
13	1	2	PROBLEME	0.06151	Mâle enregistre, génétiquement femelle
14	1	2	PROBLEME	-0.1786	Mâle enregistre, génétiquement femelle

IDD:ID individuel; PEDSEX: sexe tel qu'enregistré dans le pedfile (1= mâle e, 2= femelle); SNPSEX: sexe tel que prédit sur la base des données génétiques (1=male, 2=female, 0=inconnu); STATUT: OK ou problème; F: estimation de la consanguinité du chromosome X (homozygotie)

3.13.4. Exclusion des personnes d'ascendance non européenne

Pour rechercher des personnes d'ascendance non européenne, nous avons extrait des marqueurs informatifs d'ascendance (AIM) du fichier PLINK exportés de GenomeStudio. L'appartenance raciale a été estimée par échantillon à l'aide de l'analyse en composantes principales (ACP), une technique utilisée pour souligner la variation et faire ressortir des modèles forts dans un ensemble de données. Nous avons utilisé PC₁ pour visualiser notre ensemble de données le long d'une dimension en montrant le plus de variation, et PC₂ pour montrer le moins de variation dans l'ensemble de données. En conséquence, 16 profils suspects ont été identifiés. Après une recherche exhaustive dans la base de données du CHRU Nancy, ces 16 sujets se sont révélés non caucasiens et ont été exclus des analyses. (Figure 11).

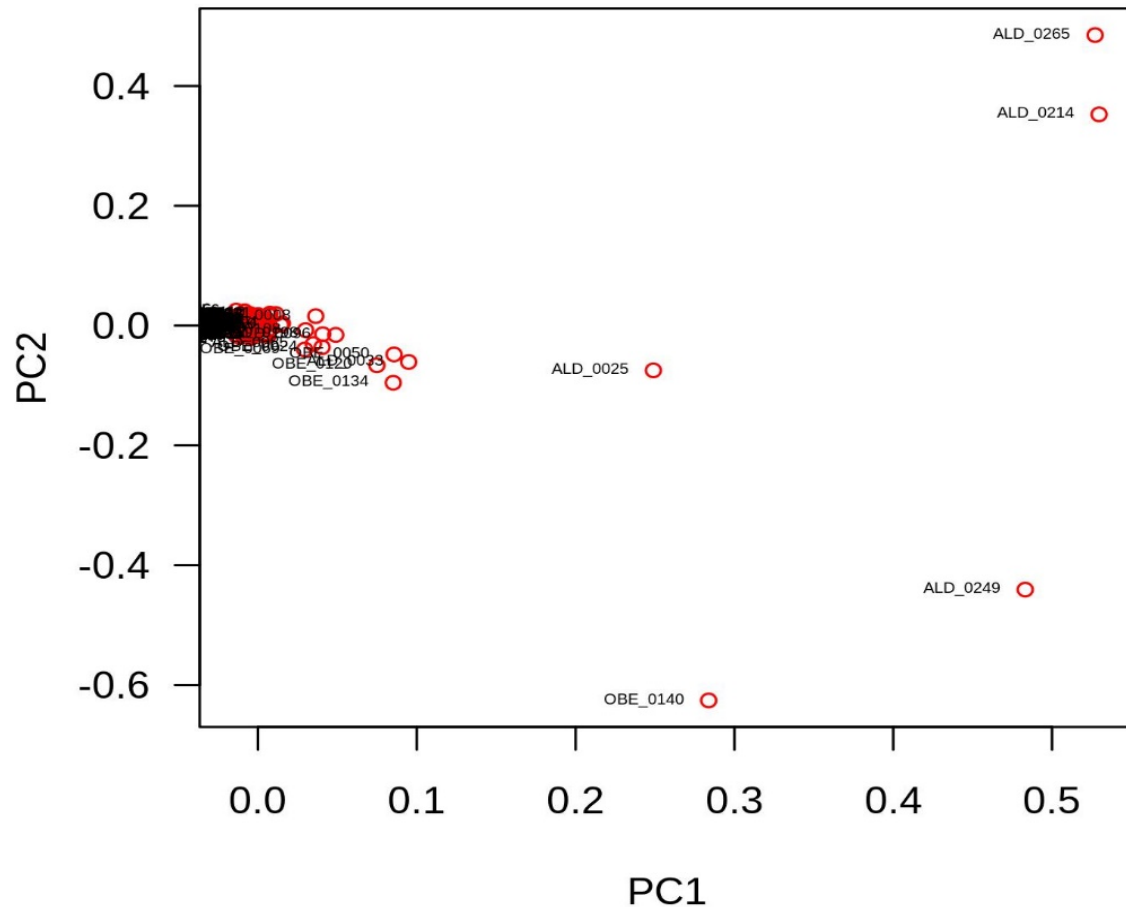


Figure 11: Analyse en composantes principales des sujets non caucasiens de la cohorte: Comparaison des principaux composants générés à partir du tableau ALPDEPI / OBESSEPI Infinium Human Exome. L'axe des x indique la composante principale 1. L'axe des y indique la composante principale 2. Un total de 16 sujets a été exclu en tant que non-Caucasiens (16 individus cerclés de rouge).

3.13.5. Lien de parenté

Pour vérifier la parenté, un calcul basé sur un déséquilibre de liaison (DL) a été effectué en utilisant le génome PLINK avec le champ suivant. L'estimateur sous-jacent a été utilisé pour calculer avec les estimations finales pour :

$$P(\text{IBD} = 0) = (1-p)^2, P(\text{IBD} = 1) = 2p(1-p) \text{ et } P(\text{IBD} = 2) = p^2,$$

Où p est le PI_HAT courant,

Où PI_HAT représente la proportion d'identité par filiation (IPF=IBD), c'est-à-dire $P(\text{IBD} = 2) + 0,5 * P(\text{IBD} = 1)$.

Tous les échantillons ont été estimés, ensemble choisis $\text{PI_HAT} > 0,25$. Un total de 16 personnes a été identifié comme ayant une relation étroite. Parmi eux, cinq auraient subi une contamination croisée et ont été exclus des analyses.

3.13.6. Cohérence du génotypage

La cohérence du génotypage a également été vérifiée pour l'ensemble du génotypage de la matrice HumanExome, et était satisfaisante. La cohérence du génotype peut être calculée comme une cohérence globale ou une cohérence hétérozygote. La cohérence globale du génotype est définie comme le nombre de SNP cohérents divisé par le nombre de SNP qui se chevauchent, et la cohérence hétérozygote fait référence au nombre de SNP hétérozygotes cohérents divisé par le nombre de SNP hétérozygotes dans la région de chevauchement (Zhao et al., 2018).

3.13.7. Équilibre de Hardy-Weinberg (EHW)

Nous avons calculé l'équilibre de Hardy-Weinberg (EHW) par race pour tous les SNPs en utilisant PLINK. Le EHW a été réalisé pour identifier les SNP qui s'écartent du EHW, c'est-à-dire que le test EHW est réalisé uniquement sur les SNP avec $MAF > 0,05$, car le test est approprié pour les variants rares mais manque de puissance sur effectifs modestes (Guo et al., 2014). Un écart par rapport à cet équilibre a été suggéré comme indicateur d'erreurs potentielles de génotypage ou de stratification de la population (Zhao et al., 2018). Les marqueurs avec des valeurs p EHW inférieures à 10^{-6} ont été exclus. Pour estimer la fréquence des allèles dans cette population, l'équation de Hardy-Weinberg a été utilisée.

Selon cette équation :

p = la fréquence de l'allèle commun/ majeur/majoritaire (représenté ici par A)

q = la fréquence de l'allèle mineur (représentée ici par a)

Pour une population en équilibre génétique :

$p + q = 1.0$ (la somme des fréquences des deux allèles est de 100%)

$$(p + q)^2 = 1$$

Alors

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Les trois termes de cette expansion binomiale indiquent les fréquences des trois génotypes:

p^2 = fréquence d'AA (homozygote commun)

$2pq$ = fréquence de Aa (hétérozygote)

q^2 = fréquence de aa (homozygote mineur).

3.13.8. Marqueurs non autosomiques

Au total, 748 marqueurs sur les chromosomes X, Y et l'ADN mitochondrial ont été retirés de l'analyse, car GenomeStudio ne regroupe pas ces chromosomes en raison de leur diploïdie. L'algorithme de cluster de GenomeStudio ne prend pas en compte la génétique haploïde, ce qui se traduit par une grande fraction de SNP mal regroupés dans les chromosomes X et Y et l'ADNmt. Ces variants n'ont pas été inclus dans le processus de contrôle qualité.

3.14. Résumé des résultats du CQ

3.14.1. Résultats pour le taux d'appel et la fréquence d'appel

Un total de 384 sujets pour 244 770 SNP a réussi le CQ dans cette étude de cohorte ALDEPI/OBESEPI. Un seul sujet a échoué au CQ pour un faible taux d'appels, mais les 383 sujets restants pour 244 770 SNP ont réussi le taux d'appel à un seuil de 99%. La fréquence d'appel globale était supérieure à 95% pour 244 551 SNP (99,9%) qui ont passé le CQ pour cette étape. (Tableau 6).

Table 6: Résumé de SNV CQ dans les données du tableau d'exome ALDEPI / OBESEPI

Signal	Seuil	Nombre de SNV écartés
Taux d'appel	>99%	1
Fréquence d'appel	>95%	0
Équilibre de Hardy Weinberg	Race specific P >10 ⁻⁶	0
Marqueurs non autosomiques	X, Y, MT	748

3.14.2. Fréquences d'allèles mineurs et résultats

Pour la distribution de fréquence des allèles mineurs (MAF) des SNV dont le génotypage a passé le CQ avec succès : il y avait 163 207 SNP (66,7%) monomorphes pour un MAF = 0, et un total de 81 344 SNP (33,2%) était polymorphes pour un MAF > 0; 43 525 SNP (53,5%) étaient rares pour un MAF < 0,01; 10 208 SNP (12,5%) étaient de faible fréquence pour un MAF de 0,01 à 0,05; et 27 611 SNP (33,9%) pour un MAF > 0,05 étaient fréquents. (Tableau 7).

3.14.3. Résultats de cohérence du génotypage : Sexe, origine géographique, parenté

Pour le CQ concernant les discordances sexuelles, l'origine ethnique, la parenté et la cohérence du génotypage : il y avait 14 sujets dont le sexe génétique ne correspondait pas au sexe déclaré dans le fichier PED, 16 sujets n'étaient pas d'ascendance européenne et 16 étaient apparentés. Concernant les individus apparentés, un a été retenu par famille et les autres ont été exclus dans les analyses. (Tableau 8).

Table 7: Distributions de fréquences alléliques mineures

Intervalle MAF	Caucasiens (n=383) (%)
0	163 207 (66.7%)
> 0	81 344 (33.2%)
<0.01	43 525 (53.5%)
0.01-0.05	10 208 (12.5%)
> 0.05	27 611 (33.9%)

Table 8: Résumé du contrôle qualité (CQ) dans la cohorte ALDEPI / OBESEPI

Signal	Nombre de sujets écartés
Discordance de sexe	14
Discordance d'ascendance	16 Non-Caucasiens
Personnes apparentées	16
Cohérence de génotypage	Satisfaisante

3.14.4. Effets par lots

Les sujets ALDEPI/OBESEPI ont été génotypés à deux moments avec la même version du kit « Infinium HumanExome Bead Chip ». Cependant, deux personnes ont opéré à deux dates de génotypage différentes. Comme l'ensemble de données a été regroupé, il n'a pas été possible d'évaluer les effets des lots.

3.15. Jeu de données Post CQ (stratégie de sélection des SNP)

3.15.1. Sélection des variants (Variants rares)

Les sélections de variants rares ont été effectuées comme suit :

A partir de :

- Des variants rares ont été extraits du réseau de puces à billes HumanExome.
- Les 14 SNP de (Turcot et al., 2018) ont été utilisés.
- Le fichier de génotypes a ensuite été extrait de GenomeStudio pour ces 11 SNP dont 5 protecteurs et 6 prédisposants.

3.15.2. Caractérisation fonctionnelle des SNP codants

Les mutations d'arrêt, d'accepteur d'épissage, de donneur d'épissage et de décalage de cadre de lecture ont été considérées comme des pertes de fonctions. La question de savoir si les mutations faux-sens ont eu un impact significatif sur la fonction des protéines a été étudiée en utilisant le logiciel PolyPhen2 et SIFT ou des tests de caractérisation fonctionnelle *in vitro/in vivo*.

3.16. Calculs du score de risque polygénique (SRP)

SRP a été construit pour les deux scores pour variants rares protecteurs et à risque pour l'IMC / l'obésité. Le principe du SRP a été décrit comme suit :

Les identifiants représentent les individus.

Par exemple :

ID₁ est l'individu 1. Par exemple, le profil SNP d'un individu est le suivant :

SNP₁ = 2,

SNP₂ = 1

SNP₃ = 0

SNP₄ = 2, etc., La valeur de chaque SNP représente le génotype.

Par exemple : des génotypes dans ce cas (AA, AB, BB) qui sont codés comme (0, 1, 2).

Où

0 = allèle majeur (homozygote de type commun)

1 = hétérozygote et

2 = allèle mineur (homozygote mineur)

Ainsi, pour le SRP non-pondéré, nous avons résumé tous les SNP comme suit :

SRP non pondérés = 2 + 1 + 0 + 2 = 5. Ceci n'est qu'un exemple de ce qui a été réalisé.

Dans cette étude, nous avons utilisé 11 SNPs pour les variants rares.

Il est à noter que pour construire le SRP, il était essentiel de connaître l'allèle à risque, car la fréquence des allèles à risque est importante lors de la sélection des SNP, ce qui a permis de construire le SRP. Le calcul de la fréquence des allèles à l'aide de l'équilibre de Hardy-Weinberg a été important pour déduire l'allèle à risque. Dans cette étude, nous avons utilisé

un SRP non pondéré car les scores génotypiques non pondérés et pondérés pour les caractères complexes ont généralement une performance comparable. Cela est particulièrement vrai si les différences dans les effets génétiques des SNP sont mineures et si la taille de l'échantillon n'est pas très grande, deux conditions qui s'appliquent à cette étude. Par conséquent, nous avons construit pour les variants rares deux scores génétiques (SG):

- 1) Un GS à risque GS basé sur les génotypes de 6 SNPs codants dont l'allèle mineur est associé à un IMC plus élevé (rs141845046 (ZBTB7B), rs1799805 (ACHE), rs145878042 (RAPGEF3), rs1126930 (PRKAG1), rs61754230 (RABR21), rs5621483).
- 2) Un GS protecteur basé sur les génotypes de 5 SNPs codants dont l'allèle mineur est associé à un IMC plus bas (rs34149579 (HIP1R), rs62051555 (ZFHX3), rs6050446 (ENTPD6), rs45465594 (ZFR2), rs12236219 (ZNF169)).

3.17. Analyses statistiques

Pour l'étude génétique, les variables continues ont été évaluées graphiquement et statistiquement (c.-à-d. Test de Shapiro-Wilk) pour la normalité de la distribution avant l'analyse. Pour les traits qui s'écartaient significativement de la normalité, une transformation normale inverse basée sur le rang a été appliquée et les valeurs transformées ont été utilisées dans les analyses. Des modèles de régression linéaire à effets classiques et mixtes ajustés en fonction de l'âge, du sexe, le type de chirurgie, et de la structure de la population ont été utilisés pour l'analyse continue du niveau de l'IMC et des changements au départ et au suivi. Les SG ont été analysés en continu ou en binaire (présence/absence

de variants codants rares/peu fréquents associés à l'IMC). Les associations entre SG et traits continus/binaires ont été réalisées à l'aide de modèles de régression linéaire et logistique. Les co-variables dans les modèles de régression comprenaient l'âge, le sexe et l'IMC de base, l'IMC au jour de la chirurgie, le nombre de jours de traitement et le type de chirurgie dans certaines analyses. Les associations entre le SG et la trajectoire de l'IMC (c'est-à-dire le taux de variation de l'IMC) en réponse à la chirurgie bariatrique ont été étudiées à l'aide de modèles de régression linéaire mixte dans SPSS avec estimation du maximum de vraisemblance restreinte (REML). L'ajustement pour la structure de la population a été réalisé pour exclure des sujets ou ajuster sur l'origine ethnique. Toutes les valeurs P rapportées sont bilatérales. Des valeurs p inférieures à 0,05 ont été considérées comme significatives pour les études d'association SRP. Une correction globale de Bonferroni a été appliquée à tous les résultats pour réduire le risque de commettre des erreurs de type I, mais augmente le risque de commettre des erreurs de type II. Par conséquent, une valeur p bilatérale $<0,05$ a été considérée comme significative après correction de Bonferroni. Les logiciels SPSS 20.0 et R ont été utilisés pour réaliser ces analyses statistiques.

3.18. Mécanisme de méthylation l'ADN (Étude épigénomique)

La méthylation de l'ADN est catalysée par une famille d'ADN méthyltransférases (Dnmts) qui transfèrent un groupe méthyle de la S-adényl méthionine (SAM) au cinquième carbone d'un résidu de cytosine pour former 5 mC. (Figure 12). La méthylation de l'ADN se produit généralement au niveau des dinucléotides CpG dans les cellules somatiques adultes, bien qu'une méthylation non-CpG se produise également (Samblas et al., 2019).

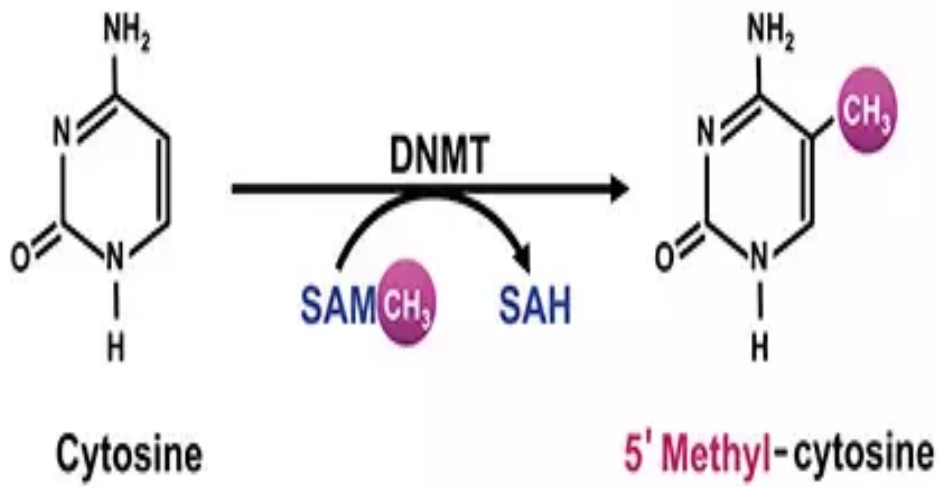


Figure 12: Méthylation de l'ADN. La cytosine se transforme en 5-méthylcytosine à l'aide de l'enzyme méthyltransférase.

3.18.1 Sites CpG

Les sites CpG sont des régions d'ADN où un nucléotide cytosine est suivi par un nucléotide guanine dans la direction 5'-3'. Lorsque les sites CpG se produisent avec une fréquence élevée dans les régions génomiques, ils sont appelés îlots. Les îlots CpG désignent des segments d'ADN d'environ 1 000 paires de bases. La grande majorité des promoteurs de gènes, environ 70%, sont localisés au sein d'îlots CpG (Samblas et al., 2019).

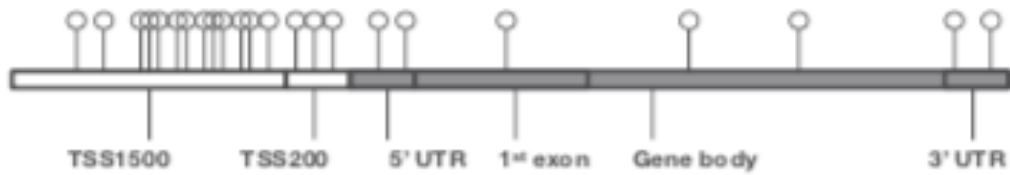
3.18.2. Méthode utilisée pour mesurer la méthylation

Comme mentionné précédemment, la méthylation de l'ADN (ADNm) est l'une des modifications épigénétiques les plus étudiées, et elle a été identifiée comme étant associée à de multiples maladies chroniques incluant l'obésité. Au cours du développement, le profil de l'ADNm est soumis à des changements dans le génome, qui aboutissent à un processus qui implique à la fois une méthylation et une déméthylation de l'ADN *de novo* (Jang, Shin, Lee, & Do, 2017; Kinde, Gabel, Gilbert, Griffith, & Greenberg, 2015). L'un des objectifs de notre étude de l'ADNm est d'identifier les variants épigénétiques associés à des maladies complexes. Plusieurs plates-formes sont disponibles dans ce but. Parmi elles, nous trouvons la puce Illumina Infinium HumanMethylation450 (450K), qui est reconnue comme l'une des technologies les plus efficaces. Néanmoins, cette plate-forme n'est pas sans poser des problèmes dans l'analyse des données ADNm générées par ce type de technologie en raison de biais étendus. Il existe d'autres méthodes à l'échelle du génome telles que les techniques basées sur le séquençage, et à part la 450K, il y a la puce EPIC, mais l'accent sera mis ici sur la puce 450K qui a été utilisée dans cette étude.

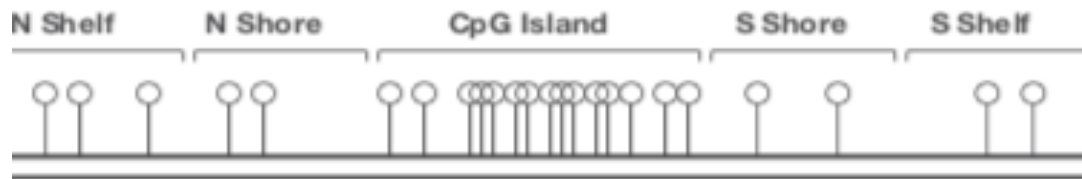
3.19. Matrice Illumina HumanMethylation450K

3.19.1. Présentation de la matrice de puce Beadchip HumanMethylation450

Le réseau de puces à billes Illumina Infinium HumanMethylation450 (450K) couvre plus de 485 577 sites CpG répartis le long de tous les chromosomes. La puce CpG couvre 96% des îlots CpG, et leur régions avoisinantes ainsi que les régions du génome qui incluent le site d'initiation de la transcription, le corps des gènes, le premier exon et les régions 5' et 3' UTR pour ce qui concerne 99% des gènes RefSeq, avec une moyenne de 17 CpG par gène dans le génome humain (Figure 13). La particularité de cette technologie réside dans l'utilisation de deux types distincts de dosages chimiques (Infinium I et Infinium II). Les deux sont basés sur un génotypage quantitatif du polymorphisme C/T généré par la conversion du bisulfite d'ADN (fait référence aux cytosines non méthylées qui sont converties en uracils (lues sous le nom de thymines après PCR) alors que les méthylés restent non convertis). Les informations présentées ici sont adaptées du site Web d'Illumina (accédé le 23 Aout 2020).



FeatureType	Genes Mapped	PercentGenes Covered	Number of Loci on Array
NM_TSS200	14895	0.79	2.56
NM_TSS1500	17820	0.94	3.41
NM_5'UTR	13865	0.78	3.34
NM_1stExon	15127	0.80	1.62
NM_3'UTR	13042	0.72	1.02
NM_GeneBody	17071	0.97	8.97
NR_TSS200	1967	0.65	1.84
NR_TSS1500	2672	0.88	2.92
NR_GeneBody	2345	0.77	5.34



Feature Type	Islands Mapped	Percent Islands Covered	Average Number of Loci on Array
Island	26153	0.94	5.08
N_Shore	25770	0.93	2.74
S_Shore	25614	0.92	2.66
N_Shelf	23896	0.86	1.97
S_Shelf	23968	0.86	1.94

Figure 13: Vue d'ensemble de HumanMethylation450K: HumanMethylation450 Bead Chip fournit une couverture le long des régions génétiques, des îles CpG/régions insulaires CPG, des étagères, ainsi que des rivages pour une vue la plus complète de l'état de méthylation.

3.19.2. Sélection d'Échantillon

Parmi les 450 individus inclus dans la cohorte ALDEPI/OBESEPI, 98 d'entre eux ont été choisis selon les critères du « diagnostic de la NASH » (à noter que dans un premier temps, le but de la collecte de ces échantillons était d'évaluer les paramètres nutritionnels de la NASH chez les patients opérés d'une CB). Tous les échantillons ont été analysés par le même opérateur (moi-même) à l'unité d'INSERM 1256 sur la plate-forme génomique

3.19.3. Extraction d'ADN

Des échantillons de foie, de tissu adipeux viscéral et de sang total ont été prélevés dans des tubes Eppendorf de chaque patient au moment de la chirurgie bariatrique et conservés à -80°C avant l'extraction de l'ADN. L'extraction d'ADN a été réalisée en utilisant les éléments suivants : DNeasy Blood and Tissue (Qiagen, CA, USA) selon les instructions du fabricant. Le contrôle qualité des échantillons a ensuite été effectué et les concentrations ont été déterminées à l'aide du protocole Infinium HD Assay Ultra Manual pour la quantification de l'ADN par Picogreen Assay. Le jeu de données méthylome a été généré au sein de la plate-forme de génomique de l'unité INSERM 1256 sur des puces de type Infinium Methylation EPIC Illumina® (ADN leucocytaire) ou Infinium HumanMethylation450 Illumina® (ADN du foie et du tissu adipeux viscéral). Les puces ont été scannées sur un système Illumina iScan® et les données brutes de méthylation ont été générées via le logiciel du module de méthylation Genome Studio.

3.19.4. Quantification des niveaux de méthylation (conversion du bisulfite)

Cette matrice de méthylation Infinium est basée sur la même technologie que celle utilisée pour le génotypage des SNP. L'un des premiers tests Infinium à avoir lieu avant le tableau de méthylation est basé sur la conversion du bisulfite, où les cytosines non méthylées sont converties en uraciles (lues comme thymines après PCR), tandis que les méthylés restent non convertis. On a suivi le protocole d'Illumina, et l'ADN converti au bisulfite est soumis à des processus tels que l'amplification du génome, la fragmentation enzymatique du point final, ainsi que la précipitation et la remise en suspension avant de s'hybrider au réseau. (Figure 14).

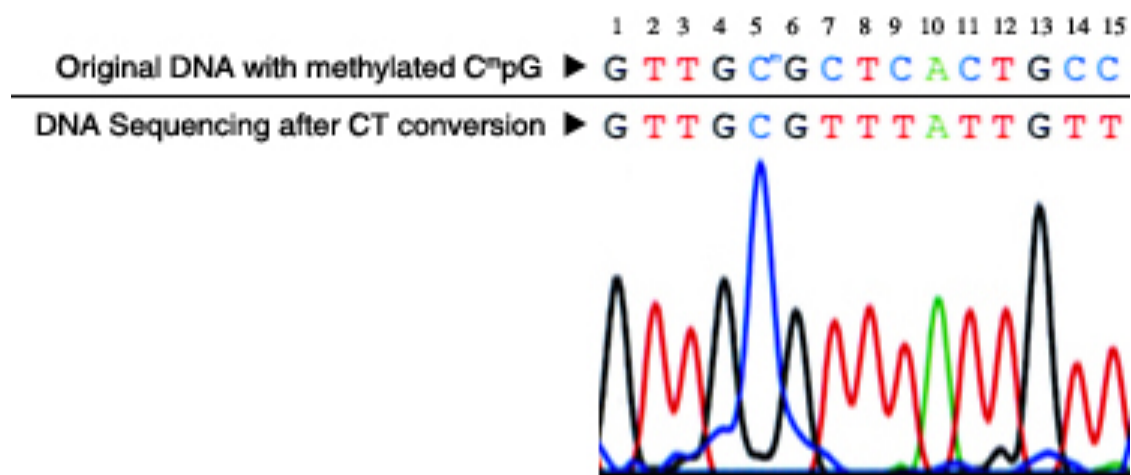


Figure 14: Résultats du séquençage de l'ADN après un traitement au bisulfite.

3.20. Sondes de type I et de type II

La puce 450K utilise des sondes longues de 50 paires de bases complémentaires aux loci ciblés. La puce Illumina 450K comprend deux types de sondes différents, Infinium I (n = 135 501) et Infinium II (n = 350 076). Les sondes de type I mesurent la méthylation à près de 28% des CpG sur 450K et utilisent deux sondes par CpG, qui correspondent à l'allèle méthylé (M) et non méthylé (U). Pour la sonde de type I, les deux signaux sont mesurés dans la même couleur. Contrairement au type I, les sondes de type II couvrent les 72% restants des CpG sur 450K, qui utilisent une sonde par CpG et utilisent des couleurs de colorant distinctes (rouge / vert) pour différencier les allèles méthylés (M) des non-méthylés (U). (Figure 15).

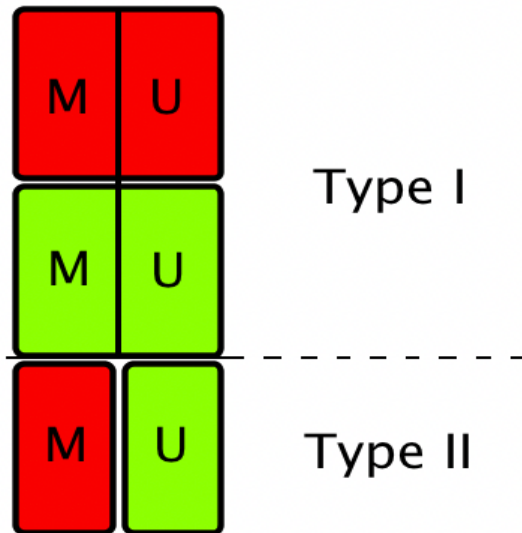


Figure 15: Conception de la sonde de la matrice HumanMethylation450K. Les sondes de type I sont toutes deux mesurées dans la même couleur: une sonde pour le signal méthylé et une sonde pour le signal non méthylé. Les sondes de type II n'utilisent qu'une seule sonde où l'intensité verte mesure le signal non-méthylé et la rouge le signal méthylé (Fortin & Hansen, 2014).

3.21. Valeur bêta pour la distribution de la méthylation de l'ADN

La valeur β est la valeur par défaut récupérée par le logiciel GenomeStudio et est simplement utilisée pour quantifier le niveau de méthylation brut de chaque CpG. Il peut être calculé comme suit :

$$\beta = M / (M + U + 100)$$

- M : intensité de l'état méthylé
- U : Intensité pour l'état non méthylé
- 100 : peut également être représenté par α qui sert à stabiliser les valeurs bêta lorsque les intensités sont faibles.

La valeur bêta est limitée entre 0 et 1 (ou 0 et 100%) ce qui correspond relativement au pourcentage de cellules pour lesquelles le CpG est méthylé avec les points finaux montrant des états entièrement à la fois non méthylés ou méthylés.

3.22. Contrôle de qualité des données

Le contrôle de la qualité des données a été effectué en utilisant le boîtier Bioconductor *minfi* comme indiqué. C'est une étape importante qui doit être menée, si possible, pour vérifier les incohérences dans les données de méthylation (Figure 16). Après l'importation des données, la première étape consiste à filtrer une valeur p détectée élevée (par exemple $> 0,01$) (la valeur p est associée à la valeur β reflétant la force de l'intensité du signal d'hybridation de l'ADN en comparaison de l'intensité du bruit de fond). Comme mentionné ci-dessus, dans *minfi*, les valeurs β sont attribuées avec « NAs » soit M et U sont égales à

zéro, soit non supérieures au bruit de fond. Le CQ surveille les différentes étapes expérimentales telles que :

- Détection des valeurs p
- Sondes à réaction croisée
- Une vérification du sexe comparant le sexe réel des donneurs de l'échantillon aux registres
- Détection d'échantillons contaminés à l'aide de valeurs aberrantes parmi les 65 sondes interrogeant des SNP fréquents
- Sondes « haute intensité »
- Qualité du procédé de bisulfitation
- Risque d'erreur d'échantillonnage.

Un grand nombre d'erreurs est généralement une source de préoccupation, car les métadonnées des échantillons peuvent ne pas être correctement liées ou les échantillons peuvent être mal étiquetés pendant le traitement, ce qui nécessite une enquête plus approfondie. Pour chaque sonde CpG, la méthylation a été décrite par une valeur β variant de 0 (absence totale de méthylation) à 1 (méthylation complète).

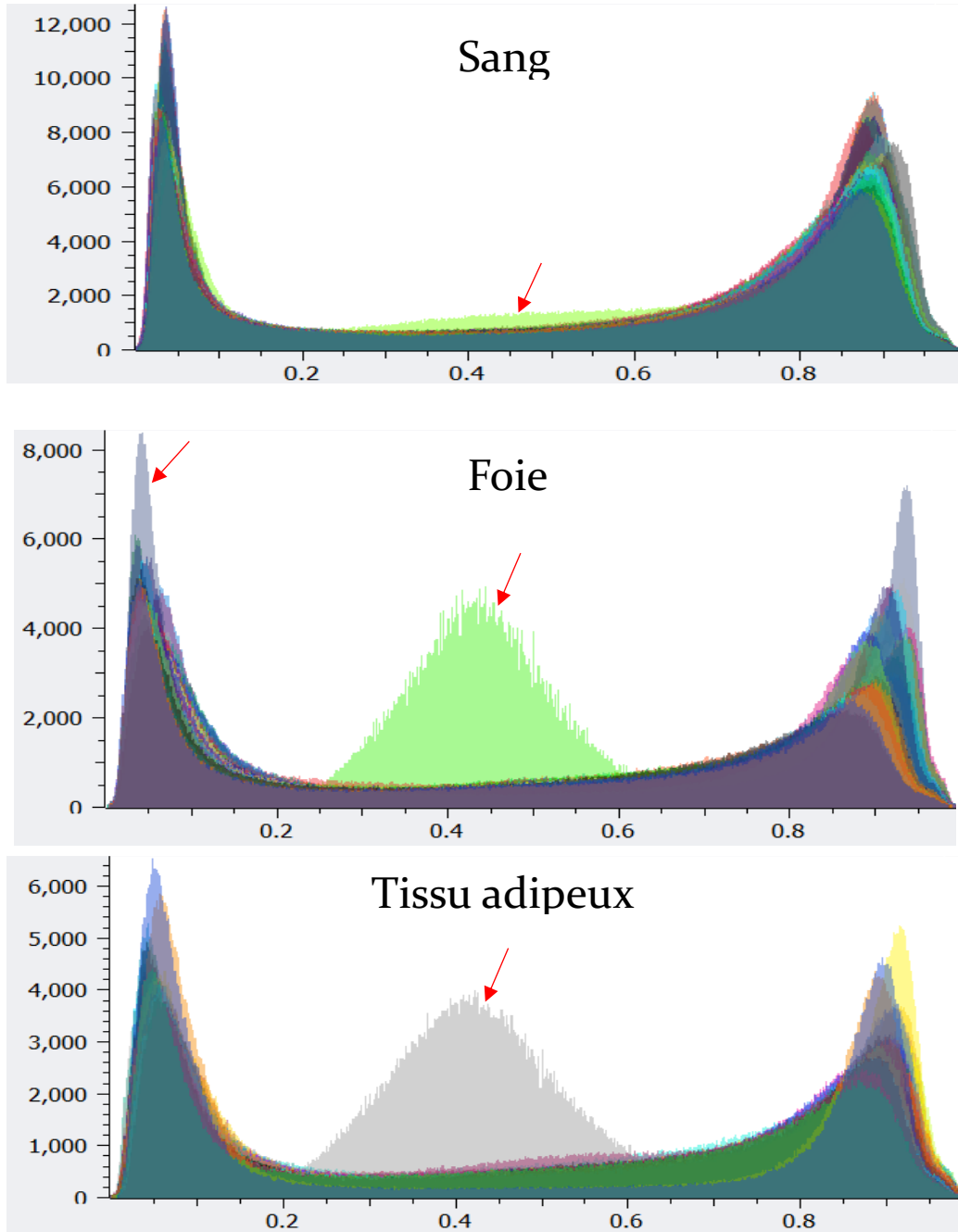
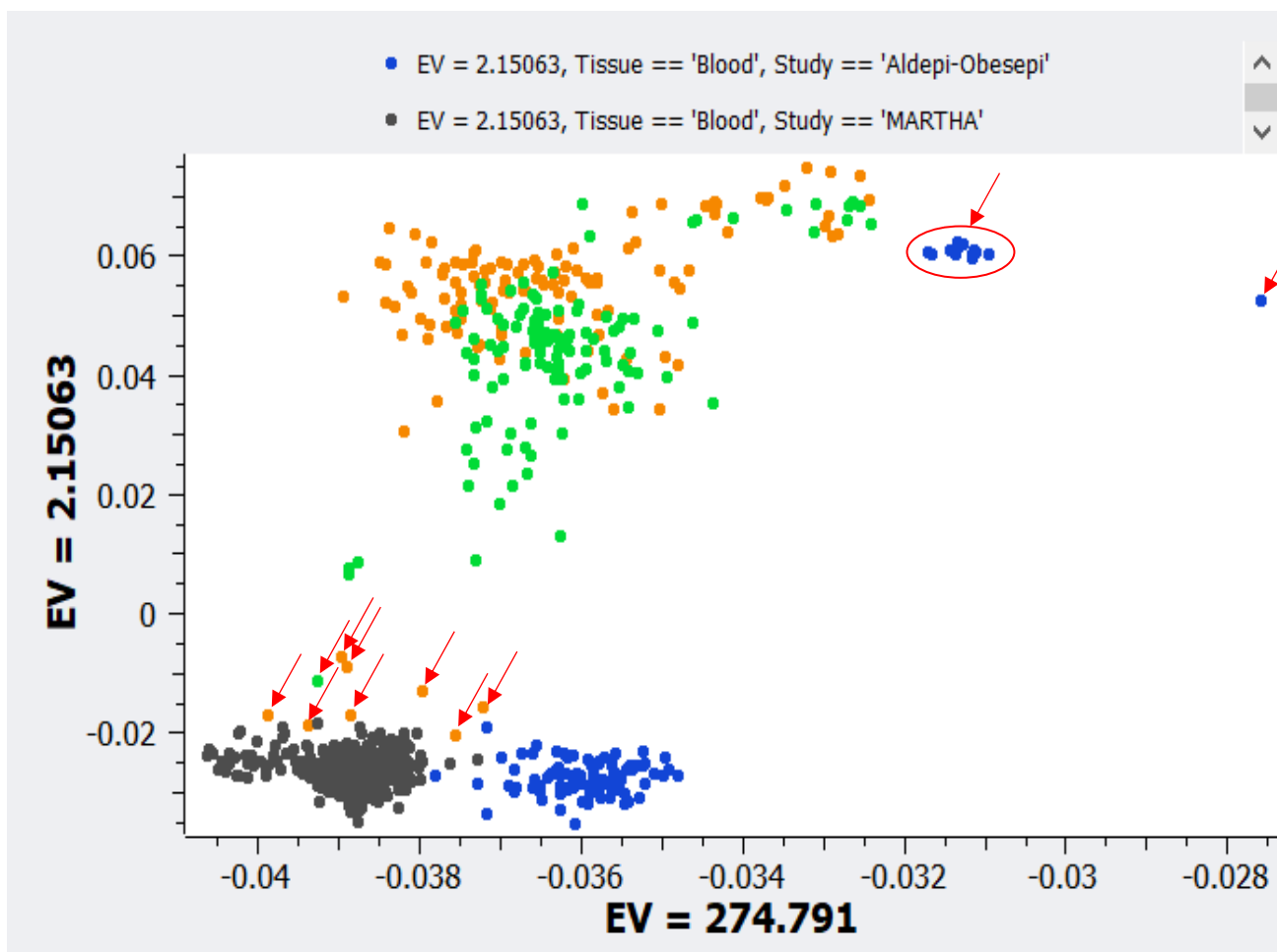


Figure 16: Contrôles de qualité des échantillons. Contrôles de qualité des 3 différents ensembles de données inclus dans l'étude. L'axe X représente la distribution des valeurs β pour chaque ensemble d'échantillons sur tous les sites CpG et l'axe Y la fréquence. Les flèches représentent des échantillons de mauvaise qualité.

3.23. Densité de distribution de la valeur β

La densité de distribution des valeurs β a été vérifiée visuellement pour chaque échantillon de méthylome. Les profils de méthylation ne correspondant pas à une distribution β ont été exclus. Nous avons également réalisé une analyse en composantes principales (ACP) prenant en compte le profil global de méthylation afin d'estimer le degré de regroupement des différents types d'échantillons et de rechercher d'éventuelles valeurs aberrantes. Dans l'analyse PCA, des échantillons d'ADN leucocytaire ont été comparés à un ensemble de données de méthylome leucocytaire de la cohorte MARTHA. (Figure 17).



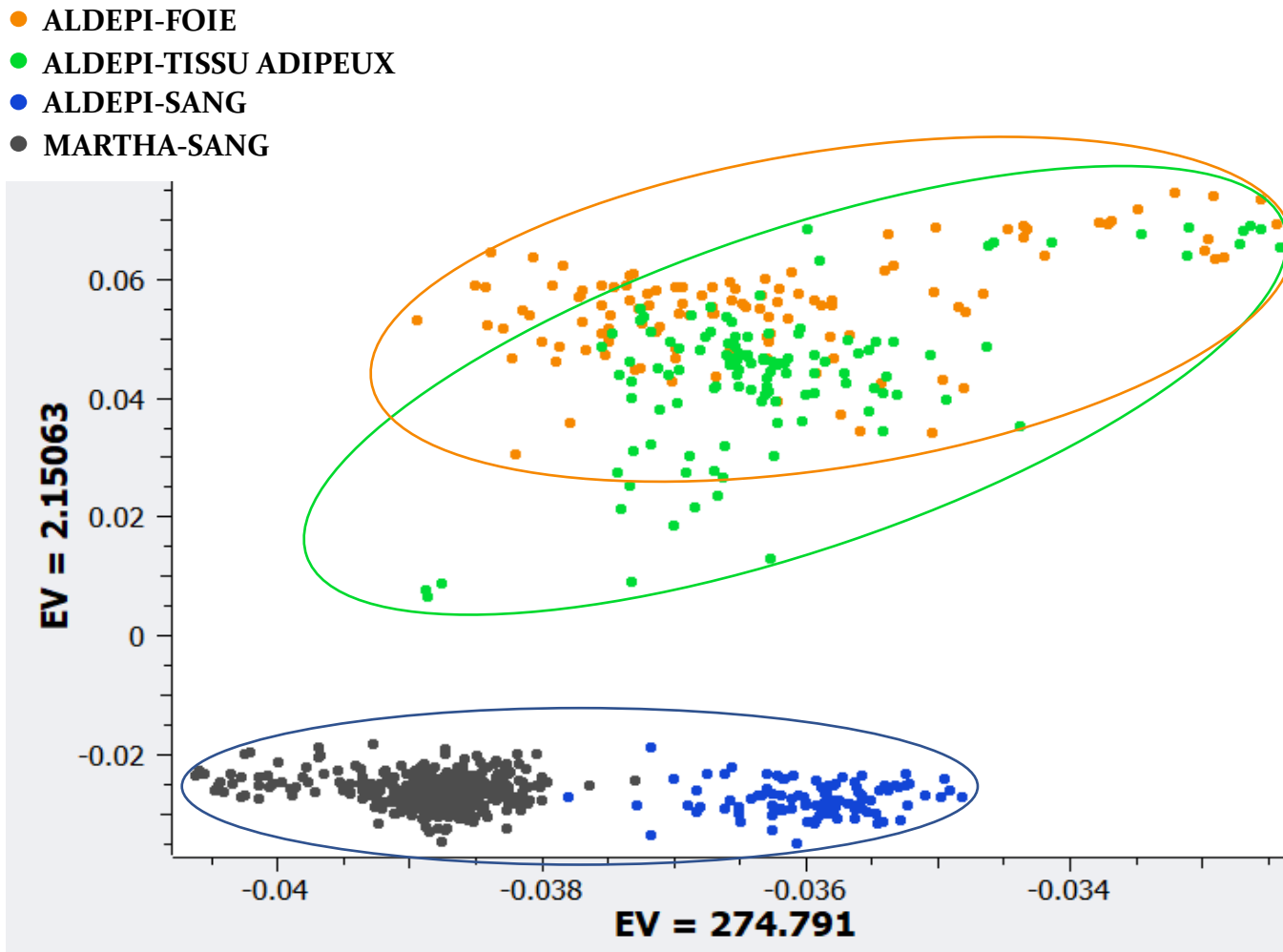


Figure 17: Analyse en composantes principales (ACP) de l'ensemble de données sur le méthylome. Cela a rapporté l'ensemble de quatre échantillons utilisés dans cette étude. Le panneau supérieur montrait les valeurs aberrantes avant d'être exclues et le panneau inférieur montrait les échantillons après exclusion des valeurs aberrantes.

3.24. Normalisation des ensembles de données par « normalisation des quantiles de sous-ensembles dans le tableau (SWAN)

La normalisation des données brutes de méthylation a été réalisée par la méthode SWAN dans cette étude. La méthode SWAN est incluse dans le package Bioconductor pour l'analyse de l'analyse des puces à ADN de méthylation Infinium, *minfi* (Aryee et al., 2014). La méthode « SWAN » est une correction de normalisation intra-réseau pour les variations techniques entre les mesures telles que la conception des réseaux de type I et de type II. En d'autres termes, les bases de ces méthodes reposent sur l'hypothèse que la distribution de la valeur bêta doit être exactement identique lorsque les sondes sont égales en nombre de CpG. Une autre caractéristique de cette méthode est qu'elle peut améliorer la corrélation entre les répétitions techniques en augmentant la proportion de sondes méthylées de manière significativement différentielle qui sont détectées. L'algorithme va avec les distributions de valeur B des sondes de type I et II en recherchant une normalisation intra-tableau indépendamment pour des sous-ensembles distincts de sondes / par contenu CpG (Maksimovic, Gordon, & Oshlack, 2012) . (Graphique SWAN non illustré).

3.25. Analyses statistiques

Concernant l'analyse de l'EWAS, dans un premier temps, nous avons comparé les profils de méthylation de l'ADN leucocytaire des patients inclus dans l'étude OBESEPI avec ceux des patients inclus dans la cohorte MARTHA (n = 350) et qui ont servi de pseudo-contrôles. Afin d'optimiser le rapport signal sur bruit de fond, il a été développé une approche analytique originale, basée sur une méthode pseudo-génotypique qui a été déjà décrite et

utilisée dans l'analyse de l'épigénome (Guéant et al., 2018). Dans cette méthode, les données du méthylome sont transformées en données pseudo-génotypiques afin de refléter le profil de méthylation biallélique. En fonction de sa valeur β , chaque point CpG est associé à une catégorie selon les seuils définis dans le consortium ENCODE (<0,2: absence de méthylation; 0,2 à 0,6: hémi-méthylation;> 0,6: méthylation complète). Les comparaisons de distribution des profils de méthylation entre les deux groupes (OBESEPI vs MARTHA) ont été réalisées par le test exact de Fischer avec ajustement pour les tests multiples par les corrections de Bonferroni et Benjamini-Hochberg (également appelé taux de fausses découvertes). La représentation des résultats des tests statistiques à l'échelle du génome a été rapportée sous la forme d'un graphique de Manhattan adapté aux données épigénomiques (graphique épi-Manhattan). Compte tenu du profil de co-méthylation des sondes CpG, nous avons également optimisé le rapport signal sur bruit de fond en utilisant une méthode de lissage comme nous l'avons rapporté précédemment. Les analyses d'enrichissement ont été réalisées en tenant compte de l'ensemble des gènes correspondant aux loci significatifs et ont été réalisées *via* l'outil d'annotation « GO Enrichment Analysis ». Dans un second temps, nous avons analysé le profil de méthylation des loci significatifs obtenus lors de la première étape d'analyse afin d'évaluer la concordance des profils de méthylation observés sur les leucocytes circulants d'une part et celui du foie et de tissu adipeux viscéral d'autre part.

CHAPITRE IV.

RÉSULTATS

Ce chapitre IV décrira tous les constats et résultats des trois études de cette thèse. Chaque étude débutera par un arrière-plan, plus tard avec les résultats et à la fin les données accompagnant les résultats.

Contexte de l'étude I : Prédicteurs d'une carence en vitamine B12 après une chirurgie bariatrique

La cohorte ALDEPI/OBESEPI est une cohorte prospective qui n'a commencé qu'en 2013, et au moment où j'ai commencé mon projet de doctorat, le suivi des patients restait encore un travail à faire. Par conséquent, l'un de mes premiers travaux de doctorat a été de faire le suivi de la base de données des patients inclus dans la cohorte ALDEPI/OBESEPI, et à partir de ce travail j'ai eu l'opportunité de travailler sur ce projet basé sur les prédicteurs de déficit en B12 après CB.

Les patients souffrant d'obésité morbide font face à plusieurs problèmes dans leur cheminement thérapeutique. La chirurgie bariatrique est l'un des traitements les plus efficaces, ce qui n'est pas sans conséquences puisque la CB peut provoquer ou aggraver des carences en micronutriments avec des séquelles de santé importantes. La CB liée à une carence en micronutriments est un sujet d'intérêt particulier chez les patients atteints d'obésité morbide et subissant une chirurgie bariatrique en préopératoire et postopératoire. Au fil des ans, plusieurs études ont montré que les patients atteints d'obésité morbide subissant une chirurgie bariatrique ont tendance à présenter un risque plus élevé de carences nutritionnelles après l'opération (Antoniewicz et al., 2019; Gesquiere et al., 2017; Ziegler et al., 2009). Bien que la carence en micronutriments ait longtemps été un sujet d'intérêt dans le domaine de la chirurgie de l'obésité, on en sait peu sur les déterminants du déficit en vitamine B12 après la chirurgie, indépendamment d'une supplémentation méthodique concernant la vitamine B12. Avec les données de suivi basées

sur la vitamine B₁₂, une série d'analyses a été entreprise qui a conduit à examiner les points suivants :

- Connaissance de la carence en vitamine B₁₂ dans notre cohorte de patients français atteints d'obésité morbide subissant une chirurgie bariatrique.
- Observation de la carence en vitamine B₁₂ chez les patients souffrant d'obésité morbide à 2, 12, 18 et 24 mois après la chirurgie bariatrique
- Exploration des déterminants de la carence en vitamine B₁₂ suite à une chirurgie bariatrique malgré une supplémentation systématique en vitamine B₁₂.

Les observations ont montré que le statut en vitamine B₁₂ lors de la chirurgie était un prédicteur fort de l'aggravation du statut B₁₂ dans le délai de 18 à 24 mois suivant la chirurgie bariatrique, malgré la supplémentation en B₁₂. (Figure 18) illustre le design effectué pour cette étude.

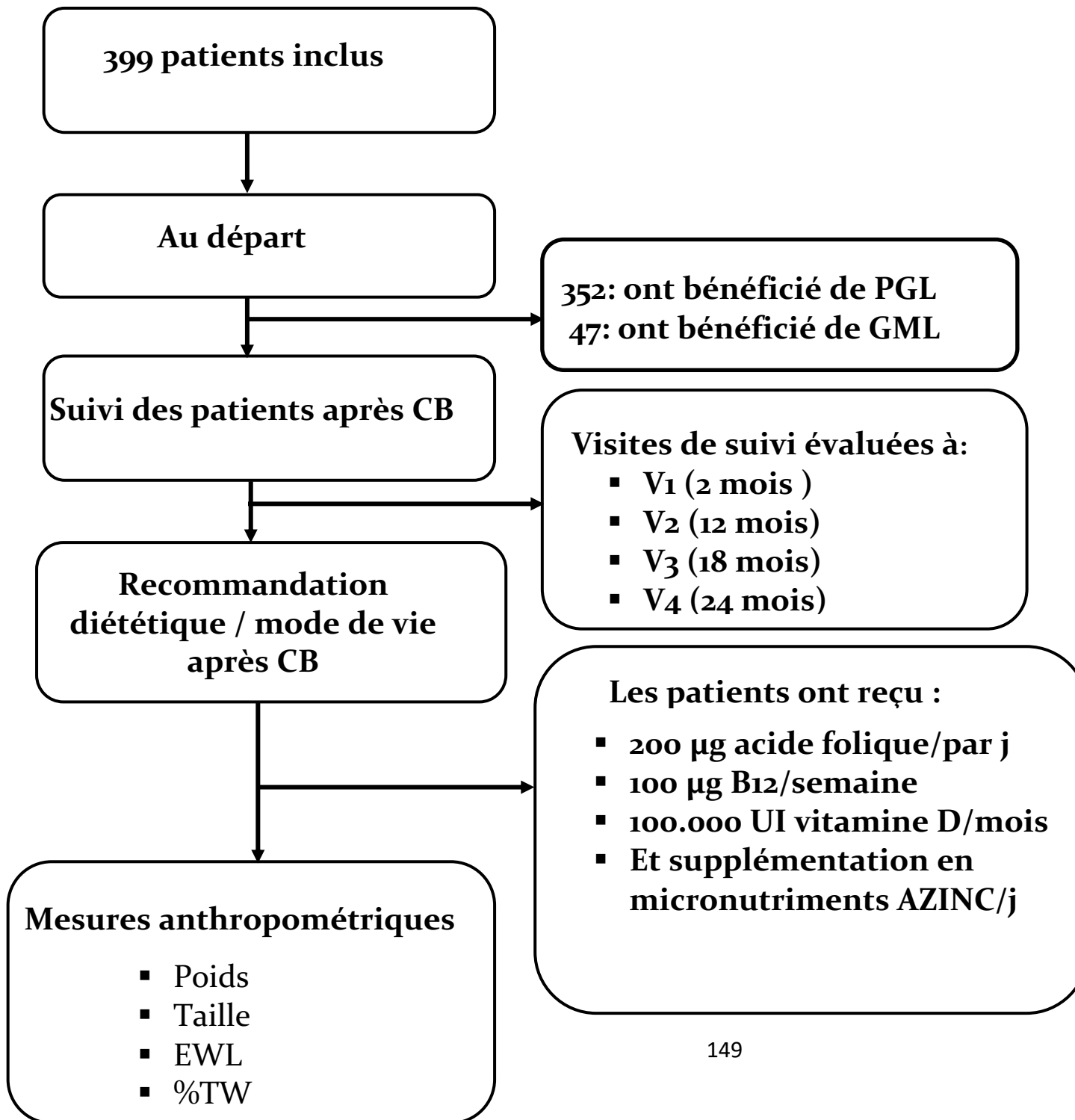


Figure 18: Organigramme du design de l'étude # 1. Cet organigramme met en valeur les différentes étapes effectuées dans l'évaluation des données et du suivi des patients inclus.

4. PRÉDICTEURS D'UNE CARENCE EN VITAMINE B₁₂ APRES UNE CHIRURGIE BARIATRIQUE

4.1. Caractéristiques des participants à la chirurgie

Dans cette étude, un total de trois cent quatre-vingt-dix-neuf (399) participants ayant subi une chirurgie bariatrique ont été recrutés. Au départ, 352 patients ont subi un pontage gastrique laparoscopique (LGB) et 47 ont subi un manchon gastrique laparoscopique (LSG). L'âge moyen était de ($45,3 \pm 11,3$ et $43,8 \pm 13,1$) pour les participants LGB et LSG. Les participants au LSG présentaient un poids et un IMC plus élevés que les participants au LGB ($123,4 \pm 18,8$ versus $157,3 \pm 25,6$), ($45,1 \pm 5,6$ versus $56,4 \pm 8,5$) ($p < 0,0001$). (Tableau 9). Leur statut en vitamine B₁₂ le jour de la chirurgie, était similaire dans les deux groupes (LGB et LSG). Dans la période préopératoire, les déterminants de la vitamine B₁₂ étaient l'âge (Rho 0.2187, $p=0.0002$), le folate (Rho 0.1769, $p=0.0023$), l'ASAT (Rho 0.2187, $p=0.0002$), l'ALAT (Rho 0.2477, $p<0.0001$) et la CRP (Rho 0.1241, $p=.0332$). Cinquante -six patients (13.1%) avaient une carence en vitamine B₁₂ déterminée par une valeur B₁₂ inférieure à 150 pmol / L, et ils étaient 5 ans plus jeunes que les sujets non-carencés (Tableau 10, $p=0.0022$). Et comme attendu, ils avaient une concentration plus élevée d'homocystéine et de MMA. En plus, ils avaient une concentration plus faible de folate (Tableau 10, $p=0.0076$). De plus, un total de 19 patients présentait une carence combinée en vitamine B₁₂ et folate. Aucune différence n'a été trouvée dans les données anthropométriques, ni dans d'autres paramètres biologiques en comparaison des patients non carencés en vitamine B₁₂. Les caractéristiques clinico-biologiques de tous les participants au départ en fonction du type de chirurgie et en fonction du statut en vitamine B₁₂ sont présentées dans les (tableaux 9 et 10) respectivement.

4.2. Comparaison du statut en vitamine B12 et d'autres micronutriments après l'opération

Il convient de noter que les visites de suivi ont été évaluées deux(V1), douze(V2), dix-huit mois (V3) et vingt-quatre mois après la chirurgie(V4). Au cours du temps, le nombre de patients s'était réduit au fur et à mesure des visites. Ainsi le nombre de patients est passé de 399 initialement à 370 (92.7%), 310 (77.7%), 252(62.9%) et 205(51.4%) aux visites 1, 2, 3, et 4. La perte de poids totale, était progressive de manière significative au cours des visites. Nous avons également observé un gain en pourcentage de la perte de poids corporel et de l'index de masse corporel (Tableau 11). En ce qui concerne les micronutriments tels que la 25OH-vitamine D et le fer, nous avons observé que les carences en micronutriments étaient plus fréquentes. Lors de la première visite les taux de carence les plus élevés ont été observés lors de la première visite 35,7% pour la vitamine D et 21.9% pour le fer. Cependant, lors des visites deux et trois, le pourcentage de patients carencés diminuait. De plus, en ce qui concerne la première visite, le folate et le fer ont montré un effet plus marqué de réduction au cours du temps, les pourcentages de carences ont passé de 10% à 6.1% et de 21.9% à 12.9% respectivement. Nous avons observé un pourcentage faible de carences des autres micronutriments dont le sélénium, le zinc et le magnésium. De manière intéressante, nous avons observé que les patients présentant un déficit initial en B12 ont maintenu une faible concentration en celle-ci, sans que tous atteignent forcément la limite du déficit pendant le suivi (Figure 18). Cependant, nous avons observé une diminution spectaculaire du pourcentage de patients carencés en vitamine B12 passant de 13.5% (pré-op) à 2.0% (V1). (Figure 19). (Tableau 12).

Contrairement aux autres micronutriments, le pourcentage de patients ayant une carence en vitamine B₁₂ a augmenté pendant l'intervalle de 6 à 24 mois, bien que tous les participants aient été supplémentés, passant de 1.9% (V₁) à 12% (V₃). L'aggravation de la carence en vitamine B₁₂ après l'opération n'était pas due à une malabsorption globale de micronutriments, puisqu'un patient présentait une carence combinée en vitamine B₁₂, ainsi qu'en folate et en vitamine D. Par ailleurs, la carence en vitamine B₁₂ n'était associée ni à la perte de poids ni au type de chirurgie. (Tableau 12).

Les traitements pris par les participants ont été étudiés pour évaluer si des traitements de toute autre nature peuvent influencer ce type de carence en examinant les différents types de médicaments pris par les participants afin de voir si cela peut ou non jouer un rôle dans la carence de la vitamine B₁₂, ainsi que d'autres micronutriments. L'un des médicaments pris par seulement 2 participants était la metformine (données non présentées). Nous avons supposé que la metformine ait eu une influence très limitée sur le taux de carence en vitamine B₁₂ puisque seuls 2 participants ont reçu ce traitement après l'opération. Cela nous a conduit à étudier plus avant si l'aggravation de la carence en vitamine B₁₂ après l'opération pouvait être due à des facteurs prédisposant au départ, par exemple au moment de la chirurgie.

4.3. Prédicteurs au moment de la chirurgie de l'aggravation du statut en vitamine B12 après l'opération

Pour mieux appréhender la carence en vitamine B12 observée chez les 56 participants, nous sommes revenus sur les caractéristiques cliniques et biologiques de tous les participants en préopératoire ce qui nous a permis de comparer les paramètres cliniques et biologiques en préopératoire à ceux mesurés de la visite 3 en fonction de la présence ou l'absence de carence en vitamine B12. En conséquence, la vitamine B12 était le seul paramètre préopératoire qui était associé à un risque plus élevé de carence en vitamine B12 en postopératoire. (Tableau 13). Comme mentionné précédemment, nous avons supposé que la carence en vitamine B12 n'était pas une conséquence du type de chirurgie ni de l'insuffisance rénale, car les concentrations sanguines de créatinine qui est un marqueur de la fonction rénale montraient une concentration plus faible que 15 mg / L en préopératoire et postopératoire pour tous les participants (données non présentées).

Nous avons également étudié les déterminants de la carence en vitamine B12 en postopératoire pour confirmer les observations rapportées au début de notre étude, et par analyse univariée, nous avons montré que des paramètres tels que l'âge, les folates, l'homocystéine, l'ALAT, L'ASAT et le score APRI au départ étaient des déterminants significatifs de la concentration de vitamine B12 en préopératoire. (Tableau 14). À partir d'une analyse multivariée, nous avons constaté que seuls l'âge et le score APRI étaient significativement associés à la concentration de vitamine B12. (Tableau 14). Vient ensuite l'article rédigé sur cette étude.

Table 9: Données démographiques de base des participants selon le type de chirurgie

Variable	LGB Moyenne ± DS	LSG Moyenne ± DS	LGB vs LSG p-value
Age (années)	45.3±11.3	43.8±13.1	0.4544
Poids (kg)	123.4±18.8	157.3±25.6	<0.0001
IMC (kg/m ²)	45.1±5.6	56.4±8.5	<0.0001
Folateplasmique (nmol/L)	16.5±12.7	16.3±9.3	0.5073
B12plasmatique (pmol/L)	268.0±318.7	257.0±153.3	0.6273
Glucose (g/L)	1.1±0.5	1.8±0.4	0.1157
Glucose mmol/L (UI/l)	5.8±1.9	6.1±1.9	0.1157
Insuline (µmol/L)	44.8±51.4	38.5±33.7	0.3454
Cholestérol total (g/L)	1.8±0.4	1.7±0.4	0.0023
TG (g/L)	1.7±0.8	1.5±0.5	0.8771
HDL (g/L)	0.41±0.09	0.37±0.07	0.0371
LDL (g/L)	1.17±0.31	1.07±0.29	0.0529
ASAT (UI/l)	34.9±27.8	43.9±31.8	0.0123
ALAT (UI/l)	33.5±36.5	39.5±70.6	0.7808
CRP (mg/L)	18.3±26.5	21.8±25.9	0.0072
Plaquette (Giga/µl)	281±64	297±71	0.1025
Hcy (µmol/L)	136±4.7	13.2±3.7	0.6693
MMA (µmol/L)	0.15±0.07	0.15±0.06	0.9533
Score APRI	0.38±0.33	0.45±0.35	0.0740
HOMA-IR	6.0±4.6	6.8±2.9	0.1299

ALAT alanine Aminotransférase, ASAT aspartate aminotransférase, IMC indice de masse corporelle, Hcy homocystéine, HDL high density lipoprotein, LDL low density lipoprotein, LGB laparoscopic gastric bypass, LSG laparoscopic sleeve gastrectomy, HOMA-IR homéostasis model assesment of insulin resistance, MMA acide méthylmalonique, DS déviation standard, TG triglycéride

Table 10: Caractéristiques cliniques et biologiques des participants selon le statut en vitamine B12 au départ

Variable	B12 Non-Déficient a la chirurgie (≥ 150 pmol/L)		B12 Déficient a la chirurgie (<150 pmol/L)		p-value
	N	Moyenne±DS	N	Moyenne±DS	
Age (années)	348	45.8±11.4	56	40.8±11.2	0.0022
Poids(kg)	263	128.8±22.6	49	127.7±22.7	0.6285
IMC (kg/m ²)	263	46.6±7.2	49	45.8±6.5	0.5622
Folate plasmatique(mmol/L)	348	16.8±12.4	56	13.6±10.7	0.0076
B12 plasmatique(pmol/L)	346	290.0±316.6	56	117.4±27.6	<0.0001
Glucose (g/L)	333	1.1±0.5	54	1.1±0.4	0.5506
Glucose mmol/L (UI/l)	240	5.9±2.1	37	5.9±2.3	0.6624
Insuline (µmol/L)	346	46.0±51.8	56	36.1±50.4	
Cholesterol total (g/L)	345	1.8±0.3	55	1.8±0.4	0.2835
TG (g/L)	344	1.6±0.8	55	1.4±0.5	0.3953
HDL (g/L)	344	0.4±0.1	55	0.4±0.1	0.9824
LDL (g/L)	344	1.1±0.3	55	1.1±0.3	0.4744
ASAT(UI/l)	345	37.8±29.7	55	23.4±9.1	<0.0001
ALAT (UI/l)	345	35.9±43.9	55	20.±14.1	0.0086
CRP (mg/L)	341	19.3±27.2	55	15.7±19.9	0.5214
Plaquette (Giga/µl)	335	281.6±65.7	55	288.3±58.7	0.3677
Hcy (µmol/L)	241	13.4±4.4	37	15.6±6.7	0.0393
MMA (µmol/L)	241	0.15±0.07	37	0.17±0.07	0.0234
Score APRI	333	0.41±0.35	54	0.24±0.11	<0.0001
HOMA-IR	333	0.8±0.3	54	0.8±0.3	0.0153

ALAT alanine Aminotransférase, ASAT aspartate aminotransférase, IMC indice de masse corporelle, CRP c-reactive protein, Hcy homocystéine, HDL high density lipoprotein, LDL low density lipoprotein, LGB laparoscopic gastric bypass, LSG laparoscopic sleeve gastrectomy, HOMA-IR homéostasis model assessment of insulin resistance, MMA acid méthylmalonique, DS déviation standard, TG triglycérides.

Table 11: Évolution des indicateurs anthropométriques pré et post chirurgie bariatrique, visites 1, 2, 3, 4.

Visite	TWL			%TWL			%EBMI			Delta BMI		
	LGB	LSG	P-value	LGB	LSG	P-value	LGB	LSG	P-value	LGB	LSG	P-value
V1	11.4±6 .1	11.8±5 .9	0.66 9	26.4±1 5.7	26.5±1 6.6	0.06 6	27±16. 1	22.7±1 2.8	0.06 6	5.1±2. 7	6.6±3 .4	0.0 05
V2	46.7±2 0.4	79.1±2 5.3	<0.0 00	52.8±2 0.9	55.8±2 4.7	0.00 4	54.7±2 1.3	44.5±1 9	0.00 4	10.4± 3.7	12.9± 5	0.9 18
V3	53±20	84.3±2 8.9	<0.0 00	68.9±2 3	69.7±2 3.1	<0.0 00	71.2±2 2.4	55.7±2 0.3	<0.0 00	13.5± 3.8	16±5. 4	0.0 7
V4	55.6±2 0.5	89.4±2 8.8	<0.0 00	84.9±5 2.7	83	0.00 1	77.7±3 0.1	59.8±3 4.8	0.00 11	14.9± 4	18±1 2.4	0.9 45

Delta BMI delta indice de masse corporelle, %EBMI % de l'excès de l'indice de masse corporelle, LGB laparoscopic gastric bypass, LSG laparoscopic sleeve gastrectomy, %TWL % perte de l'excès de poids.

Table 12: Évolution de la concentration en micronutriments et pourcentage de carence en B12 au moment de la chirurgie a la visite V

	B12		Folates		Fer		25OH vitamine D		Sélénium		Zinc		Magnésium	
	pmol/L	<150	mmol/L	<7			<20		<40	mg/L	<0.45			
	Mean ± SD	% def	Mean ± SD	% def	Mean ± SD	% def	Mean ± SD	% def	Mean ± SD	% def	Mean ± SD	% def	Mean ± SD	% def
Baseline	266.1±299.9	13.9	16.3±12.3											
V ₁	416.0±276.1	1.9	16.5±7.8	10.2	0.75±0.30	21.9	22.7±8.5	35.7	66.3±15.9	5.6	0.81±0.91	1.6	19.9±1.9	2.1
V ₂	391.8±240.8	7.0	15.7±8.3	12.7	0.77±0.29	15.8	30.6±10.4	12.0	68.7±16.9	3.8	0.88±1.53	1.3	18.9±3.5	5.7
V ₃	294.1±162.7	12.0	18.3±10.5	12.2	0.89±0.38	15.7	27.1±9.5	20.8	73.9±16.3	2.4	0.72±0.12	1.1	20.4±2.1	1.9
V ₄	337.5±214.5	10.5	19.9±10.6	6.1	0.91±0.33	12.9	26.3±9.2	23.2	71.9±16.9	3.5	0.72±0.14	1.3	20.8±4.3	0.6

Table 13: Caractéristiques au départ selon une faible concentration B12 à la visite 3.

Variable	B12 Non-Déficient à V3		B12 Déficient à V3		p-value
	N	Moyenne±DS	N	Moyenne±DS	
Age (années)	117	45.4±10.3	16	44.3±12.1	0.5919
Poids (Kg)	117	126.7±20.7	16	126.0±25.5	0.9311
IMC (kg/m ²)	117	45.8±6.7	16	44.8±6.6	0.6040
Folate plasmatique (nmol/L)	116	13.4±8.41	16	13.1±8.1	0.9250
B12plasmatique (pmol/L)	116	253.7±96.9	16	168.4±59.4	0.0004
Glucose (g/L)	113	1.1±0.5	16	1.1±0.5	0.8108
Glucose mmol/L(UI/l)	94	5.8±2.3	12	5.4±1.2	0.6214
Insuline (µmol/L)	116	42.2±33.6	16	35.3±19.0	0.7617
Cholesterol total (g/L)	114	1.7±0.4	16	1.9±0.3	0.5580
TG (g/L)	114	1.5±0.6	16	1.6±0.6	0.2926
HDL (g/L)	114	0.4±0.1	16	0.4±0.1	0.9717
LDL (g/L)	114	1.8±0.3	16	1.2±0.3	0.5144
ASAT (UI/l)	114	35.4±27.9	16	32.2±20.7	0.9943
ALAT (UI/l)	114	40.9±51.4	16	28.9±19.5	0.5999
CRP (mg/L)	114	19.9±32.4	16	16.1±25.2	0.5469
Plaquette (Giga/µl)	113	293.1±68.4	16	285.1±67.7	0.7723
Hcy (µmol/L)	94	13.1±4.1	12	15.3±9.6	0.5799
MMA (µmol/L)	94	0.14±0.07	12	0.14±0.04	0.8730
Score APRI	110	0.37±0.33	16	0.33±0.17	0.8617
HOMA-IR	112	12.3±13.9	16	9.3±5.3	0.7241

ALAT alanine Aminotransférase, ASAT aspartate aminotransférase, IMC indice de masse corporelle, CRP c-reactive protein, Hcy homocystéine, HDL high density lipoprotein, LDL low density lipoprotein, LGB laparoscopic gastric bypass, LSG laparoscopic sleeve gastrectomy, HOMA-IR homéostasis model assesment of insulin resistance, MMA acide methylmalonique, SD déviation standard, TG triglycérides.

Table 14: Déterminants de la vitamine B12 dans les analyses univariées et multivariées

	Univariée		Multivariée	
	Rho	p-value	Z	p-value
Age	0.17	<0.001	2.52	0.012
Folates	0.19	0.001		
ASAT	0.23	<0.001		
ALAT	0.24	<0.001		
Score APRI	0.22	<0.001	4.18	<0.001
Homocysteine	-0.15	0.012		

ALAT alanine aminotransférase e, ASAT aspartate aminotransférase

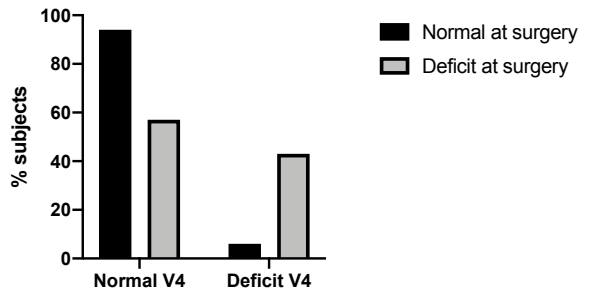
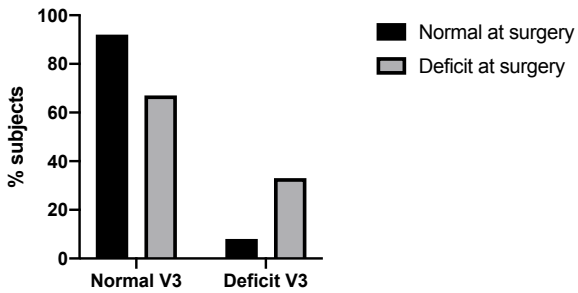
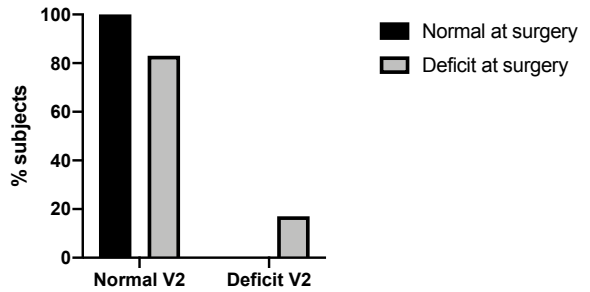
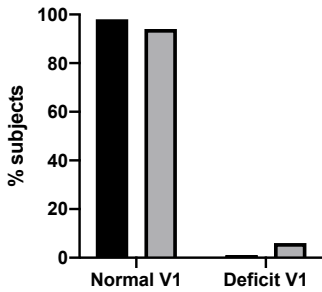
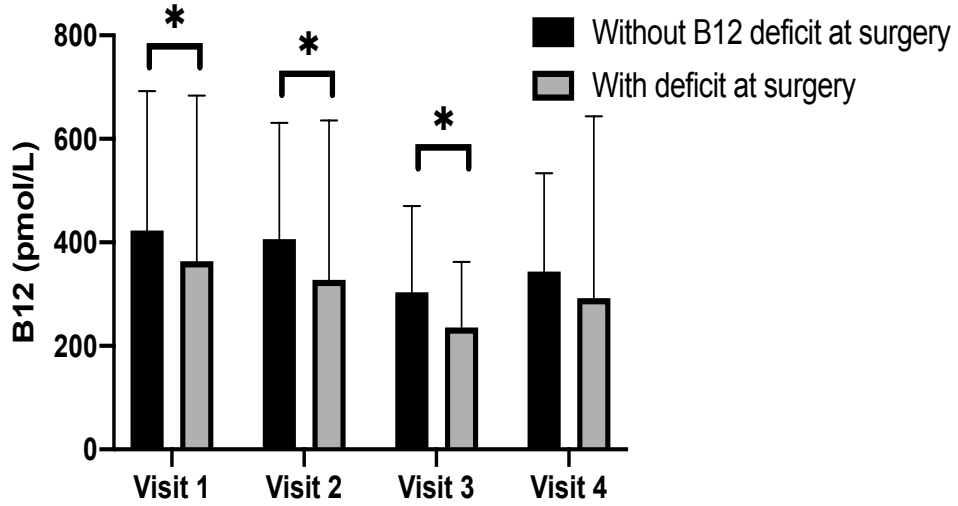


Figure 19: Évolution de la concentration de vitamine B₁₂ lors des visites de suivi, 1, 2, 3, 4. Le panneau du haut montre l'évolution de la concentration en vitamine B₁₂ en postopératoire et les participants sans carence en vitamine B₁₂ ont montré une concentration significative de B₁₂ lors du premier suivi visites. D'autre part, le panneau du bas montre le pourcentage de carence en vitamine B₁₂ selon la présence ou l'absence de vitamine B₁₂ en préopératoire. Et les participants présentant une carence en vitamine B₁₂ en préopératoire ont maintenu une concentration plus faible de vitamine B₁₂ tout au long des visites de suivi, ainsi qu'un risque plus élevé de récurrence de carence en vitamine B₁₂ après la première visite.

Contexte de l'étude II : Impact de variants codants rares et peu fréquents associés à l'indice de masse corporelle sur la réponse à la chirurgie bariatrique chez les patients atteints d'obésité morbide

Compte tenu de la complexité multifactorielle de l'obésité, l'étude de la génétique de la maladie était l'un des objectifs de cette thèse. Des études avec de jumeaux, d'adoption et de familles ont montré que 40 à 75% de la variation de l'IMC est attribuée à des facteurs génétiques (Stryjecki et al., 2017; J. Yang et al., 2015). L'identification de variants génétiques responsables des différentes formes d'obésité telles que monogénique-syndromique et non syndromique, oligogénique et polygénique confirment une composante héréditaire (Kaur et al., 2017). Un chevauchement génétique partiel a été signalé entre la variation de l'IMC dans les populations générales et les formes extrêmes d'obésité (Haworth, Plomin, Carnell, & Wardle, 2008; Meyre et al., 2009a). Des études chez des enfants en surpoids/ atteints d'obésité ont montré que les porteurs de mutations perte de fonction hétérozygotes ultra-rares (fréquence allélique $<0,001$) dans les gènes *POMC* et *MC4R* perdaient le même poids que les non-porteurs en réponse à l'intervention sur le mode de vie, mais étaient moins susceptibles de maintenir cette perte de poids une fois après la fin de l'intervention (Reinehr et al., 2009; Santoro et al., 2006). De même, les enfants et adolescents porteurs des mutations homozygotes ultra-rares perte de fonction dans *MC4R* et *LEPR* étaient plus susceptibles de perdre du poids en réponse à une chirurgie bariatrique sur une courte période, alors qu'une partie substantielle de ces porteurs étaient plus susceptibles de reprendre ce poids à long terme (Aslan, Ranadive, & Rogers, 2015; Jelin et al., 2016; Le Beyec et al., 2013). Ces études susmentionnées ont également été menées chez des adultes atteints

d'obésité porteurs de mutations hétérozygotes perte de fonction ultra-rares dans des gènes tels que *MC4R* ainsi que d'autres gènes en cause dans les obésités monogéniques, qui ont cependant révélé une réduction de poids significative en réponse à la chirurgie bariatrique présentant un risque plus élevé de complications postopératoires et de ré-intervention à long terme (Bonnesfond et al., 2016; Cooman et al., 2020; Valette et al., 2012). À ce jour, 14 variants codants rares /peu fréquents ($0,001 < \text{fréquence des allèles mineurs (MAF)} \leq 0,05$) des gènes *ZBTB7B*, *ACHE*, *RAPGEF3*, *PRKAG1*, *RAB21*, *KSR2*, *HIP1R*, *ZFHX3*, *MC4R*, *GIPR*, *GIPR*, *ENTPD6*, *ZFR2*, *ZNF169* ont été identifiés dans les populations d'origine européenne comme étant associés à l'IMC ($P < 2,0 \times 10^{-7}$) (Turcot et al., 2018), mais on ignore encore l'impact de ces variants chez les personnes atteintes d'obésité sévère/morbide. Par conséquent, le but de cette étude était d'étudier la contribution de ces variants codants rares/ peu fréquents associés à l'IMC en population générale dans une cohorte de patients français atteints d'obésité sévère/morbide (OBESEPI) utilisant cette population française comme cas (342 patients adultes français), et la cohorte (French Exome (FREX) comme témoins (574 adultes français en bonne santé), en tenant compte des quatre paramètres suivants :

- Risque d'obésité sévère/morbide
- Variation de l'IMC avant l'intervention dans un contexte d'obésité
- Modifications de l'IMC en réponse aux modifications du mode de vie/comportement
- Changements de l'IMC en réponse à la chirurgie bariatrique.

Cet objectif a été réalisé en construisant deux scores génétique (SG) à risque et protecteur. Au total, un SG à risque basé sur les génotypes de 6 variants codants rares/peu fréquents augmentant l'IMC et un SG protecteur basé sur les génotypes de 5 variants codants rares/peu fréquents diminuant l'IMC ont été testés, sur la base des variants décrits par (Turcot et al., 2018).

Dans ce travail décrit ici, les résultats ont montré que les variants codants rares/peu fréquents augmentant l'IMC étaient associés à une augmentation du risque de regain d'IMC postopératoire, tandis que les variants codants rares/peu fréquents diminuant l'IMC étaient associés à un risque plus faible de développer une obésité morbide, ainsi qu'à une réduction plus rapide de l'IMC et à un risque plus faible de reprise de l'IMC après l'opération. Il est par exemple important de mentionner que les deux scores n'impactaient pas l'IMC des patients atteints d'obésité sévère/morbide. (Figure 20) exemplifie le design effectué pour cette étude.

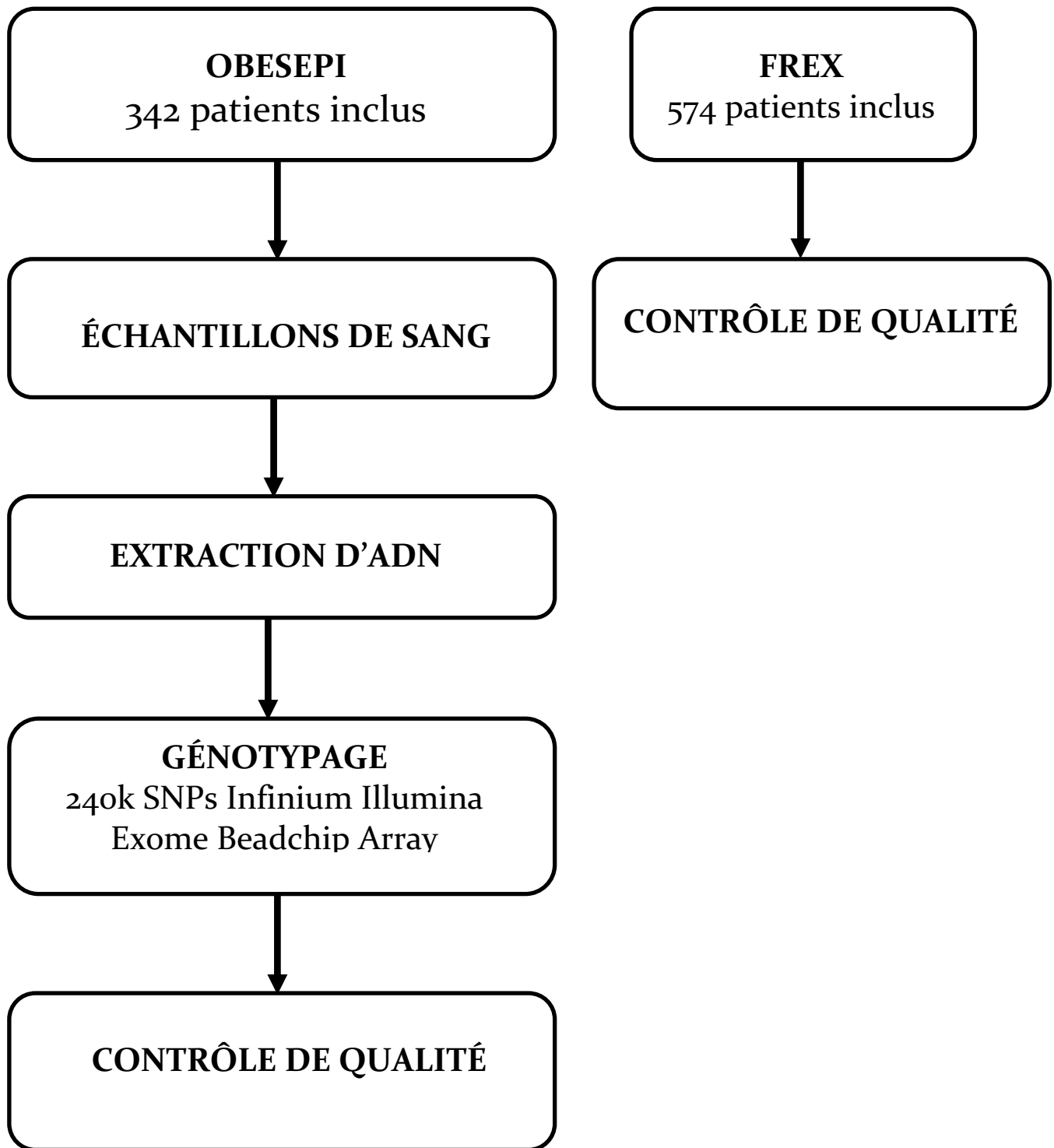


Figure 20: Organigramme du design de l'étude # 2. Cet organigramme exemplifie les étapes entreprises pour les deux cohortes. L'extraction des données pour La cohorte témoin FREX e été réalisée in silico.

4. IMPACTS DE VARIANTS CODANTS RARES ET PEU FREQUENTS ASSOCIES A L'INDICE DE MASSE CORPORELLE SUR LA REPONSE A LA CHIRURGIE BARIATRIQUE CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS D'OBESITE MORBIDE

4.4. Caractéristiques des études FREX et OBESEPI

Un total de 574 participants FREX ont été inclus dans l'étude, tous sont des adultes français et en bonne santé d'ascendance européenne. Parmi eux, 322 (56,10%) sont des femmes et 252 (43,90%) sont des hommes, tous deux âgés en moyenne de $66,71 \pm 18,71$ ans. Les participants OBESEPI comprenaient 342 adultes français d'origine européenne atteints d'obésité sévère/morbide. La majorité d'entre eux sont des femmes représentant (N= 266, 77,78%), les participants ayant un âge moyen de $43,08 \pm 11,48$ ans et un IMC moyen de $46,04 \pm 6,72$ kg/m² lors de l'évaluation multidisciplinaire préopératoire pour la chirurgie bariatrique connue comme (période 1). Une obésité sévère et morbide a été observée chez 62 (18,13%) et 280 (81,87%) des participants de la cohorte OBESEPI. D'autres paramètres tels que le DT₂, la dyslipidémie et l'hypertension ont été diagnostiqués chez 146 (42,69%), 244 (71,35%) et 130 (38,01%) des participants OBESEPI, respectivement. Les 342 participants OBESEPI inclus dans l'étude se sont soumis à une modification du mode de vie/comportement préopératoire pendant une moyenne de $497,72 \pm 286,57$ jours. En conséquence, 102 (30,90%) participants ont montré une diminution de l'IMC au cours de ce programme de modification du mode de vie/comportement, tandis que 48 (18,55%) n'ont pas connu de diminution de l'IMC et, plus important encore, 180 (54,55%) ont montré une augmentation de l'IMC. Cela s'est traduit par une légère augmentation de l'IMC moyen ($46,60 \pm 6,98$ kg / m²) le jour de la chirurgie bariatrique dite (période 2) en comparaison de celui observé lors de la visite préopératoire ($46,04 \pm 6,72$ kg / m²). Des informations sur le

type de chirurgie bariatrique étaient disponibles pour 315 participants : 269 (85,0%) ont reçu un pontage gastrique laparoscopique Roux-en-Y, tandis que 36 (11,43%) une gastrectomie par manchon laparoscopique, 6 (1,90%) une dérivation biliopancréatique avec duodéнал commutateur, et 4 (1,27%) anneau gastrique ajustable laparoscopique. En ce qui concerne l'IMC, des informations ont été collectées sur un sous-groupe de participants à deux mois (période 3, 54,69 ± 52,86 jours, N = 295), six mois (période 4, 196,89 ± 116,59 jours, N = 255), 12 mois (période 5, 357,35 ± 172,35 jours, N = 208), 18 mois (période 6, 533,16 ± 197,74 jours, N = 171) et 24 mois (période 7, 718,64 ± 218,90 jours, N = 142) après l'opération. En comparaison avec l'IMC moyen (46,60 ± 6,98 kg / m², N = 330) au moment de la chirurgie bariatrique (période 2), on observe une diminution rapide de l'IMC à deux mois (période 3: IMC = 41,45 ± 6,71 kg / m²), six mois (période 4: IMC = 36,05 ± 7,01 kg / m²) et 12 mois (période 5: IMC = 32,66 ± 6,79 kg / m²) lors des visites postopératoires, qui ont été suivies d'une diminution plus lente de l'IMC à les 18 mois (période 6: IMC = 31,59 ± 6,92 kg / m²) et 24 mois (période 7: IMC = 30,96 ± 6,93 kg / m²) lors des visites postopératoires. Nous avons également comparé les données d'IMC de 133 participants, disponibles pour tous les points de mesure (c.-à-d. le jour de la chirurgie (période 2) et les cinq visites postopératoires (périodes 3, 4, 5, 6 et 7), et parmi eux, 73 (54,89%) ont présenté au moins un épisode de reprise de l'IMC après l'opération. Les caractéristiques générales de tous les participants sont présentées dans le (tableau 15).

4.5. Prévalence des variants codants rares/peu fréquents associés à l'IMC dans les cohortes FREX et OBESEPI

Pour déterminer la prévalence des variants codants rares/peu fréquents associés à l'IMC en population générale dans les cohortes FREX et OBESEPI, un SG à risque a été construit sur la base des génotypes de 6 variants codants rares/peu fréquents augmentant l'IMC (rs141845046 (*ZBTB7B*), rs1799805 (*ACHE*), rs145878042 (*RAPGEF3*), rs1126930 (*PRKAG1*), rs61754230 (*RAB21*), rs56214831 (*KSR2*). Des porteurs de 0, 1, 2 et 3 allèles augmentant l'IMC ont été observés chez les témoins adultes sains FREX avec une (fréquence de 74,39%, 21,43%, 3,31% et 0,87%), et chez les adultes avec obésité sévère/morbide (OBESEPI) avec une (fréquence de 72,51%, 24,27%, et 2,92%, 0,29%). La fréquence n'a montré aucune différence significative entre les deux cohortes avec (rapport de cotes (OR) = 1,07, intervalle de confiance à 95% (IC) 0,77-1,48, $p = 0,69$, test ajusté pour l'âge et le sexe). Alors qu'une fréquence de 25,61% pour les porteurs d'au moins un allèle augmentant l'IMC a été observé chez les participants FREX, ce pourcentage a été observé à 27,49% dans l'OBESEPI et n'a montré aucune différence significative (OR = 1,05, IC à 95% 0,71-1,57, $p = 0,79$).

Un SG protecteur a également été construit sur la base des génotypes de 5 variants codants rares/peu fréquents diminuant l'IMC (rs34149579 (*HIP1R*), rs62051555 (*ZFHX3*), rs6050446 (*ENTPD6*), rs45465594 (*ZFR2*), rs12236219 (*ZNF169*). Des porteurs de 0, 1, 2 et 3 allèles diminuant l'IMC ont été observés à la fois chez les témoins adultes sains FREX (fréquence : 70,21%, 24,22%, 4,88%, 0,70%) et chez les adultes OBESEPI avec obésité sévère /morbide (fréquence : 72,22%, 24,85%, 2,63%, 0,29%), et une déplétion significative des allèles

diminuant l'IMC a été observée dans OBESEPI par rapport à FREX (OR = 0,71, IC à 95% 0,52-0,96, p = 0,025, test ajusté pour l'âge et le sexe. Alors que 27,78% des participants à l'OBESEPI portaient au moins un allèle diminuant l'IMC, cette proportion était de 29,79% dans FREX et n'était pas significativement différente (OR = 0,72, IC à 95% 0,49-1,06, P = 0,094). Les résultats sont résumés dans le (tableau 16).

4.6. Variants codants rares/peu fréquents associés à l'IMC en population générale et variation de l'IMC lors de la visite préopératoire dans la cohorte OBESEPI

Un SG à risque a été analysé comme une variable continue et une variable binaire (qui peut prendre deux valeurs, 0/1 ou Oui/Non), et a été ajustée pour l'âge et le sexe. Le SG à risque n'était pas associé à l'IMC lors de la visite préopératoire dans la cohorte de l'étude OBESEPI (continu : bêta (B) = 0,39, erreur standard (SE) = 0,68, P = 0,57; binaire: B = 0,39, SE = 0,82, P = 0,64) .Un SG protecteur a également été analysé comme une variable continue et binaire avec les mêmes ajustements , et le SG protecteur n'était pas associé à l'IMC lors de la visite préopératoire (continu: B = 1,19, SE = 0,68, P = 0,083; binaire: B = 1,14, SE = 0,82, P = 0,16). Les résultats sont résumés dans le (tableau 16).

4.7. Variants codants rares/ peu fréquents associés à l'IMC en population générale et en réponse à des modifications du mode de vie/comportementales dans l'étude OBESEPI

Un SG à risque a été analysé comme une variable continue et, et il n'a pas été associé à la variation de l'IMC entre la visite préopératoire et le jour de la chirurgie dans l'étude OBESEPI, après ajustement pour l'âge, l'IMC du sexe lors de la visite préopératoire, et

nombre de jours de modification du mode de vie/comportement (continu : $B = 0,24$, $SE = 0,28$, $P = 0,38$; binaire : $B = 0,31$, $SE = 0,34$, $P = 0,36$). Nous avons également analysé le SG à risque en tant que variable continue et binaire, ajustée en fonction de l'âge, du sexe, de l'IMC lors de la visite préopératoire et du nombre de jours de modification du mode de vie /comportement. Le SG à risque n'était pas non plus associé au succès de l'intervention (c'est-à-dire la diminution de l'IMC versus aucune modification de l'IMC/augmentation de l'IMC ; continue : $OR = 0,96$, IC à 95% $0,62-1,51$, $P = 0,87$; binaire : $OR = 1,09$, IC à 95% $0,64-1,87$, $P = 0,75$).

Le SG protecteur a été analysé comme une variable continue et binaire, et aucun changement significatif de l'IMC entre la visite préopératoire et le jour de la chirurgie n'a été observé (continu : $B = 0,04$, $SE = 0,28$, $P = 0,88$; binaire : $B = 0,13$, $SE = 0,34$, $P = 0,69$). Lorsque le SG protecteur a été analysé en tant que variable continue et binaire, aucune association avec le succès de la modification du mode de vie/comportement n'a été observée (continu : $OR = 1,03$, IC à 95% $0,66-1,60$, $P = 0,90$; binaire : $OR = 1,12$, IC à 95% $0,66-1,90$, $P = 0,67$). Les résultats sont résumés dans le (tableau 16).

4.8. Variants codants rares /peu fréquents associés à l'IMC en population générale et en réponse à la chirurgie bariatrique dans la cohorte OBESEPI

Le SG à risque a été analysé comme une variable continue et binaire, et ajusté en fonction de l'âge, du sexe, du type de chirurgie et du nombre de jours depuis la chirurgie pour chaque visite postopératoire, il n'était pas associé à la trajectoire de l'IMC à partir du jour de chirurgie jusqu'à la visite postopératoire de 24 mois (continue : $B = 0,03$, $SE = 0,04$, $P = 0,48$

; binaire : $B = 0,02$, $SE = 0,05$, $P = 0,70$). En tenant compte des 133 participants avec des données sur l'IMC disponibles au jour de la chirurgie et aux cinq visites de suivi, le SG à risque a été analysé comme une variable continue et binaire, ajustée en fonction de l'âge, du sexe, de l'IMC lors de la chirurgie et du type de chirurgie bariatrique. Il s'est avéré associé à un succès moindre de la chirurgie bariatrique (c.-à-d. pas de reprise de l'IMC par rapport à celle de l'IMC au cours du suivi ; en continu : $OR = 0,48$, IC à 95% $0,25-0,94$, $p = 0,033$; binaire : $OR = 0,45$, IC à 95% $0,21-0,97$, $P = 0,041$).

Lorsque le SG protecteur a été analysé en tant que variable continue et binaire, une association significative a été observée avec la trajectoire de l'IMC (diminution plus rapide de l'IMC) du jour de la chirurgie jusqu'à la visite postopératoire de 24 mois (en continu : $B = -0,10$, $SE = 0,04$, $P = 0,011$; binaire : $B = -0,11$, $SE = 0,05$, $P = 0,035$). Lorsque le SG protecteur a été analysé pour les 133 participants avec des données sur l'IMC disponibles au jour de la chirurgie et durant les cinq suivis, le résultat a montré une association de SG protecteur avec un succès plus élevé de la chirurgie bariatrique en tant que variable binaire, mais pas en variable continue (continu : $OR = 1,64$, IC à 95% $0,88-3,06$, $P = 0,12$; binaire : $OR = 2,45$, IC à 95% $1,08-5,54$, $P = 0,032$). (Tableau 16).

Table 15: Caractéristiques générales des études OBESEPI et FREX

Trait	OBESEPI	FREX	P-value
Sample size	N= 342	N= 574	-
Female, N (%)	266 (77.78)	322 (56.10)	2.6x10⁻¹¹
Age (years)	43.08 ± 11.48 (342)	66.71 ± 18.71 (479)	1.7x10⁻⁸⁶
Risk genetic score, N (%) (carriers of 0, 1, 2, 3 variants)	248 (72.51), 83 (24.27), 10 (2.92), 1 (0.29)	427 (74.39), 123 (21.43), 19 (3.31), (0.87)	0.56
Protective genetic score, N (%) (carriers of 0, 1, 2, 3 variants)	247 (72.22), 85 (24.85), 9 (2.63), 1 (0.29)	403 (70.21), 139 (24.22), 28 (4.88), 4 (0.70)	0.32
Diabetes, N (%) preoperative visit (period 1)	146 (42.69)	-	-
Dyslipidemia, N (%) preoperative visit (period 1)	244 (71.35)	-	-
Hypertension, N (%) preoperative visit (period 1)	130 (38.01)	-	-
BMI (kg/m ²) preoperative visit (period 1)	46.04 ± 6.72 (342)	-	-
Laparoscopic gastric bypass day of surgery (period 2)	269 (85.40)	-	-
Laparoscopic sleeve gastrectomy day of surgery (period 2)	36 (11.43)	-	-
Biliopancreatic diversion day of surgery (period 2)	6 (1.90)	-	-
Laparoscopic gastric banding day of surgery (period 2)	4 (1.27)	-	-
BMI (kg/m ²) day of surgery (period 2)	46.60 ± 6.98 (330)	-	-
Number of days between period 1 and period 2	497.72 ± 286.57 (330)	-	-
BMI (kg/m ²) 1-month postoperative visit (period 3)	41.45 ± 6.71 (295)	-	-
Number of days between period 2 and period 3	54.69 ± 52.86 (295)	-	-
BMI (kg/m ²) 6-month postoperative visit (period 4)	36.05 ± 7.01 (255)	-	-
Number of days between period 2 and period 4	196.89 ± 116.59 (255)	-	-
BMI (kg/m ²) 12-month postoperative visit (period 5)	32.66 ± 6.79 (208)	-	-
Number of days between period 2 and period 5	357.35 ± 172.35 (208)	-	-
BMI (kg/m ²) 18-month postoperative visit (period 6)	31.59 ± 6.92 (171)	-	-
Number of days between period 2 and period 6	533.16 ± 197.74 (171)	-	-
BMI (kg/m ²) 24-month postoperative visit (period 7)	30.96 ± 6.93 (142)	-	-
Number of days between period 2 and period 7	718.64 ± 218.90 (142)	-	-

Data are expressed as mean ± standard deviation (N) and N (%). Abbreviations: BMI, body mass index. Differences in ratios were analyzed using the X² test. Differences in means were analyzed using the Student's t-test. Significant p values (p<0.05) are reported in bold.

Table 16: Association entre les scores génétiques de risque / protection et les résultats de l'étude

	Severe/morbid obesity status ^a	BMI preoperative visit ^b	BMI change in response to lifestyle/behavioral modification ^c	Success of lifestyle/behavioral modification ^d	BMI trajectory in response to bariatric surgery ^e	Success of bariatric surgery ^f
Risk GS continuous	1.07 [0.77-1.48] (0.69) ^g	0.39±0.68 (0.57) ^h	0.24±0.28 (0.38) ^h	0.96 [0.62-1.51] (0.87) ^g	0.03±0.04 (0.48) ^h	0.48 [0.25-0.94] (0.033)^g
Risk GS binary	1.05 [0.71-1.57] (0.79) ^g	0.39±0.82 (0.64) ^h	0.31±0.34 (0.36) ^h	1.09 [0.64-1.87] (0.75) ^g	0.02±0.05 (0.70) ^h	0.45 [0.21-0.97] (0.041)^g
Protective GS continuous	0.71 [0.52-0.96] (0.025)^g	1.19±0.68 (0.083) ^h	0.04±0.28 (0.88) ^h	1.03 [0.66-1.60] (0.90) ^g	-0.10±0.04 (0.011)^h	1.64 [0.88-3.06] (0.12) ^g
Protective GS binary	0.72 [0.49-1.06] (0.094) ^g	1.14±0.82 (0.16) ^h	0.13±0.34 (0.69) ^h	1.12 [0.66-1.90] (0.67) ^g	-0.11±0.05 (0.035)^h	2.45 [1.08-5.54] (0.032)^g

^aOBESEPI and FREX, logistic regression adjusted for age and sex; ^bOBESEPI, linear regression adjusted for age and sex; ^cOBESEPI, linear regression adjusted for age, sex, BMI at the preoperative visit, and number of days of lifestyle / behavioral modification; ^dOBESEPI, logistic regression adjusted for age, sex, BMI at the preoperative visit, and number of days of lifestyle / behavioral modification; ^eOBESEPI, mixed linear regression adjusted for age, sex, type of surgery, and number of days since surgery for each postoperative visit; ^fOBESEPI, logistic regression adjusted for age, sex, BMI at surgery, and type of surgery; ^godds-ratio [95% confidence interval] (P-value); ^hbeta ± standard error (P-value). Abbreviations: BMI, body mass index; GS, genetic score.

Contexte de l'étude III : Analyse à l'échelle du génome de la méthylation de l'ADN dans le foie et le tissu adipeux viscéral, ainsi que dans le sang total dans la cohorte OBESEPI

Comprendre l'obésité nécessite une vue d'ensemble de tous les facteurs qui contribuent à son état. Ces facteurs qui peuvent être génétiques ou épigénétiques ont un rôle crucial dans la physiopathologie de la maladie. A cet égard, les facteurs épigénétiques peuvent expliquer une grande partie de l'héritabilité pour l'obésité. L'impact de l'environnement sur la régulation épigénétique induit des changements dans l'expression génique qui sont associés à une méthylation modifiée de l'ADN (Fall, Mendelson, & Speliotes, 2017). On sait que des altérations épigénétiques peuvent en fait être impliquées dans les phénotypes déclenchés par l'environnement (Lopomo, Burgio, & Migliore, 2016). À ce jour, la modification épigénétique la plus étudiée est la méthylation de l'ADN, qui est essentielle au développement et est impliquée dans un processus qui comprend l'empreinte génomique. Il existe également des preuves que les expositions environnementales au début de la vie influencent la programmation épigénétique du fœtus et du développement postnatal précoce et peuvent entraîner des altérations persistantes de l'épigénome, provoquant un risque accru d'obésité et de maladies métaboliques tout au long de la vie jusqu'à l'âge adulte (Barker, 2004; Feil & Fraga, 2012)

La littérature rapporte des études de méthylation de l'ADN dans le foie et les tissus adipeux d'individus atteints d'obésité (Barajas-Olmos et al., 2018; Benton et al., 2015), ainsi que dans le sang total (Dick et al., 2014) fournissant des preuves que la méthylation de l'ADN peut jouer un rôle dans le développement de l'obésité. Ayant déjà analysé le génome des patients

atteints d'obésité dans cette thèse, l'étude de l'épigénome du phénotype obèse était une autre tâche de recherche cruciale dans l'exploration de ce phénotype. Les principaux objectifs de cette étude étaient de comparer notre ensemble de données de méthylation de l'ADN avec un groupe de témoins sains, d'évaluer les signatures épigénétiques rapportées dans notre ensemble de données de méthylation de l'ADN, ainsi que d'utiliser des ensembles de données de méthylation de l'ADN indépendants afin de les comparer à nos résultats.

Dans ce travail, la comparaison à l'échelle du génome de l'analyse de méthylation de l'ADN a été évaluée dans différents ensembles de tissus (foie, tissu adipeux viscéral et sang total) pour rechercher des signatures épigénétiques qui peuvent aider à mieux comprendre le phénotype obèse. Les résultats ont montré que les profils de méthylation de l'ADN des personnes atteintes d'obésité étaient similaires à ceux des individus en bonne santé dans le sang. Cependant, les résultats trouvés dans le tissu viscéral adipeux se sont avérés différents des observations rapportées dans le sang total et le foie. (Figure 21) met en valeur les étapes effectuées pour cette étude.

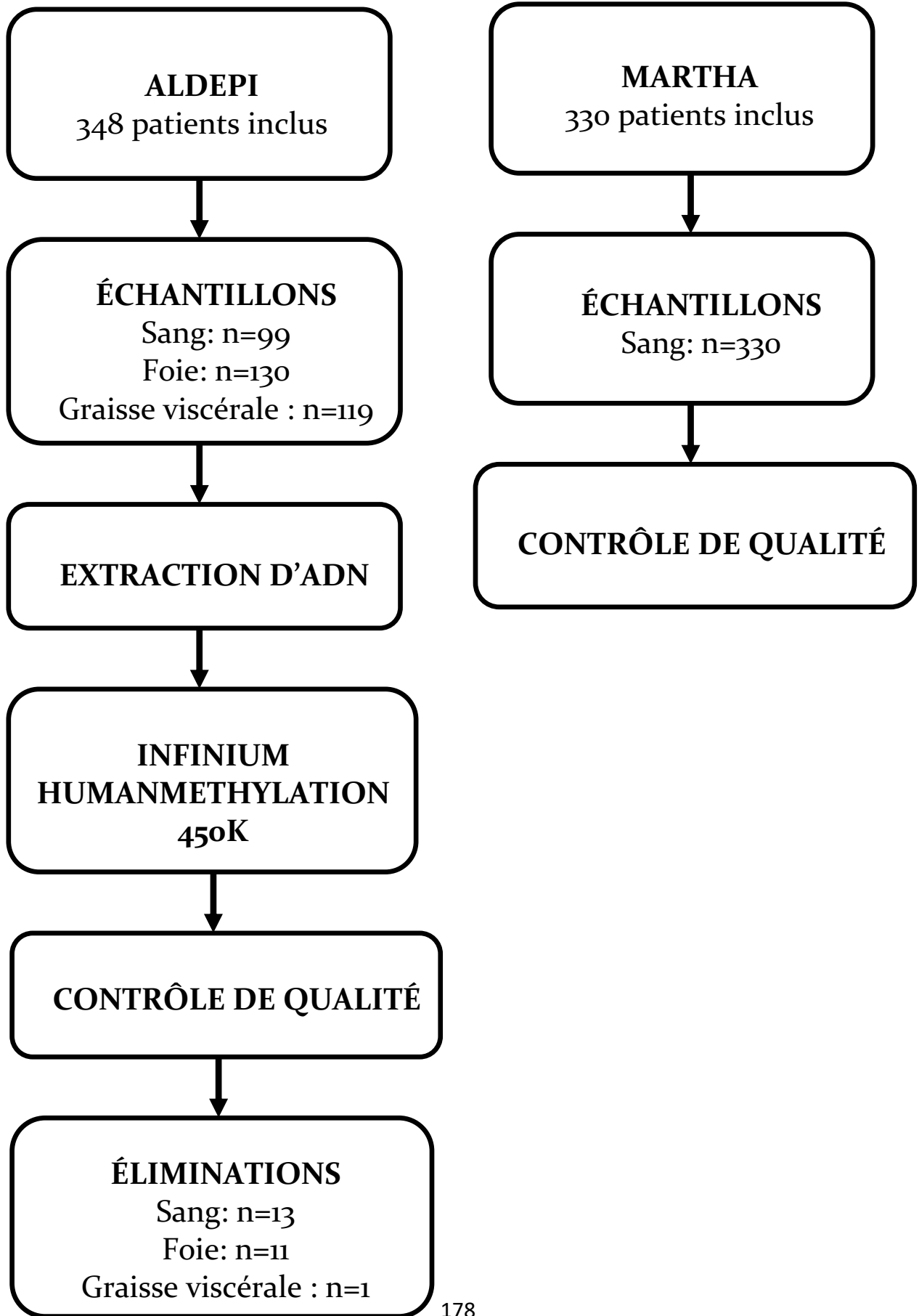


Figure 21: Organigramme du design de l'étude # 3. Cet organigramme exemplifie les étapes entreprises pour les deux cohortes. L'extraction des données pour La cohorte témoin MARTHA e été réalisée *in silico*.

4. ANALYSE A L'ECHELLE DU GENOME DE LA METHYLATION DE L'ADN DANS LE FOIE ET LE TISSU ADIPEUX VISCERAL, AINSI QUE DANS LE SANG TOTAL DANS LA COHORTE OBESEPI

4.9. Caractéristiques de l'ensemble des échantillons inclus dans cette étude

Un total d'échantillons de (n=99 sang), (n= 130 foie) et (n=119 graisse viscérale) ont été utilisé pour l'analyse du méthylome après le contrôle de qualité, les échantillons aberrants du sang(n=13), du foie (n=11) et de la graisse viscérale (n=1) ont été éliminés. Ces échantillons proviennent de la cohorte ALDEPI et ont été utilisés comme cas. Un ensemble d'échantillons de sang a également été utilisé comme contrôles sains, et ces échantillons proviennent de la cohorte MARTHA qui comprend 350 patients blancs non apparentés d'origine française qui avaient une thrombose veineuse recrutés dans la cohorte MARseille Thrombosis Association (MARTHA). Pour les deux cohortes (ALDEPI/MARTHA), la méthylation de l'ADN a été réalisée en utilisant la puce Infinium HumanMethylation450 (Illumina, San Diego, CA USA).

4.10. Analyse à l'échelle du génome de la méthylation globale de l'ADN dans les échantillons sanguins (cas/contrôles)

Nous avons d'abord réalisé une étude d'association à l'échelle de l'épigénome (EWAS) qui a comparé les cas d'obésité de ALDEPI à ceux des individus en bonne santé disponibles dans la cohorte MARTHA. Pour déterminer les signatures épigénomiques, nous avons utilisé des valeurs bêta transformées par pseudo-génotype, comme indiqué précédemment (Guéant et al., 2018). Le test de Fischer avec des ajustements de Bonferroni et FDR a été

réalisé en utilisant un modèle épi-allélique. En conséquence, notre comparaison à l'échelle du génome a révélé 7 loci (*NAP1L5*, *MEST*, *H19*, *MEG3*, *CATSPER2*, *PEG3*, *NNAT*) qui étaient significatifs dans l'EWAS (Figure 22). Les gènes se trouvent dans le (tableau 17). Par la suite, nous avons évalué le profil de méthylation de l'ADN des principaux loci récupérés dans l'EWAS en utilisant le profilage de méthylation à l'échelle du génome du foie et de la graisse viscérale des patients de la cohorte ALDEPI. Notre objectif était d'évaluer si un schéma de méthylation partagé a été observé dans le sang, la graisse viscérale et le foie chez les patients de l'étude ALDEPI.

Les profils de méthylation de l'ADN sont similaires pour tous les cas d'individus atteints d'obésité, c'est-à-dire que le profil de méthylation de l'ADN pour tous les cas réalisés dans le foie et les tissus viscéraux s'est avéré avoir une valeur β de 0,2 à 0,6, qui fait référence à un état d'hémi-méthylation du profil global de méthylation de l'ADN (Figure 23).

4.11. Analyse d'enrichissement d'ontologie génétique à l'aide des gènes trouvés dans l'analyse pan-génomique du sang total

Nous avons effectué une analyse d'ontologie génétique sur les principaux loci récupérés dans l'EWAS à l'aide de l'outil « GO Enrichment Analysis » (<http://geneontology.org>). L'analyse d'enrichissement a montré plusieurs annotations significatives principalement liées à la lipoylation des protéines, à la régulation du stockage des lipides, à la régulation de la localisation des lipides, à la régulation positive de la sécrétion d'insuline, à la régulation positive de la sécrétion d'hormones peptidiques et à la régulation positive de la sécrétion d'hormones (Tableau 18).

4.12. Comparaison à l'échelle du génome avec des ensembles de données indépendants sur le méthylome provenant d'échantillons de foie et de tissu adipeux viscéral

Pour confirmer davantage les profils épigénomiques trouvés dans notre ensemble de cas chez les individus atteints d'obésité par rapport à ceux d'individus en bonne santé, nous avons effectué une comparaison à l'échelle du génome en utilisant la même approche pseudo-génotypique pour déterminer les signatures épigénomiques dans notre ensemble de tissus (foie et tissus adipeux viscéraux, ainsi que sang total) par rapport à des ensembles de données indépendants sur le méthylome de GEO sur des échantillons de foie et de tissu adipeux viscéral. (Figure 24).

En fait, nous avons d'abord comparé les profils de méthylome d'ADN du foie et du tissu adipeux viscéral à des ensembles de données indépendants sur GEO qui comprend 9 ensembles de données GEO (GSE107038, GSE61258, GSE49542, GSE48325, GSE65057, GSE61446, GSE88940, GSE61453, GSE54776) : 6 foie et 3 tissus adipeux viscéraux (tableau 19). Nous avons en outre comparé à l'échelle du génome le profil du méthylome à l'inclusion selon 2 paramètres : le syndrome métabolique et les composants du syndrome métabolique. Nous avons constaté que la méthylation de l'ADN de plusieurs loci rapportés précédemment s'est avérée montrer le même schéma de méthylation de l'ADN dans le tissu hépatique. Cependant, le profil de méthylation de l'ADN s'est avéré différent dans le tissu adipeux viscéral pour ces loci. Parmi les 7 loci (*NAP1L5*, *MEST*, *H19*, *MEG3*, *CATSPER2*, *PEG3*, *NNAT*) trouvés dans l'analyse pangénomique dans le sang total, seuls 5 (*NAP1L5*, *MEST*, *H19*, *MEG3*, *PEG3*) ont montré un profil de méthylation de l'ADN similaire

dans le tissu hépatique en comparaison du sang total. (Figure 25). Les principaux sites de CpG observés situés dans *NAP1L5* étaient (cg12759554 à cg1100971), *MEST* (cg04344875 à cg13104298), *H19* (cg17769238 à cg01539474), *MEG3* (cg23870378 à cg26374302) (cg23870378 à cg26374302) et cg19098268), *BLCAP-NNAT* (cg15473473 à cg11174847). (Figure 26). La description des sondes CpG les plus importantes est présentée dans le (tableau 20).

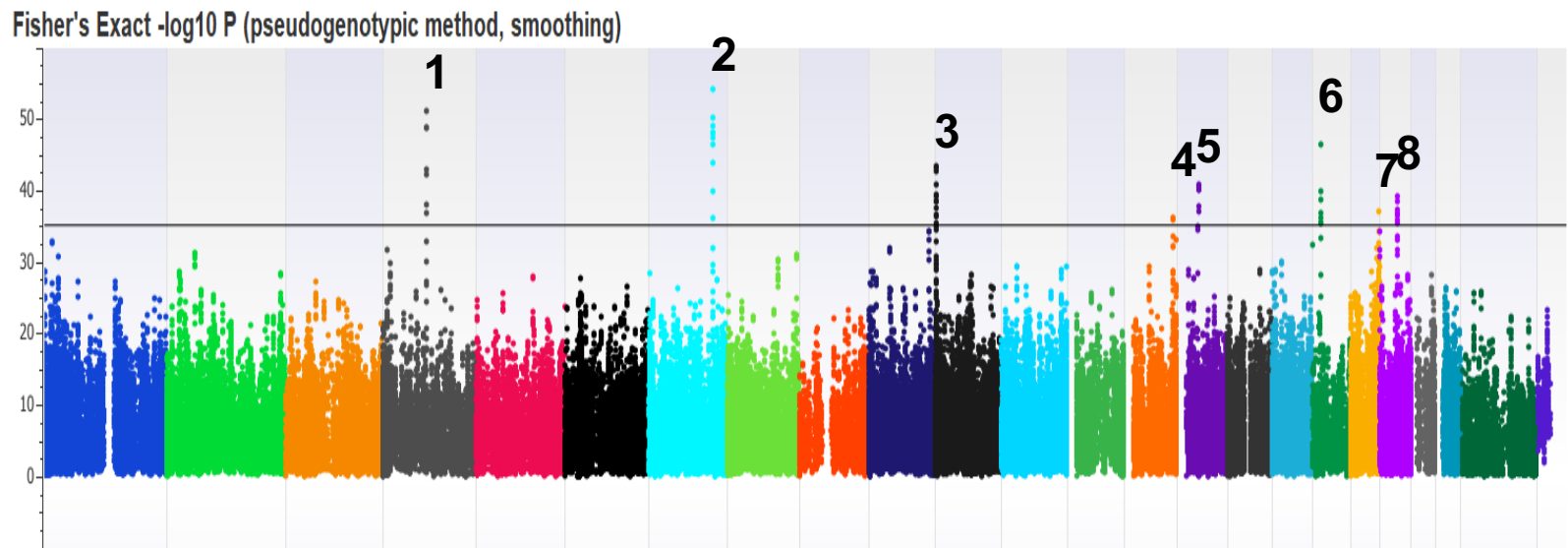


Figure 22: Comparaison à l'échelle du génome du sang d'ALDEPI vs Martha (cas / témoin). Graphique de Manhattan montrant la distribution des valeurs p des 7 loci significatifs trouvés dans l'analyse de méthylation de cette comparaison. La barre grise représente la signification statistique que chaque gène doit atteindre pour être considéré comme significatif. Les nombres représentent chaque gène. L'axe des x représente les chromosomes et l'axe des y représente $-\log_{10} P$.

Table 17: Loci trouvés dans l'analyse du profil de méthylation dans le sang total

	Nom des loci significatifs (en rouge)
1-NAP1L5-HERC	(Nucleosome Assembly Protein 1 Like 5)
2-MEST-MESTIT1	Mesoderm Specific Transcript
3-H19	H19 Imprinted Maternally Expressed Transcript
4-MEG3	Maternally Expressed 3
5-CATSPER2-PDIA3P2	Cation Channel Sperm Associated 2
6-ROCK1	Rho-associated protein kinase 1
7-PEG3-MIMT1	Paternally Expressed 3
8-BLCAP-NNAT	Neuronatin

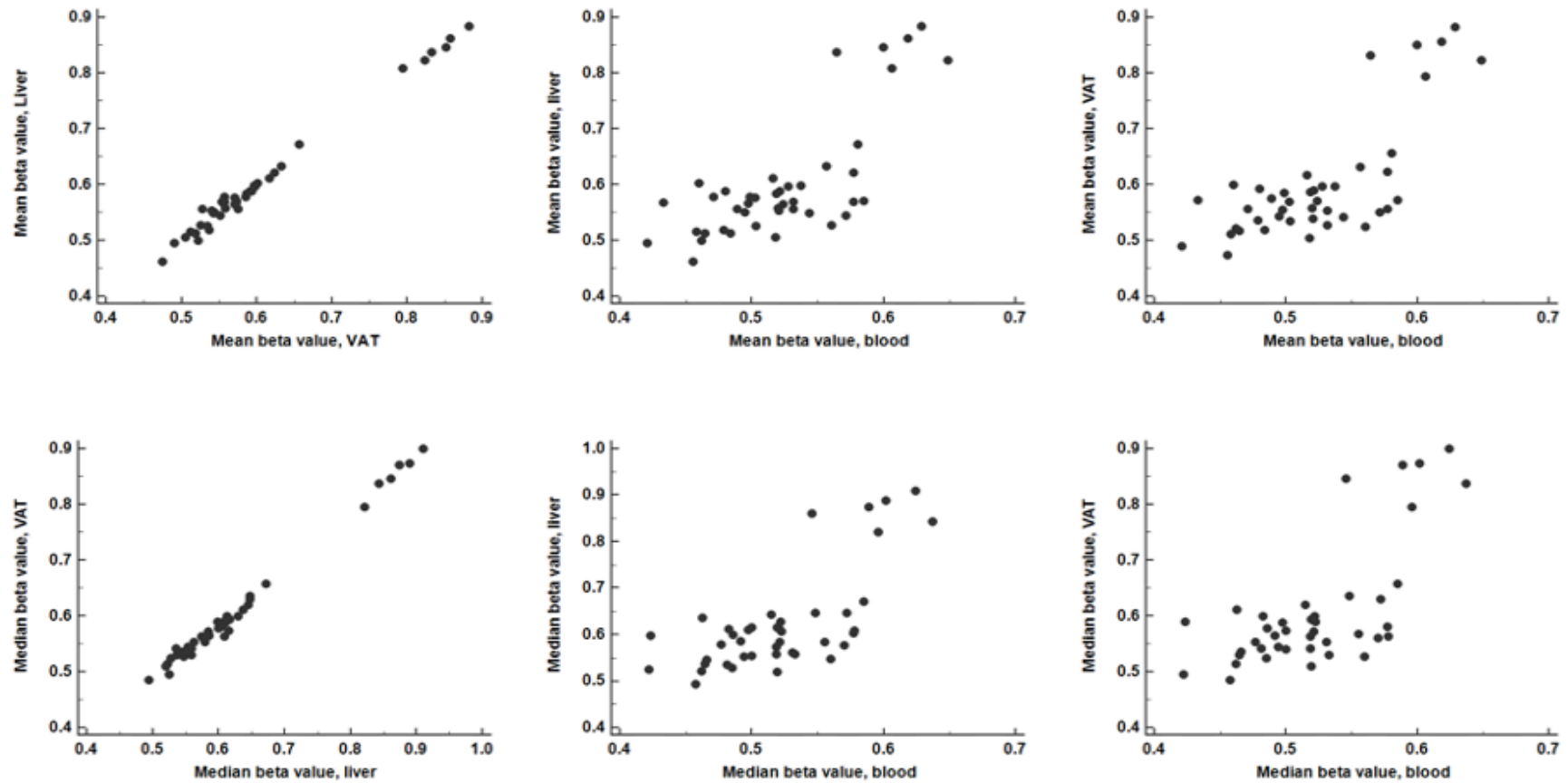
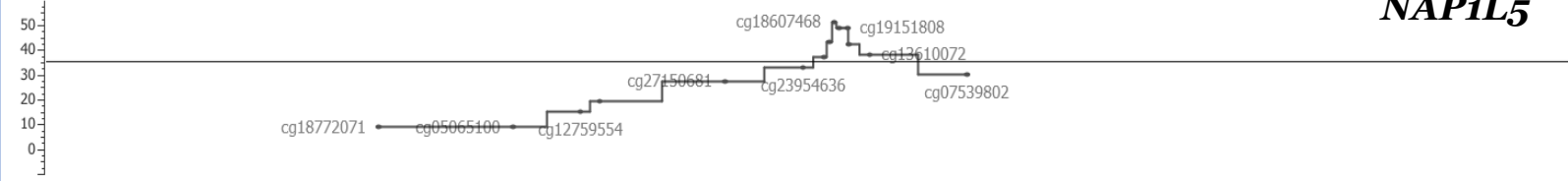


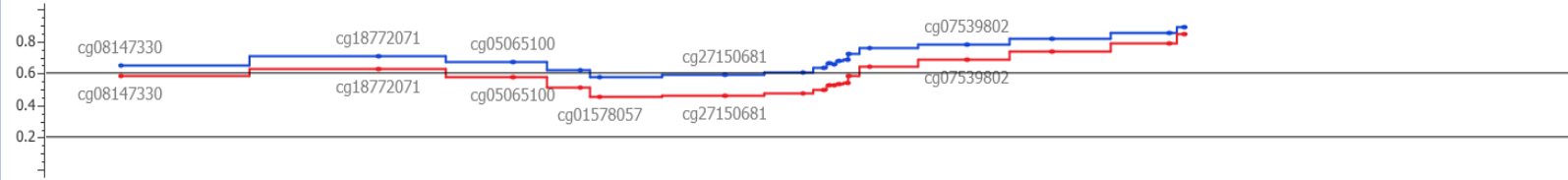
Figure 23: Cette figure représente l'analyse de corrélation des trois tissus utilisés dans l'étude. Les panneaux supérieurs représentent la moyenne du coefficient de beta des 42 CpG pour le tissu adipeux vs foie, sang vs foie, et sang vs tissu adipeux, et les panneaux inférieurs la médiane du coefficient beta des 42 CpG pour ces mêmes tissus. Seuls le tissu adipeux et le foie sont corrélés comme le montrent les deux premiers panneaux (supérieur et inférieur) ($p < 0.0001$). Ci-dessous les tableaux de coefficient de corrélation des trois tissus.

Fisher's Exact -log10 P (pseudogenotypic approach, smoothing method)

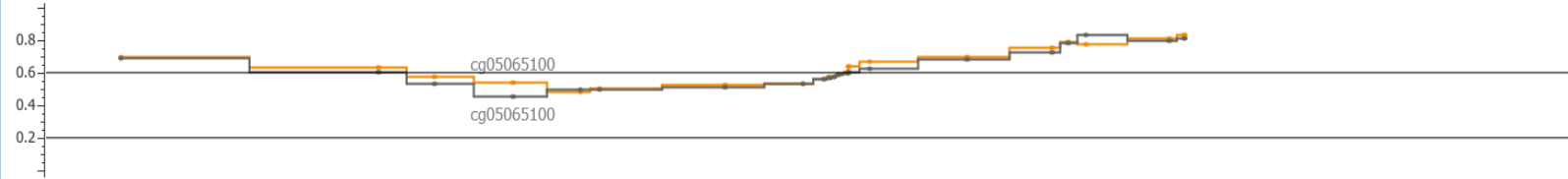
NAP1L5



Average beta values blood (Aldepi-Obesepi = red vs. MARTHA = blue)



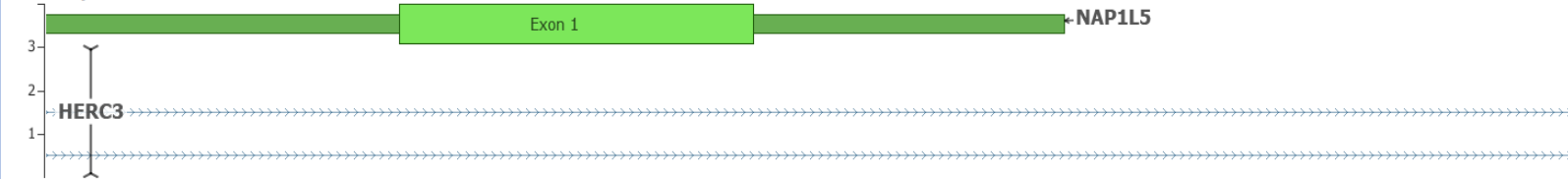
Beta values (liver = brown ; fat = grey)



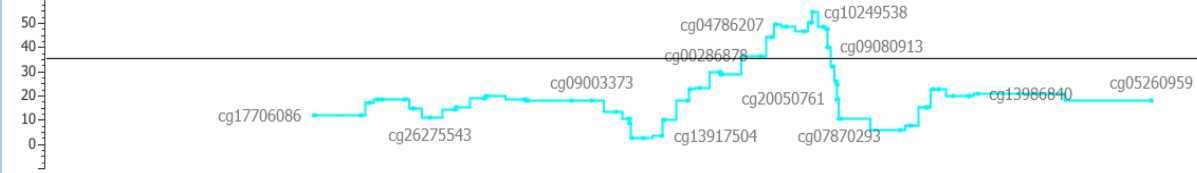
CpG Islands 2009-03-08, UCSC



RefSeq Genes 105 Interim v1, NCBI

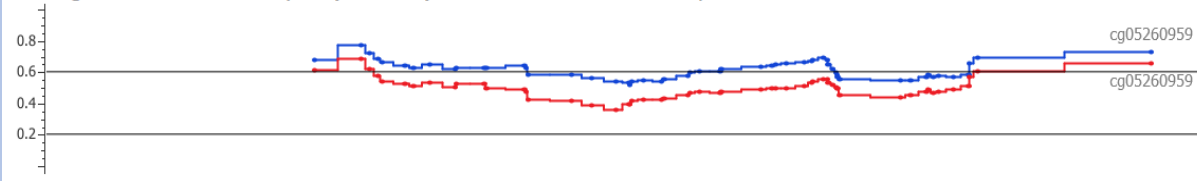


Fisher's Exact -log10 P (pseudogenotypic approach, smoothing method)

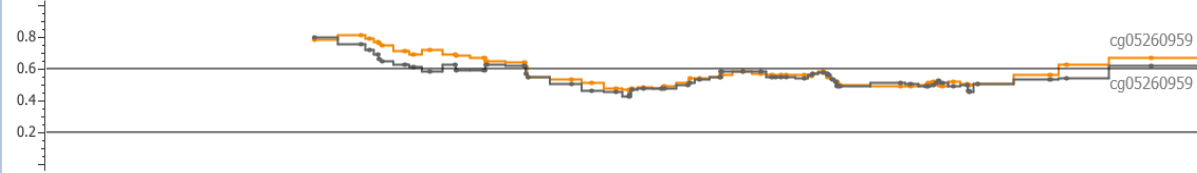


MEST-MESTIT1

Average beta values blood (Aldepi-Obeseipi = red vs. MARTHA = blue)



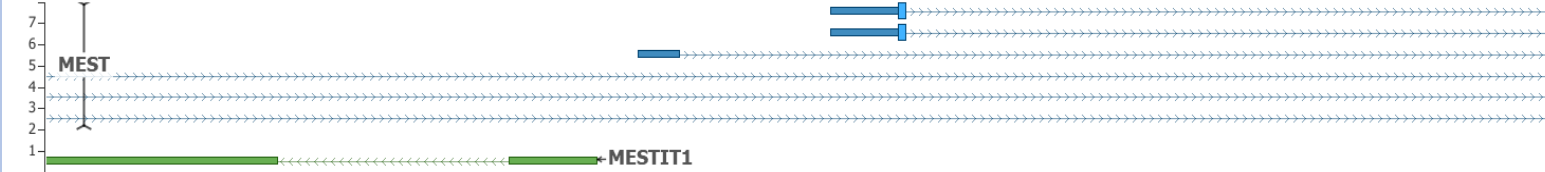
Beta values (liver = brown ; fat = grey)

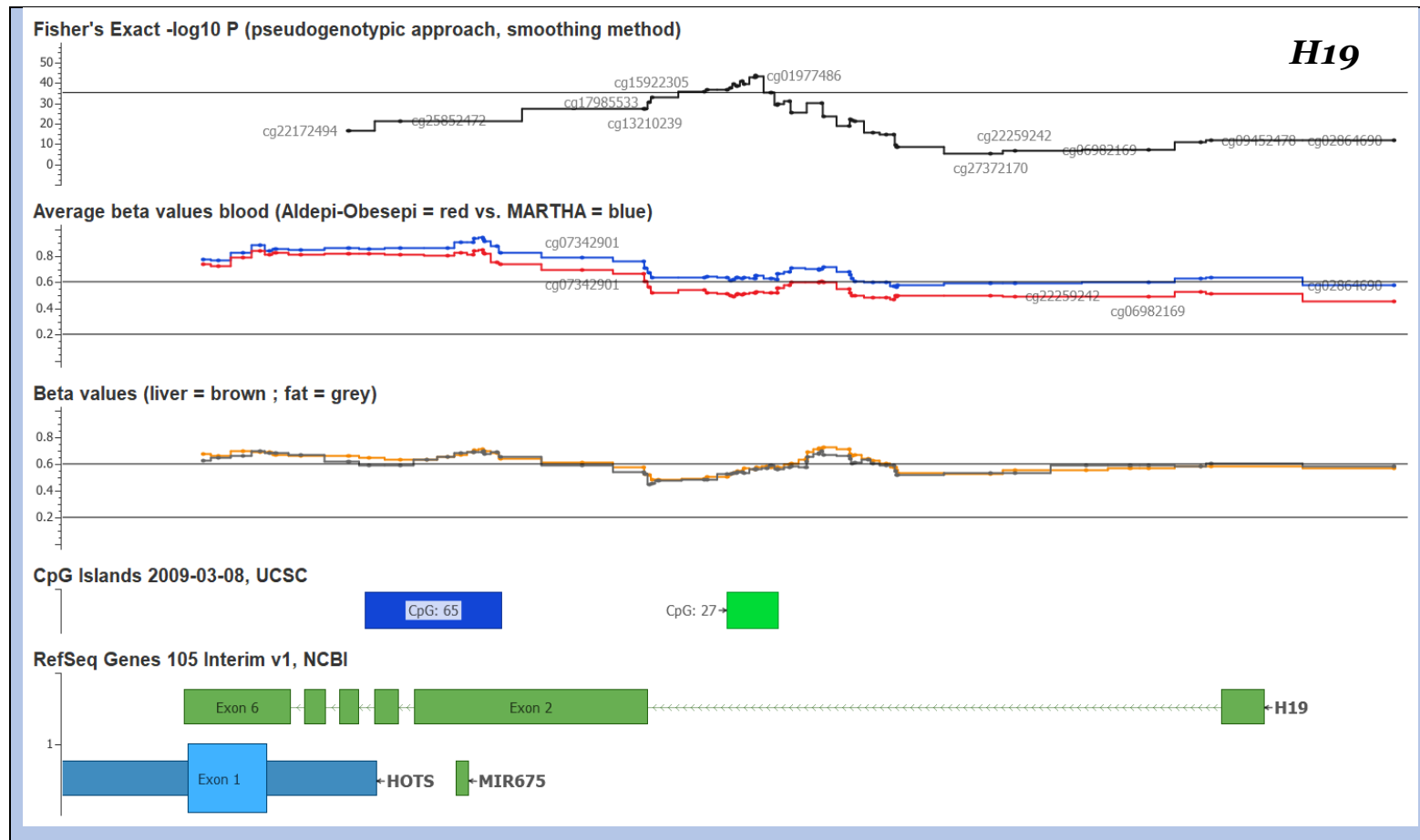


CpG Islands 2009-03-08, UCSC



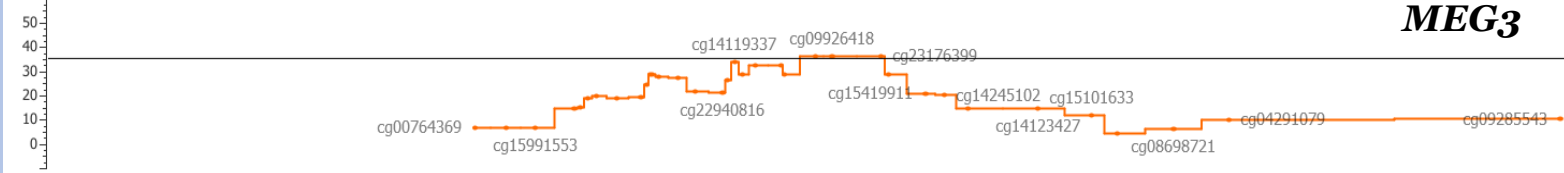
RefSeq Genes 105 Interim v1, NCBI



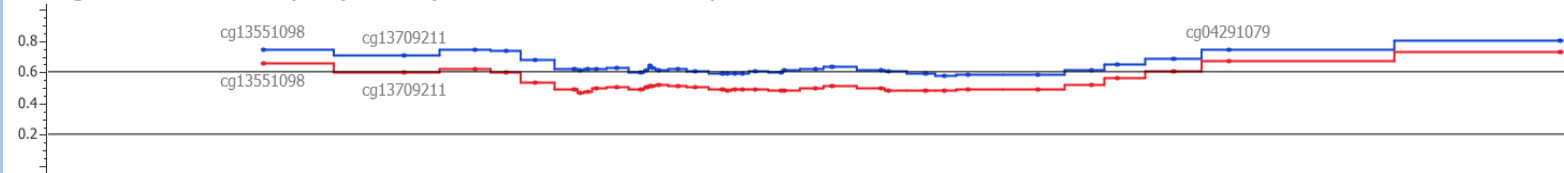


Fisher's Exact $-\log_{10} P$ (pseudogenotypic approach, smoothing method)

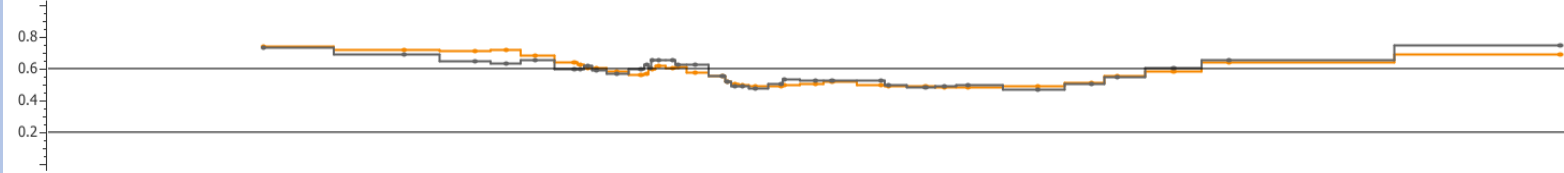
MEG3



Average beta values blood (Aldepi-Obesepi = red vs. MARTHA = blue)



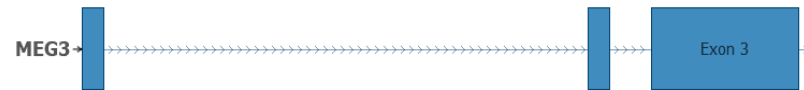
Beta values (liver = brown ; fat = grey)



CpG Islands 2009-03-08, UCSC

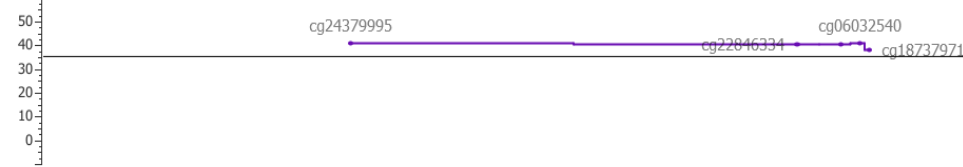


RefSeq Genes 105 Interim v1, NCBI

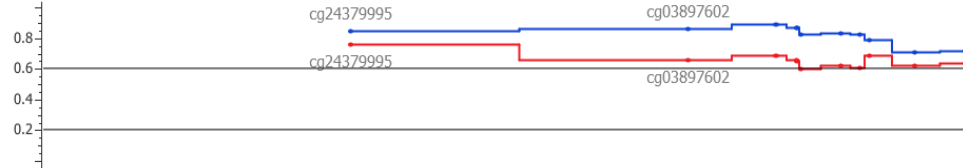


Fisher's Exact -log10 P (pseudogenotypic approach, smoothing method)

CATSPER2 - PDIA3P2



Average beta values blood (Aldepi-Obesepi = red vs. MARTHA = blue)



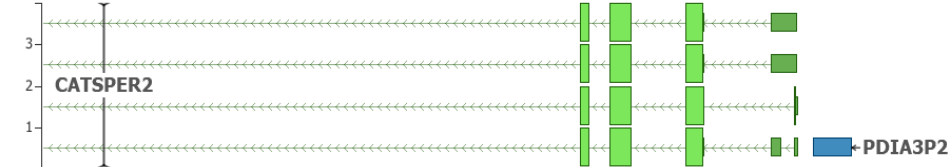
Beta values (liver = brown ; fat = grey)



CpG Islands 2009-03-08, UCSC

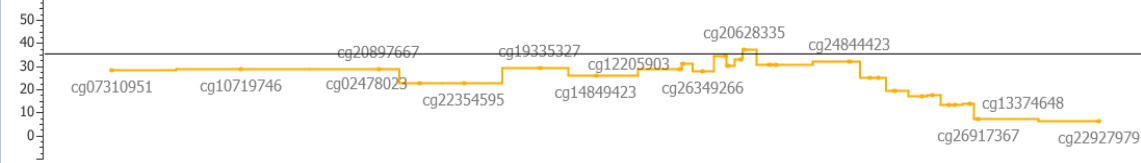
CpG: 87

RefSeq Genes 105 Interim v1, NCBI

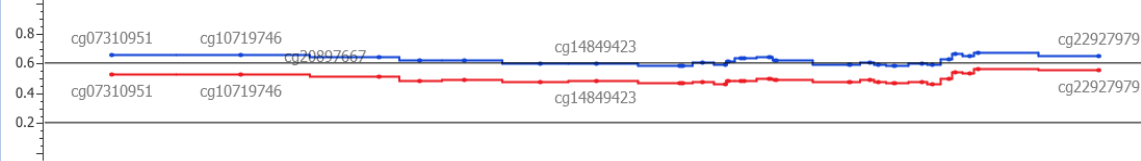


Fisher's Exact $-\log_{10} P$ (pseudogenotypic approach, smoothing method)

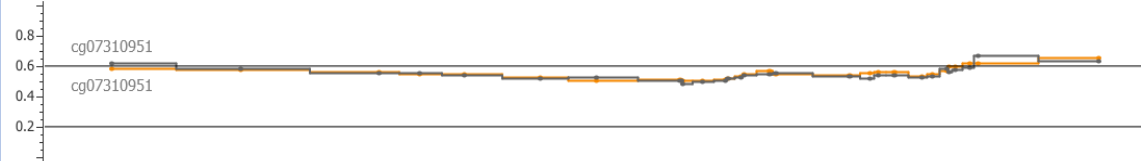
PEG3-MIMT1



Average beta values blood (Aldepi-Obesepi = red vs. MARTHA = blue)



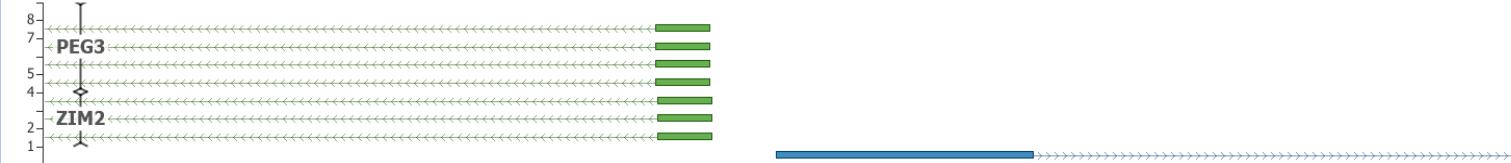
Beta values (liver = brown ; fat = grey)



CpG Islands 2009-03-08, UCSC

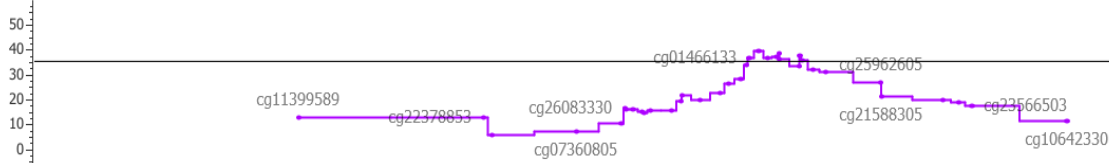


RefSeq Genes 105 Interim v1, NCBI

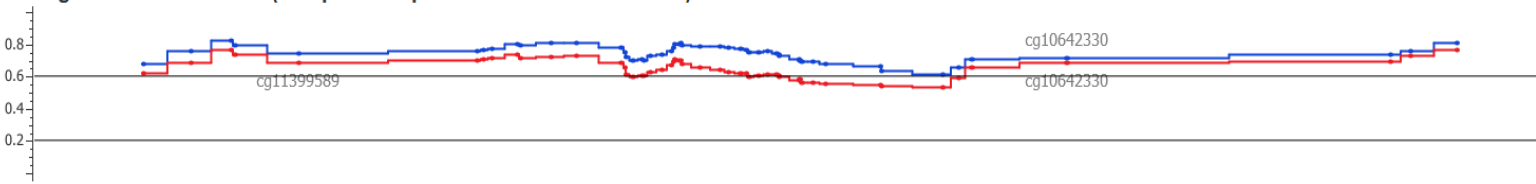


Fisher's Exact $-\log_{10} P$ (pseudogenotypic approach, smoothing method)

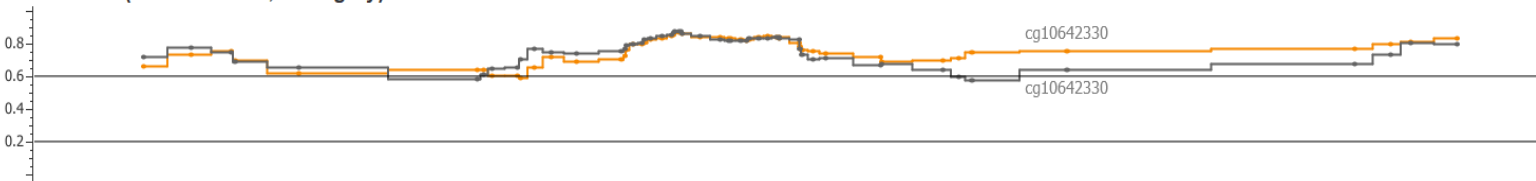
BLCAP-NNAT



Average beta values blood (Aldepi-Obeseipi = red vs. MARTHA = blue)



Beta values (liver = brown ; fat = grey)



CpG Islands 2009-03-08, UCSC



RefSeq Genes 105 Interim v1, NCBI

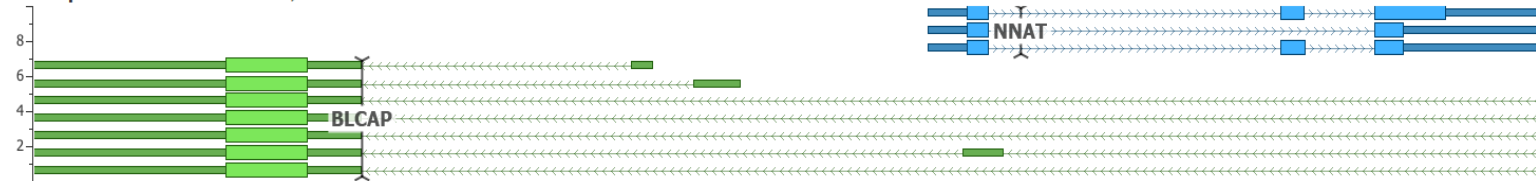


Figure 24: Comparaison des profils de méthylation de l'ADN de 7 loci significatifs trouvés dans le sang. Les profils de méthylation de l'ADN de tous les 7 gènes ou paires de gènes significatifs, représentent la comparaison des profils de méthylation des gènes *NAP1L5*, *HERC3*, *MEST-MEST1*, *H19*, *MEG3*, *CATSPER2-PDIA3P2*, *PEG3-MIMT1*, *BLCAP-NNAT*, montrant la même similitude dans le foie ou le tissu adipeux viscéral. Le rouge dans chaque locus représente les cas d'ALDEPI, et le bleu les individus sains de MARTHA. Le marron représente le foie et le gris la graisse viscérale. L'axe des y représente les valeurs bêta. Selon l'approche pseudo-génotypique utilisée dans cette étude définie dans matériels et méthodes, le profil de méthylation des cas utilisés pour le foie (marron) et la graisse viscérale (gris) est similaire et indique une méthylation complète.

Table 18: Analyse d'enrichissement de l'ontologie génétique à l'aide des gènes (*NAP1L5*, *MEST*, *H19*, *MEG3*, *CATSPER2*, *PEG3*, *NNAT*) trouvés dans le sang

GO terms	Count	Count	Expected Fold	Enrichment	+/-	raw P value
Protein lipoylation	7	1	0	>100	+	2.66E-03
Protein nuclear linkage	12	1	0	>100	+	4.33E-03
Apoptotic nuclear changes	25	1	0.01	>100	+	8.63E-03
Cellular component disassembly	27	1	0.01	>100	+	9.30E-03
Execution phase of apoptosis	49	1	0.02	61.21	+	1.65E-02
Apoptotic process	909	1	0.3	6.6	+	3.41E-02
Programmed cell death	1040	1	0.35	5.77	+	4.37E-02
Cell death	1075	1	0.36	5.58	+	4.65E-02
Sperm capacitation	26	1	0.01	>100	+	8.97E-03
Spermatid development	151	1	0.05	19.86	+	4.96E-02
Regulation of lipid storage	45	1	0.02	66.65	+	1.52E-02
Regulation of lipid localization	140	1	0.05	21.42	+	4.61E-02
Response to progesterone	46	1	0.02	65.2	+	1.56E-02
Sperm-egg recognition	51	1	0.02	58.81	+	1.72E-02
Single fertilization	139	1	0.05	21.58	+	4.57E-02
Cell-recognition	69	1	0.02	43.47	+	2.31E-02
Flagellated sperm motility	73	1	0.02	41.09	+	2.44E-02
Sperm motility	73	1	0.02	41.09	+	2.44E-02
Cilium-dependent cell motility	93	1	0.03	32.25	+	3.09E-02
Cilium or flagellum-dependent cell motility	93	1	0.03	32.25	+	3.09E-02
Positive regulation of insulin secretion	77	1	0.03	38.95	+	2.57E-02
Positive regulation of peptide hormone secretion	103	1	0.03	29.12	+	3.42E-02
Positive regulation of hormone secretion	134	1	0.04	22.38	+	4.41E-02
Nucleosome assembly	116	1	0.04	25.86	+	3.84E-02
Chromatin assembly	133	1	0.04	22.55	+	4.38E-02
Mesoderm development	125	1	0.04	24	+	4.13E-02

Table 19: Ensembles de données indépendants sur le méthylome provenant de GEO

Séries GEO	Tissu	Origine	Échantillon (n=)
GSE107038	Foie	Donneurs sains	40
GSE61258	Foie	Sains	79
GSE49542	Foie	NAFLD	59
GSE48325	Foie	NAFLD	85
GSE65057	Foie	Individus atteints d'obésité avec/sans DT2	24
GSE61446	Foie	Individus atteints d'obésité sévère recourant à la CB	67
GSE88940	TAB	Variable IMC	20
GSE61453	TAB	IMC élevé	71
GSE54776	TAB	Syndrome métabolique	14

TAB tissu adipeux blanc

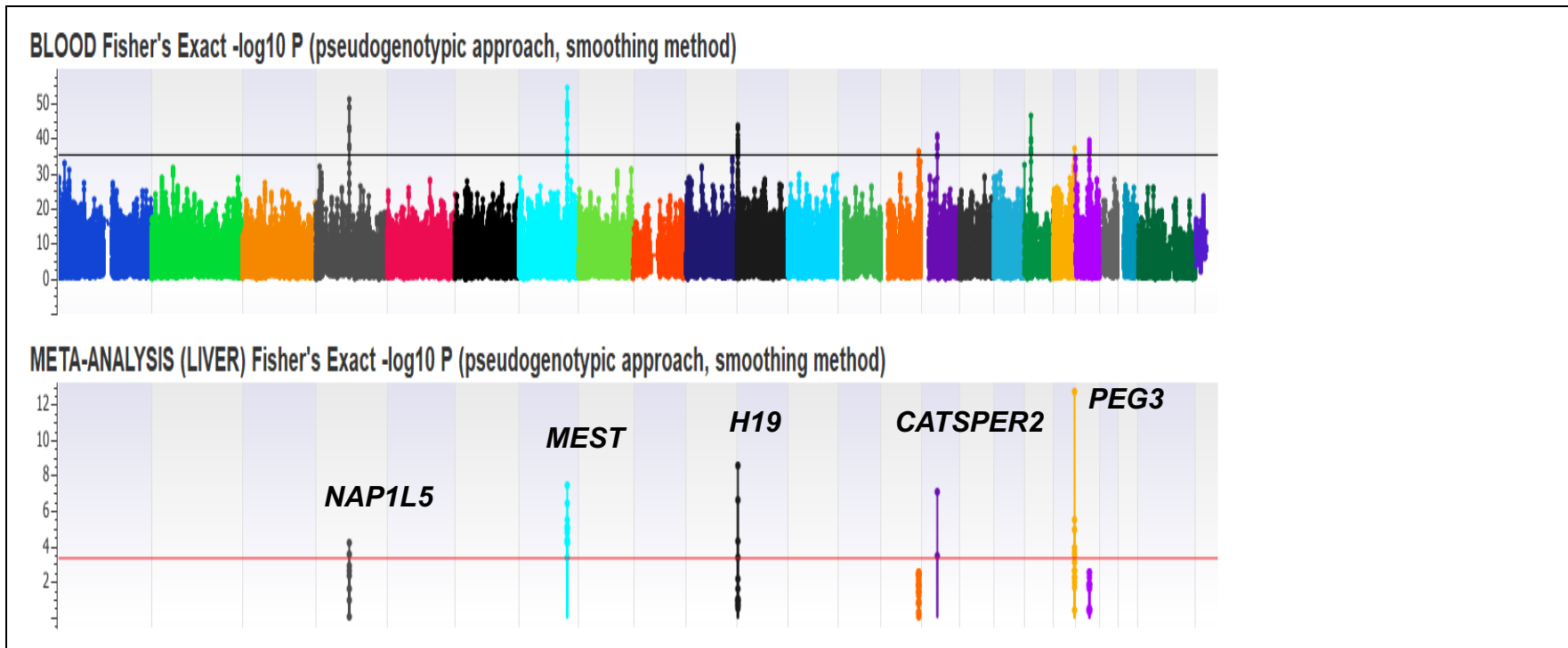
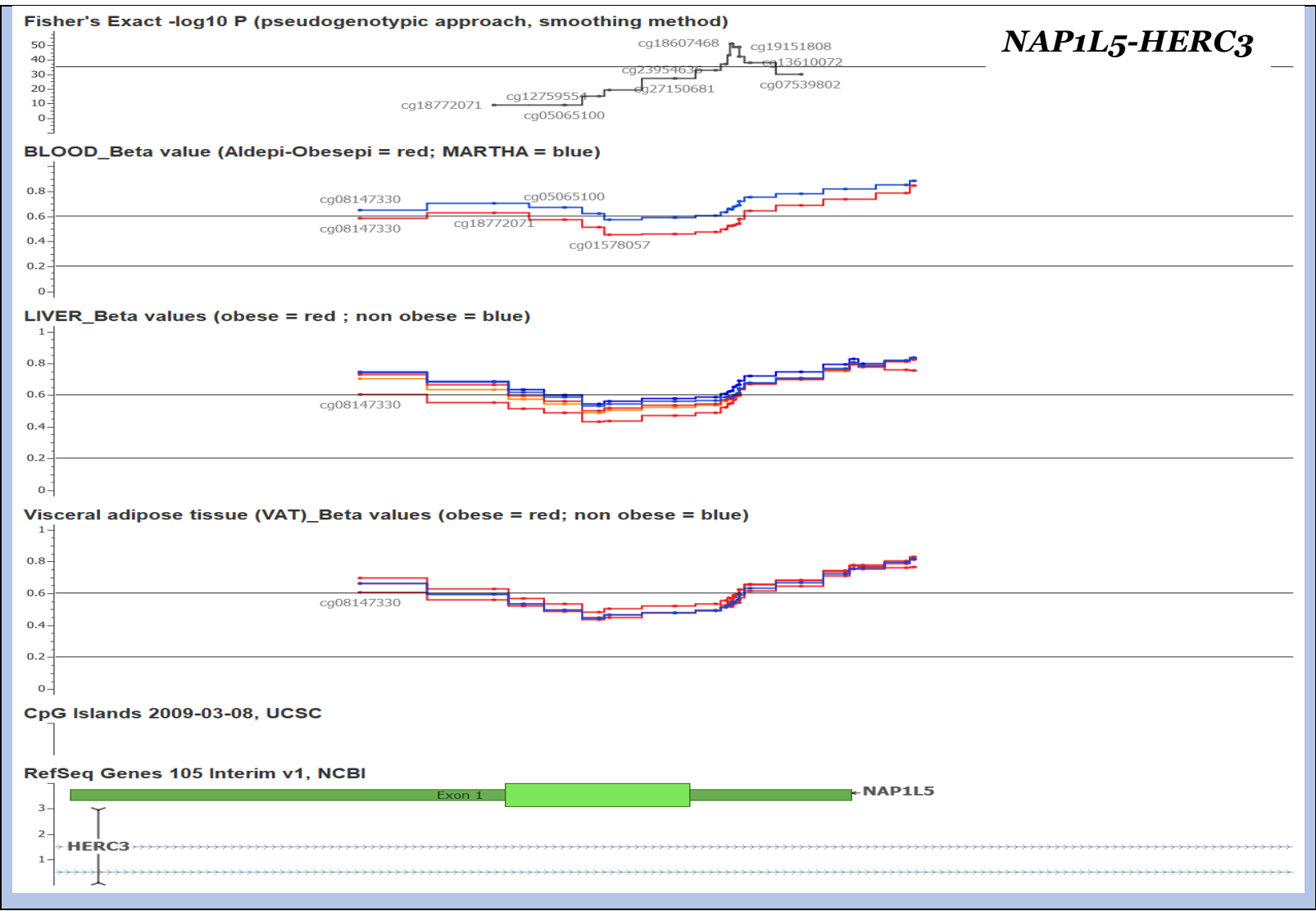
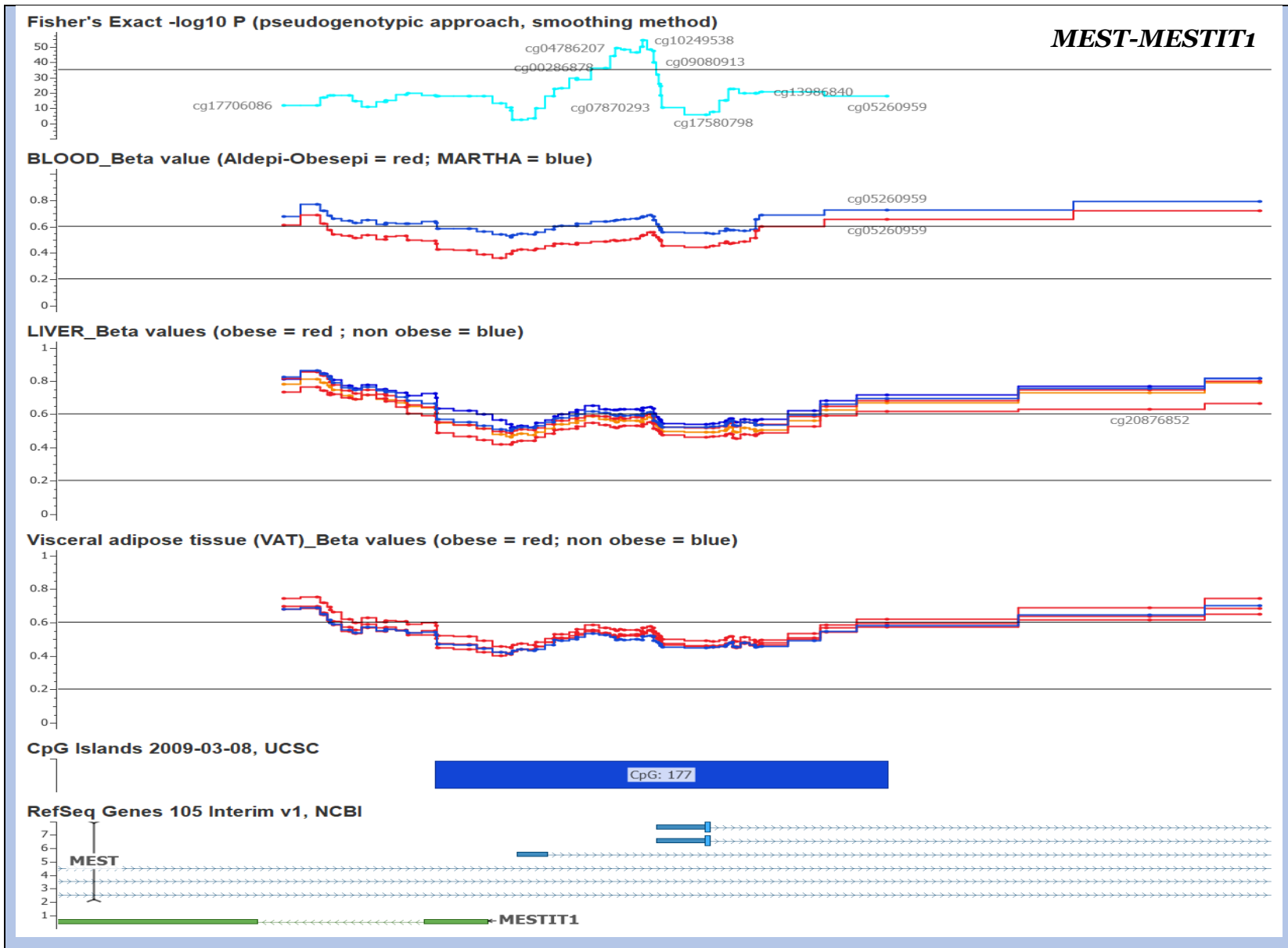
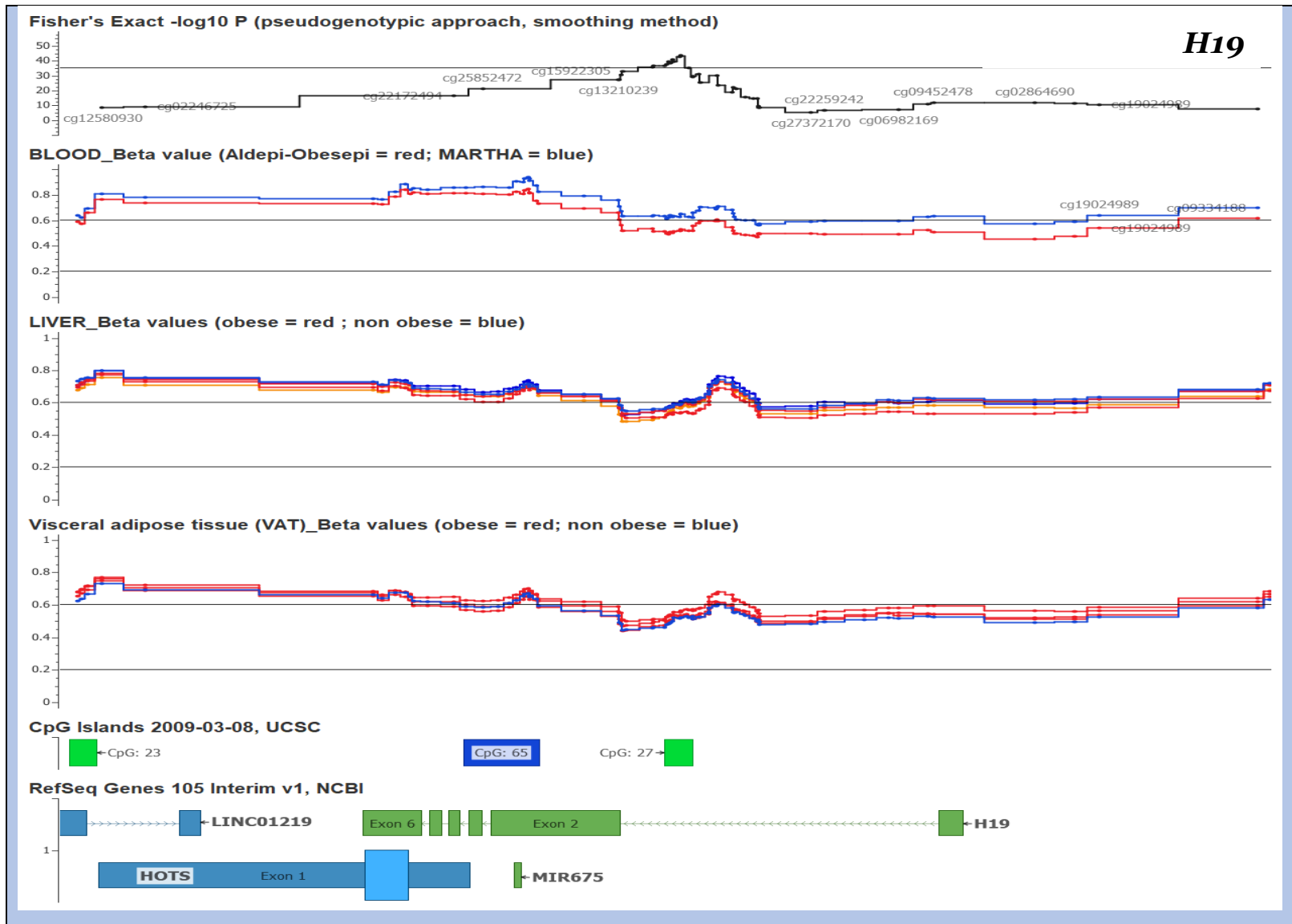
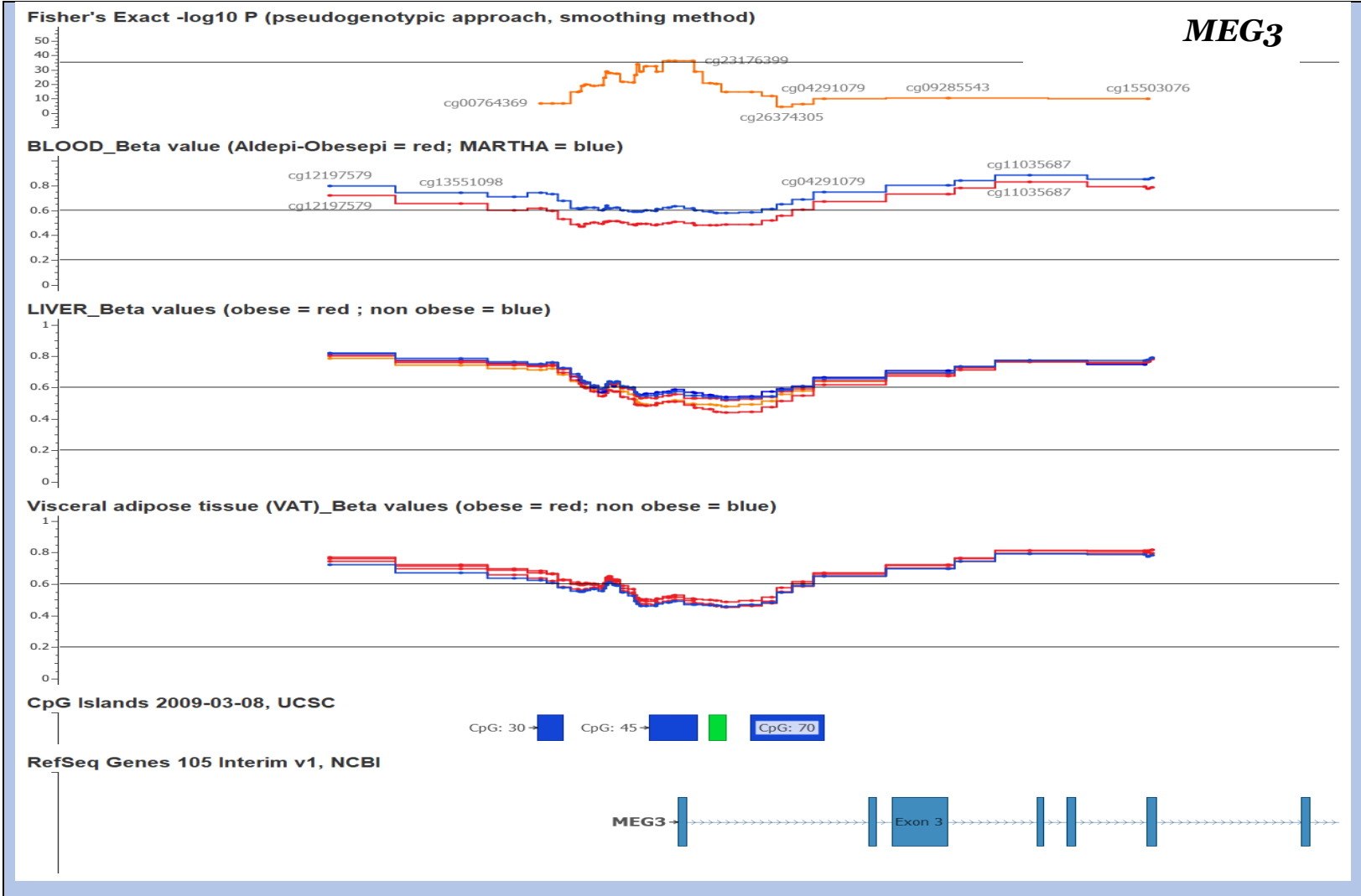


Figure 25: Comparaison du sang à l'échelle du génome (cas/contrôle vs foie (cas/contrôle)). Diagramme de Manhattan pour l'analyse de méthylation du sang et de l'ADN dans une étude à l'échelle du génome. Le niveau de signification à l'échelle du génome est indiqué par la ligne horizontale. 7 signatures épigénétiques significatives de cette comparaison ont été trouvées. La barre grise représente la signification statistique que chaque gène doit atteindre pour être considéré comme significatif. Les nombres représentent chaque gène. L'axe des x représente les chromosomes et l'axe des y représente $-\log(10) p$.







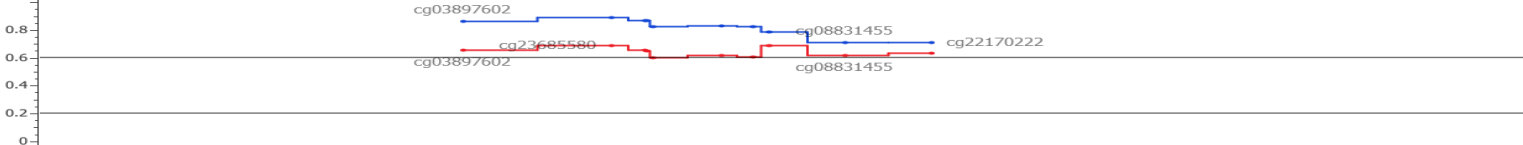


CATSPER2-PDIA3P2

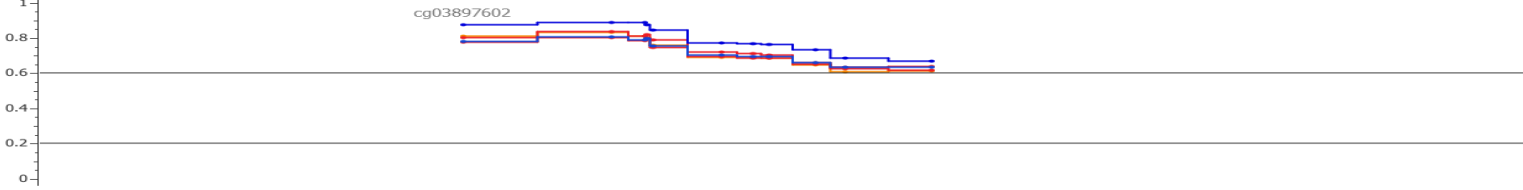
Fisher's Exact -log10 P (pseudogenotypic approach, smoothing method)



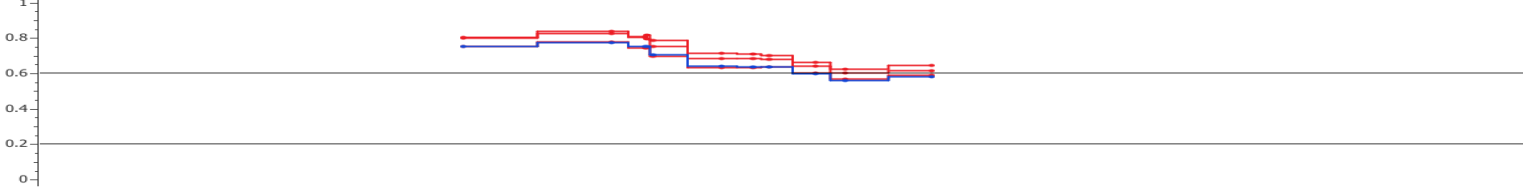
BLOOD_Beta value (Aldepi-Obesepi = red; MARTHA = blue)



LIVER_Beta values (obese = red ; non obese = blue)



Visceral adipose tissue (VAT)_Beta values (obese = red; non obese = blue)

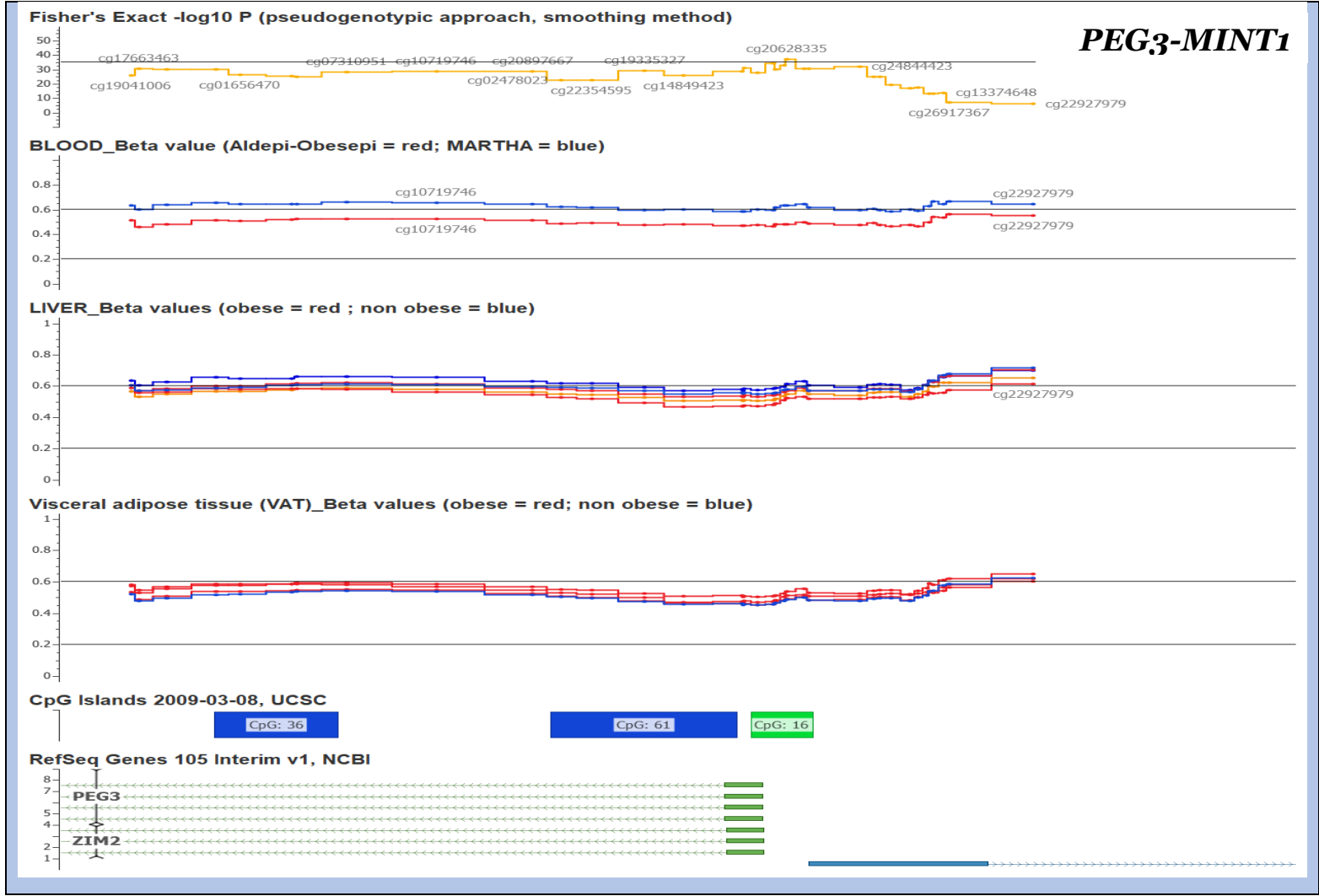


CpG Islands 2009-03-08, UCSC

CpG: 87

RefSeq Genes 105 Interim v1, NCBI





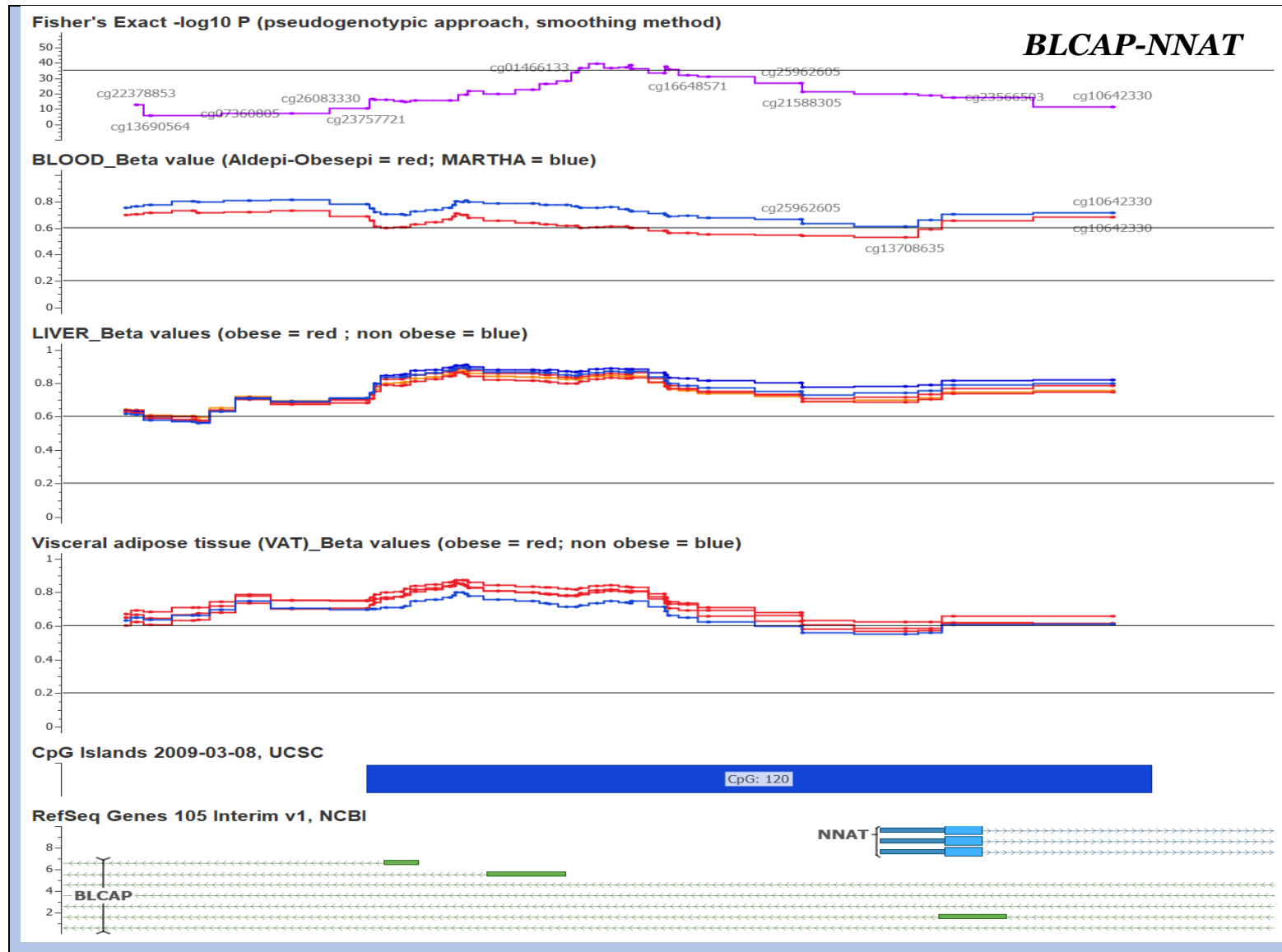


Figure 26: Comparaison des profils de méthylation de l'ADN de 7 gènes significatifs trouvés dans le sang. Parmi les 7 gènes ou paires de gènes significatifs trouvés dans le sang, 5 d'entre eux ont été confirmés dans le foie (NAP1L5-HERC3, MEST-MESTIT1, H19, MEG3, PEG3-MIMT1) mais ont échoué dans le tissu adipeux viscéral. La ligne bleue dans chaque locus représente les individus en bonne santé et la ligne rouge les individus atteints d'obésité. L'axe des y représente les valeurs bêta. Selon l'approche pseudo-génotypique utilisée dans cette étude définie dans matériels et méthodes, le profil de méthylation pour les individus en bonne santé représentée par la ligne bleue indique une méthylation complète, et pour les individus atteints d'obésité le profil de méthylation indique une hémiméthylation

Table 20: Description des sondes CpG les plus significatives dans l'étude d'association à l'échelle de l'épigénome qui a comparé les profils de méthylome sanguin chez les patients OBESEPI et les témoins de la cohorte MARTHA

Marker	Chr.	Position*	Locus	CpG island	Location of the CpG island	Fisher's Exact P-value	Fisher's Exact FDR
cg01174175	4	89619014	NAP1L5, HERC3 †	No CpG island	Not applicable	1.78×10^{-37}	6.87×10^{-57}
cg06617468	4	89619023	NAP1L5, HERC3 †	No CpG island	Not applicable	1.75×10^{-43}	1.63×10^{-37}
cg18607468	4	89619030	NAP1L5, HERC3 †	No CpG island	Not applicable	8.77×10^{-52}	4.80×10^{-70}
cg11300971	4	89619038	NAP1L5, HERC3 †	No CpG island	Not applicable	2.81×10^{-49}	1.39×10^{-49}
cg19151808	4	89619051	NAP1L5, HERC3 †	No CpG island	Not applicable	2.83×10^{-49}	1.22×10^{-40}
cg01026744	4	89619053	NAP1L5, HERC3 †	No CpG island	Not applicable	8.19×10^{-43}	6.57×10^{-53}
cg13610072	4	89619085	NAP1L5, HERC3 †	No CpG island	Not applicable	1.44×10^{-38}	1.91×10^{-72}
cg00286878	7	130131633	MEST	CpG: 177	5'UTR of MEST	1.25×10^{-36}	1.29×10^{-40}
cg12347392	7	130131676	MEST	CpG: 177	5'UTR of MEST	1.57×10^{-44}	3.84×10^{-05}
cg04786207	7	130131691	MEST	CpG: 177	5'UTR of MEST	1.03×10^{-49}	2.91×10^{-61}
cg26708559	7	130131730	MEST	CpG: 177	5'UTR of MEST	1.04×10^{-48}	2.29×10^{-07}
cg22705386	7	130131797	MEST	CpG: 177	5'UTR of MEST	4.14×10^{-47}	4.44×10^{-65}
cg06212135	7	130131826	MEST	CpG: 177	5'UTR of MEST	1.08×10^{-50}	2.80×10^{-69}
cg10249538	7	130131829	MEST	CpG: 177	5'UTR of MEST	8.02×10^{-55}	1.58×10^{-54}
cg16823958	7	130131869	MEST	CpG: 177	5'UTR of MEST	1.16×10^{-48}	5.89×10^{-49}
cg27338480	7	130131885	MEST	CpG: 177	5'UTR of MEST	7.26×10^{-48}	2.19×10^{-56}
cg09080913	7	130131887	MEST	CpG: 177	5'UTR of MEST	1.84×10^{-40}	1.38×10^{-71}
cg17769238	11	2019568	H19	CpG: 27	Intronic region of H19	5.53×10^{-37}	7.87×10^{-29}
cg04975775	11	2019587	H19	CpG: 27	Intronic region of H19	4.51×10^{-38}	1.69×10^{-22}

cg15886040	11	2019606	H19	CpG: 27	Intronic region of H19	6.57×10^{-40}	2.06×10^{-43}
cg10154633	11	2019624	H19	CpG: 27	Intronic region of H19	4.01×10^{-39}	4.27×10^{-62}
cg26469586	11	2019626	H19	CpG: 27	Intronic region of H19	4.04×10^{-39}	6.20×10^{-02}
cg24409677	11	2019655	H19	CpG: 27	Intronic region of H19	1.74×10^{-41}	1.41×10^{-73}
cg16303279	11	2019667	H19	CpG: 27	Intronic region of H19	7.03×10^{-40}	1.31×10^{-59}
cg02694715	11	2019730	H19	CpG: 27	Intronic region of H19	2.95×10^{-43}	1.94×10^{-45}
cg11735853	11	2019732	H19	CpG: 27	Intronic region of H19	5.28×10^{-44}	1.00E+00
cg01977486	11	2019736	H19	CpG: 27	Intronic region of H19	7.80×10^{-44}	1.39×10^{-49}
cg13581483	11	2019823	H19	CpG: 27	Intronic region of H19	1.54×10^{-35}	1.82×10^{-08}
cg25836301	14	101292306	MEG3	CpG: 45	5'UTR of MEG3	1.33×10^{-36}	2.23×10^{-14}
cg09926418	14	101292392	MEG3	CpG: 45	5'UTR of MEG3	1.23×10^{-36}	1.73×10^{-67}
cg23176399	14	101292643	MEG3	CpG: 45	5'UTR of MEG3	1.23×10^{-36}	3.06×10^{-01}
cg26270066	15	43941407	CATSPER2	CpG: 87	5'UTR of CATSPER2	9.46×10^{-41}	3.59×10^{-65}
cg06032540	15	43941563	CATSPER2	CpG: 87	5'UTR of CATSPER2	2.64×10^{-41}	3.52×10^{-01}
cg18737971	15	43941642	CATSPER2	CpG: 87	5'UTR of CATSPER2	2.26×10^{-38}	6.65×10^{-54}
cg13369939	19	57352176	PEG3, ZIM2‡	CpG: 16	5'UTR of PEG3 5'UTR of ZIM2	2.85×10^{-33}	1.91×10^{-72}
cg20628335	19	57352185	PEG3, ZIM2‡	CpG: 16	5'UTR of PEG3 5'UTR of ZIM2	1.25×10^{-37}	1.70×10^{-02}
cg01466133	20	36149022	NNAT, BLCAP §	CpG: 120	5'UTR of NNAT Intronic region of BLCAP	3.38×10^{-37}	2.67×10^{-32}
cg24338351	20	36149053	NNAT, BLCAP §	CpG: 120	5'UTR of NNAT Intronic region of BLCAP	9.97×10^{-40}	1.01×10^{-36}
cg24675557	20	36149081	NNAT, BLCAP §	CpG: 120	5'UTR of NNAT Intronic region of BLCAP	2.78×10^{-37}	4.17×10^{-16}
cg20479660	20	36149112	NNAT, BLCAP §	CpG: 120	5'UTR of NNAT Intronic region of BLCAP	1.52×10^{-37}	3.97×10^{-52}
cg22421148	20	36149119	NNAT, BLCAP §	CpG: 120	5'UTR of NNAT Intronic region of BLCAP	4.97×10^{-39}	1.01×10^{-39}
cg22510412	20	36149121	NNAT, BLCAP §	CpG: 120	5'UTR of NNAT Intronic region of BLCAP	1.28×10^{-36}	1.05×10^{-23}

Note. Chr.: chromosome; FDR: false discovery rate.

*Position according to GRCh37.

†*NAPIL5* is oriented reverse and *HERC3* is oriented forward with *NAPIL5* being embedded in *HERC3*.

‡*PEG3* and *ZIM2* are both oriented reverse; these two distinct genes share a set of 5' exons and have a common promoter.

§ *NNAT* is oriented forward and *BLCAP* is oriented reverse with *NNAT* being embedded in *BLCAP*.

CHAPITRE V.

DISCUSSIONS SUR LES TROIS ÉTUDES

5. DISCUSSION

5.1. Carence en vitamine B12 suite à une chirurgie bariatrique

Un grand intérêt pour la littérature s'est porté sur les carences nutritionnelles pré et postopératoires (Dogan et al., 2018; Kornerup et al., 2019; Richard D. Bloomberg et al., 2005; Roust & Dibaise, 2017). Cependant, seulement quelques études ont exploré les déterminants de la carence en vitamine B12 et d'autres micronutriments après une chirurgie bariatrique, ou évalué si la carence en vitamine B12 et d'autres micronutriments persistaient malgré une supplémentation systématique en vitamine B12 et autres micronutriments. D'autres études ont cherché à savoir si cette carence était ou non due à d'autres facteurs tels que les caractéristiques cliniques et métaboliques au moment de la chirurgie. Par conséquent, mon travail consistait à étudier la carence en vitamine B12 par rapport aux autres micronutriments dans notre cohorte qui se compose de participants français souffrant d'obésité sévère/morbide subissant une chirurgie bariatrique et recevant une supplémentation systématique en multi-vitamines/oligo-éléments. Pour mener à bien cette recherche, j'ai réalisé une collecte de données exhaustive et solide rassemblant toutes les données cliniques et métaboliques. Au cours de ce processus, une attention particulière a été portée sur le suivi de l'état de la vitamine B12 et d'autres micronutriments de tous les participants au moment de leur entrée dans l'étude de cohorte, en mettant l'accent sur leur supplémentation en vitamine B12 et autres micronutriments.

La chirurgie bariatrique peut produire des déficits en micronutriments ou intensifier les carences antérieures en limitant la prise alimentaire et/ou l'absorption de

micronutriments, entraînant la nécessité de traiter les patients avec des suppléments de micronutriments de manière systématique (Fox et al., 2019). Dans notre série, nous avons observé une très faible fréquence de déficits multiples en micronutriments et une fréquence relativement élevée de déficits spécifiques, en particulier en fer et en vitamine D, malgré la supplémentation systématique donnée à tous les patients lors du suivi. Ceci est en accord avec les études précédentes (Fox et al., 2019; Nonino et al., 2019) et illustre la nécessité d'une utilisation systématique de suppléments multi-micronutriments et dans les cas où ce traitement est insuffisant, l'utilisation des suppléments spécifiques adaptés. Le déficit en la plupart des micronutriments diminue pendant les périodes de suivi, dans notre cohorte, en particulier de folate. La vitamine B₁₂ s'est comportée distinctement. Le déficit en B₁₂ était fortement élevé au moment de la chirurgie (13,1%), comme précédemment observé (Frame-Peterson et al., 2017; Z. Li et al., 2018; Roust & Dibaise, 2017) et a considérablement diminué à 2% lors de la visite 1, démontrant l'efficacité à court terme de la supplémentation. Nous avons constaté une augmentation du déficit en vitamine B₁₂ dans l'intervalle de 12 à 24 mois suivant la chirurgie bariatrique, avec un maximum de 12% à 18 mois. Cependant, cette augmentation du déficit B₁₂ était inférieure à celle rapportée dans les études précédentes, probablement en raison de l'efficacité partielle de la supplémentation systématique (Aarts et al., 2012; Gehrler et al., 2010). Ceci est en accord avec une étude récente, qui a observé une diminution de la vitamine B₁₂ plasmatique après 6 mois de suivi et une diminution précoce de la HoloTC et une augmentation du MMA à deux mois post-chirurgie reflétant une diminution de l'absorption de la capacité d'absorption de la B₁₂.

Tous les patients ont reçu en post-opératoire une supplémentation hebdomadaire équivalent à 150 µg de B12 par jour après la chirurgie, une dose qui pourrait être insuffisante pour rétablir un état normal chez tous les patients. Les doses ont été bien évidemment adaptées au cas par cas dans les visites subséquentes. Le type de vitamine B12 utilisée pour la supplémentation doit également être prise en compte, l'administration de cyanocobalamine entraîne une augmentation significative de l'holoTC en comparaison avec de l'hydroxocobalamine, chez les adultes en bonne santé avec une cobalamine normale ou basse (Greibe et al., 2018). Le déficit pourrait résulter d'une observance moyenne de la supplémentation et à une absorption limitée de B12 (Green et al., 2017). La chirurgie bariatrique diminue l'absorption alimentaire de la vitamine B12 par divers mécanismes qui incluent l'achlorhydrie gastrique, la diminution de la sécrétion du facteur intrinsèque et la prolifération bactérienne dans l'iléon intestinal (Green et al., 2017). Ces mécanismes conduisent également à une malabsorption du fer et du folate, mais ils ont eu une influence partielle pour expliquer le déficit postopératoire de B12 de la plupart de nos cas, car nous n'avons constaté qu'un seul cas avec un déficit en 3 micronutriments. Nous n'avons observé aucune différence de la B12 selon le type de chirurgie bariatrique. A l'heure actuelle, on ne connaît pas l'influence du type de chirurgie sur la sécrétion du facteur intrinsèque. Une seule étude a évalué la différence de transcriptomique avant et après pontage gastrique Roux-en-Y, cette étude a montré une diminution non significative de l'expression du gène du facteur intrinsèque dans la muqueuse de l'estomac résiduel (Sala et al., 2017). Contrairement au type de chirurgie bariatrique, le faible statut B12 lors de la chirurgie était un facteur d'aggravation du statut B12 dans les 18 à 24 mois suivant la

chirurgie, malgré une supplémentation en vitamine B₁₂. L'association de B₁₂ avec le score APRI est cohérente avec l'association entre une concentration sanguine élevée de la vitamine B₁₂ et de la cirrhose dans une étude précédente (Greibe et al., 2018). Ceci suggère que les patients avec une faible concentration de vitamine B₁₂ lors de la chirurgie ont une circulation entérohépatique altérée qui pourrait réduire les réserves corporelles de B₁₂ et augmenter le risque d'avoir un déficit plus tard que les 2 mois post-opératoires. Le cycle entérohépatique joue un rôle important dans l'homéostasie de la vitamine B₁₂, avec une excrétion de vitamine B₁₂ et analogue estimée à 2,5 µg comparée aux besoins alimentaires estimés à 2,4 µg /jour (Sala et al., 2017). La vitamine B₁₂ est excrétée dans la bile sous forme de complexe avec l'haptocorrine, sa protéine porteuse, qui est dégradée par les enzymes pancréatiques dans la lumière du duodénum pour permettre le transfert de B₁₂ au facteur intrinsèque gastrique (Green et al., 2017). En cas de pontage gastrique, l'haptocorrine est dégradée dans la lumière de la boucle duodénale par l'absence de facteur intrinsèque. La vitamine B₁₂ libérée est ensuite capturée par les bactéries (Angrisani et al., 2015; Green et al., 2017). En cas de gastrectomie verticale, la résection du fundus gastrique produit un effondrement de la sécrétion de facteur intrinsèque, qui interrompt le cycle entérohépatique B₁₂ (Angrisani et al., 2015; Green et al., 2017; Sala et al., 2017). Par conséquent, dans ce cas, la vitamine B₁₂ excrétée dans la bile n'est pas recyclée.

Par ailleurs, des travaux précédents suggèrent que la NASH et la cirrhose diminuent l'excrétion biliaire de la B₁₂ liée à l'haptocorrine (Greibe et al., 2018). Par conséquent, la NASH reflétée par un score APRI élevé atténue la perte de vitamine B₁₂ biliaire (Greibe et

al., 2018). En revanche, en l'absence de stéatohépatite objectivée par un score APRI faible, l'excrétion biliaire de la B12 est optimale et représente une perte permanente de B12 « endogène », qui n'est pas compensée si les apports quotidiens ou par des suppléments ne sont pas suffisants (Green et al., 2017). Notre étude a des limites et des points forts. Nous n'avons pas évalué si le déficit en vitamine B12 était associé à une augmentation des marqueurs métaboliques, tels que l'homocystéine, le MMA et l'holotranscobalamine pendant le suivi, comme suggéré très récemment dans une étude clinique de suivi avec des effectifs réduits après chirurgie bariatrique (Kornerup et al., 2019). Le nombre de patients dans le suivi était inférieur à nos attentes initiales, avec 205 cas (51%) examinés lors de la visite 4. Les points forts de notre étude sont la taille importante de notre cohorte, la supplémentation systématique et le suivi de notre population d'étude par une équipe multidisciplinaire, et la comparaison des données cliniques et biologiques au moment de la chirurgie et pendant le suivi à moyen terme. De plus, l'étude a considéré le statut de la plupart des micronutriments avec une prévalence plus élevée de déficits après une chirurgie bariatrique.

En conclusion, notre étude a montré qu'une supplémentation en multivitamines associée à un apport hebdomadaire en vitamine B12 était partiellement efficace pour prévenir les déficits en micronutriments. Malgré les compétences de l'équipe multidisciplinaire, il est possible que l'observance de patients soit moyenne. Et donc, une attention particulière dans ces cas doit être renforcée pour adapter les doses de supplémentation.

5.2. Variants codants rares/peu fréquents et réponse à la chirurgie bariatrique

En parallèle à la découverte de (Turcot et al., 2018), les résultats de cette étude a montré que dans les populations adultes d'ascendance européenne, des variants codants rares/peu fréquents diminuant l'IMC dans les populations générales peuvent également protéger du développement de l'obésité sévère/morbide. Ces résultats sont en accord avec les associations observées entre les variants gains de fonction I251L et V1031 dans le gène *MC4R*, et l'IMC et l'obésité sévère/morbide dans les populations adultes européennes (Boehnke et al., 2010; Stutzmann et al., 2007). En revanche, les variants codants rares/peu fréquents augmentant l'IMC dans les populations générales n'ont montré aucune association avec un risque accru d'obésité sévère/morbide dans cette étude. Ces données suggèrent que l'architecture génétique de la variation de l'IMC en population générale et du risque d'obésité extrême se recoupe seulement en partie, suggèrent aussi un manque de puissance statistique. Conformément à cette hypothèse, les variants polygéniques fréquents associés à l'IMC dans la population générale et à l'obésité sévère/morbide ne se chevauchent que partiellement dans les populations adultes d'origine européenne (Berndt, S. I., Gustafsson, S., Mägi, R., Ganna, A., Wheeler, E., Feitosa, M. F., ... Ingelsson, 2013; Meyre et al., 2009a). Il a été également rapporté dans la littérature que les effets de certains loci associés à l'IMC ne sont pas non plus uniformes le long de la distribution de l'IMC (Abadi et al., 2017). De plus, selon (Turcot et al., 2018), seulement deux des sept variants rares/peu fréquents augmentant l'IMC sont localisés dans des loci qui contribuent aux formes monogéniques d'obésité extrême (Pearce et al., 2013; Stutzmann et al., 2008; Turcot et al., 2018).

Fait intéressant, nos données indiquent que dans les populations adultes d'origine européenne, les variants codants rares/peu fréquents, qui diminuent ou augmentent l'IMC dans la population générale, ne contribuent pas à la variation de l'IMC dans un contexte d'obésité sévère/morbide. Comme les estimations d'héritabilité de l'IMC ont tendance à augmenter dans les populations avec un niveau d'adiposité plus élevé, cette observation ne peut pas être expliquée par une absence d'influence génétique sur l'IMC chez les patients atteints d'obésité sévère /morbide (Phillip E. C. Compeau, Pavel A. Pevzner, 2015). Une autre explication peut être que les variants génétiques rares/peu fréquents qui contribuent à l'IMC dans les populations avec et sans obésité peuvent au moins légèrement différer en partie. En accord avec cette hypothèse, les variants fréquents qui contribuent à l'IMC dans la population générale ne semblent pas avoir d'effet sur l'IMC chez les patients atteints d'obésité sévère / morbide dans les populations d'ascendance européenne (Mägi et al., 2013). De même, les mutations ultra-rares qui ont un impact sur l'IMC dans les populations européennes adultes atteintes d'obésité peuvent ne pas contribuer de manière significative à la variation de l'IMC dans les populations générales (Hinney et al., 2006; Stutzmann et al., 2008). Les facteurs qui surviennent au cours du développement de l'obésité, tels que la résistance à la leptine et à l'insuline, l'inflammation chronique de bas grade, la reprogrammation épigénétique, la modification du microbiome intestinal ou l'exposition à des environnements spécifiques, peuvent interagir avec le profil génétique et expliquer les différences génétiques observées dans les populations avec et sans obésité (Abadi et al., 2017; Pigeyre et al., 2016; Hudson Reddon, Guéant, & Meyre, 2016).

Nos résultats suggèrent également que dans les populations adultes d'origine européenne, les variants génétiques rares/peu fréquents qui contribuent aux variations de l'IMC dans la population générale, ne contribuent pas au changement de l'IMC en réponse à une modification du mode de vie/comportement dans un contexte d'obésité sévère/morbide. Cela peut signifier que les déterminants génétiques pour ces deux traits peuvent au moins légèrement différer. Bien que la perte de poids en réponse à une modification du mode de vie/comportement ait une composante génétique bien établie (Bouchard et al., 1994), aucune association n'a encore été rapportée dans la littérature avec des variants monogéniques et polygéniques de l'IMC/obésité chez les enfants et les adultes d'origine européenne. (Hinney et al., 2013; Hollensted et al., 2018; J. M. McCaffery et al., 2013; Papandonatos et al., 2015; Reinehr et al., 2009). De plus, des études d'association pangénomique portant sur la perte de poids en réponse à une intervention sur le mode de vie dans des populations d'origine européenne ont identifié plusieurs loci qui ne sont pas associés à l'IMC ou à l'obésité (Jeanne M. McCaffery et al., 2013; Valsesia et al., 2019). Enfin, les mécanismes biologiques impliqués dans la prise de poids et la perte de poids chez l'homme sont connus pour être très différents (Carayol et al., 2017; van Baak & Mariman, 2019).

Nos résultats indiquent que les variants codants rares/peu fréquents qui augmentent l'IMC dans la population générale, augmentent le risque de reprise de poids en réponse à la chirurgie bariatrique chez des populations adultes d'origine européenne atteintes d'obésité sévère/morbide. D'autre part, les variants codants rares/peu fréquents qui diminuent l'IMC

dans la population générale, sont associés à une réduction plus rapide de l'IMC et à une diminution du risque de reprise de poids après l'opération. Les effets génétiques sont loin d'être négligeables car les individus porteurs de ces variants à risque et protecteur présentent respectivement une augmentation de 2 fois et une diminution de 2,5 fois du risque de reprendre du poids lors du suivi postopératoire. Ces résultats sont cohérents avec le risque élevé de reprise de poids post chirurgie bariatrique observé chez les enfants et adolescents porteurs de mutations homozygotes ultra-rares de perte de fonction dans les gènes *MC4R* et *LEPR* (Aslan et al., 2015; Jelin et al., 2016; Le Beyec et al., 2013). D'autres études ont montré que les scores génétiques construits avec des variants polygéniques augmentant l'IMC ont un effet négatif sur la perte de poids après une chirurgie bariatrique dans les populations d'origine européenne (Aasbrenn et al., 2019; Bandstein et al., 2016; de Toro-Martín et al., 2018). Il a été rapporté que la perte de poids en réponse à la chirurgie bariatrique est un trait hautement héréditaire (Hatoum et al., 2011), et les associations pangénomiques dans les populations d'ascendance européenne suggèrent que les facteurs polygéniques contribuent le plus à ce trait ne sont pas nécessairement associés avec IMC ou obésité (Hatoum et al., 2013; Rinella et al., 2013). Les mécanismes biologiques impliqués dans le développement de l'obésité et la perte de poids soutenue en réponse à la chirurgie bariatrique ne se chevauchent que partiellement (Farias et al., 2018; Zakeri & Batterham, 2018).

Cette étude présente plusieurs atouts, notamment l'originalité de la question de recherche, la nature du travail axée sur les hypothèses, la nouveauté des résultats, l'étude de nombreux

paramètres originaux, l'utilisation de designs expérimentaux et des méthodes sophistiquées (c'est-à-dire cas-témoins, cas seulement) (c.-à-d. contrôle de qualité rigoureux, création du SG à risque et de protecteur, utilisation de modèles classiques de régression linéaire et logistique et linéaire mixte), et la concordance entre nos données et les études précédentes. Ces travaux présentent également plusieurs limitations, notamment un effectif modeste, l'utilisation de seuils libéraux pour la signification (p bilatéral $<0,005$). Cette étude était axée sur une population d'ascendance européenne, il serait important de reproduire les résultats décrits ici dans d'autres groupes ethniques. L'étude FREX, qui regroupe des représentants de la population générale en bonne santé, ne présente pas d'informations sur l'IMC, ce qui représente une autre limite de cette étude.

En résumé, ces données suggèrent que les variants codants rares/peu fréquents augmentant l'IMC en population générale sont associés à un risque accru de reprise de l'IMC après chirurgie bariatrique. D'autre part, les variants codant rares/peu fréquents diminuant l'IMC en population générale sont associés à un risque plus faible de développer une obésité sévère / morbide, à une diminution plus rapide de l'IMC et à un risque plus faible de reprise de l'IMC après chirurgie bariatrique. Ces résultats démontrent la complexité du chevauchement génétique entre la susceptibilité à un gain de poids extrême et la capacité à perdre du poids, en réponse à une intervention de style de vie / comportementale ou à la chirurgie bariatrique.

5.3. Comparaison des profils de méthylation de l'ADN

Dans la présente étude, nous avons réalisé une étude d'association à l'échelle de l'épigénome en utilisant une analyse de profilage de méthylation à l'échelle du génome dans le sang total, le foie et la graisse viscérale pour rechercher des signatures épigénétiques en supposant que les facteurs épigénétiques peuvent jouer un rôle dans la régulation de l'adiposité totale et régionale (Song et al., 2018), ce qui pourrait conduire à une meilleure compréhension du phénotype obèse. Cette analyse nous a permis de comparer un ensemble de tissus (foie et tissus adipeux viscéraux, ainsi que sang total) d'individus atteints d'obésité à ceux de témoins sains, et nos résultats ont montré que la fréquence de méthylation de tissus tels que le foie et la graisse viscérale adipeuse, et le sang total était similaire entre les cas, c'est-à-dire que la fréquence de méthylation pour tous les cas était semi-méthylée, alors que la fréquence de méthylation pour les témoins était complètement méthylée et les sites ayant une signification à l'échelle du génome ont été confirmés. En conséquence, nos résultats de l'analyse du profil de méthylation de l'ADN dans ces tissus pourraient confirmer une forte corrélation entre les tissus comme le foie et les tissus adipeux viscéraux, ainsi que le sang total dans l'obésité (Lokk et al., 2016), montrant une empreinte épigénétique pour chaque type de tissu, étayant la preuve que l'origine du développement et l'environnement tissulaire sont essentiels dans les modèles de méthylation de l'ADN (Roadmap Epigenomics Consortium et al., 2015).

Notre analyse de méthylation de l'ADN à l'échelle du génome a montré 7 gènes ou paires de gènes significatifs, ces derniers étant connus pour être des gènes sous empreinte

génétique (*NAP1L5*, *MEST*, *H19*, *MEG3*, *PEG3* et *NNAT*) (comme indiqué dans la table 19), ce qui nous conduit aux mécanismes moléculaires hypothétiques suggérant que l'influence durable de l'obésité entre les sexes, l'âge et l'héritabilité de l'obésité parentale le long des altérations épigénétiques peuvent survenir dans les régions sous empreinte génétique (Song et al., 2018). Les gènes sous empreinte génétique sont exceptionnellement exposés à des altérations épigénétiques parce qu'un seul allèle est fonctionnel, c'est-à-dire que lorsque l'allèle paternel est exprimé, l'allèle maternel est réprimé, et *vice versa*.

Il convient de noter que la protéine d'assemblage de nucléosomes comme 1 (*NAP1L5*) a été la première à être identifiée dans une recherche de gènes sous empreinte génétique chez la souris et ses fonctions sont inconnues. L'ensemble du gène *NAP1L5* est situé dans l'intron du gène *HERC3*, qui n'est pas sous empreinte, et chevauche un îlot CpG qui est méthylé de manière différentielle entre les allèles parentaux (Cowley, Wood, Böhm, Schulz, & Oakey, 2012). En ce qui concerne le gène de transcription spécifique du mésoderme (*MEST*), il a été identifié comme l'un des gènes exprimés de manière paternelle. L'allèle maternel du gène *MEST* est connu pour être complètement méthylé dans sa région 5' et n'est exprimé dans l'embryon, alors que l'allèle paternel est non méthylé dans ses régions et exprimé (Karbiener et al., 2015). Le transcrit imprimé maternellement (*H19*) est le gène à empreinte épigénétique le plus étudié. Le locus *H19* héberge plusieurs sites de transcriptions, et le transcrit principal *H19* fonctionne comme l'ARNc complet, et il code dans son premier exon deux variants de microARN, mir-675. Il existe également deux transcriptions anti-sens au locus, *91H* et *HOTS*. *H19* est régulé par le phénomène connu sous le nom d'empreinte génomique (Pope, Mishra, Russell, Zhou, & Zhong, 2017). Le gène 3 exprimé

maternellement (*MEG3*) est exprimé maternellement et représente un grand ARN non codant car son transcrit n'a pas de cadre de lecture ouvert significatif, et est positionné à ~ 100 kb de sa protéine codante (*DLK1*). Son promoteur est méthylé de manière différentielle et est transcrit dans la même orientation avec sa protéine codante (Ghafouri-Fard & Taheri, 2019). Le gène paternellement exprimé (*PEG3*) également connu sous le nom de PW1 est situé sur le chromosome proximal de souris 7, une région synténique (région où l'on observe la présence sur le même chromosome de deux ou plusieurs loci) avec le chromosome humain 19q13.4. Le statut d'impression du *PEG3* est identique chez les souris et les humains (Curley et al., 2005). On pensait à l'origine que le gène à empreinte de neuronatine (*NNAT*) était un gène de développement spécifique au cerveau impliqué dans la différenciation neuronale, mais des données plus récentes ont démontré que le *NNAT* était fortement exprimé dans plusieurs tissus périphériques tels que les adipocytes. *NNAT* est un gène à empreinte paternellement hérité (Vrang et al., 2010).

Néanmoins, il convient de souligner que tous ces loci mentionnés ci-dessus se sont avérés corrélés aux changements de méthylation de l'ADN, avec la possibilité que ces changements puissent influencer le risque de développer une obésité chez la progéniture à l'âge adulte, par exemple l'expression de *Mest* a été associée à une obésité variable chez la souris et est atténuée par un bilan énergétique positif, et le gène imprimé *Nnat* est associé à l'obésité humaine, ainsi que les changements de méthylation de l'ADN identifiés au *MEG5-IG DMR* sont liés à l'obésité, et le mécanisme physiopathologique par lequel ces gènes puissent contribuer au développement de l'obésité n'est à ce jour pas encore élucidé. (Junge et al., 2018; Millership et al., 2018; Potabattula et al., 2018; Song et al., 2018).

Par conséquent, nos données sur la méthylation de l'ADN à l'échelle du génome ont fourni des preuves qui sont cohérentes avec les études de la littérature qui ont démontré que certains gènes sous empreinte génétique sont associés à un poids corporel plus élevé et à des maladies métaboliques (Curley et al., 2005; Pope et al., 2017; Song et al., 2018). Le fait que les gènes significatifs trouvés dans notre méthylation d'ADN à l'échelle du génome soient des gènes sous empreinte, signifie que leur expression génique est spécifique au sexe du parent qui est établie par le marquage épigénétique différentiel des deux allèles parentaux dans les gamètes. La méthylation dans le zygote ne se produira qu'au niveau de l'un des deux chromosomes hérités de ces régions méthylées différenciellement (DMR) (K. King, Murphy, & Hoyo, 2015).

De plus, nos résultats montrant que ces gènes sont hémi-méthylés corrobore avec le concept théorique étayant que le niveau de méthylation au niveau de ces DMR est donc de 50% lorsque les cellules et tissus sont analysés, puisque chacun a un chromosome avec méthylation de l'ADN et la même séquence sur l'autre chromosome n'est pas méthylée (K. King, Murphy, & Hoyo, 2015). Les gènes révélés dans notre méthylation de l'ADN à l'échelle du génome sont exprimés à la fois maternellement et paternellement, ce qui prouve que les altérations épigénétiques au niveau des DMR des gènes imprimés chez la progéniture peuvent survenir soit *in utero*, soit également lors d'expositions préconceptionnelles par le père, cette hypothèse ayant déjà été explorée par (Soubry et al., 2015). L'obésité provenant d'une empreinte génétique paternelle est un sujet peu courant dans la littérature. À ce jour, ce concept n'a été exploré que par quelques études épidémiologiques, qui semblent étudier

l'effet possible du mode de vie paternel ou du poids corporel sur le fœtus (Sharp & Lawlor, 2019; Soubry et al., 2015). Il a été rapporté que la graisse corporelle paternelle peut être un prédicteur du pourcentage de graisse corporelle chez la progéniture. La cohorte Framingham Heart a été l'une des premières à étudier l'obésité paternelle et les influences métaboliques, démontrant des niveaux anormaux d'alanine transaminase circulante qui est un biomarqueur de la fonction hépatique et du risque d'obésité (Loomba et al., 2008) chez les descendants de pères atteints d'obésité. De plus, nos résultats indiquent une relation claire entre les trois tissus utilisés dans nos profils de méthylation de l'ADN. Nos données sont en accord avec la littérature, qui a rapporté un profil de méthylation commun à travers les tissus en comparant les méthylomes à travers 30 tissus et cellules humains (Van Dijk et al., 2015b).

L'un des points forts de cette étude est l'utilisation d'une nouvelle approche dans l'analyse des profils de méthylation de l'ADN, nous avons utilisé une approche pseudo-génomique qui consiste à trouver des signaux épigénomiques en réduisant tout bruit de fond pouvant être trouvé dans le jeu de données, où les données sur le méthylome sont transformées en données pseudo-génomiques afin de refléter le profil de méthylation biallélique. Une autre force de cette étude est l'utilisation d'un ensemble de données indépendant sur le méthylome dans la comparaison des profils de méthylation de l'ADN qui a permis une vue plus large de l'exploration du foie et des tissus adipeux chez les personnes atteintes d'obésité. Les limitations de cette étude incluent une modeste taille d'échantillon pour les trois différents tissus utilisés, et les résultats sont donc préliminaires. Nous avons besoin

d'un échantillon de plus grande taille, notamment pour explorer plus en profondeur les profils de méthylation de l'ADN dans ces tissus afin de confirmer nos résultats.

En résumé, cette étude a révélé plusieurs gènes dont les profils de méthylation sont similaires dans le foie et le tissu adipeux, ainsi que dans des échantillons de sang total de patients atteints d'obésité. Ces observations ont révélé des signatures épigénétiques chez les personnes atteintes d'obésité et ont souligné le rôle du foie et des tissus adipeux dans l'obésité et les maladies métaboliques. Ces données suggèrent qu'en plus des variations génétiques, les altérations épigénétiques peuvent jouer un rôle dans le risque d'obésité. Par conséquent, la compréhension de la méthylation de l'ADN des gènes sous empreinte génétique est cruciale puisque les marques épigénétiques de ces gènes sont héréditaires grâce à un mécanisme qui n'est pas encore élucidé aujourd'hui, émergeant de l'expression de gènes monoalléliques spécifiques au parent (E. Li & Zhang, 2014; Peters, 2014). Comprendre la complexité de l'obésité ne serait pas possible sans un schéma complet du scénario génétiques et transcriptomique. Par conséquent, l'intégration des données d'épigénome et de transcriptome sera essentielle pour obtenir une image plus complète de l'interaction entre les modifications épigénétiques et la régulation de l'expression des gènes. Prises ensemble, les données suggèrent que les profils de méthylation des gènes sous empreinte génétique impliqués dans l'obésité peuvent être un point clé des mécanismes contribuant à la comorbidité de l'obésité et des maladies métaboliques.

CHAPITRE VI.

DISCUSSION GÉNÉRALE

Nous avons voulu par ce travail mettre en valeur les différentes facettes de l'obésité sévère/morbide tout en se focalisant sur une approche intégrative, qui nous permettait de mieux appréhender le phénotype du patient atteint d'obésité avant et après la chirurgie bariatrique, l'obésité étant une maladie multifactorielle et complexe. En tenant compte du rôle important que peut avoir la chirurgie bariatrique sur les patients atteints d'obésité sévère/morbide tant du point de vue nutritionnel, génétique et environnemental, nos objectifs visaient à explorer le déficit en vitamine B12 et autres micronutriments, déterminer la contribution de 11 variants codants rares/ peu fréquents associés à l'IMC et évaluer le profil de méthylation dans différents ensembles de tissus, l'ensemble dans une cohorte française de cas/témoins (OBESEPI/FREX/MARTHA), atteints d'obésité sévère/morbide bénéficiant de chirurgie bariatrique.

Ces objectifs nous ont amenés à des résultats notables : i) la carence en vitamine B12 avant la chirurgie peut influencer l'aggravation postopératoire de la carence malgré la supplémentation systématique en celle-ci, ii) les variants codants rare/peu-fréquents associés à l'IMC dans la population générale d'origine européenne ont un impact sur le développement de l'obésité sévère/morbide, et ces derniers modifient la réponse à la chirurgie bariatrique, iii) le profil de méthylation des patients atteints d'obésité est similaires dans les différents tissus examinés. Ces résultats corroborent les études de la littérature qui ont porté sur les carences nutritionnelles pré et post chirurgie bariatrique (Dogan et al., 2018; Kornerup et al., 2019; Richard D. Bloomberg et al., 2005; Roust & Dibaise, 2017). Concernant les variants codants rares/peu fréquents diminuant ou

augmentant l'IMC dans la population générale, ceux-ci ne contribuent pas à la variation de l'IMC dans un contexte d'obésité sévère/morbide suggérant que les architectures génétiques de la variation de l'IMC dans la population générale et avec une obésité sévère se recoupent seulement en partie dans les populations européennes (Berndt, S. I., Gustafsson, S., Mägi, R., Ganna, A., Wheeler, E., Feitosa, M. F., ... Ingelsson, 2013; Meyre et al., 2009a). En dernier lieu, le profil de méthylation est commun à divers tissus si l'on compare les méthylomes de 30 tissus et cellules humains (Van Dijk et al., 2015b).

Les avantages d'une approche intégrative dans une cohorte de patients atteints d'obésité bénéficiant d'une CB peuvent être considérables dans la mesure où cela aide à mieux cerner les multiples facettes de la maladie qui peuvent être nutritionnelles, génétiques et épigénétiques, à élargir nos connaissances sur les influences qu'ont la CB sur la santé des personnes atteintes d'obésité sévère/morbide, et mieux aider dans la compréhension du phénotype obèse. L'autre atout d'une approche intégrative est de nous amener à explorer la fonctionnalité des polymorphismes de la vitamine B₁₂, des variants génétiques et épigénétiques afin de mieux comprendre les mécanismes de la maladie dans un contexte clinique et dans la recherche en général.

Cette thèse ouvre sur des perspectives à court, moyen et long terme. À court terme, il faudrait faire le lien entre le déficit en vitamine B₁₂ et la présence de variants fréquents ou rares pouvant influencer la concentration en vitamine B₁₂, en particulier dans les populations avec obésité sévère soumises à la CB. À moyen et à long terme, il serait

important d'explorer l'influence de la méthylation sur les différents phénotypes de ces patients : NASH, obésité centrale, perte de poids, reprise de poids, et complications de l'obésité, etc. En outre, il reste à explorer des études de protéomique ou transcriptomique des différents tissus en relation aux phénotypes cités.

CHAPITRE VII.

ARTICLES

ARTICLE I



Contents lists available at ScienceDirect

Clinical Nutrition

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/clnu>

Original article

Medium term post-bariatric surgery deficit of vitamin B12 is predicted by deficit at time of surgery

Darlène Antoine ^a, Zhen Li ^{a,b}, Didier Quilliot ^{a,c,d}, Marie-Aude Sirveaux ^{c,d},
David Meyre ^{a,e}, Alice Mangeon ^a, Laurent Brunaud ^{a,b,d}, Jean-Louis Guéant ^{a,f,1,**},
Rosa-Maria Guéant-Rodriguez ^{a,c,1,*}

^a Inserm UMRS 1256 N-GERE (Nutrition-Genetics-Environmental Risks) - University de Lorraine, Faculty of Medicine, Nancy, France

^b Department of Digestive, Hepato-Biliary and Endocrine Surgery, Regional University Hospital of Nancy (CHRU Nancy), Nancy, France

^c Department of Endocrinology Diabetology and Nutrition, Regional University Hospital of Nancy (CHRU Nancy), Nancy, France

^d Unité Multidisciplinaire de la Chirurgie de l'obésité (UMCO), Regional University Hospital of Nancy (CHRU Nancy), Nancy, France

^e Department of Health Research Methods, Evidence, and Impact, McMaster University, Hamilton, Canada

^f Department of Hepato-Gastroenterology, Regional University Hospital of Nancy (CHRU Nancy), Nancy, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 8 February 2020

Accepted 20 April 2020

Keywords:

Obesity

B12

Bariatric surgery

Deficiency

Folates

Homocysteine

SUMMARY

Background: Patients with morbid obesity have a high risk of deficits in micronutrients, after bariatric surgery. The reasons why systematic use of multivitamin and trace element supplements cannot prevent all deficits are complex and should deserve more attention. Little is known about the influence of micronutrient deficits at surgery.

Aim: This present study aimed to explore the deficit in vitamin B12 vs other micronutrients during the follow-up of a French cohort of cases with bariatric surgery under systematic multivitamin/trace elements supplementation and to determine whether it was influenced by clinical, metabolic characteristics at surgery.

Methods: We prospectively enrolled obese patients with bariatric surgery (laparoscopic gastric bypass or laparoscopic sleeve gastrectomy) between 2013 and 2018 (OBESEPI/ALDEPI Cohort, NCT02663388). They received a daily multivitamin/micronutrients supplement. Follow-up data at 4 visits, 2, 12, 18 and 24 months after surgery, were collected.

Results: The highest rate of deficits was observed at visit 1 for vitamin D (35.7%), iron (21.9%) and folate (10.2%). Except B12, the deficits of all micronutrients decreased in later visits. In contrast, cases with vitamin B12 deficit decreased from 13.5% at surgery to 2.0% at visit 1, and increased in later visits, with a maximum of 12.0% at visit 3. Vitamin B12 concentration at surgery was the single predictor of B12 deficit at visit 3. It was also associated with age, and APRI score, an index of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), in multivariate analysis.

Conclusions: The failure of systematic supplementation with multivitamin/trace elements tablets to prevent specific deficits illustrates the need for adapted specific supplementations, in some cases. The worsening of B12 deficit rate in the 18–24 months follow-up depends in part to low B12 at time of surgery. A special consideration should be devoted to this subset of patients.

The cohort study was registered at clinicaltrials.gov as NCT02663388.

© 2020 Published by Elsevier Ltd.

Abbreviations: ALT, Alanine Aminotransferase; AST, Aspartate Aminotransferase; APRI, Aspartate Aminotransferase-to-Platelet Ratio Index; BS, Bariatric Surgery; BMI, Body Mass Index; HCY, Homocysteine; HOMA-IR, Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance; IF, Intrinsic Factor; LGB, Laparoscopic Gastric Bypass; LSG, Laparoscopic Sleeve Gastrectomy; MMA, Methyl Malonic Acid; NAFLD, Non-alcoholic Fatty Liver Disease; T2D, Type 2 Diabetes.

* Corresponding author. Inserm UMRS 1256 N-GERE (Nutrition-Genetics-Environmental Risks) - University de Lorraine, Faculty of Medicine of Nancy, 54500, Vandoeuvre les Nancy, France.

** Corresponding author. Inserm UMRS 1256 N-GERE and Department of Digestive, Hepato-Biliary and Endocrine Surgery, CHU Nancy (Brabois), University de Lorraine, 11 Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre les Nancy, France. Fax: +33 372746131.

E-mail addresses: jean-louis.gueant@univ-lorraine.fr (J.-L. Guéant), rosa-maria.gueant-rodriguez@univ-lorraine.fr (R.-M. Guéant-Rodriguez).

¹ Equal contribution.

<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.04.029>

0261-5614/© 2020 Published by Elsevier Ltd.

Please cite this article as: Antoine D et al., Medium term post-bariatric surgery deficit of vitamin B12 is predicted by deficit at time of surgery, Clinical Nutrition, <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.04.029>

1. Introduction

In the last decades, obesity has become a global health issue that affects 600 million people worldwide [1]. In France, the prevalence of obesity is estimated at 17% [2]. To date, bariatric surgery (BS) represents the gold standard in treating patients with morbid obesity when lifestyle interventions such as diet, physical activity, behavior therapy and pharmacotherapy fail [3]. The most commonly performed bariatric procedures worldwide are gastric bypass and vertical sleeve gastrectomy [4]. Gastric bypass is a restrictive and malabsorptive technique, with a small tubular pouch created in the upper part of the stomach anastomosed to the distal end of a transected small bowel limb, allowing the food to bypass the duodenum, and the proximal jejunum and leading to macro- and micronutrients defective absorption. Vertical sleeve gastrectomy removes 80% of the stomach along the great curvature, including fundus needed for acid and intrinsic factor secretion, leading to early satiety [4].

Patients with morbid obesity and a BMI > 40 kg/m² have a higher risk of nutritional deficiencies after bariatric surgery [5–7] and develop micronutrient deficiencies in 25-vitamin D, folate, zinc, iron, selenium and vitamin B12 [8,9]. They are related to malabsorption and decreased availability and to decreased dietary intake [5–7]. Moreover, they are prone to micronutrient deficits not only after but also prior to bariatric surgery [10]. The systematic use of multivitamin and trace element supplements is recommended. However the composition of most of these supplements is not adapted to prevent deficits in all micronutrients after surgery. In some cases, the additional intake of one or more micronutrients is needed [11]. This is particularly the case for vitamin B12.

Of note, vitamin B12, or cobalamin, is a water-soluble vitamin, the metabolic role of which is crucial for normal blood formation, mucosal regeneration, neuronal function and energy metabolism [12–14]. Its dietary sources include meat, eggs, liver, fish and dairy products [12,14]. Bariatric surgeries such as Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy compromise vitamin B12 absorption [9,13], but a high rate of B12 deficit is also observed in morbid obesity cases prior surgery [15]. Nevertheless, little is known about the determinants at baseline of vitamin B12 deficiency post-surgery regardless of a methodical vitamin B12 supplementation.

This present study aimed to explore the deficit in vitamin B12 compared to other micronutrients during the follow-up of a French cohort of cases undergoing bariatric surgery and subjected to systematic multivitamin supplementation. We found that vitamin B12 deficit at baseline influenced the post surgery increase of B12 despite systematic supplementation.

2. Materials and methods

This longitudinal prospective study enrolled obese patients (body mass index – BMI > 35 kg/m²) who underwent bariatric surgery between years 2013 and 2018 at the bariatric surgery center of the university hospital in Nancy, France, NCT02663388. All patients signed specific informed consents. Investigations conformed to the principles outlined in the Declaration of Helsinki and received approval from the local ethical committee. Anthropometric and biochemical data were collected at preoperative and postoperative follow-up times.

2.1. Surgical procedure

All surgeries were laparotomic performed by the same team of surgeons. Two surgical procedures were performed: laparoscopic gastric bypass (LGB) or laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG) as described elsewhere [16].

2.2. Follow-up

Follow-up data have been collected over a 2-years period for patients who underwent any type of bariatric surgery. The follow-up visit was assessed by analyzes of medical records at two, twelve, eighteen, twenty-four months after surgery. Following surgery, all patients received standard dietary and lifestyle recommendations [17]. The patients received 200 µg folic acid every day, 1000 µg B12 every week, 100 000 UI vitamin D monthly and a daily multivitamin/micronutrients supplement Azinc (AZINC®, Arkopharma, Carro, France). The composition of the tablet is given in supplementary data Table S1.

2.3. Anthropometric measurements

Anthropometric evaluation was performed with weight, height, BMI, percentage of excess weight loss (%EWL) and weight regain.

Anthropometric measurements for weight and height were measured on a digital medical-scale (Seca, Hamburg, Germany) and BMI was calculated accordingly. Excess weight loss (EWL) percentage was calculated as follows: [(pre-operation weight - post-operation weight)/(preoperation weight ideal body weight)] × 100. Ideal body weight was considered as the weight for BMI at 25 kg/m² [14]. Percentage of total weight loss (TWL) was calculated as follows: [(pre-operation weight - post-operation weight)/(pre-operation weight)] × 100 [18].

Vitamin B12 and folate serum concentrations were determined by the SNB SimulTRAC-box for radio-immunoassay with [57Co]-vitamin B12/[125I]-folate as tracers (MP Biomedicals Germany GmbH, Eschwege, Germany). Red blood cell folate (RBC folate) was determined using the same radio-immunoassay method after total blood extract hemolysis in presence of ascorbic acid. Homocysteine and methylmalonic acid (MMA) were determined by UPLC-MS/MS, by using an ACQUITY UPLC BEH C18 column (1.7 µm, 2.1 mm × 50 mm, Waters Corporation, Guyancourt, France). Vitamin D (25-OH) was determined by Access 25(OH) Vitamin D Total Immunoassay kit (Dxl 800, Brea, California, USA) and selenium, zinc and magnesium by Atomic Absorption (AA) Spectroscopy (PinAAcle 900T, PerkinElmer Inc., Rodgau, Germany). Other biochemical parameters, including fasting plasma concentrations of iron, saturation coefficient of transferrin, ferritin, glucose, cholesterol, triglycerides, HDL-cholesterol, ASAT and ALAT were determined by color-turbidimetry on an AU 2700 Olympus apparatus (Beckman Coulter, Brea, California, USA). LDL-cholesterol values were calculated using the Friedwald formula. The aspartate aminotransferase to platelets ratio index (APRI score) was used to assess the presence of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) [19].

2.4. Statistical analyses

Continuous data were reported as mean ± standard deviation. Incidence of nominal variables was reported as percentage. Non-parametric tests were used when data distribution was not normal. Repeated measures ANOVA was used to analyze correlated plasma samples from blood samples baseline and postoperatively follow-up. Two-tailed P-value < 0.05 was considered as significant. Statistical Analyses were performed with Stata/SE 12.1 (Texas, USA) and Prism 8 software (California, USA).

3. Results

3.1. General characteristics at baseline

A total of three hundred ninety-nine (399) bariatric surgical patients were enrolled in the present study. At baseline, 352

Table 1
Baseline demographics of patients according with type of surgery.

Variable	LGB	LSG	LGB vs LSG
	Mean \pm SD	Mean \pm SD	p-value
Age (years)	45.3 \pm 11.3	43.8 \pm 13.1	0.4544
Weight (kg)	123.4 \pm 18.8	157.3 \pm 25.6	<0.0001
BMI (kg/m ²)	45.1 \pm 5.6	56.4 \pm 8.5	<0.0001
Plasma folate (nmol/L)	16.5 \pm 12.7	16.3 \pm 9.3	0.5073
Plasma B12 (pmol/L)	268.0 \pm 318.7	257.0 \pm 153.3	0.6273
Glucose (g/L)	1.1 \pm 0.5	1.8 \pm 0.4	0.1157
Glucose (mmol/L)	5.8 \pm 1.9	6.1 \pm 1.9	0.1157
Insulin (μ mol/L)	44.8 \pm 51.4	38.5 \pm 33.7	0.3454
Total Cholesterol (g/L)	1.8 \pm 0.4	1.7 \pm 0.4	0.0023
TG (g/L)	1.7 \pm 0.8	1.5 \pm 0.5	0.8771
HDL (g/L)	0.41 \pm 0.09	0.37 \pm 0.07	0.0371
LDL (g/L)	1.17 \pm 0.31	1.07 \pm 0.29	0.0529
AST (U/l)	34.9 \pm 27.8	43.9 \pm 31.8	0.0123
ALT (U/l)	33.5 \pm 36.5	39.5 \pm 70.6	0.7808
CRP (mg/L)	18.3 \pm 26.5	21.8 \pm 25.9	0.0072
Platelet (Giga/ μ l)	281 \pm 64	297 \pm 71	0.1025
Hcy (μ mol/L)	136 \pm 4.7	13.2 \pm 3.7	0.6693
MMA (μ mol/L)	0.15 \pm 0.07	0.15 \pm 0.06	0.9533
APRI Score	0.38 \pm 0.33	0.45 \pm 0.35	0.0740
HOMA-IR	6.0 \pm 4.6	6.8 \pm 2.9	0.1299

ALT alanine aminotransferase, AST aspartate aminotransferase, BMI body mass index, Hcy homocysteine, HDL high density lipoprotein, LDL low density lipoprotein, LGB laparoscopic gastric bypass, LSG laparoscopic sleeve gastrectomy, HOMA-IR homeostasis model assessment of insulin resistance, MMA methyl malonic acid, SD standard deviation, TG triglycerides.

patients underwent LGB and 47 underwent LSG. Patient demographics according to surgery are displayed in Table 1. LSG patients had a body mass index more important than LGB patients ($p < 0.0001$) while age, vitamin B12 and other biochemical parameters were comparable. Mean pre-operative B12 in the LGB and LSG groups were similar (Table 1). Determinants of B12 at baseline were age (Rho 0.1714, $p = 0.0001$), folate (Rho 0.1769, $p = 0.0023$), ASAT (Rho 0.2187, $p = 0.0002$), ALAT (Rho 0.2477, $p < 0.0001$) and C-reactive protein (Rho 0.1241, $p = 0.0332$). A total of 56 patients were deficient for B12 (B12 lower than 150 pmol/L) (13.1%) (Table 2). Patients with B12 deficit were 5-year younger than those without deficit (Table 2, $p = 0.0022$), and as expected, they had a

slight increase of the blood concentration of homocysteine and MMA. They also had a lower concentration of folate (Table 2, $p = 0.0076$). A total of 19 patients had a combined deficit in folate and B12. We observed no difference in anthropometric data and biochemical parameters between patients with and without B12 deficit.

3.2. Comparative status in B12 and other micronutrients during follow-up

The number of cases examined during follow-up decreased from 399 at surgery to 370 (92.7%), 310 (77.7%), 251 (62.9%) and 205 (51.4%) at visits 1, 2, 3 and 4 respectively. The weight reduction was observed at all visits (Table 3). We reported the concentration and frequency of deficits in B12, folate, iron, 25OH-vitamin D, selenium, zinc and magnesium at each visit of follow-up (Table 4). The highest rates of deficits were observed at visit 1 for vitamin D (35.7%) and iron (21.9%) and they decreased at visits 2 and 3. We observed a more dramatic effect with folate. The 10% rate of folate deficit at visit 1 decreased down to 6.1% in later visits. The lowest rates of deficit were observed for vitamin B12, selenium, zinc and magnesium (Table 4). Patients with B12 deficit at surgery maintain a lower concentration of vitamin B12 throughout the follow-up visits and a higher risk of recurrence of B12 deficit after visit (Fig. 1a). Even though patients had a dramatic reduction in the percentage of subjects with vitamin B12 deficit at visit 1, compared to baseline, with a percentage that decreased from 13.5% to 2.0% (Fig. 1b). In contrast to those of other micronutrients, the rate of B12 deficits increased during the 6–24 months interval, despite supplementation, raising 12.0% at visit 3. This worsening of B12 deficit post surgery was not related to global malabsorption of micronutrients and/or to a bad compliance to supplement intake, since only one case had a combined deficit in B12, folate and vitamin D. The B12 deficit was associated neither to weight loss nor to type of surgery. Metformin had a very limited influence on the rate of B12 deficit as only two cases with deficit received this treatment during follow-up. We investigated therefore whether the worsening of B12 deficit in the post surgical period could be due, at least in part, to predisposing factors at baseline, e.g. at time of surgery.

Table 2
Clinical and biological characteristics of subjects according to B12 status at baseline.

Variable	B12 Non-Deficit at surgery (≥ 150 pmol/L)		B12 Deficit at surgery (< 150 pmol/L)		p-value
	N = 343	Mean \pm SD	N = 56	Mean \pm SD	
Age (years)	343	45.8 \pm 11.4	56	40.8 \pm 11.2	0.0022
Weight (kg)	343	128.8 \pm 22.6	56	127.7 \pm 22.7	0.6285
BMI (kg/m ²)	343	46.6 \pm 7.2	56	45.8 \pm 6.5	0.5622
Plasma folate (nmol/L)	343	16.8 \pm 12.4	56	13.6 \pm 10.7	0.0076
Plasma B12 (pmol/L)	343	290.0 \pm 316.6	56	117.4 \pm 27.6	<0.0001
Glucose (g/L)	333	1.1 \pm 0.5	54	1.1 \pm 0.4	0.5506
Insulin (μ mol/L)	343	46.0 \pm 51.8	56	36.1 \pm 50.4	0.0213
Total Cholesterol (g/L)	343	1.8 \pm 0.3	55	1.8 \pm 0.4	0.2835
TG (g/L)	343	1.6 \pm 0.8	55	1.4 \pm 0.5	0.3953
HDL (g/L)	343	0.4 \pm 0.1	55	0.4 \pm 0.1	0.9824
LDL (g/L)	343	1.1 \pm 0.3	55	1.1 \pm 0.3	0.4744
AST (U/l)	343	37.8 \pm 29.7	55	23.4 \pm 9.1	<0.0001
ALT (U/l)	343	35.9 \pm 43.9	55	20 \pm 14.1	0.0086
CRP (mg/L)	341	19.3 \pm 27.2	55	15.7 \pm 19.9	0.5214
Platelet (Giga/ μ l)	335	281.6 \pm 65.7	55	288.3 \pm 58.7	0.3677
Hcy (μ mol/L)	241	13.4 \pm 4.4	37	15.6 \pm 6.7	0.0393
MMA (μ mol/L)	241	0.15 \pm 0.07	37	0.17 \pm 0.07	0.0234
APRI Score	333	0.41 \pm 0.35	54	0.24 \pm 0.11	<0.0001

ALT alanine aminotransferase, AST aspartate aminotransferase, BMI body mass index, Hcy homocysteine, HDL high density lipoprotein, LDL low density lipoprotein, HOMA-IR homeostasis model assessment of insulin resistance, MMA methyl malonic acid, SD standard deviation, TG triglycerides.

Please cite this article as: Antoine D et al., Medium term post-bariatric surgery deficit of vitamin B12 is predicted by deficit at time of surgery, Clinical Nutrition, <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.04.029>

Table 3
Evolution of anthropometric indicators at and after bariatric surgery, visits 1, 2, 3, and 4.

Visit	TWL			%TWL			%EBMI			Delta BMI		
	LGB	LSG	P-value	LGB	LSG	P-value	LSG	LSG	P-value	LGB	LSG	P-value
1	11.4 ± 6.1	11.8 ± 5.9	0.669	26.4 ± 15.7	26.5 ± 16.6	0.066	27 ± 16.1	22.7 ± 12.8	0.066	5.1 ± 2.7	6.6 ± 3.4	0.005
2	46.7 ± 20.4	79.1 ± 25.3	<0.000	52.8 ± 20.9	55.8 ± 24.7	0.004	54.7 ± 21.3	44.5 ± 19.0	0.004	10.4 ± 3.7	12.9 ± 5.0	0.918
3	53 ± 20.0	84.3 ± 28.9	<0.000	68.9 ± 23.0	69.7 ± 23.1	<0.000	71.2 ± 22.4	55.7 ± 20.3	<0.000	13.5 ± 3.8	16 ± 5.4	0.07
4	55.6 ± 20.5	89.4 ± 28.8	<0.000	84.9 ± 52.7	83	0.001	77.7 ± 30.1	59.8 ± 34.8	0.0011	14.9 ± 4.0	18 ± 12.4	0.945

BMI body mass index, %EBMI Percent excess BMI Loss, LGB laparoscopic gastric bypass, LSG laparoscopic sleeve gastrectomy, % TWL Percent of total weight loss.

Table 4
Evolution of concentration of micronutrients and percent of deficiency at the preoperative (B12 only) and after bariatric surgery, visits 1, 2, 3, and 4.

	B12		Folates		Iron		25OH vitamin D		Selenium		Zinc		Magnesium	
	pmol/L	<150	nmol/L	<7	mg/L		ng/mL	<20	µg/L	<40	mg/L	<0.45	mg/L	<15
	Mean ± SD	% def	Mean ± SD	% def	Mean ± SD	% def	Mean ± SD	% def	Mean ± SD	% def	Mean ± SD	% def	Mean ± SD	% def
Base line	266.1 ± 299.9	13.9	16.3 ± 12.3											
Visit 1	416.0 ± 276.1	1.9	16.5 ± 7.8	10.2	0.75 ± 0.30	21.9	22.7 ± 8.5	35.7	66.3 ± 15.9	5.6	0.81 ± 0.91	1.6	19.9 ± 1.9	2.1
Visit 2	391.8 ± 240.8	7.0	15.7 ± 8.3	12.7	0.77 ± 0.29	15.8	30.6 ± 10.4	12.0	68.7 ± 16.9	3.8	0.88 ± 1.53	1.3	18.9 ± 3.5	5.7
Visit 3	294.1 ± 162.7	12.0	18.3 ± 10.5	12.2	0.89 ± 0.38	15.7	27.1 ± 9.5	20.8	73.9 ± 16.3	2.4	0.72 ± 0.12	1.1	20.4 ± 2.1	1.9
Visit 4	337.5 ± 214.5	10.5	19.9 ± 10.6	6.1	0.91 ± 0.33	12.9	26.3 ± 9.2	23.2	71.9 ± 16.9	3.5	0.72 ± 0.14	1.3	20.8 ± 4.3	0.6

3.3. Predictors at time of surgery of B12 status at 18 months after surgery

We compared the clinical and biological characteristics of patients at surgery according to the presence or absence of B12 deficit at visit 3. Among all clinical and biological parameters recorded at surgery, vitamin B12 was the single parameter that was associated with a higher risk of specific deficit in the post surgery period (Table 5). The B12 deficit was neither due to the type of surgery (Table S2) nor to renal failure, as the blood concentration of creatinine was lower than 15 mg/L at surgery and in the post surgery follow-up of all patients. It was not due to treatment with metformin, as previously reported [15]. Univariate analysis showed that age, folates, homocysteine, ALAT, ASAT and APRI score were significant determinants of vitamin B12 concentration at surgery (Table 6). The concentration of B12 was associated with age, and APRI score in multivariate analysis (Table 6, $p = 0.012$ and $p < 0.001$, respectively).

4. Discussion

This prospective study relies on a cohort of 399 bariatric surgery cases with reporting of clinical data and biological analyses at surgery and during a 2-year follow-up. The bariatric surgery can produce deficits of micronutrients or intensify previous deficiencies by limiting food intake and/or micronutrient absorption, with the need to treat cases with micronutrient supplements [11]. In our series, we observed a very low rate of multiple deficits in micronutrients and a relatively high prevalence of specific deficits, in particular in iron and vitamin D, despite the systematic supplementation given to all cases during follow-up. This is in agreement with previous studies [11,20,21] and illustrates the need for a systematic use of multi-micronutrient supplements and in the cases in which this treatment is insufficient, the use of additional adapted specific supplementations. The deficit in most micronutrients decreased during times of follow-up, in our cohort, in particular that of folate. Vitamin B12 behaved distinctly. The B12 deficit was highly prevalent at surgery (13.1%), as previously observed [10,15,22] and decreased dramatically to 2% at visit 1, demonstrating the short-term efficiency of the supplementation. We found a raise of vitamin B12 deficit in the 12–24 months interval following bariatric surgery, with a maximum of 12% at 18 months.

However, this increase of B12 deficit was lower than that reported in previous studies, probably because of the partial efficacy of the systematic supplementation [23,24]. It is consistent with a recent study, which observed a decrease in plasma B12 after 6 months follow-up and an earlier decrease in plasma holoTC and increase in MMA at 2 months post surgery in relation with decreased absorption capacity of B12. All patients received a weekly supplementation equivalent to 150 µg B12 per day after surgery, a dose, which could be insufficient to restore a normal status in all patients, in regard to the conclusions of a recent systematic study [25]. The type of vitamin B12 used for supplementation has also to be considered. Administration of cyanocobalamin results in a significant increase in holoTC in comparison with hydroxocobalamin, in healthy adults with low and normal cobalamin status [26].

The deficit could result from limitation in intake of micronutrient supplements and limited B12 absorption [14]. Bariatric surgery decreases the dietary absorption of vitamin B12 through diverse mechanisms that include gastric achlorhydria, decreased secretion of intrinsic factor and bacterial overgrowth in the intestinal ileum [14]. These mechanisms also lead to malabsorption of iron and folate, but they had a partial influence to explain the post surgery deficit of B12 of most of our cases as we reported only one case with a combined deficit in the 3 micronutrients. We observed no difference in vitamin B12 status according to the type of bariatric surgery. Whether the type of surgery influence the secretion of intrinsic factor remains unknown. Gastrointestinal transcriptomic response following Roux-in-Y gastric bypass shows a non-significant decreased expression of intrinsic factor gene in the mucosa of remnant stomach [27]. In contrast to type of bariatric surgery, the low B12 status at surgery was a strong predictor of the worsening of B12 status in the 18–24 months delay after surgery, despite B12 supplementation. The association of B12 with APRI score of NAFLD is consistent with the association between elevated blood concentration of B12 and cirrhosis in a previous study [26]. This suggests that patients with low B12 at surgery have altered enterohepatic circulation that could reduce body stores of B12 and increase the risk to have a deficit later than the 2 months post surgery. The enterohepatic cycle plays an important role in the homeostasis of vitamin B12, with daily excretion of vitamin B12 and analogues estimated at 2.5 µg, to be compared to the dietary requirements estimated at 2.4 µg/day [27]. Vitamin B12 is excreted in bile as a complex with haptocorrin, its carrier

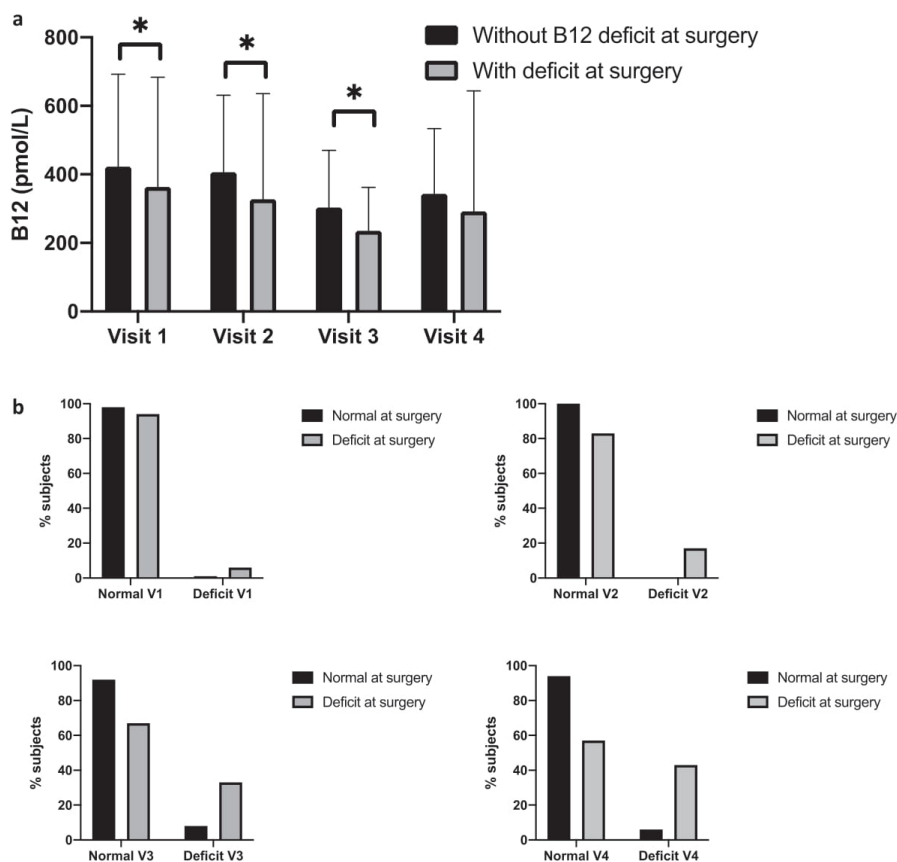


Fig. 1. A. Evolution of the concentration of vitamin B12, deficient patients at surgery are still conserving low level of B12 at follow-up even when their status seemed to be improved. **B.** Percentage of B12 deficits at visits 1–4, according to the presence or absence of B12 deficit at time of surgery. Patients with B12 deficit at surgery maintain a lower concentration of vitamin B12 throughout the follow-up visits and a higher risk of recurrence of B12 deficit after visit 1.

protein, which is degraded by pancreatic enzymes in the lumen of the duodenum to allow the transfer of B12 to gastric intrinsic factor [28]. In case of gastric bypass, haptocorrin is degraded in the lumen of the duodenal loop in absence of intrinsic factor. The released vitamin B12 is then captured by bacteria [4,14,28]. In case of vertical sleeve gastrectomy, the resection of fundus produces a collapse of intrinsic factor secretion, which interrupts the B12 enterohepatic cycle [4,14,27,28]. Therefore, in case of bariatric surgery, vitamin B12 excreted in bile is not recycled. Previous work suggested that NASH and cirrhosis decrease the bile excretion of vitamin B12 bound to haptocorrin [26]. Consequently, NASH reflected by high APRI score attenuates the loss of biliary vitamin B12, in case of bariatric surgery [29]. In contrast, in absence of steatohepatitis objectified by lower APRI score, the biliary excretion of B12 is optimal and represents a permanent loss of “endogenous” vitamin B12, which is not compensated if daily intakes by supplements are not sufficient [30].

Our study has limitations and strengths. We did not assess whether vitamin B12 deficit was associated with increased metabolic markers such as homocysteine and MMA and with

holotranscobalamin during follow-up, as suggested very recently in a much smaller size follow-up study of cases after bariatric surgery [9]. The compliance to follow-up visits was lower than our initial expectation, with 205 cases (51%) examined at visit 4. Strengths of our study are the important size of our cohort, the systematic supplementation and follow-up of our study population and the comparison of clinical and biological data at time of surgery and during the medium-term follow-up. Additionally, the study considered the status of most micronutrients with higher prevalence of deficits after bariatric surgery.

In conclusion, our study showed that a supplementation with a multivitamin marked formulation associated with a weekly intake of vitamin B12 was partially efficient to prevent micronutrient deficits in the 2-year post bariatric surgery period of most cases. The cases in which this treatment was insufficient had specific deficits, which can be treated by adapted specific supplementations. B12 produced a distinct situation, with a worsening of the deficit frequency in the 18–24 months following surgery through determinants that included low B12 at time of surgery. A special consideration should be therefore devoted to this subset of

Table 5
Clinical and biological characteristics at time of surgery according with low B12 at visit.

Variable	B12 Non Deficit at V3		B12 Deficit at V3		p-value
	N	Mean \pm SD	N	Mean \pm SD	
Age (years)	117	45.4 \pm 10.3	16	44.3 \pm 12.1	0.5919
Weight (kg)	117	126.7 \pm 20.7	16	126.0 \pm 25.5	0.9311
BMI (kg/m ²)	117	45.8 \pm 6.7	16	44.8 \pm 6.6	0.6040
Plasma folate (nmol/L)	116	13.4 \pm 8.41	16	13.1 \pm 8.1	0.9250
Plasma B12 (pmol/L)	116	253.7 \pm 96.9	16	168.4 \pm 59.4	0.0004
Glucose (g/L)	113	1.1 \pm 0.5	16	1.1 \pm 0.5	0.8108
Glucose (mmol/L)	94	5.8 \pm 2.3	12	5.4 \pm 1.2	0.6214
Insulin (μ mol/L)	116	42.2 \pm 33.6	16	35.3 \pm 19.0	0.7617
Total Cholesterol (g/L)	114	1.7 \pm 0.4	16	1.9 \pm 0.3	0.5580
TG (g/L)	114	1.5 \pm 0.6	16	1.6 \pm 0.6	0.2926
HDL (g/L)	114	0.4 \pm 0.1	16	0.4 \pm 0.1	0.9717
LDL (g/L)	114	1.8 \pm 0.3	16	1.2 \pm 0.3	0.5144
AST (U/l)	114	35.4 \pm 27.9	16	32.2 \pm 20.7	0.9943
ALT (U/l)	114	40.9 \pm 51.4	16	28.9 \pm 19.5	0.5999
CRP (mg/L)	114	19.9 \pm 32.4	16	16.1 \pm 25.2	0.5469
Platelet (Giga/ μ l)	113	293.1 \pm 68.4	16	285.1 \pm 67.7	0.7723
Hcy (μ mol/L)	94	13.1 \pm 4.1	12	15.3 \pm 9.6	0.5799
MMA (μ mol/L)	94	0.14 \pm 0.07	12	0.14 \pm 0.04	0.8730
APRI Score	110	0.37 \pm 0.33	16	0.33 \pm 0.17	0.8617
HOMA-IR	112	12.3 \pm 13.9	16	9.3 \pm 5.3	0.7241

ALT alanine aminotransferase, AST aspartate aminotransferase, BMI body mass index, Hcy homocysteine, HDL high density lipoprotein, LDL low density lipoprotein, HOMA-IR homeostasis model assessment of insulin resistance, MMA methyl malonic acid, SD standard deviation, TG triglycerides.

Table 6
Determinants of B12 in univariate and multivariate analysis.

	Univariate		Multivariate	
	Rho	p-value	Z	p-value
Age	0.17	<0.001	2.52	0.012
Folates	0.19	0.001		
ASAT	0.23	<0.001		
ALAT	0.24	<0.001		
APRI score	0.22	<0.001	4.18	<0.001
Homocysteine	-0.15	0.012		

ALT alanine aminotransferase, AST aspartate aminotransferase.

patients, who should be followed carefully and treated with adapted doses of vitamin B12.

Author contributions

RMGR and JLG conducted research, analyzed data, performed statistical analysis, wrote manuscript and had primary responsibility for final content. DA conducted research, performed analyses, analyzed data, revised paper; ZL conducted research, performed analyses; AM conducted research; DQ, MAS and LB conducted research, analyzed data, revised paper; DM analyzed databases and revised manuscript.

Sources of support

This project is supported by Inserm, FHU ARRIMAGE and the AGIR program of the University regional hospital of Nancy and The region of Lorraine. ZL was recipient of a graduate student fellowship (#201308070048) from the China Scholarship Council (CSC).

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interests and the results herein have not yet been published previously.

Acknowledgements

This work was financed by FHU ARRIMAGE, CHRU of Nancy and University of Lorraine, the AGIR grant of Université de Lorraine and CHRU of Nancy and the French PIA project « Lorraine Université d'Excellence », reference ANR-15-IDEX-04-LUE.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.04.029>.

References

- [1] Chooi YC, Ding C, Magkos F. The epidemiology of obesity. *Metab. Clin Exp* 2019;92:6–10.
- [2] Eschwege E, Basdevant A, Crine A, Moisan C, Charles MA. Type 2 diabetes mellitus in France in 2012: results from the ObEpi survey. *Diabetes Metabol* 2015;41:55–61.
- [3] Miras AD, le Roux CW. Surgery: the new gold-standard - medical gastric bypass. *Nat Rev Endocrinol* 2018;14:257–8.
- [4] Angrisan L, Santonicola A, Iovino P, Formisano G, Buchwald H, Scopinaro N. Bariatric surgery worldwide 2013. *Obes Surg* 2015;25:1822–32.
- [5] Antoniewicz A, Kalinowski P, Kotulecka KJ, Kocou P, Paluszkiwicz R, Remiszewski P, et al. Nutritional deficiencies in patients after roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy during 12-month follow-up. *Obes Surg* 2019;29:3277–84.
- [6] Ziegler O, Sirveaux MA, Brunaud L, Reibel N, Quilliot D. Medical follow up after bariatric surgery: nutritional and drug issues. General recommendations for the prevention and treatment of nutritional deficiencies. *Diabetes Metab* 2009;35:544–57.
- [7] Gesquiere I, Foulon V, Augustijns P, Gils A, Lannoo M, Van der Schueren B, et al. Micronutrient intake, from diet and supplements, and association with status markers in pre- and post-RYGB patients. *Clin Nutr* 2017;36:1175–81.
- [8] Dogan K, Homan J, Aarts EO, de Boer H, van Laarhoven C, Berends FJ. Long-term nutritional status in patients following Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Clin Nutr* 2018;37:612–7.
- [9] Kornerup IS, Hvas CL, Abild CB, Richelsen B, Nexø E. Early changes in vitamin B12 uptake and biomarker status following Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy. *Clin Nutr* 2019;38:906–11.
- [10] Frame-Peterson LA, Megill RD, Carobrese S, Schweitzer M. Nutrient deficiencies are common prior to bariatric surgery. *Nutr Clin Pract* 2017;32:463–9.
- [11] Amaya Garcia MJ, Vilchez Lopez FJ, Campos Martin C, Sanchez Vera P, Pereira Cunill JL. [Micronutrients in bariatric surgery]. *Nutr Hosp* 2012;27:349–61.
- [12] Gille D, Schmid A. Vitamin B12 in meat and dairy products. *Nutr Rev* 2015;73:106–15.
- [13] Shipton MJ, Thachil J. Vitamin B12 deficiency - a 21st century perspective. *Clin Med* 2015;15:145–50.
- [14] Green R, Allen LH, Björke-Monsen A-L, Brito A, Guéant J-L, Miller JW, et al. Vitamin B12 deficiency. *Nat Rev Dis Primer* 2017;3:17040.
- [15] Li Z, Gueant-Rodriguez RM, Quilliot D, Sirveaux MA, Meyre D, Gueant JL, et al. Folate and vitamin B12 status is associated with insulin resistance and metabolic syndrome in morbid obesity. *Clin Nutr* 2018;37:1700–6.
- [16] Bhandari M, Reddy M, Kosta S, Mathur W, Fobi M. Laparoscopic sleeve gastrectomy versus laparoscopic gastric bypass: a retrospective cohort study. *Int J Surg* 2019;67:47–53.
- [17] Parrott J, Frank L, Rabena R, Craggs-Dino L, Isom KA, Greiman L. American society for metabolic and bariatric surgery integrated health nutritional guidelines for the surgical weight loss patient 2016 update: micronutrients. *Surg Obes Relat Dis* 2017;13:727–41.
- [18] Brethauer SA, Kim J, El Chaar M, Pappasavas P, Eisenberg D, Rogers A, et al. Standardized outcomes reporting in metabolic and bariatric surgery. *Obes Surg* 2015;25:587–606.
- [19] Xiao G, Zhu S, Xiao X, Yan L, Yang J, Wu G. Comparison of laboratory tests, ultrasound, or magnetic resonance elastography to detect fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *Hepatology* 2017;66:1486–501.
- [20] Nonino CB, Oliveira BAP, Chaves RCP, Silva L, Pinhel MAS, Ferreira FC, et al. Is there any change in phenotypic characteristics comparing 5 to 10 Years of follow-up in obese patients undergoing roux-en-Y gastric bypass? *Arq Bras Cir Dig* 2019;32:e1453.
- [21] Fox W, Borgert A, Rasmussen C, Kallies K, Klas P, Kothari S. Long-term micronutrient surveillance after gastric bypass surgery in an integrated healthcare system. *Surg Obes Relat Dis* 2019;15:389–95.
- [22] Roust LR, DiBaise JK. Nutrient deficiencies prior to bariatric surgery. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2017;20:138–44.
- [23] Gehrler S, Kern B, Peters T, Christoffel-Courtin C, Peterli R. Fewer nutrient deficiencies after laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG) than after

- laparoscopic Roux-Y-gastric bypass (LRYGB)-a prospective study. *Obes Surg* 2010;20:447–53.
- [24] Aarts EO, van Wageningen B, Janssen IM, Berends FJ. Prevalence of anemia and related deficiencies in the first year following laparoscopic gastric bypass for morbid obesity. *J Obes* 2012;2012:193705.
- [25] Mahawar KK, Nimeri A, Adamo M, Borg CM, Singhal R, Khan O, et al. Practices concerning revisional bariatric surgery: a survey of 460 surgeons. *Obes Surg* 2018;28:2650–60.
- [26] Greibe E, Mahalle N, Bhide V, Heegaard CW, Naik S, Nexø E. Increase in circulating holotranscobalamin after oral administration of cyanocobalamin or hydroxocobalamin in healthy adults with low and normal cobalamin status. *Eur J Nutr* 2018;57:2847–55.
- [27] Sala P, Belarmino G, Torrinas RS, Machado NM, Fonseca DC, Ravacci GR, et al. Gastrointestinal transcriptomic response of metabolic vitamin B12 pathways in roux-en-Y gastric bypass. *Clin Transl Gastroenterol* 2017;8:e212.
- [28] Lambert D, Benhayoun S, Adjalla C, Gelot MM, Renkes P, Gerard P, et al. Alcoholic cirrhosis and cobalamin metabolism. *Digestion* 1997;58:64–71.
- [29] el Kholy S, Gueant JL, Bressler L, Djalali M, Boissel P, Gerard P, et al. Portal and biliary phases of enterohepatic circulation of corrinoids in humans. *Gastroenterology* 1991;101:1399–408.
- [30] Guéant JL, Champigneulle B, Djalali M, Bigard MA, Gaucher P, Hassouni A, et al. In-vitro test of haptocorrin degradation for biological diagnosis of exocrine pancreatic dysfunction using duodenal juice collected during endoscopy. *Lancet* 1986;2:709–12.

ARTICLE II

Rare coding variants and bariatric surgery

1 **Rare coding variants associated with body-mass-index impact outcomes**
2 **of bariatric surgery in patients with morbid obesity**

3 **Darlène Antoine^{1,2}, Rosa-Maria Guéant-Rodriguez^{1,2,*}, Jean-Claude Chèvre^{1,2},**
4 **Sébastien Hergalant^{1,2}, Tanmay Sharma³, Zhen Li^{1,2,4}, Pierre Rouyer^{1,2}, Céline**
5 **Chery^{1,2}, Catherine Bui^{1,2}, Abderrahim Oussalah^{1,2}, Marie-Aude Sirveaux^{1,2,4},**
6 **Nicolas Reibel^{1,2,4}, Didier Quilliot^{1,2,4}, Emmanuelle Génin⁵, Laurent Brunaud^{1,2,4},**
7 **Jean-Louis Guéant^{1,2}, David Meyre^{1,2,3,6,*}**

8 **Affiliations:**

9 ¹Inserm UMR_S1256 Nutrition-Genetics-Environmental Risk Exposure, University of
10 Lorraine, Nancy, France.

11 ²FHU ARRIMAGE, department of Biochemistry-Molecular Biology-Nutrition,
12 University Hospital Centre of Nancy, Nancy, France.

13 ³Department of Health Research Methods, Evidence, and Impact, McMaster University,
14 Hamilton, Canada.

15 ⁴Department of Surgery, Endocrine and metabolic surgery, Multidisciplinary unit for
16 obesity surgery, University Hospital Centre of Nancy, Nancy, France.

17 ⁵Brest University, Inserm, EFS, CHU Brest, UMR 1078, GGB, Brest, France.

18 ⁶Department of Pathology and Molecular Medicine, McMaster University, Hamilton,
19 Canada.

20 ***Address for corresponding authors:**

21 Rosa-Maria Guéant-Rodriguez, Inserm UMRS 1256 N-GERE (Nutrition-Genetics-
22 Environmental Risks) - University de Lorraine, Faculty of Medicine of Nancy, 54500,

Rare coding variants and bariatric surgery

23 Vandoeuvre les Nancy, France, Tel: (33)-383683291, Email: rosa-maria.gueant-
24 rodriguez@univ-lorraine.fr. Dr. David Meyre, Department of Health Research Methods,
25 Evidence, and Impact, McMaster University, Michael DeGroote Centre for Learning &
26 Discovery, Room 3205, 1280 Main Street West, Hamilton, ON L8S 4K1, Canada. Tel:
27 905.525.9140 Ext. 26802. Fax: 905.528.2814. Email: meyred@mcmaster.ca.

28 **Funding:**

29 This research was supported by the AGIR Grant from Region Lorraine, CHRU of Nancy
30 and French Foundation for Medical Research (FRM), the FHU ARRIMAGE, Nancy,
31 France, and the GEENAGE program of the French PIA project 'Lorraine Université
32 d'Excellence', reference ANR-15-IDEX-04-LUE. DM is supported by a Canada
33 Research Chair in Genetics of Obesity.

34 **Duality of Interest:**

35 No potential conflicts of interest relevant to this article were reported.

36 **Key words:** rare/low-frequency coding variants; body mass index; morbid obesity;
37 lifestyle/behavioral intervention; bariatric surgery; longitudinal study.

38

39

40

41

42

43

44

45 **Abstract**

46 **Context:** A recent study identified 14 rare/low-frequency coding variants associated with
47 body-mass-index (BMI) in 718,734 individuals predominantly of European ancestry.

48 **Objective and design:** The 14 rare/low-frequency coding variants were genotyped or
49 sequenced in 342 French adults with severe/morbid obesity and 574 healthy French adult
50 controls, respectively. We built risk and protective genetic scores (GS) based on 6 BMI-
51 increasing and 5 BMI-decreasing rare/low-frequency coding variants that were
52 polymorphic in our study. We investigated the association of the two GS with i)
53 severe/morbid obesity status in the group of patients with severe/morbid obesity ii) BMI
54 variation prior to intervention, ii) BMI change in response to an 18-month
55 lifestyle/behavioral intervention program, iii) BMI change up to 24 months after bariatric
56 surgery.

57 **Results:** While the risk GS was not associated with severe/morbid obesity status, BMI-
58 decreasing rare/low-frequency coding variants were significantly less frequent in patients
59 with severe/morbid obesity than in healthy controls. Neither the risk and protective GS
60 were associated with BMI prior to intervention in patients with severe/morbid obesity,
61 nor did they impact BMI change in response to a lifestyle/behavioral modification
62 program. The protective GS was associated with faster BMI decrease following bariatric
63 surgery. The risk and protective GS were associated with a higher and lower risk of BMI
64 regain after bariatric surgery, respectively.

65 **Conclusion:** Our data indicate that in populations of European descent, rare/low-
66 frequency coding variants that are associated with BMI in the general population also
67 impact the outcomes of bariatric surgery in patients with morbid obesity.

68

69 **Précis**

70 Rare/low-frequency coding variants contribute to BMI variation in populations of
71 European ancestry. We demonstrate that the same variants impact the response to
72 bariatric surgery in patients with morbid obesity.

73

74 **Introduction**

75 Obesity is defined by the World Health Organization (WHO) as an abnormal or excessive
76 accumulation of fat that presents a risk to health. Obesity is on the rise in developing and
77 developed countries, and represents a global health concern(1). In 2015, the prevalence of
78 adult obesity was 12% worldwide and 17.2% in France(2,3). Obesity is an important risk
79 factor for sleep disorders, osteoarthritis, depression, gallbladder disease, type 2 diabetes,
80 nonalcoholic steatohepatitis, hypertension, cardiovascular disease, and certain cancers(4).
81 It results in social stigma and low self-esteem, and has been associated with a lower
82 quality of life and up to 20-year reduction in life expectancy in its most severe forms(5-
83 7). Treatments for obesity include lifestyle and behavioral modifications,
84 pharmacotherapy, and bariatric surgery(8,9). Lifestyle and behavioral modifications only
85 yield modest results(10,11). Medicinal interventions have limited success and induce
86 various side-effects. While bariatric surgery has proven to be relatively more effective,
87 access to it is limited (8,9). As a result, current obesity treatment programs have largely
88 failed to halt the worldwide obesity epidemic, despite significant financial
89 investments^{12,13}. Further research on obesity has the potential to improve prediction,
90 prevention and care in the long run(12).

Rare coding variants and bariatric surgery

91 Obesity results from the interplay of environmental and biological factors(13).
92 Unhealthy diet, physical inactivity, psychosocial stress, and sleep deprivation are well-
93 established environmental risk factors for obesity(13,14). Biological contributors include
94 age, sex, ethnicity, *in utero* factors, preexisting medical conditions, gut microbiome
95 composition, epigenetics and genetics(12,13). Twin, family and population studies have
96 provided heritability estimates of 40-75% for BMI variation(15,16). Multiple genetic
97 defects responsible for monogenic syndromic, monogenic non-syndromic, oligogenic and
98 polygenic forms of obesity have been identified over the last 20 years(12,17,18). A
99 partial genetic overlap has been demonstrated between BMI variation in general
100 populations and extreme forms of obesity(19-21). However, little is known about the
101 genetic determinants of BMI variation among obese people(22-24).

102 While the clinical utility of common variants predisposing to polygenic obesity is
103 still debated(25), monogenic and oligogenic forms of obesity hold considerable promise
104 for precision medicine, as they have a simple etiology, considerable phenotypic effects
105 and sometimes actionable treatments(18). For instance, sequencing
106 monogenic/oligogenic obesity genes can orient the clinician towards the most appropriate
107 therapy (e.g. mereleptin or setmelanotide treatments)(18). Overweight/obese children
108 carrying ultra-rare (allele frequency<0.001) heterozygous loss-of-function mutations in
109 the *POMC* and *MC4R* genes lose the same amount of weight as non-carriers in response
110 to lifestyle intervention, but face greater difficulties in maintaining their reduced weight
111 after the intervention ends(26,27). Similarly, while children and adolescents carrying
112 homozygous ultra-rare loss-of-function mutations in *MC4R* and *LEPR* lose weight in
113 response to bariatric surgery in the short term, a considerable fraction regain it in the long

Rare coding variants and bariatric surgery

114 term(28-30). Obese adults carrying heterozygous ultra-rare loss-of-function mutations in
115 *MC4R* and other monogenic obesity genes also lose significant amount of weight in
116 response to bariatric surgery(31-33), but have a higher risk of post-operative
117 complications and re-operation in the long term(31). In 2018, a study using exome-
118 targeted genotyping arrays in 718,734 individuals, predominantly of European ancestry,
119 identified 14 rare/low-frequency coding variants ($0.001 < \text{minor allele frequency}$
120 $(\text{MAF}) \leq 0.05$) associated with BMI ($P < 2.0 \times 10^{-7}$)(34). The effects of these rare/low-
121 frequency coding variants on BMI and body weight variation in the general population
122 are intermediary between those observed for ultra-rare mutations and common variants,
123 ranging from 0.11 to 2.44 kg/m² and from 0.315 to 7.05 kg respectively, for a 1.7-m tall
124 person(34). Seven of these rare/low-frequency variants were shown to increase BMI,
125 while the other seven were shown to decrease BMI(34). Coding missense, nonsense,
126 frameshift, splice variant and even synonymous variants have a high potential to lead to
127 functional consequences(35,36). In addition, rare/low-frequency variants with
128 intermediate phenotypic effects have been considered highly relevant, from a public
129 health perspective, in identifying people at risk of developing complex diseases in the
130 general population(37). However, no study so far has investigated the contribution of
131 rare/low-frequency variants associated with BMI in the general population to i)BMI
132 variation prior to intervention, ii)BMI changes in response to lifestyle/behavioral
133 modifications, iii)BMI changes in response to bariatric surgery in patients with morbid
134 obesity. This prompted us to study the impact of 14 rare/low-frequency variants
135 associated with BMI on these three outcomes in 342 French adult patients with

Rare coding variants and bariatric surgery

136 severe/morbid obesity, as well as investigate their prevalence in comparison with 574
137 healthy French adult participants.

138

139 **Subjects and Methods**

140 **Study population**

141 We included 385 participants from the “obésité sévère et épigénétique” (OBESEPI)
142 study. The OBESEPI study has been registered with the French ministry of health as a
143 clinical trial (<https://clinicaltrials.gov/>, identifier NCT02663388). All patients had a
144 $BMI \geq 35$ kg/m² and were included in the study during a preoperative multidisciplinary
145 evaluation for bariatric surgery at the University Hospital Centre of Nancy (France).
146 Clinical, biological and biochemical data were collected during the preoperative
147 multidisciplinary visit (period 1). Subsequently, all patients followed a preoperative
148 lifestyle /behavioral modification program. Details about the program have been
149 previously described(38). Duration of 6-12 months for this program is a prerequisite prior
150 to bariatric surgery. The duration of the lifestyle /behavioral modification program was
151 longer for patients experiencing eating disorders, and shorter for patients who had
152 enrolled in a weight management program prior to the preoperative consultation. The
153 duration of the program in the study was approximately 18 months on average. The
154 transfer of knowledge and skills to the patient was assessed throughout the program.
155 Clinical and biochemical data were collected for all patients on the morning of their
156 bariatric surgery (period 2). Patients were allocated to four different types of bariatric
157 surgery. Laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass was the most frequent surgical
158 procedure in the OBESEPI study (85.40%). It involves creating a small, stapled

Rare coding variants and bariatric surgery

159 proximal gastric reservoir attached to the jejunum, bypassing the stomach, pylorus,
160 duodenum, and the first part of the jejunum. All Roux-en-Y gastric bypasses were
161 performed according to the method described in Olbers *et al.*(39). A side-to-side linear
162 stapler gastrojejunal anastomosis or a termino-lateral gastrojejunostomy with a running
163 Vicryl 3-0 suture was chosen based on the surgeon's preference. Then, the jejunum-jejunal
164 anastomosis was performed with a linear stapler followed by the hand-sewn closure of
165 the remaining intestinal openings. Laparoscopic sleeve gastrectomy (or vertical sleeve
166 gastrectomy) was the second most frequent procedure in OBESEPI (11.43%) in which
167 the stomach was reduced to about 15% of its original size, by surgical removal of a large
168 portion of the stomach along the greater curvature. Lastly, a limited subset of patients
169 received either the biliopancreatic diversion with duodenal switch procedure, with or
170 without Roux-en-Y (1.90%), or the laparoscopic adjustable gastric banding procedure
171 (1.27%)(9). Clinical and biochemical data were collected in patients two months (period
172 3), six months (period 4), 12 months (period 5), 18 months (period 6), and 24 months
173 (period 7) following bariatric surgery.

174 The French Exome (FREX) project (<https://www.france-genomique.org/>) is a
175 publicly available reference panel of exomes from French regions and consists of 574
176 healthy adult control subjects of European ancestry recruited from six different cities
177 (Lille, Rouen, Brest, Nantes, Dijon, Bordeaux).

178 All participants signed informed consents. Investigations conformed to the
179 principles outlined in the Declaration of Helsinki and received approval from the local
180 ethical committees.

181

182 **Phenotypes**

183 In the OBESEPI study, weight was measured to the nearest 0.1 kg using a digital and
184 medical scale (Seca, Hamburg, Germany). Height was measured to the nearest 0.1 cm
185 using a portable stadiometer (Seca, Hamburg, Germany). BMI (kg/m^2) was calculated by
186 dividing weight by squared height. Adult subjects were classified as having class I
187 (moderate) ($\text{BMI} \geq 30$ and $< 35 \text{ kg/m}^2$), class II (severe) ($\text{BMI} \geq 35$ and $< 40 \text{ kg/m}^2$) or class
188 III (morbid) ($\text{BMI} \geq 40 \text{ kg/m}^2$) obesity according to the WHO recommendations
189 (<http://www.who.int/>). We selected BMI as a measure of adiposity as it is independent of
190 height and is compatible with the analysis of longitudinal series data(31). Glucose,
191 triglycerides, and HDL-cholesterol were measured after 12-hour of fasting by colo-
192 turbidimetry using the AU 2700 Olympus analyzer (Beckman Coulter, Brea, California,
193 USA). Diabetes was defined as fasting glycaemia $\geq 1.26 \text{g/L}$ or the need for treatment.
194 Dyslipidemia was defined as plasma triglycerides $> 1.5 \text{ g/L}$ or HDL-cholesterol < 0.4
195 (male) or 0.5 (female) g/L . Systolic and diastolic blood pressures were measured with a
196 Dinamap Procare V100 (GE Medical Systems, Tampa, Florida, USA), which utilizes an
197 oscillometric method, and repeated 3 times at 2 minutes intervals. Hypertension was
198 defined as systolic blood pressure $\geq 130 \text{ mm Hg}$ or diastolic blood pressure $\geq 85 \text{ mm Hg}$ or
199 the need for antihypertensive medication(s). Sex ($N=574$) and age ($N=479$) information
200 was collected in the FREX study.

201

202 **Selection of rare coding variants associated with body mass index**

203 We selected 14 rare/low-frequency coding missense/nonsense variants in 13 genes
204 significantly associated with BMI ($P < 2.0 \times 10^{-7}$) in 718,734 individuals predominantly of

Rare coding variants and bariatric surgery

205 European ancestry in a recent study by Turcot *et al.*(34): rs141845046 (*ZBTB7B*),
206 rs1799805 (*ACHE*), rs145878042 (*RAPGEF3*), rs1126930 (*PRKAG1*), rs61754230
207 (*RAB21*), rs56214831 (*KSR2*), rs34149579 (*HIP1R*), rs62051555 (*ZFH3*), rs13447324
208 (*MC4R*), rs139215588 (*GIPR*), rs143430880 (*GIPR*), rs6050446 (*ENTPD6*), rs45465594
209 (*ZFR2*), and rs12236219 (*ZNF169*).

210

211 **DNA extraction, genotyping and quality control**

212 Genomic DNA was isolated from peripheral blood white cells in OBESEPI participants
213 using the GE Healthcare Life Sciences illustra Nucleon BACC Genomic DNA Extraction
214 Kit (Pittsburg, USA) according to the manufacturer's instructions. DNA quantification
215 was performed using Picogreen Assay kits. OBESEPI participants (N=385) were
216 genotyped using the Illumina Infinium Human Exome Beadchip array. The exome chip
217 includes >240,000 rare ($0.001 \leq \text{MAF} < 0.01$), low-frequency ($0.01 \leq \text{MAF} < 0.05$) and
218 common ($\text{MAF} \geq 0.05$) genetic markers in coding regions of the human genome. Exome
219 chip clustering and quality control followed the protocol by Guo *et al.*(40). One out of
220 385 array displayed a genotyping call rate <99% and was removed from the study. We
221 then searched for discrepancies between the reported sex and the one determined using
222 the genetic information and found 6 discrepancies by using the heterozygosity rate
223 calculated by PLINK. The 6 corresponding samples were removed from the study.
224 Relatedness between samples was also verified by PLINK and 17 individuals were
225 removed (cut-off: identity by descent ≥ 0.25 corresponding to second degree relatives).
226 Genetic ancestry was assessed using EIGENSTRAT(41) and 16 non-European ethnic
227 outliers were excluded from the study. Three participants did not have BMI

Rare coding variants and bariatric surgery

228 measurements and were also excluded. Following quality control, 342 OBESEPI
229 participants were retained in the study.

230 Participants from the FREX project were whole-exome sequenced and 574 French
231 unrelated adult participants of European ancestry successfully passed the quality control
232 steps (for more details, see <https://www.france-genomique.org/>).

233 Three rare variants (rs13447324 (*MC4R*), rs139215588 (*GIPR*), rs143430880
234 (*GIPR*)) were not polymorphic in the OBESEPI and FREX studies and were not further
235 investigated. The 11 remaining rare/low-frequency variants obeyed Hardy-Weinberg
236 equilibrium (all $P \geq 0.05$) and displayed a perfect genotyping call rate (100%) in the
237 OBESEPI and FREX studies (Table 1).

238

239 **Statistical analysis**

240 Descriptive characteristics have been reported using means and standard deviation (SD)
241 for continuous variables and counts and percentages for categorical data.
242 Continuous/categorical outcomes were compared in FREX and OBESEPI using
243 Student's t and Chi-squared tests, in absence of adjustments for covariates. Possible
244 outliers for continuous variables were identified using a Cook's distance cut-off of 3, and
245 biologically implausible data were removed from the analysis. Continuous variables were
246 assessed graphically and statistically (i.e. Shapiro-Wilk test) for normality of distribution
247 prior to analysis. For the traits that significantly deviated from normality, a rank based
248 inverse normal transformation was applied and the transformed values were used in the
249 analyses. We built two genetic scores (GS): i) a risk GS based on the genotypes of 6
250 BMI-increasing rare/low-frequency coding variants (rs141845046 (*ZBTB7B*), rs1799805

Rare coding variants and bariatric surgery

251 (*ACHE*), rs145878042 (*RAPGEF3*), rs1126930 (*PRKAG1*), rs61754230 (*RAB21*),
252 rs56214831 (*KSR2*)); ii) a protective GS based on the genotypes of 5 BMI-decreasing
253 rare/low-frequency coding variants (rs34149579 (*HIP1R*), rs62051555 (*ZFH3*),
254 rs6050446 (*ENTPD6*), rs45465594 (*ZFR2*), rs12236219 (*ZNF169*))(34). Unweighted GS
255 were used because weighting has been shown to have limited impact on the predictive
256 value of GS, especially if the differences in the effects of variants are minor and if the
257 sample size is modest(42,43). GS were analyzed as continuous or binary
258 (presence/absence of BMI-associated rare/low-frequency coding variants). Associations
259 between GS and continuous/binary traits were performed using linear and logistic
260 regression models. Covariates in regression models included age, sex, and baseline BMI,
261 BMI at the day of surgery, number of days of treatment, and type of surgery in certain
262 analyses. Associations between GS and the trajectory of BMI (i.e. rate of BMI change) in
263 response to bariatric surgery were investigated using mixed linear regression models in
264 SPSS with restricted maximum likelihood (REML) estimation. Subject/participant was
265 treated as the higher level grouping factor, with the six non-independent BMI
266 observations, collected across irregularly spaced time points, clustered within each
267 subject. Time was treated as a continuous variable and also added as a random effects
268 parameter, with subject being the clustering factor. All other predictors (i.e. GS) and
269 covariates (i.e. age, sex, type of surgery) were included as fixed effect parameters in the
270 model. The unstructured covariance type was used for the random effects. To examine
271 the overall average effect of GS on BMI trajectories among all subjects (i.e. explore
272 group differences in BMI change over time), an interaction term between binary and
273 continuous GS and time was tested. Based on the fact that i) the present study is

Rare coding variants and bariatric surgery

274 hypothesis-driven; ii) several independent research questions are investigated; iii) several
275 outcomes are not independent; applying a global Bonferroni correction across all the
276 outcomes reduces the chance of making type I errors, but increases the chance of making
277 type II errors(44,45). Therefore, two-sided P -value <0.05 was considered significant for
278 each research question. All statistical analyses were performed using the IBM SPSS
279 Version 25 statistical package.

280

281 **Results**

282 **Characteristics of the FREX and OBESEPI studies**

283 Characteristics of the participants of FREX and OBESEPI studies are presented in Table
284 2. All 574 FREX participants are French, healthy adults of European ancestry. Of these,
285 322 (56.10%) are women and 252 (43.90%) are men, with a mean age of 66.71 ± 18.71
286 years. All 342 OBESEPI participants are French adults of European ancestry with
287 severe/morbid obesity. Of these, 266 (77.78%) are women and 76 (22.22%) are men,
288 with a mean age of 43.08 ± 11.48 years and mean BMI of 46.04 ± 6.72 kg/m² at the
289 preoperative multidisciplinary evaluation for bariatric surgery (period 1). Severe and
290 morbid obesity was observed in 62 (18.13%) and 280 (81.87%) participants, respectively.
291 Diabetes, dyslipidemia and hypertension was diagnosed in 146 (42.69%), 244 (71.35%),
292 and 130 (38.01%) patients, respectively. Three-hundred thirty out of 342 OBESEPI
293 participants followed a preoperative lifestyle/behavioral modification program for
294 497.72 ± 286.57 days on average. While 102 (30.90%) participants experienced a BMI
295 decrease during the lifestyle/behavioral modification program, 48 (14.55%) did not show
296 any BMI change and 180 (54.55%) experienced a BMI increase. As a result, the mean

Rare coding variants and bariatric surgery

297 BMI (46.60 ± 6.98 kg/m²) at the day of bariatric surgery (period 2) was slightly higher
298 than the one observed at the preoperative visit (46.04 ± 6.72 kg/m²). The information on
299 the type of bariatric surgery was available in 315 participants, of which 269 (85.40%) had
300 a laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass, 36 (11.43%) laparoscopic sleeve gastrectomy,
301 6 (1.90%) biliopancreatic diversion with duodenal switch, and 4 (1.27%) laparoscopic
302 adjustable gastric banding. BMI information was collected on a subset of participants
303 two months (period 3, 54.69 ± 52.86 days, N=295), six months (period 4, 196.89 ± 116.59
304 days, N=255), 12 months (period 5, 357.35 ± 172.35 days, N=208), 18 months (period 6,
305 533.16 ± 197.74 days, N=171), and 24 months (period 7, 718.64 ± 218.90 days, N=142)
306 after bariatric surgery. In comparison with the average BMI (46.60 ± 6.98 kg/m², N=330)
307 at the day of bariatric surgery (period 2), a rapid decrease in BMI was observed at the two
308 months (period 3: BMI= 41.45 ± 6.71 kg/m²), six months (period 4: BMI= 36.05 ± 7.01
309 kg/m²), and 12 months (period 5: BMI= 32.66 ± 6.79 kg/m²) postoperative visits, followed
310 by a slower decrease of BMI at the 18 months (period 6: BMI= 31.59 ± 6.92 kg/m²) and 24
311 months (period 7: BMI= 30.96 ± 6.93 kg/m²) postoperative visits. When considering the
312 133 participants with BMI data available across all measured time points (i.e. at the day
313 of surgery and the five postoperative visits), 73 (54.89%) experienced at least one BMI
314 regain episode during the follow-up.

315

316 **Prevalence of BMI-associated rare/low-frequency coding variants in FREX and** 317 **OBESSEPI**

318 A summary of the results is presented in Table 3. We built a risk GS based on the
319 genotypes of 6 BMI-increasing rare/low-frequency coding variants (rs141845046

Rare coding variants and bariatric surgery

320 (*ZBTB7B*), rs1799805 (*ACHE*), rs145878042 (*RAPGEF3*), rs1126930 (*PRKAG1*),
321 rs61754230 (*RAB21*), rs56214831 (*KSR2*)). Individuals carrying 0, 1, 2 and 3 BMI-
322 increasing alleles were observed both in FREX healthy adult controls (frequency:
323 74.39%, 21.43%, 3.31%, 0.87%) and OBESEPI adult cases with severe / morbid obesity
324 (frequency: 72.51%, 24.27%, 2.92%, 0.29%), and their frequency was not significantly
325 different between the two studies (odds ratio (OR)=1.07, 95% confidence interval (CI)
326 0.77-1.48, P=0.69, test adjusted for age and sex). While 25.61% of FREX participants
327 carried at least one BMI-increasing allele, this proportion was of 27.49% in OBESEPI
328 and was not significantly different (OR=1.05, 95% CI 0.71-1.57, P=0.79).

329 We then created a protective GS based on the genotypes of 5 BMI-decreasing
330 rare/low-frequency coding variants (rs34149579 (*HIP1R*), rs62051555 (*ZFH3*),
331 rs6050446 (*ENTPD6*), rs45465594 (*ZFR2*), rs12236219 (*ZNF169*)). Individuals carrying
332 0, 1, 2 and 3 BMI-decreasing alleles were observed both in FREX healthy adult controls
333 (frequency: 70.21%, 24.22%, 4.88%, 0.70%) and OBESEPI adult cases with severe /
334 morbid obesity (frequency: 72.22%, 24.85%, 2.63%, 0.29%), and a significant depletion
335 of BMI-decreasing alleles was observed in OBESEPI in comparison with FREX
336 (OR=0.71, 95% CI 0.52-0.96, P=0.025, test adjusted for age and sex). While 27.78% of
337 OBESEPI participants carried at least one BMI-decreasing allele, this proportion was of
338 29.79% in FREX and was not significantly different (OR=0.72, 95% CI 0.49-1.06,
339 P=0.094).

340

341 **BMI-associated rare/low-frequency coding variants and BMI variation at the**
342 **preoperative visit in OBESEPI**

Rare coding variants and bariatric surgery

343 A summary of the results is presented in Table 3. The risk GS, analyzed as a continuous
344 and a binary variable, and adjusted for age and sex, was not associated with BMI at the
345 preoperative visit in the OBESEPI study (continuous: beta (B)=0.39, standard error
346 (SE)=0.68, P=0.57; binary: B=0.39, SE=0.82, P=0.64). The protective GS, analyzed as a
347 continuous and a binary variable, was not associated with BMI at the preoperative visit
348 (continuous: B=1.19, SE=0.68, P=0.083; binary: B=1.14, SE=0.82, P=0.16).

349

350 **BMI-associated rare/low-frequency coding variants and response to**
351 **lifestyle/behavioral modification in OBESEPI**

352 A summary of the results is presented in Table 3. The risk GS, analyzed as a continuous
353 and binary variable, was not associated with BMI change between the preoperative visit
354 and the day of surgery in the OBESEPI study, after adjustment for age, sex, BMI at the
355 preoperative visit, and number of days of lifestyle/behavioral modification (continuous:
356 B=0.24, SE=0.28, P=0.38; binary: B=0.31, SE=0.34, P=0.36). The risk GS, analyzed as a
357 continuous and a binary variable, and adjusted for age, sex, BMI at the preoperative visit,
358 and number of days of lifestyle/behavioral modification, was also not associated with the
359 success of lifestyle/behavioral modification (i.e. BMI decrease *versus* no BMI
360 change/BMI increase; continuous: OR=0.96, 95% CI 0.62-1.51, P=0.87; binary:
361 OR=1.09, 95% CI 0.64-1.87, P=0.75).

362 Similarly, the protective GS, analyzed as a continuous and a binary variable, was not
363 associated with BMI change between the preoperative visit and the day of surgery
364 (continuous: B=0.04, SE=0.28, P=0.88; binary: B=0.13, SE=0.34, P=0.69). The
365 protective GS, analyzed as a continuous and a binary variable, was also not associated

Rare coding variants and bariatric surgery

366 with the success of lifestyle/behavioral modification (continuous: OR=1.03, 95% CI
367 0.66-1.60, P=0.90; binary: OR=1.12, 95% CI 0.66-1.90, P=0.67).

368

369 **BMI-associated rare/low-frequency coding variants and response to bariatric**
370 **surgery in OBESEPI**

371 A summary of the results is presented in Table 3. The risk GS, analyzed as a continuous
372 and a binary variable, and adjusted for age, sex, type of surgery, and number of days
373 since surgery for each postoperative visit, was not associated with the BMI trajectory
374 from the day of surgery up to the 24 month postoperative visit (continuous: B=0.03,
375 SE=0.04, P=0.48; binary: B=0.02, SE=0.05, P=0.70). When considering the 133
376 participants with BMI data available at the day of surgery and the five postoperative
377 visits, the risk GS, analyzed as a continuous and a binary variable, and adjusted for age,
378 sex, BMI at surgery, and type of surgery, was associated with lower success of bariatric
379 surgery (i.e. no BMI regain *versus* BMI regain during the follow-up; continuous:
380 OR=0.48, 95% CI 0.25-0.94, P=0.033; binary: OR=0.45, 95% CI 0.21-0.97, P=0.041).

381 The protective GS, analyzed as a continuous and a binary variable, was associated
382 with the BMI trajectory (faster BMI decrease) from the day of surgery up to the 24 month
383 postoperative visit (continuous: B=-0.10, SE=0.04, P=0.011; binary: B=-0.11, SE=0.05,
384 P=0.035). When considering the 133 participants with BMI data available at the day of
385 surgery and the five postoperative visits, the protective GS was associated with higher
386 success of bariatric surgery as a binary variable, but not as a continuous variable
387 (continuous: OR=1.64, 95% CI 0.88-3.06, P=0.12; binary: OR=2.45, 95% CI 1.08-5.54,
388 P=0.032).

389

390 **Discussion**

391 Our results suggest that in adult populations of European ancestry, rare/low-frequency
392 coding variants that decrease BMI in the general population may also protect from the
393 development of severe/morbid obesity. Our findings are in line with the negative
394 associations observed between the gain-of-function, low-frequency coding variant V103I
395 in *MC4R*, and both BMI and severe/morbid obesity in European adult populations(46,47).
396 In contrast, rare/low-frequency coding variants that increase BMI in the general
397 population were not associated with increased risk of severe/morbid obesity in our study.
398 These data suggest that the rare/low-frequency genetic variants contributing to these two
399 outcomes may at least partially differ. Consistent with this hypothesis, common
400 polygenic variants conclusively associated with BMI in the general population, and with
401 severe/morbid obesity, only partially overlap in adult populations of European
402 ancestry(20,21). The effects of some BMI-associated loci are also not uniform across the
403 BMI distribution(23). In addition, only two of the seven BMI increasing rare/low-
404 frequency variants in the Turcot *et al.* study(34) are located in loci contributing to
405 monogenic forms of obesity (*MC4R*, *KSR2*)(22,34,48).

406 Our data indicate that in adult populations of European ancestry, rare/low-
407 frequency coding variants, that either decrease or increase BMI in the general population,
408 do not contribute to BMI variation in a context of severe/morbid obesity. As heritability
409 estimates for BMI tend to increase in populations with higher level of adiposity, this
410 observation cannot be explained by an absence of genetic influence on BMI in patients
411 with severe/morbid obesity(49). An alternative explanation may be that rare/low-

Rare coding variants and bariatric surgery

412 frequency genetic variants contributing to BMI in non-obese and obese populations may
413 at least partially differ. In line with this hypothesis, common variants contributing to BMI
414 in the general population do not seem to influence BMI in patients with severe/morbid
415 obesity in populations of European descent(50). Similarly, ultra-rare mutations that
416 influence BMI in adult European populations with obesity may not significantly
417 contribute to BMI variation in the general population(22,51). Factors that occur during
418 the development of obesity, such as leptin and insulin resistance, chronic low-grade
419 inflammation, epigenetic reprogramming, gut microbiome modification, or exposure to
420 specific environments, may interact with the genetic landscape and provide an
421 explanation for the genetic differences observed in obese and non-obese
422 populations(12,13,23).

423 Our results suggest that in adult populations of European ancestry, rare/low-
424 frequency coding variants, that either decrease or increase BMI in the general population,
425 do not contribute to BMI change in response to lifestyle/behavioral modification in the
426 context of severe/morbid obesity. This may signify that rare/low-frequency coding
427 variants contributing to these two outcomes may at least partially differ. While weight
428 loss in response to lifestyle/behavioral modification has a well-established genetic
429 component(52), no association has been reported in literature with monogenic and
430 polygenic BMI/obesity variants in children and adults of European ancestry(27,53-56).
431 Furthermore, gene-centric and genome-wide association studies of weight loss in
432 response to lifestyle intervention in populations of European ancestry identified several
433 loci that are not associated with BMI or obesity in literature(57,58). Biological

Rare coding variants and bariatric surgery

434 mechanisms involved in weight gain and weight loss in humans are known to be very
435 different(59,60).

436 Our findings indicate that rare/low-frequency coding variants, that increase BMI
437 in the general population, increase the risk of weight regain in response to bariatric
438 surgery in adult populations of European ancestry with severe/morbid obesity. In
439 contrast, rare/low-frequency coding variants, that decrease BMI in the general
440 population, are associated with faster BMI decrease and a reduced risk of weight regain
441 following bariatric surgery. The genetic effects are substantial as individuals carrying
442 BMI-increasing and BMI-decreasing rare/low-frequency coding variants exhibit a 2-fold
443 increase and a 2.5-fold decrease in risk of regaining weight respectively, following
444 bariatric surgery. These results are consistent with the high risk of weight regain
445 following bariatric surgery observed in children and adolescents carrying homozygous
446 ultra-rare loss-of-function mutations in the *MC4R* and *LEPR* genes(28-30). Similarly,
447 genetic scores built with BMI-increasing polygenic variants negatively impact weight
448 loss after bariatric surgery in populations of European ancestry(61-63). Weight loss in
449 response to bariatric surgery is a highly heritable trait(64), and genome-wide associations
450 in populations of European descent suggest that other important genetic contributors to
451 this trait may not necessarily be associated with BMI/obesity(65,66). The biological
452 mechanisms involved in the development of obesity and sustained weight loss in
453 response to bariatric surgery may only partially overlap(67,68).

454 Strengths of this study include the originality of the research question, the
455 hypothesis-driven nature of the work, the novelty of the results, the use of diverse
456 outcomes, sophisticated experimental (i.e. case-control, case-only) designs and methods

Rare coding variants and bariatric surgery

457 (i.e. rigorous quality control, creation of risk and protective GS, use of classic linear and
458 logistic and mixed linear regression models), and the concordance between our data and
459 previous literature. Our study also presents several limitations. We are aware that our
460 experimental design was modestly powered. We also acknowledge that we used liberal
461 cut-offs for significance (two-sided $P < 0.05$). Our findings therefore need further
462 validation in independent studies. We focused on populations of European ancestry, and
463 our results also need to be replicated in additional ethnic groups. While FREX
464 participants are labeled as healthy adult controls, the absence of BMI information in this
465 study represents another limitation of this study.

466 In conclusion, our data suggest that BMI-increasing rare/low-frequency coding
467 variants are associated with an increased risk of BMI regain following bariatric surgery.
468 In contrast, BMI-decreasing rare/low-frequency coding variants are associated with a
469 lower risk to develop severe/morbid obesity, and a faster BMI decrease/lower risk of
470 BMI regain after bariatric surgery. Our findings illustrate the complex genetic overlap
471 between susceptibility to extreme weight gain and ability to lose weight, in response to
472 lifestyle/behavioral intervention and bariatric surgery. Large-scale exome- and genome-
473 wide association studies are yet to be completed on these outcomes in diverse ethnic
474 groups to precise their genetic determinants. This research will likely contribute to the
475 effective transition from conventional to precision medicine for obesity.

476

477 **Acknowledgements:**

478 The authors would like to thank the functional genomics core facility of UMS2008
479 IBSLor (Université de Lorraine-CNRS-INSERM). The authors also wish to thank the

Rare coding variants and bariatric surgery

480 French Exome (FREX) project and the groups that provided exome variant data to this
481 resource.

482

483 **Author's contribution**

484 D.A., R.M.G.R., J.C.C., A.O., L.B., J.L.G., and D.M. designed the study; J.L.G.,
485 R.M.G.R., and D.M. contributed to funding; D.A., R.M.G.R., J.C.C., Z.L., P.R., C.C.,
486 C.B., M.A.S., N.R., D.Q., A.O., E.G., L.B., J.L.G., and D.M. conducted research; D.A.,
487 R.M.G.R., J.C.C., and S.H. cleaned-up the data and prepared the database; J.C.C., S.H.,
488 T.S., and D.M. analyzed data; D.M. wrote the manuscript; D.M. designed the tables.
489 D.A., R.M.G.R., J.C.C., S.H., T.S., Z.L., P.R., C.C., C.B., A.O., M.A.S., N.R., D.Q.,
490 E.G., L.B., and J.L.G. critically reviewed the manuscript for important intellectual
491 content; R.M.G.R. and D.M. had primary responsibility for final content. All authors read
492 and approved the final manuscript.

493

494 **Data Availability:**

495 The dataset generated and/or analyzed in the current study is available from the corresponding
496 authors on reasonable request.

497

498 **References:**

- 499 1. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975
500 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9
501 million children, adolescents, and adults. *Lancet*. 2017;390(10113):2627-2642.
502 2. Verdot C, Torres M, Salanave B, Deschamps V. Children and adults body mass index in
503 France in 2015. Results from the Esteban study and trends since 2006. *Bulletin*
504 *épidémiologique hebdomadaire* 2017;13:234-241.
505 3. Matta J, Carette C, Rives Lange C, Czernichow S. [French and worldwide epidemiology of
506 obesity]. *Presse Med*. 2018;47(5):434-438.

Rare coding variants and bariatric surgery

- 507 4. Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham CL, Anis AH. The incidence of co-
508 morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis.
509 *BMC public health*. 2009;9:88.
- 510 5. Fontaine KR, Barofsky I. Obesity and health-related quality of life. *Obesity reviews*.
511 2001;2(3):173-182.
- 512 6. Fontaine KR, Redden DT, Wang C, Westfall AO, Allison DB. Years of life lost due to
513 obesity. *Jama*. 2003;289(2):187-193.
- 514 7. Friedman KE, Reichmann SK, Costanzo PR, Zelli A, Ashmore JA, Musante GJ. Weight
515 stigmatization and ideological beliefs: relation to psychological functioning in obese
516 adults. *Obesity research*. 2005;13(5):907-916.
- 517 8. Peirson L, Douketis J, Ciliska D, Fitzpatrick-Lewis D, Ali MU, Raina P. Treatment for
518 overweight and obesity in adult populations: a systematic review and meta-analysis.
519 *CMAJ open*. 2014;2(4):E306-317.
- 520 9. Kral JG, Naslund E. Surgical treatment of obesity. *Nature clinical practice Endocrinology
521 & metabolism*. 2007;3(8):574-583.
- 522 10. Hebden L, Chey T, Allman-Farinelli M. Lifestyle intervention for preventing weight gain
523 in young adults: a systematic review and meta-analysis of RCTs. *Obesity reviews*.
524 2012;13(8):692-710.
- 525 11. Burgess E, Hassmen P, Welvaert M, Pumpa KL. Behavioural treatment strategies
526 improve adherence to lifestyle intervention programmes in adults with obesity: a
527 systematic review and meta-analysis. *Clinical obesity*. 2017;7(2):105-114.
- 528 12. Pigeyre M, Yazdi FT, Kaur Y, Meyre D. Recent progress in genetics, epigenetics and
529 metagenomics unveils the pathophysiology of human obesity. *Clin Sci (Lond)*.
530 2016;130(12):943-986.
- 531 13. Reddon H, Gueant JL, Meyre D. The importance of gene-environment interactions in
532 human obesity. *Clin Sci (Lond)*. 2016;130(18):1571-1597.
- 533 14. McAllister EJ, Dhurandhar NV, Keith SW, Aronne LJ, Barger J, Baskin M, Benca RM, Biggio
534 J, Boggiano MM, Eisenmann JC, Elobeid M, Fontaine KR, Gluckman P, Hanlon EC,
535 Katzmarzyk P, Pietrobelli A, Redden DT, Ruden DM, Wang C, Waterland RA, Wright SM,
536 Allison DB. Ten putative contributors to the obesity epidemic. *Critical reviews in food
537 science and nutrition*. 2009;49(10):868-913.
- 538 15. Stryjecki C, Alyass A, Meyre D. Ethnic and population differences in the genetic
539 predisposition to human obesity. *Obesity reviews*. 2018;19(1):62-80.
- 540 16. Yang J, Bakshi A, Zhu Z, Hemani G, Vinkhuyzen AA, Lee SH, Robinson MR, Perry JR, Nolte
541 IM, van Vliet-Ostaptchouk JV, Snieder H, Esko T, Milani L, Magi R, Metspalu A, Hamsten
542 A, Magnusson PK, Pedersen NL, Ingelsson E, Soranzo N, Keller MC, Wray NR, Goddard
543 ME, Visscher PM. Genetic variance estimation with imputed variants finds negligible
544 missing heritability for human height and body mass index. *Nature genetics*.
545 2015;47(10):1114-1120.
- 546 17. Kaur Y, de Souza RJ, Gibson WT, Meyre D. A systematic review of genetic syndromes
547 with obesity. *Obesity reviews*. 2017;18(6):603-634.
- 548 18. Lunskey IO, Meyre D. Decoding Mendelian obesity. *Curr Opin Endocr Metab Res*.
549 2019;4:21-28.
- 550 19. Haworth CM, Plomin R, Carnell S, Wardle J. Childhood Obesity: Genetic and
551 Environmental Overlap With Normal-range BMI. *Obesity (Silver Spring)*.
552 2008;16(7):1585-1590.
- 553 20. Berndt SI, Gustafsson S, Magi R, Ganna A, Wheeler E, Feitosa MF, Justice AE, Monda KL,
554 Croteau-Chonka DC, Day FR, Esko T, Fall T, Ferreira T, Gentilini D, Jackson AU, Luan J,

555 Randall JC, Vedantam S, Willer CJ, Winkler TW, Wood AR, Workalemahu T, Hu YJ, Lee
556 SH, Liang L, Lin DY, Min JL, Neale BM, Thorleifsson G, Yang J, Albrecht E, Amin N, Bragg-
557 Gresham JL, Cadby G, den Heijer M, Eklund N, Fischer K, Goel A, Hottenga JJ, Huffman
558 JE, Jarick I, Johansson A, Johnson T, Kanoni S, Kleber ME, Konig IR, Kristiansson K, Kutalik
559 Z, Lamina C, Lecoeur C, Li G, Mangino M, McArdle WL, Medina-Gomez C, Muller-
560 Nurasyid M, Ngwa JS, Nolte IM, Paternoster L, Pechlivanis S, Perola M, Peters MJ, Preuss
561 M, Rose LM, Shi J, Shungin D, Smith AV, Strawbridge RJ, Surakka I, Teumer A, Trip MD,
562 Tyrer J, Van Vliet-Ostaptchouk JV, Vandenput L, Waite LL, Zhao JH, Absher D, Asselbergs
563 FW, Atalay M, Attwood AP, Balmforth AJ, Basart H, Beilby J, Bonnycastle LL, Brambilla P,
564 Bruinenberg M, Campbell H, Chasman DI, Chines PS, Collins FS, Connell JM, Cookson
565 WO, de Faire U, de Vegt F, Dei M, Dimitriou M, Edkins S, Estrada K, Evans DM, Farrall M,
566 Ferrario MM, Ferrieres J, Franke L, Frau F, Gejman PV, Grallert H, Gronberg H, Gudnason
567 V, Hall AS, Hall P, Hartikainen AL, Hayward C, Heard-Costa NL, Heath AC, Hebebrand J,
568 Homuth G, Hu FB, Hunt SE, Hypponen E, Iribarren C, Jacobs KB, Jansson JO, Julia A,
569 Kahonen M, Kathiresan S, Kee F, Khaw KT, Kivimaki M, Koenig W, Kraja AT, Kumari M,
570 Kuulasmaa K, Kuusisto J, Laitinen JH, Lakka TA, Langenberg C, Launer LJ, Lind L,
571 Lindstrom J, Liu J, Liuzzi A, Lokki ML, Lorentzon M, Madden PA, Magnusson PK, Manunta
572 P, Marek D, Marz W, Mateo Leach I, McKnight B, Medland SE, Mihailov E, Milani L,
573 Montgomery GW, Mooser V, Muhleisen TW, Munroe PB, Musk AW, Narisu N, Navis G,
574 Nicholson G, Nohr EA, Ong KK, Oostra BA, Palmer CN, Palotie A, Peden JF, Pedersen N,
575 Peters A, Polasek O, Pouta A, Pramstaller PP, Prokopenko I, Putter C, Radhakrishnan A,
576 Raitakari O, Rendon A, Rivadeneira F, Rudan I, Saaristo TE, Sambrook JG, Sanders AR,
577 Sanna S, Saramies J, Schipf S, Schreiber S, Schunkert H, Shin SY, Signorini S, Sinisalo J,
578 Skrobek B, Soranzo N, Stancakova A, Stark K, Stephens JC, Stirrups K, Stolk RP, Stumvoll
579 M, Swift AJ, Theodoraki EV, Thorand B, Tregouet DA, Tremoli E, Van der Klauw MM, van
580 Meurs JB, Vermeulen SH, Viikari J, Virtamo J, Vitart V, Waeber G, Wang Z, Widen E, Wild
581 SH, Willemsen G, Winkelmann BR, Wittteman JC, Wolffenbuttel BH, Wong A, Wright AF,
582 Zillikens MC, Amouyel P, Boehm BO, Boerwinkle E, Boomsma DI, Caulfield MJ, Chanock
583 SJ, Cupples LA, Cusi D, Dedoussis GV, Erdmann J, Eriksson JG, Franks PW, Froguel P,
584 Gieger C, Gyllensten U, Hamsten A, Harris TB, Hengstenberg C, Hicks AA, Hingorani A,
585 Hinney A, Hofman A, Hovingh KG, Hveem K, Illig T, Jarvelin MR, Jockel KH, Keinanen-
586 Kiukaanniemi SM, Kiemeny LA, Kuh D, Laakso M, Lehtimaki T, Levinson DF, Martin NG,
587 Metspalu A, Morris AD, Nieminen MS, Njolstad I, Ohlsson C, Oldehinkel AJ, Ouweland
588 WH, Palmer LJ, Penninx B, Power C, Province MA, Psaty BM, Qi L, Rauramaa R, Ridker
589 PM, Ripatti S, Salomaa V, Samani NJ, Snieder H, Sorensen TI, Spector TD, Stefansson K,
590 Tonjes A, Tuomilehto J, Uitterlinden AG, Uusitupa M, van der Harst P, Vollenweider P,
591 Wallaschofski H, Wareham NJ, Watkins H, Wichmann HE, Wilson JF, Abecasis GR,
592 Assimes TL, Barroso I, Boehnke M, Borecki IB, Deloukas P, Fox CS, Frayling T, Groop LC,
593 Haritunian T, Heid IM, Hunter D, Kaplan RC, Karpe F, Moffatt MF, Mohlke KL, O'Connell
594 JR, Pawitan Y, Schadt EE, Schlessinger D, Steinhorsdottir V, Strachan DP,
595 Thorsteinsdottir U, van Duijn CM, Visscher PM, Di Blasio AM, Hirschhorn JN, Lindgren
596 CM, Morris AP, Meyre D, Scherag A, McCarthy MI, Speliotes EK, North KE, Loos RJ,
597 Ingelsson E. Genome-wide meta-analysis identifies 11 new loci for anthropometric traits
598 and provides insights into genetic architecture. *Nature genetics*. 2013;45(5):501-512.
599 21. Meyre D, Delplanque J, Chevre JC, Lecoeur C, Lobbens S, Gallina S, Durand E, Vatin V,
600 Degraeve F, Proenca C, Gaget S, Korner A, Kovacs P, Kiess W, Tichet J, Marre M,
601 Hartikainen AL, Horber F, Potoczna N, Herberg S, Levy-Marchal C, Pattou F, Heude B,
602 Tauber M, McCarthy MI, Blakemore AI, Montpetit A, Polychronakos C, Weill J, Coin LJ,

Rare coding variants and bariatric surgery

- 603 Asher J, Elliott P, Jarvelin MR, Visvikis-Siest S, Balkau B, Sladek R, Balding D, Walley A,
604 Dina C, Froguel P. Genome-wide association study for early-onset and morbid adult
605 obesity identifies three new risk loci in European populations. *Nature genetics*.
606 2009;41(2):157-159.
- 607 22. Stutzmann F, Tan K, Vatin V, Dina C, Jouret B, Tichet J, Balkau B, Potoczna N, Horber F,
608 O'Rahilly S, Farooqi IS, Froguel P, Meyre D. Prevalence of melanocortin-4 receptor
609 deficiency in Europeans and their age-dependent penetrance in multigenerational
610 pedigrees. *Diabetes*. 2008;57(9):2511-2518.
- 611 23. Abadi A, Alyass A, Robiou du Pont S, Bolker B, Singh P, Mohan V, Diaz R, Engert JC, Yusuf
612 S, Gerstein HC, Anand SS, Meyre D. Penetrance of Polygenic Obesity Susceptibility Loci
613 across the Body Mass Index Distribution. *American journal of human genetics*.
614 2017;101(6):925-938.
- 615 24. Vazquez-Moreno M, Zeng H, Locia-Morales D, Peralta-Romero J, Asif H, Maharaj A, Tam
616 V, Romero-Figueroa MDS, Sosa-Bustamante GP, Mendez-Martinez S, Mejia-Benitez A,
617 Valladares-Salgado A, Wachter-Rodarte N, Cruz M, Meyre D. The Melanocortin 4
618 Receptor p.Ile269Asn Mutation Is Associated with Childhood and Adult Obesity in
619 Mexicans. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2020;105(4).
- 620 25. Loos RJ, Janssens AC. Predicting Polygenic Obesity Using Genetic Information. *Cell*
621 *metabolism*. 2017;25(3):535-543.
- 622 26. Santoro N, Perrone L, Cirillo G, Raimondo P, Amato A, Coppola F, Santarpia M, D'Aniello
623 A, Miraglia Del Giudice E. Weight loss in obese children carrying the
624 proopiomelanocortin R236G variant. *Journal of endocrinological investigation*.
625 2006;29(3):226-230.
- 626 27. Reinehr T, Hebebrand J, Friedel S, Toschke AM, Brumm H, Biebermann H, Hinney A.
627 Lifestyle intervention in obese children with variations in the melanocortin 4 receptor
628 gene. *Obesity (Silver Spring)*. 2009;17(2):382-389.
- 629 28. Le Beyec J, Cugnet-Anceau C, Pepin D, Alili R, Cotillard A, Lacorte JM, Basdevant A,
630 Laville M, Clement K. Homozygous leptin receptor mutation due to uniparental disomy
631 of chromosome 1: response to bariatric surgery. *The Journal of clinical endocrinology*
632 *and metabolism*. 2013;98(2):E397-402.
- 633 29. Aslan IR, Ranadive SA, Ersoy BA, Rogers SJ, Lustig RH, Vaisse C. Bariatric surgery in a
634 patient with complete MC4R deficiency. *Int J Obes (Lond)*. 2011;35(3):457-461.
- 635 30. Jelin EB, Daggag H, Speer AL, Hameed N, Lessan N, Barakat M, Nadler EP. Melanocortin-
636 4 receptor signaling is not required for short-term weight loss after sleeve gastrectomy
637 in pediatric patients. *Int J Obes (Lond)*. 2016;40(3):550-553.
- 638 31. Bonnefond A, Keller R, Meyre D, Stutzmann F, Thuillier D, Stefanov DG, Froguel P,
639 Horber FF, Kral JG. Eating Behavior, Low-Frequency Functional Mutations in the
640 Melanocortin-4 Receptor (MC4R) Gene, and Outcomes of Bariatric Operations: A 6-Year
641 Prospective Study. *Diabetes care*. 2016;39(8):1384-1392.
- 642 32. Cooman MI, Kleinendorst L, Aarts EO, Janssen IMC, van Amstel HKP, Blakemore AI,
643 Hazebroek EJ, Meijers-Heijboer HJ, van der Zwaag B, Berends FJ, van Haelst MM.
644 Genetic Obesity and Bariatric Surgery Outcome in 1014 Patients with Morbid Obesity.
645 *Obesity surgery*. 2020;30(2):470-477.
- 646 33. Valette M, Poitou C, Le Beyec J, Bouillot JL, Clement K, Czernichow S. Melanocortin-4
647 receptor mutations and polymorphisms do not affect weight loss after bariatric surgery.
648 *PloS one*. 2012;7(11):e48221.
- 649 34. Turcot V, Lu Y, Highland HM, Schurmann C, Justice AE, Fine RS, Bradfield JP, Esko T, Giri
650 A, Graff M, Guo X, Hendricks AE, Karaderi T, Lempradl A, Locke AE, Mahajan A, Marouli

Rare coding variants and bariatric surgery

651 E, Sivapalaratnam S, Young KL, Alfred T, Feitosa MF, Masca NGD, Manning AK, Medina-
652 Gomez C, Mudgal P, Ng MCY, Reiner AP, Vedantam S, Willems SM, Winkler TW, Abecasis
653 G, Aben KK, Alam DS, Alharthi SE, Allison M, Amouyel P, Asselbergs FW, Auer PL, Balkau
654 B, Bang LE, Barroso I, Bastarache L, Benn M, Bergmann S, Bielak LF, Bluher M, Boehnke
655 M, Boeing H, Boerwinkle E, Boger CA, Bork-Jensen J, Bots ML, Bottinger EP, Bowden DW,
656 Brandslund I, Breen G, Brilliant MH, Broer L, Brumat M, Burt AA, Butterworth AS,
657 Campbell PT, Cappellani S, Carey DJ, Catamo E, Caulfield MJ, Chambers JC, Chasman DI,
658 Chen YI, Chowdhury R, Christensen C, Chu AY, Cocca M, Collins FS, Cook JP, Corley J,
659 Corominas Galbany J, Cox AJ, Crosslin DS, Cuellar-Partida G, D'Eustacchio A, Danesh J,
660 Davies G, Bakker PIW, Groot MCH, Mutsert R, Deary IJ, Dedoussis G, Demerath EW,
661 Heijer M, Hollander AI, Ruijter HM, Dennis JG, Denny JC, Angelantonio E, Drenos F, Du
662 M, Dube MP, Dunning AM, Easton DF, Edwards TL, Ellinghaus D, Ellinor PT, Elliott P,
663 Evangelou E, Farmaki AE, Farooqi IS, Faul JD, Fauser S, Feng S, Ferrannini E, Ferrieres J,
664 Florez JC, Ford I, Fornage M, Franco OH, Franke A, Franks PW, Friedrich N, Frikke-
665 Schmidt R, Galesloot TE, Gan W, Gandin I, Gasparini P, Gibson J, Giedraitis V, Gjesing AP,
666 Gordon-Larsen P, Gorski M, Grabe HJ, Grant SFA, Grarup N, Griffiths HL, Grove ML,
667 Gudnason V, Gustafsson S, Haessler J, Hakonarson H, Hammerschlag AR, Hansen T,
668 Harris KM, Harris TB, Hattersley AT, Have CT, Hayward C, He L, Heard-Costa NL, Heath
669 AC, Heid IM, Helgeland O, Hernesniemi J, Hewitt AW, Holmen OL, Hovingh GK, Howson
670 JMM, Hu Y, Huang PL, Huffman JE, Ikram MA, Ingelsson E, Jackson AU, Jansson JH, Jarvik
671 GP, Jensen GB, Jia Y, Johansson S, Jorgensen ME, Jorgensen T, Jukema JW, Kahali B,
672 Kahn RS, Kahonen M, Kamstrup PR, Kanoni S, Kaprio J, Karaleftheri M, Kardia SLR, Karpe
673 F, Kathiresan S, Kee F, Kiemenev LA, Kim E, Kitajima H, Komulainen P, Kooner JS,
674 Kooperberg C, Korhonen T, Kovacs P, Kuivaniemi H, Kutalik Z, Kuulasmaa K, Kuusisto J,
675 Laakso M, Lakka TA, Lamparter D, Lange EM, Lange LA, Langenberg C, Larson EB, Lee NR,
676 Lehtimäki T, Lewis CE, Li H, Li J, Li-Gao R, Lin H, Lin KH, Lin LA, Lin X, Lind L, Lindstrom J,
677 Linneberg A, Liu CT, Liu DJ, Liu Y, Lo KS, Lophatananon A, Lotery AJ, Loukola A, Luan J,
678 Lubitz SA, Lytikainen LP, Mannisto S, Marenne G, Mazul AL, McCarthy MI, McKean-
679 Cowdin R, Medland SE, Meidtner K, Milani L, Mistry V, Mitchell P, Mohlke KL, Moilanen
680 L, Moitry M, Montgomery GW, Mook-Kanamori DO, Moore C, Mori TA, Morris AD,
681 Morris AP, Muller-Nurasyid M, Munroe PB, Nalls MA, Narisu N, Nelson CP, Neville M,
682 Nielsen SF, Nikus K, Njolstad PR, Nordestgaard BG, Nyholt DR, O'Connell JR, O'Donoghue
683 ML, Olde Loohuis LM, Ophoff RA, Owen KR, Packard CJ, Padmanabhan S, Palmer CNA,
684 Palmer ND, Pasterkamp G, Patel AP, Pattie A, Pedersen O, Peissig PL, Peloso GM, Pennell
685 CE, Perola M, Perry JA, Perry JRB, Pers TH, Person TN, Peters A, Petersen ERB, Peyser PA,
686 Pirie A, Polasek O, Polderman TJ, Puolijoki H, Raitakari OT, Rasheed A, Rauramaa R,
687 Reilly DF, Renstrom F, Rheinberger M, Ridker PM, Rioux JD, Rivas MA, Roberts DJ,
688 Robertson NR, Robino A, Rolandsson O, Rudan I, Ruth KS, Saleheen D, Salomaa V,
689 Samani NJ, Sapkota Y, Sattar N, Schoen RE, Schreiner PJ, Schulze MB, Scott RA, Segura-
690 Lepe MP, Shah SH, Sheu WH, Sim X, Slater AJ, Small KS, Smith AV, Southam L, Spector
691 TD, Speliotes EK, Starr JM, Stefansson K, Steinhorsdottir V, Stirrups KE, Strauch K,
692 Stringham HM, Stumvoll M, Sun L, Surendran P, Swift AJ, Tada H, Tansey KE, Tardif JC,
693 Taylor KD, Teumer A, Thompson DJ, Thorleifsson G, Thorsteinsdottir U, Thuesen BH,
694 Tonjes A, Tromp G, Trompet S, Tsaftakis E, Tuomilehto J, Tybjaerg-Hansen A, Tyrer JP,
695 Uher R, Uitterlinden AG, Uusitupa M, Laan SW, Duijn CM, Leeuwen N, van Setten J,
696 Vanhala M, Varbo A, Varga TV, Varma R, Velez Edwards DR, Vermeulen SH, Veronesi G,
697 Vestergaard H, Vitart V, Vogt TF, Volker U, Vuckovic D, Wagenknecht LE, Walker M,
698 Wallentin L, Wang F, Wang CA, Wang S, Wang Y, Ware EB, Wareham NJ, Warren HR,

Rare coding variants and bariatric surgery

- 699 Waterworth DM, Wessel J, White HD, Willer CJ, Wilson JG, Witte DR, Wood AR, Wu Y,
700 Yaghooskar H, Yao J, Yao P, Yerges-Armstrong LM, Young R, Zeggini E, Zhan X, Zhang W,
701 Zhao JH, Zhao W, Zhou W, Zondervan KT, Rotter JI, Pospisilik JA, Rivadeneira F, Borecki
702 IB, Deloukas P, Frayling TM, Lettre G, North KE, Lindgren CM, Hirschhorn JN, Loos RJF.
703 Protein-altering variants associated with body mass index implicate pathways that
704 control energy intake and expenditure in obesity. *Nature genetics*. 2018;50(1):26-41.
- 705 35. Kryukov GV, Pennacchio LA, Sunyaev SR. Most rare missense alleles are deleterious in
706 humans: implications for complex disease and association studies. *American journal of*
707 *human genetics*. 2007;80(4):727-739.
- 708 36. Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, Samocha KE, Banks E, Fennell T, O'Donnell-Luria AH,
709 Ware JS, Hill AJ, Cummings BB, Tukiainen T, Birnbaum DP, Kosmicki JA, Duncan LE,
710 Estrada K, Zhao F, Zou J, Pierce-Hoffman E, Berghout J, Cooper DN, Deflaux N, DePristo
711 M, Do R, Flannick J, Fromer M, Gauthier L, Goldstein J, Gupta N, Howrigan D, Kiezun A,
712 Kurki MI, Moonshine AL, Natarajan P, Orozco L, Peloso GM, Poplin R, Rivas MA, Ruano-
713 Rubio V, Rose SA, Ruderfer DM, Shakir K, Stenson PD, Stevens C, Thomas BP, Tiao G,
714 Tusie-Luna MT, Weisburd B, Won HH, Yu D, Altshuler DM, Ardissino D, Boehnke M,
715 Danesh J, Donnelly S, Elosua R, Florez JC, Gabriel SB, Getz G, Glatt SJ, Hultman CM,
716 Kathiresan S, Laakso M, McCarroll S, McCarthy MI, McGovern D, McPherson R, Neale
717 BM, Palotie A, Purcell SM, Saleheen D, Scharf JM, Sklar P, Sullivan PF, Tuomilehto J,
718 Tsuang MT, Watkins HC, Wilson JG, Daly MJ, MacArthur DG. Analysis of protein-coding
719 genetic variation in 60,706 humans. *Nature*. 2016;536(7616):285-291.
- 720 37. McCarthy MI. Genomics, type 2 diabetes, and obesity. *The New England journal of*
721 *medicine*. 2010;363(24):2339-2350.
- 722 38. Quilliot D, Brunaud L, Mathieu J, Quenot C, Sirveaux MA, Kahn JP, Ziegler O, Witkowski
723 P. Links between traumatic experiences in childhood or early adulthood and lifetime
724 binge eating disorder. *Psychiatry research*. 2019;276:134-141.
- 725 39. Olbers T, Fagevik-Olsen M, Maleckas A, Lonroth H. Randomized clinical trial of
726 laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass versus laparoscopic vertical banded gastroplasty
727 for obesity. *The British journal of surgery*. 2005;92(5):557-562.
- 728 40. Guo Y, He J, Zhao S, Wu H, Zhong X, Sheng Q, Samuels DC, Shyr Y, Long J. Illumina
729 human exome genotyping array clustering and quality control. *Nature protocols*.
730 2014;9(11):2643-2662.
- 731 41. Price AL, Patterson NJ, Plenge RM, Weinblatt ME, Shadick NA, Reich D. Principal
732 components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies.
733 *Nature genetics*. 2006;38(8):904-909.
- 734 42. Janssens AC, Moonesinghe R, Yang Q, Steyerberg EW, van Duijn CM, Khoury MJ. The
735 impact of genotype frequencies on the clinical validity of genomic profiling for
736 predicting common chronic diseases. *Genetics in medicine : official journal of the*
737 *American College of Medical Genetics*. 2007;9(8):528-535.
- 738 43. Dudbridge F. Power and predictive accuracy of polygenic risk scores. *PLoS genetics*.
739 2013;9(3):e1003348.
- 740 44. Feise RJ. Do multiple outcome measures require p-value adjustment? *BMC Med Res*
741 *Methodol*. 2002;2:8.
- 742 45. Leon AC, Heo M, Teres JJ, Morikawa T. Statistical power of multiplicity adjustment
743 strategies for correlated binary endpoints. *Statistics in medicine*. 2007;26(8):1712-1723.
- 744 46. Stutzmann F, Vatin V, Cauchi S, Morandi A, Jouret B, Landt O, Tounian P, Levy-Marchal
745 C, Buzzetti R, Pinelli L, Balkau B, Horber F, Bougneres P, Froguel P, Meyre D. Non-

- 746 synonymous polymorphisms in melanocortin-4 receptor protect against obesity: the
747 two facets of a Janus obesity gene. *Human molecular genetics*. 2007;16(15):1837-1844.
748 47. Speliotes EK, Willer CJ, Berndt SI, Monda KL, Thorleifsson G, Jackson AU, Lango Allen H,
749 Lindgren CM, Luan J, Magi R, Randall JC, Vedantam S, Winkler TW, Qi L, Workalemahu T,
750 Heid IM, Steinthorsdottir V, Stringham HM, Weedon MN, Wheeler E, Wood AR, Ferreira
751 T, Weyant RJ, Segre AV, Estrada K, Liang L, Nemesh J, Park JH, Gustafsson S, Kilpelainen
752 TO, Yang J, Bouatia-Naji N, Esko T, Feitosa MF, Kutalik Z, Mangino M, Raychaudhuri S,
753 Scherag A, Smith AV, Welch R, Zhao JH, Aben KK, Absher DM, Amin N, Dixon AL, Fisher E,
754 Glazer NL, Goddard ME, Heard-Costa NL, Hoesel V, Hottenga JJ, Johansson A, Johnson T,
755 Ketkar S, Lamina C, Li S, Moffatt MF, Myers RH, Narisu N, Perry JR, Peters MJ, Preuss M,
756 Ripatti S, Rivadeneira F, Sandholt C, Scott LJ, Timpson NJ, Tyrer JP, van Wingerden S,
757 Watanabe RM, White CC, Wiklund F, Barlassina C, Chasman DI, Cooper MN, Jansson JO,
758 Lawrence RW, Pellikka N, Prokopenko I, Shi J, Thiering E, Alavere H, Alibrandi MT,
759 Almgren P, Arnold AM, Aspelund T, Atwood LD, Balkau B, Balmforth AJ, Bennett AJ, Ben-
760 Shlomo Y, Bergman RN, Bergmann S, Biebermann H, Blakemore AI, Boes T, Bonnycastle
761 LL, Bornstein SR, Brown MJ, Buchanan TA, Busonero F, Campbell H, Cappuccio FP,
762 Cavalcanti-Proenca C, Chen YD, Chen CM, Chines PS, Clarke R, Coin L, Connell J, Day IN,
763 den Heijer M, Duan J, Ebrahim S, Elliott P, Elosua R, Eiriksdottir G, Erdos MR, Eriksson JG,
764 Facheris MF, Felix SB, Fischer-Posovszky P, Folsom AR, Friedrich N, Freimer NB, Fu M,
765 Gaget S, Gejman PV, Geus EJ, Gieger C, Gjesing AP, Goel A, Goyette P, Grallert H,
766 Grassler J, Greenawalt DM, Groves CJ, Gudnason V, Guiducci C, Hartikainen AL,
767 Hassanali N, Hall AS, Havulinna AS, Hayward C, Heath AC, Hengstenberg C, Hicks AA,
768 Hinney A, Hofman A, Homuth G, Hui J, Igl W, Iribarren C, Isomaa B, Jacobs KB, Jarick I,
769 Jewell E, John U, Jorgensen T, Jousilahti P, Jula A, Kaakinen M, Kajantie E, Kaplan LM,
770 Kathiresan S, Kettunen J, Kinnunen L, Knowles JW, Kolcic I, Konig IR, Koskinen S, Kovacs
771 P, Kuusisto J, Kraft P, Kvaloy K, Laitinen J, Lantieri O, Lanzani C, Launer LJ, Lecoeur C,
772 Lehtimäki T, Lettre G, Liu J, Lokki ML, Lorentzon M, Luben RN, Ludwig B, Manunta P,
773 Marek D, Marre M, Martin NG, McArdle WL, McCarthy A, McKnight B, Meitinger T,
774 Melander O, Meyre D, Midthjell K, Montgomery GW, Morken MA, Morris AP, Mulic R,
775 Ngwa JS, Nelis M, Neville MJ, Nyholt DR, O'Donnell CJ, O'Rahilly S, Ong KK, Oostra B,
776 Pare G, Parker AN, Perola M, Pichler I, Pietiläinen KH, Platou CG, Polasek O, Pouta A,
777 Rafelt S, Raitakari O, Rayner NW, Ridderstråle M, Rief W, Ruukonen A, Robertson NR,
778 Rzehak P, Salomaa V, Sanders AR, Sandhu MS, Sanna S, Saramies J, Savolainen MJ,
779 Scherag S, Schipf S, Schreiber S, Schunkert H, Silander K, Sinisalo J, Siscovick DS, Smit JH,
780 Soranzo N, Sovio U, Stephens J, Surakka I, Swift AJ, Tammesoo ML, Tardif JC, Teder-
781 Laving M, Teslovich TM, Thompson JR, Thomson B, Tonjes A, Tuomi T, van Meurs JB, van
782 Ommen GJ, Vatin V, Viikari J, Visvikis-Siest S, Vitart V, Vogel CI, Voight BF, Waite LL,
783 Wallaschofski H, Walters GB, Widen E, Wiegand S, Wild SH, Willemsen G, Witte DR,
784 Wittteman JC, Xu J, Zhang Q, Zgaga L, Ziegler A, Zitting P, Beilby JP, Farooqi IS, Hebebrand
785 J, Huikuri HV, James AL, Kahonen M, Levinson DF, Macciardi F, Nieminen MS, Ohlsson C,
786 Palmer LJ, Ridker PM, Stumvoll M, Beckmann JS, Boeing H, Boerwinkle E, Boomsma DI,
787 Caulfield MJ, Chanock SJ, Collins FS, Cupples LA, Smith GD, Erdmann J, Froguel P,
788 Gronberg H, Gyllenstein U, Hall P, Hansen T, Harris TB, Hattersley AT, Hayes RB, Heinrich
789 J, Hu FB, Hveem K, Illig T, Jarvelin MR, Kaprio J, Karpe F, Khaw KT, Kiemeny LA, Krude H,
790 Laakso M, Lawlor DA, Metspalu A, Munroe PB, Ouwehand WH, Pedersen O, Penninx
791 BW, Peters A, Pramstaller PP, Quertermous T, Reinehr T, Rissanen A, Rudan I, Samani
792 NJ, Schwarz PE, Shuldiner AR, Spector TD, Tuomilehto J, Uda M, Uitterlinden A, Valle TT,
793 Wabitsch M, Waeber G, Wareham NJ, Watkins H, Wilson JF, Wright AF, Zillikens MC,

Rare coding variants and bariatric surgery

- 794 Chatterjee N, McCarroll SA, Purcell S, Schadt EE, Visscher PM, Assimes TL, Borecki IB,
795 Deloukas P, Fox CS, Groop LC, Haritunians T, Hunter DJ, Kaplan RC, Mohlke KL, O'Connell
796 JR, Peltonen L, Schlessinger D, Strachan DP, van Duijn CM, Wichmann HE, Frayling TM,
797 Thorsteinsdottir U, Abecasis GR, Barroso I, Boehnke M, Stefansson K, North KE,
798 McCarthy MI, Hirschhorn JN, Ingelsson E, Loos RJ. Association analyses of 249,796
799 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nature genetics*.
800 2010;42(11):937-948.
- 801 48. Pearce LR, Atanassova N, Banton MC, Bottomley B, van der Klaauw AA, Revelli JP,
802 Hendricks A, Keogh JM, Henning E, Doree D, Jeter-Jones S, Garg S, Bochukova EG,
803 Bounds R, Ashford S, Gayton E, Hindmarsh PC, Shield JP, Crowne E, Barford D, Wareham
804 NJ, O'Rahilly S, Murphy MP, Powell DR, Barroso I, Farooqi IS. KSR2 mutations are
805 associated with obesity, insulin resistance, and impaired cellular fuel oxidation. *Cell*.
806 2013;155(4):765-777.
- 807 49. Min J, Chiu DT, Wang Y. Variation in the heritability of body mass index based on diverse
808 twin studies: a systematic review. *Obesity reviews*. 2013;14(11):871-882.
- 809 50. Magi R, Manning S, Yousseif A, Pucci A, Santini F, Karra E, Querci G, Pelosini C, McCarthy
810 MI, Lindgren CM, Batterham RL. Contribution of 32 GWAS-identified common variants
811 to severe obesity in European adults referred for bariatric surgery. *PLoS one*.
812 2013;8(8):e70735.
- 813 51. Hinney A, Bettecken T, Tarnow P, Brumm H, Reichwald K, Lichtner P, Scherag A, Nguyen
814 TT, Schlumberger P, Rief W, Vollmert C, Illig T, Wichmann HE, Schafer H, Platzer M,
815 Biebrmann H, Meitinger T, Hebebrand J. Prevalence, spectrum, and functional
816 characterization of melanocortin-4 receptor gene mutations in a representative
817 population-based sample and obese adults from Germany. *The Journal of clinical
818 endocrinology and metabolism*. 2006;91(5):1761-1769.
- 819 52. Bouchard C, Tremblay A, Despres JP, Theriault G, Nadeau A, Lupien PJ, Moorjani S,
820 Prudhomme D, Fournier G. The response to exercise with constant energy intake in
821 identical twins. *Obesity research*. 1994;2(5):400-410.
- 822 53. Hollensted M, Fogh M, Schnurr TM, Kloppenborg JT, Have CT, Ruest Haarmark Nielsen T,
823 Rask J, Asp Vonsild Lund M, Frithioff-Bojsøe C, Ostergaard Johansen M, Vincent
824 Rosenbaum Appel E, Mahendran Y, Grarup N, Kadarmideen HN, Pedersen O, Holm JC,
825 Hansen T. Genetic Susceptibility for Childhood BMI has no Impact on Weight Loss
826 Following Lifestyle Intervention in Danish Children. *Obesity (Silver Spring)*.
827 2018;26(12):1915-1922.
- 828 54. Hinney A, Wolters B, Putter C, Grallert H, Illig T, Hebebrand J, Reinehr T. No impact of
829 obesity susceptibility loci on weight regain after a lifestyle intervention in overweight
830 children. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM*. 2013;26(11-12):1209-
831 1213.
- 832 55. McCaffery JM, Papandonatos GD, Huggins GS, Peter I, Kahn SE, Knowler WC, Hudnall GE,
833 Lipkin EW, Kitabchi AE, Wagenknecht LE, Wing RR. FTO predicts weight regain in the
834 Look AHEAD clinical trial. *Int J Obes (Lond)*. 2013;37(12):1545-1552.
- 835 56. Papandonatos GD, Pan Q, Pajewski NM, Delahanty LM, Peter I, Erar B, Ahmad S, Harden
836 M, Chen L, Fontanillas P, Wagenknecht LE, Kahn SE, Wing RR, Jablonski KA, Huggins GS,
837 Knowler WC, Florez JC, McCaffery JM, Franks PW. Genetic Predisposition to Weight Loss
838 and Regain With Lifestyle Intervention: Analyses From the Diabetes Prevention Program
839 and the Look AHEAD Randomized Controlled Trials. *Diabetes*. 2015;64(12):4312-4321.
- 840 57. McCaffery JM, Papandonatos GD, Huggins GS, Peter I, Erar B, Kahn SE, Knowler WC,
841 Lipkin EW, Kitabchi AE, Wagenknecht LE, Wing RR. Human cardiovascular disease IBC

Rare coding variants and bariatric surgery

- 842 chip-wide association with weight loss and weight regain in the look AHEAD trial. *Human*
843 *heredity*. 2013;75(2-4):160-174.
- 844 58. Valsesia A, Wang QP, Gheldof N, Carayol J, Ruffieux H, Clark T, Shenton V, Oyston LJ,
845 Lefebvre G, Metairon S, Chabert C, Walter O, Mironova P, Lau P, Descombes P, Viguerie
846 N, Langin D, Harper ME, Astrup A, Saris WH, Dent R, Neely GG, Hager J. Genome-wide
847 gene-based analyses of weight loss interventions identify a potential role for NKX6.3 in
848 metabolism. *Nature communications*. 2019;10(1):540.
- 849 59. van Baak MA, Mariman ECM. Mechanisms of weight regain after weight loss - the role of
850 adipose tissue. *Nature reviews Endocrinology*. 2019;15(5):274-287.
- 851 60. Carayol J, Chabert C, Di Cara A, Armenise C, Lefebvre G, Langin D, Viguerie N, Metairon
852 S, Saris WHM, Astrup A, Descombes P, Valsesia A, Hager J. Protein quantitative trait
853 locus study in obesity during weight-loss identifies a leptin regulator. *Nature*
854 *communications*. 2017;8(1):2084.
- 855 61. de Toro-Martin J, Guenard F, Tchernof A, Perusse L, Marceau S, Vohl MC. Polygenic risk
856 score for predicting weight loss after bariatric surgery. *JCI insight*. 2018;3(17).
- 857 62. Aasbrenn M, Schnurr TM, Have CT, Svendstrup M, Hansen DL, Worm D, Balslev-Harder
858 M, Hollensted M, Grarup N, Burgdorf KS, Vestergaard H, Pedersen O, Sorensen TIA,
859 Fenger M, Madsbad S, Hansen T. Genetic Determinants of Weight Loss After Bariatric
860 Surgery. *Obesity surgery*. 2019;29(8):2554-2561.
- 861 63. Bandstein M, Voisin S, Nilsson EK, Schultes B, Ernst B, Thurnheer M, Benedict C, Mwinyi
862 J, Schioth HB. A Genetic Risk Score Is Associated with Weight Loss Following Roux-en Y
863 Gastric Bypass Surgery. *Obesity surgery*. 2016;26(9):2183-2189.
- 864 64. Hatoum IJ, Greenawalt DM, Cotsapas C, Reitman ML, Daly MJ, Kaplan LM. Heritability of
865 the weight loss response to gastric bypass surgery. *The Journal of clinical endocrinology*
866 *and metabolism*. 2011;96(10):E1630-1633.
- 867 65. Hatoum IJ, Greenawalt DM, Cotsapas C, Daly MJ, Reitman ML, Kaplan LM. Weight loss
868 after gastric bypass is associated with a variant at 15q26.1. *American journal of human*
869 *genetics*. 2013;92(5):827-834.
- 870 66. Rinella ES, Still C, Shao Y, Wood GC, Chu X, Salerno B, Gerhard GS, Ostrer H. Genome-
871 wide association of single-nucleotide polymorphisms with weight loss outcomes after
872 Roux-en-Y gastric bypass surgery. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*.
873 2013;98(6):E1131-1136.
- 874 67. Farias G, Netto BDM, Boritza KC, Bettini SC, Damaso AR, de Freitas ACT. Mechanisms of
875 sustained long-term weight loss after RYGB: alpha-MSH is a key factor. *Neuropeptides*.
876 2018;69:60-65.
- 877 68. Zakeri R, Batterham RL. Potential mechanisms underlying the effect of bariatric surgery
878 on eating behaviour. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity*.
879 2018;25(1):3-11.
- 880
- 881

Table 1. Genotyping quality control summary in OBESEPI and FREX studies.

BMI-increasing rare/low-frequency variants								
Rs number / amino acid change (gene)	Genotype count OBESEPI	Minor allele frequency OBESEPI	Genotyping call rate OBESEPI	Hardy-Weinberg equilibrium <i>P</i> OBESEPI	Genotype count FREX	Minor allele frequency FREX	Genotyping call rate FREX	Hardy-Weinberg equilibrium <i>P</i> FREX
rs141845046/ p.Pro224Ser (ZBTB7B)	323 CC, 19 CT, 0 TT	2.78%	100%	0.60	544 CC, 30 CT, 0 TT	2.61%	100%	0.52
rs1799805/ p.His353Asn (ACHE)	300 GG, 42 GT, 0 TT	6.14%	100%	0.23	517 GG, 54 GT, 3 TT	5.23%	100%	0.23
rs145878042/ p.Leu300Pro (RAPGEF3)	334 AA, 8 AG, 0 GG	1.17%	100%	0.83	562 AA, 12 AG, 0 GG	1.05%	100%	0.80
rs1126930/ p.Thr98Ser (PRKAG1)	322 GG, 20 GC, 0 CC	2.92%	100%	0.58	541 GG, 33 GC, 0 CC	2.87%	100%	0.48
rs61754230/ p.Ser224Phe (RAB21)	331 CC, 11 CT, 0 TT	1.61%	100%	0.76	544 CC, 30 CT, 0 TT	2.61%	100%	0.52
rs56214831/ p.Arg554Gln (KSR2)	336 CC, 6 CT, 0 TT	0.88%	100%	0.87	563 CC, 11 CT, 0 TT	0.96%	100%	0.82
BMI-decreasing rare/low-frequency variants								
Rs number / amino acid change (gene)	Genotype count OBESEPI	Minor allele frequency OBESEPI	Genotyping call rate OBESEPI	Hardy-Weinberg equilibrium <i>P</i> OBESEPI	Genotype count FREX	Minor allele frequency FREX	Genotyping call rate FREX	Hardy-Weinberg equilibrium <i>P</i> FREX
rs34149579/ p.Cys938Phe (HIP1R)	316 GG, 24 GT, 2 TT	4.09%	100%	0.05	511 GG, 60 GT, 3 TT	5.75%	100%	0.40
rs62051555/ p.Gln2014His (ZFHX3)	319 CC, 23 CG, 0 GG	3.36%	100%	0.52	526 CC, 47 CG, 1 GG	4.27%	100%	0.96
rs6050446/ p.Lys202Glu	324 GG, 18 GA, 0 AA	2.63%	100%	0.62	545 GG, 29 GA, 0 AA	2.53%	100%	0.53

<i>(ENTPD6)</i>								
rs45465594/ p.Ile718Met (ZFR2)	330 AA, 12 AC, 0 CC	1.75%	100%	0.74	544 AA, 29 AC, 1 CC	2.70%	100%	0.36
rs12236219/ p.Arg381Cys (ZNF169)	317 CC, 25 CT, 0 TT	3.65%	100%	0.48	542 CC, 32 CT, 0 TT	2.79%	100%	0.49

Table 2. General characteristics of the OBESEPI and FREX studies.

Trait	OBESEPI	FREX	P-value
Sample size	N= 342	N= 574	-
Female, N (%)	266 (77.78)	322 (56.10)	2.6x10⁻¹¹
Age (years)	43.08 ± 11.48 (342)	66.71 ± 18.71 (479)	1.7x10⁻⁸⁶
Risk genetic score, N (%) (carriers of 0, 1, 2, 3 variants)	248 (72.51), 83 (24.27), 10 (2.92), 1 (0.29)	427 (74.39), 123 (21.43), 19 (3.31), (0.87)	0.56
Protective genetic score, N (%) (carriers of 0, 1, 2, 3 variants)	247 (72.22), 85 (24.85), 9 (2.63), 1 (0.29)	403 (70.21), 139 (24.22), 28 (4.88), 4 (0.70)	0.32
Diabetes, N (%) preoperative visit (period 1)	146 (42.69)	-	-
Dyslipidemia, N (%) preoperative visit (period 1)	244 (71.35)	-	-
Hypertension, N (%) preoperative visit (period 1)	130 (38.01)	-	-
BMI (kg/m ²) preoperative visit (period 1)	46.04 ± 6.72 (342)	-	-
Laparoscopic gastric bypass day of surgery (period 2)	269 (85.40)	-	-
Laparoscopic sleeve gastrectomy day of surgery (period 2)	36 (11.43)	-	-
Biliopancreatic diversion day of surgery (period 2)	6 (1.90)	-	-
Laparoscopic gastric banding day of surgery (period 2)	4 (1.27)	-	-
BMI (kg/m ²) day of surgery (period 2)	46.60 ± 6.98 (330)	-	-
Number of days between period 1 and period 2	497.72 ± 286.57 (330)	-	-
BMI (kg/m ²) 1-month postoperative visit (period 3)	41.45 ± 6.71 (295)	-	-
Number of days between period 2 and period 3	54.69 ± 52.86 (295)	-	-
BMI (kg/m ²) 6-month postoperative visit (period 4)	36.05 ± 7.01 (255)	-	-
Number of days between period 2 and period 4	196.89 ± 116.59 (255)	-	-
BMI (kg/m ²) 12-month postoperative visit (period 5)	32.66 ± 6.79 (208)	-	-
Number of days between period 2 and period 5	357.35 ± 172.35 (208)	-	-
BMI (kg/m ²) 18-month	31.59 ± 6.92 (171)	-	-

postoperative visit (period 6)			
Number of days between period 2 and period 6	533.16 ± 197.74 (171)	-	-
BMI (kg/m²) 24-month postoperative visit (period 7)	30.96 ± 6.93 (142)	-	-
Number of days between period 2 and period 7	718.64 ± 218.90 (142)	-	-

Data are expressed as mean ± standard deviation (N) and N (%). Abbreviations: BMI, body mass index. Differences in ratios were analyzed using the X² test. Differences in means were analyzed using the Student's t-test. Significant p values (p<0.05) are reported in bold.

Table 3. Association between risk/protective genetic scores and study outcomes.

	Severe/morbid obesity status ^a	BMI preoperative visit ^b	BMI change in response to lifestyle/behavioral modification ^c	Success of lifestyle/behavioral modification ^d	BMI trajectory in response to bariatric surgery ^e	Success of bariatric surgery ^f
Risk GS continuous	1.07 [0.77-1.48] (0.69) ^g	0.39±0.68 (0.57) ^h	0.24±0.28 (0.38) ^h	0.96 [0.62-1.51] (0.87) ^g	0.03±0.04 (0.48) ^h	0.48 [0.25-0.94] (0.033)^g
Risk GS binary	1.05 [0.71-1.57] (0.79) ^g	0.39±0.82 (0.64) ^h	0.31±0.34 (0.36) ^h	1.09 [0.64-1.87] (0.75) ^g	0.02±0.05 (0.70) ^h	0.45 [0.21-0.97] (0.041)^g
Protective GS continuous	0.71 [0.52-0.96] (0.025)^g	1.19±0.68 (0.083) ^h	0.04±0.28 (0.88) ^h	1.03 [0.66-1.60] (0.90) ^g	-0.10±0.04 (0.011)^h	1.64 [0.88-3.06] (0.12) ^g
Protective GS binary	0.72 [0.49-1.06] (0.094) ^g	1.14±0.82 (0.16) ^h	0.13±0.34 (0.69) ^h	1.12 [0.66-1.90] (0.67) ^g	-0.11±0.05 (0.035)^h	2.45 [1.08-5.54] (0.032)^g

^aOBESSEPI and FREX, logistic regression adjusted for age and sex; ^bOBESSEPI, linear regression adjusted for age and sex; ^cOBESSEPI, linear regression adjusted for age, sex, BMI at the preoperative visit, and number of days of lifestyle / behavioral modification; ^dOBESSEPI, logistic regression adjusted for age, sex, BMI at the preoperative visit, and number of days of lifestyle / behavioral modification; ^eOBESSEPI, mixed linear regression adjusted for age, sex, type of surgery, and number of days since surgery for each postoperative visit; ^fOBESSEPI, logistic regression adjusted for age, sex, BMI at surgery, and type of surgery; ^godds-ratio [95% confidence interval] (P-value); ^hbeta ± standard error (P-value). Abbreviations: BMI, body mass index; GS, genetic score.

CHAPITRE VIII.

CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

CONCLUSIONS

La présente thèse est basée sur une approche intégrative des expositions environnementales, génétiques et épigénétiques afin de définir le phénotype clinique du patient atteint d'obésité avant et après la chirurgie bariatrique. Considérant la complexité de l'obésité, il était important d'étudier la maladie dans une vue intégrative qui peut permettre une meilleure compréhension des interactions complexes entre les facteurs génétiques et les expositions environnementales. L'obésité est un trait héréditaire (W. Yang et al., 2007), et l'essentiel des recherches précédentes se sont concentrées sur l'identification de variants fréquents associés à l'IMC et à l'obésité (Ruth J.F. Loos, 2009; Mägi et al., 2013). Néanmoins, une étude récente a identifié 14 variants codants rares/peu fréquents en association avec l'IMC (Turcot et al., 2018). Nous avons émis l'hypothèse que :

- 1) Les participants suivis pour chirurgie bariatrique étaient déficients en vitamine B12 et en autres micronutriments après la chirurgie ;
- 2) Les variants codants rares/peu fréquents associés à l'IMC en population générale ont un impact sur la réponse à la chirurgie bariatrique des patients adultes atteints d'obésité morbide dans la population d'origine européenne ;
- 3) La méthylation de l'ADN chez les patients avec un phénotype obèse est influencée par la chirurgie bariatrique.

Ce manuscrit aborde ces trois hypothèses avec les objectifs spécifiques suivants :

1. Explorer le déficit en vitamine B12 par rapport aux autres micronutriments lors du suivi d'une cohorte française de cas ayant subi une chirurgie bariatrique sous supplémentation systématique en multivitamines/oligo-éléments.

2. Déterminer la contribution des 11 variants codants rares/peu fréquents associés à l'IMC en population générale chez 342 adultes français atteints d'obésité sévère/morbide d'origine européenne et 574 adultes français en bonne santé témoins dans la population générale en tenant compte des paramètres tels que : le risque d'obésité, le statut avant l'intervention, la réponse à un programme d'intervention comportementale/mode de vie de 18 mois, et la réponse à la chirurgie bariatrique pendant un suivi allant jusqu'à 14 mois.

3. Évaluer le profil de méthylation de l'ADN dans différents ensembles de tissus tels que le foie et la graisse viscérale adipeuse, et le sang total du phénotype obèse.

Les principales conclusions

1. Déficit en vitamine B12 par rapport aux micronutriments.

Cette étude s'inspire de plusieurs études publiées antérieurement démontrant que les patients bénéficiant de chirurgie bariatrique ont tendance à présenter un risque plus élevé de carences nutritionnelles avant et après l'opération. Elle a exploré le déficit en vitamine B12 par rapport aux autres micronutriments au cours du suivi. Nous nous sommes concentrés sur les déterminants de la carence en vitamine B12 après la chirurgie indépendamment de la supplémentation en vitamine B12. Nous avons constaté que les patients subissant une chirurgie bariatrique lors de la première visite (2 mois) après une chirurgie bariatrique sont plus susceptibles de présenter une carence en micronutriments tels que la vitamine D, le fer et le folate, tandis que pour la vitamine B12, les patients sont

plus susceptibles d'être carencés lors des visites ultérieures suivantes. La déficience en vitamine B12 à la chirurgie était un prédicteur fort de l'aggravation du statut B12 dans les 18 à 24 mois après la chirurgie, malgré la supplémentation en vitamine B12. En fin de compte, l'association de la B12 avec le score APRI de la NAFLD suggère que les patients avec une faible concentration de B12 à la chirurgie a altéré la circulation entéro-hépatique qui pourrait réduire les réserves corporelles de B12 et augmenter le risque d'avoir un déficit après les 2 mois post-opératoires.

2. Variants génétiques codants rares/peu fréquents et chirurgie bariatrique.

Dans l'étude II de cette thèse, les variants génétiques rares/peu fréquents associés à l'IMC dans la population générale ont été sélectionnés pour étudier 1) le risque d'obésité sévère/morbide 2) la variation de l'IMC avant l'intervention, chez les patients atteints d'obésité morbide, 3) les modifications de l'IMC en réponse au mode de vie/modifications du comportement, 4) modifications de l'IMC en réponse à la chirurgie bariatrique chez les patients atteints d'obésité morbide en utilisant une approche basée sur des hypothèses. Un SG à risque et protecteur basé sur ces variants a été étudié dans les cohortes OBESEPI et FREX. Nous avons constaté que ni le SG à risque ni le SG protecteur n'étaient associés à l'IMC avant l'intervention chez les personnes atteintes d'obésité sévère morbide, ni d'impact sur les changements d'IMC en réponse au programme de modification du mode de vie/comportement. Le SG protecteur était associé à une diminution plus rapide de l'IMC après une chirurgie bariatrique. Enfin, les SG à risque et protecteur étaient associés à des risques respectivement plus ou moins élevés de regain d'IMC après une chirurgie bariatrique.

3. Profils de méthylation de l'ADN du phénotype obèse en utilisant différents ensembles de tissus.

L'étude III de cette thèse a abordé la comparaison du profil de méthylation de l'ADN chez les patients atteints d'obésité à celui des individus en bonne santé en utilisant une nouvelle approche analytique développée au sein de l'unité INSERM UMR_S 1256 et qui a permis d'optimiser le ratio signal/bruit de fond à l'échelle du méthylome et de déterminer les signatures épigénétiques potentiellement associées avec le phénotype d'obésité. Nous avons mis en évidence 7 loci significatifs dans le sang total, dont 5 ont été confirmés dans le tissu hépatique, ces derniers étant connus pour être des gènes sous empreinte génétique. Nous avons ensuite étudié les profils de méthylation de l'ADN en utilisant différents sets de données indépendants issus de la base de données GEO. Les résultats ont confirmé les loci significatifs trouvés dans le sang total et le foie, mais pas dans le tissu adipeux viscéral. Ces résultats ont démontré la relation qui peut exister entre les tissus potentiellement impliqués dans les aspects mécanistiques au cours de l'obésité.

En résumé, ces travaux suggèrent en premier lieu que les patients bariatriques doivent être suivis de manière systématique pour prévenir une carence en micronutriments suite à une chirurgie bariatrique, et certains patients ont besoin d'une supplémentation plus spécifique et adaptée qui pourrait les aider à prévenir la carence en micronutriments avant et après chirurgie. Dans un second temps, nos données mettent en lumière des variants codants rares/peu fréquents chez les personnes atteintes d'obésité d'origine européenne, montrant qu'une diminution ou une augmentation de l'IMC d'origine génétique dans la population

générale, peut ne pas avoir d'impact sur la modification de l'IMC en réponse à une modification du mode de vie/comportementale dans le contexte de l'obésité sévère/morbide. Une prévalence plus faible des variants protecteurs chez les patients atteints d'obésité sévère/morbide a été démontrée, et les variants à risque et protecteur ont respectivement montré des risques plus ou moins élevés de reprise de l'IMC après une chirurgie bariatrique. En troisième lieu, nos données de méthylation de l'ADN à l'échelle du génome pour différents ensembles de tissus afin d'identifier de nouveaux gènes ou paires de gènes associés à l'obésité ont montré une corrélation claire entre le foie et le tissu adipeux viscéral. Dans l'ensemble, ces travaux fournissent la preuve qu'une approche intégrative pour étudier l'obésité est essentielle pour comprendre la physiopathologie du phénotype obèse.

PERSPECTIVES

La conception de cette thèse est basée sur une analyse de suivi longitudinal en cours dont la taille de l'échantillon ne représentait qu'une petite proportion du pourcentage prévu pour la durée de suivi cible de 10 ans. Plus de recrutement et de suivi est nécessaire soit pour l'achèvement des phénotypes d'intérêt, ainsi que pour l'achèvement des suivis. Ce suivi nécessitera à la fois la collaboration de l'équipe multidisciplinaire et des participants impliqués dans l'étude, ce qui assurera un meilleur suivi et la collecte des données de suivi. Cela contribuera également à la poursuite de l'étude du génome, de l'épigénome et transcriptome, ainsi que le microbiome et les biomarqueurs pour compléter le tableau de cette étude intégrative.

La principale mesure anthropométrique dans cette cohorte d'étude pour évaluer le statut pondéral était l'IMC, qui est la mesure la plus couramment utilisée pour évaluer la corpulence. C'est une technique simple, facile à faire et peu coûteuse. Bien qu'il s'agisse de la mesure la plus couramment utilisée dans la littérature, elle ne permet pas de faire la distinction entre la masse maigre et la masse grasse et ne fournit aucune indication sur la répartition de la graisse corporelle (Villareal et al., 2005). Il serait donc important de mesurer la graisse corporelle à l'aide d'autres mesures plus acceptables et fiables telles que la DEXA qui est considérée comme l'un des tests de composition corporelle les plus précis et complets puisque la DEXA estime la masse grasseuse totale et la masse grasseuse régionale dans le tronc, les bras, et les jambes, ainsi que la masse maigre et la teneur en minéraux osseux (Adab et al., 2018). La mesure de ce paramètre serait essentielle pour

évaluer plus précisément la graisse corporelle des patients atteints d'obésité sévère/morbide impliqués dans cette cohorte.

Afin d'étudier toutes les variations génétiques associées à l'IMC ou à l'obésité dans cette cohorte d'étude française (OBESEPI), compléter l'ensemble de données de la puce exome par le génotypage d'une puce à ADN génome entier peut permettre d'identifier plus de variants génétiques associés aux différents paramètres étudiés dans cette cohorte. Une autre étape dans l'exploration de toutes les variations génétiques associées à l'IMC ou à l'obésité dans la cohorte OBESEPI sera le séquençage. Pour l'instant, la cohorte OBESEPI n'a été génotypée qu'avec une puce exome personnalisée, donc générer des données de séquençage de l'exome entier ou du génome entier dans cette cohorte sera un plus pour évaluer des variants codants rares qui peuvent avoir un impact sur les variations d'IMC dans cette population, et pourra donner un meilleur aperçu de la génétique du phénotype obèse dans cette population adulte d'origine européenne atteinte d'obésité sévère/morbide.

L'objectif principal de cette thèse était l'étude intégrative de la génétique et l'épigénétique du patient atteint d'obésité avant et après la chirurgie bariatrique. En plus des études discutées au chapitre 5, il existe plusieurs études supplémentaires sur lesquelles se concentrer dans le futur pour mieux comprendre la définition du phénotype obèse avant et après l'opération. Comme discuté dans l'étude III concernant le méthylome, comprendre la complexité de l'obésité ne serait pas possible sans une image complète de la génétique, de l'épigénétique, de la transcriptomique, de la métabolomique et du microbiome

intestinal. L'intégration des données sur l'épigénome et le transcriptome est importante pour appréhender les interactions entre la génétique et les modifications épigénétiques et la régulation de l'expression des gènes. L'intégration de ces approches et des expositions environnementales pourrait non seulement aider à déchiffrer le phénotype obèse, mais aussi aider à identifier les individus à risque de développer la maladie, ce qui peut également contribuer à une prévention ciblée et à une médecine personnalisée.

L'étude basée sur la méthylation de l'ADN reste préliminaire, et compléter la taille de l'échantillon permettra d'identifier des biomarqueurs impliqués dans la physiopathologie de la maladie. De plus, il est important d'utiliser des études épidémiologiques plus larges afin de détecter les associations entre les profils de méthylation de l'ADN dans les différents ensembles de tissus utilisés dans cette étude. L'étude de la méthylation de l'ADN décrite ici a exploré les profils de méthylation de l'ADN dans les tissus qui sont pertinents pour l'obésité, considérant que la méthylation de l'ADN est spécifique au tissu (Lokk et al., 2016). Un échantillon plus large est également nécessaire pour détecter des associations qui pourraient être validées ultérieurement dans d'autres populations et pourraient éventuellement être validées par des études fonctionnelles, ce qui pourrait aider à mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la maladie de l'obésité.

Au-delà de l'étude des différents facteurs contribuant à l'obésité et à la réponse aux interventions, il serait d'un grand intérêt d'intégrer ces connaissances de manière à nous aider à mieux prédire et prévenir voire guérir l'obésité, et développer de nouvelles approches thérapeutiques. Serait-il possible ou utopique de rêver de médecine de précision

lorsque l'approche « taille unique » dans le traitement des patients atteints d'obésité ne fournit pas les résultats attendus chez les patients, car très souvent, un traitement qui pourrait bénéficier à un patient ne produira pas le même impact sur un autre patient. Le but de la médecine de précision est de considérer la complexité biologique, génétique et métabolique de chaque individu afin de fournir le bon traitement au bon individu au bon moment, ce qui peut avoir un impact décisif sur la vie et le bien-être de l'individu (Ramaswami, Bayer, & Galea, 2018). La médecine de précision pour l'obésité est aujourd'hui loin d'avoir cet élan nécessaire qui pourrait changer le traitement de l'obésité, mais la recherche, telle que la présente étude avance dans la bonne direction pour aider à construire et à collecter les données qui aideront à la prévention, à la prédiction et à la prescription de traitements efficaces.

Avant même d'envisager la médecine de précision, il serait particulièrement important de concentrer notre intérêt sur une nutrition préventive qui pourrait aider à comprendre comment les nutriments alimentaires et autres composés bioactifs impactent le métabolisme humain et de comprendre les mécanismes sous-jacents à cet impact. Cela pourrait conduire à une meilleure compréhension de l'obésité et de ses complications, et contribuerait également à réduire la prévalence de l'obésité. L'intérêt de la nutrition préventive est d'aider les gens à vivre plus longtemps et en meilleure santé, (Fardet & Rock, 2015). Les approches réductionnistes et holistiques aident à clarifier l'état actuel de la recherche en nutrition humaine. L'approche réductionniste considère que la complexité de la maladie ne peut être étudiée, c'est-à-dire isole les causes d'un phénomène un à un. L'approche holistique vise à étudier les connections entre multiples systèmes (par exemple

la biologie des systèmes) (Fardet & Rock, 2018). Une approche holistique est utile pour amener les épidémiologistes nutritionnels à trouver des associations entre le risque de maladie et les régimes alimentaires complexes et/ou la qualité de vie globale plutôt qu'avec un seul nutriment, un aliment ou un groupe alimentaire. Les deux approches se complètent dans la prévention de la médecine nutritionnelle, ce qui pourrait conduire à une meilleure compréhension des expositions qui caractérisent les individus en santé dans leur propre environnement et à identifier les comportements, ainsi que la physiologie et la prise alimentaire de manière plus pratique (Fardet & Rock, 2018). Étant donné que la médecine de précision a encore un long chemin à parcourir, la nutrition de transition avec les deux approches (réductionniste et holistique) pourrait aider à prévenir de multiples complications liées à la santé telles que l'obésité.

Dans l'ensemble, résoudre le problème de l'obésité dans le monde est très complexe, mais il serait d'une grande importance de trouver des traitements thérapeutiques percutants afin d'éradiquer cette maladie. Son élimination aurait également un impact considérable sur d'autres maladies liées à l'obésité. Par exemple, aujourd'hui, l'obésité et le surpoids expliquent jusqu'à 65% du risque attribuable de DT2 dans la population mondiale, car on sait que la distribution des graisses est un déterminant important du risque élevé de DT2 (George A. Bray, 2004). Par conséquent, le DT2 et d'autres problèmes de santé néfastes liés à la distribution des graisses bénéficieraient grandement de l'élimination de cette pandémie sanitaire majeure. En d'autres termes, trouver une solution pour vaincre l'obésité, qui est l'un des principaux fardeaux sanitaires et économiques de notre époque, aurait un impact majeur sur la santé générale des populations.

BIBLIOGRAPHIE

- Aarts, E. O., Van Wageningen, B., Janssen, I. M. C., & Berends, F. J. (2012). Prevalence of anemia and related deficiencies in the first year following laparoscopic gastric bypass for morbid obesity. *Journal of Obesity*, 2012(January 2005).
<https://doi.org/10.1155/2012/193705>
- Aasbrenn, M., Schnurr, T. M., Have, C. T., Svendstrup, M., Hansen, D. L., Worm, D., ... Hansen, T. (2019). Genetic Determinants of Weight Loss After Bariatric Surgery. *Obesity Surgery*. <https://doi.org/10.1007/s11695-019-03878-5>
- Abadi, A., Alyass, A., Robiou du Pont, S., Bolker, B., Singh, P., Mohan, V., ... Meyre, D. (2017). Penetrance of Polygenic Obesity Susceptibility Loci across the Body Mass Index Distribution. *American Journal of Human Genetics*, 101(6), 925–938.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.10.007>
- Abarca-Gómez, L., Abdeen, Z. A., Hamid, Z. A., Abu-Rmeileh, N. M., Acosta-Cazares, B., Acuin, C., ... Ezzati, M. (2017). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. *The Lancet*, 390(10113), 2627–2642. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32129-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32129-3)
- Adab, P., Pallan, M., & Whincup, P. H. (2018). Is BMI the best measure of obesity? *BMJ (Online)*, 360(March), 15–16. <https://doi.org/10.1136/bmj.k1274>
- Akiyama, M., Okada, Y., Kanai, M., Takahashi, A., Momozawa, Y., Ikeda, M., ... Kamatani, Y. (2017). Genome-wide association study identifies 112 new loci for body mass index in the Japanese population. *Nature Genetics*, 49(10), 1458–1467. <https://doi.org/10.1038/ng.3951>
- Akoh, J. A. (2011). *World Journal of Transplantation*, 1(1), 4–12.
<https://doi.org/10.5500/wjt.v1.i1.4>
- Albuquerque, D., Nóbrega, C., Manco, L., & Padez, C. (2017). The contribution of genetics and environment to obesity. *British Medical Bulletin*, 123(1), 159–173.
<https://doi.org/10.1093/bmb/ldx022>
- Allison, D. B., Kaprio, J., Korkeila, M., Koskenvuo, M., Neale, M. C., & Hayakawa, K. (1996). The heritability of body mass index among an international sample of monozygotic twins reared apart. *International Journal of Obesity*, 20(6), 501–506.
- Almén, M. S., Jacobsson, J. A., Moschonis, G., Benedict, C., Chrousos, G. P., Fredriksson, R., & Schiöth, H. B. (2012). Genome wide analysis reveals association of a FTO gene variant with epigenetic changes. *Genomics*, 99(3), 132–137.
<https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2011.12.007>
- Alonso, R., Fariás, M., Alvarez, V., & Cuevas, A. (2015). The Genetics of Obesity. *Translational Cardiometabolic Genomic Medicine*, (October), 161–177.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799961-6.00007-X>
- Alvarez-Leite, J. I. (2004). Nutrient deficiencies secondary to bariatric surgery. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 7(5), 569–575. <https://doi.org/10.1097/00075197-200409000-00010>
- Angrisani, L., Santonicola, A., Iovino, P., Formisano, G., Buchwald, H., & Scopinaro, N. (2015). Bariatric Surgery Worldwide 2013. *Obesity Surgery*, 25(10), 1822–1832.
<https://doi.org/10.1007/s11695-015-1657-z>
- Aryee, M. J., Jaffe, A. E., Corrada-Bravo, H., Ladd-Acosta, C., Feinberg, A. P., Hansen, K. D., & Irizarry, R. A. (2014). Minfi: A flexible and comprehensive Bioconductor package for the analysis of Infinium DNA methylation microarrays. *Bioinformatics*, 30(10), 1363–1369.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu049>

- Aslan, I., Ranadive, S. A., & Rogers, S. J. (2015). deficiency, *35*(3), 457–461.
<https://doi.org/10.1038/ijo.2010.168>.Bariatric
- Atallah, R., Fillion, K. B., Wakil, S. M., Genest, J., Joseph, L., Poirier, P., ... Eisenberg, M. J. (2014). Long-term effects of 4 popular diets on weight loss and cardiovascular risk factors: A systematic review of randomized controlled trials. *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes*, *7*(6), 815–827. <https://doi.org/10.1161/CIRCOUTCOMES.113.000723>
- Bandstein, M., Voisin, S., Nilsson, E. K., Schultes, B., Ernst, B., Thurnheer, M., ... Schiöth, H. B. (2016). A Genetic Risk Score Is Associated with Weight Loss Following Roux-en Y Gastric Bypass Surgery. *Obesity Surgery*, *26*(9), 2183–2189.
<https://doi.org/10.1007/s11695-016-2072-9>
- Barajas-Olmos, F., Centeno-Cruz, F., Zerrweck, C., Imaz-Rosshandler, I., Martínez-Hernández, A., Cordova, E. J., ... Orozco, L. (2018). Altered DNA methylation in liver and adipose tissues derived from individuals with obesity and type 2 diabetes. *BMC Medical Genetics*, *19*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12881-018-0542-8>
- Barcelos, S., Marques, M., Zampiere, G., Pc, S., Rs, T., & Dl, W. (2015). Deficiency and Supplementation of Water-Soluble Vitamins in Obese Patients Undergoing Roux-En-Y Gastric Bypass, *2*(4), 1028.
- Barhouch, A. S., Padoin, A. V., Casagrande, D. S., Chatkin, R., Süssenbach, S. P., Pufal, M. A., ... Mottin, C. C. (2016). Predictors of Excess Weight Loss in Obese Patients After Gastric Bypass: a 60-Month Follow-up. *Obesity Surgery*, *26*(6), 1178–1185.
<https://doi.org/10.1007/s11695-015-1911-4>
- Barker, D. J. P. (2004). The Developmental Origins of Adult Disease. *Journal of the American College of Nutrition*, *23*(sup6), 588S-595S.
<https://doi.org/10.1080/07315724.2004.10719428>
- Barker DJP. (1990). The fetal and infant origins of adult disease The womb may be more important than the home. *Bmj*, (156), 1990.
- Barres, R., Kirchner, H., Rasmussen, M., Yan, J., Kantor, F. R., Krook, A., ... Zierath, J. R. (2013). Weight Loss after Gastric Bypass Surgery in Human Obesity Remodels Promoter Methylation. *Cell Reports*, *3*(4), 1020–1027. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.03.018>
- Bavaresco, M., Paganini, S., Lima, T. P., Salgado, W., Ceneviva, R., Dos Santos, J. E., & Nonino-Borges, C. B. (2010). Nutritional course of patients submitted to bariatric surgery. *Obesity Surgery*, *20*(6), 716–721. <https://doi.org/10.1007/s11695-008-9721-6>
- Bell, C. G., Finer, S., Lindgren, C. M., Wilson, G. A., Rakyant, V. K., Teschendorff, A. E., ... Hitman, G. A. (2010). Integrated genetic and epigenetic analysis identifies haplotype-specific methylation in the FTO type 2 diabetes and obesity susceptibility locus. *PLoS ONE*, *5*(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014040>
- Benton, M. C., Johnstone, A., Eccles, D., Harmon, B., Hayes, M. T., Lea, R. A., ... Macartney-Coxson, D. (2015). An analysis of DNA methylation in human adipose tissue reveals differential modification of obesity genes before and after gastric bypass and weight loss. *Genome Biology*, *16*(1), 1–21. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0569-x>
- Benzinou, M., Creemers, J. W. M., Choquet, H., Lobbens, S., Dina, C., Durand, E., ... Froguel, P. (2008). Common nonsynonymous variants in PCSK1 confer risk of obesity. *Nature Genetics*, *40*(8), 943–945. <https://doi.org/10.1038/ng.177>
- Berndt, S. I., Gustafsson, S., Mägi, R., Ganna, A., Wheeler, E., Feitosa, M. F., ... Ingelsson, E. (2013). Genome-wide meta-analysis identifies 11 new loci for anthropometric traits and provides insights into genetic architecture. *Nature Genetics*, *45*(5), 501–512.
- Bhandari, M., Fobi, M. A. L., Buchwald, J. N., Abbass, A., Abu Dayyeh, B. K., Alamo, M., ...

- Zundel, N. (2019). Standardization of Bariatric Metabolic Procedures: World Consensus Meeting Statement. *Obesity Surgery*, 29, 309–345. <https://doi.org/10.1007/s11695-019-04032-x>
- Bilenberg, N., Hougaard, D., Norgaard-Pedersen, B., Nordenbæk, C. M., & Olsen, J. (2011). Twin study on transplacental-acquired antibodies and attention deficit/hyperactivity disorder - A pilot study. *Journal of Neuroimmunology*, 236(1–2), 72–75. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2011.04.012>
- Bird, A. (2007). Perceptions of epigenetics. *Nature*, 447(7143), 396–398. <https://doi.org/10.1038/nature05913>
- Bison, A., Marchal-Bressenot, A., Li, Z., Elamouri, I., Feigerlova, E., Peng, L., ... Gueánt-Rodriguez, R. M. (2016). Foetal programming by methyl donor deficiency produces steato-hepatitis in rats exposed to high fat diet. *Scientific Reports*, 6(October), 1–14. <https://doi.org/10.1038/srep37207>
- Blüher, M. (2019). Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nature Reviews Endocrinology*. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0176-8>
- Boehnke, M., Stefansson, K., North, K., McCarthy, M., Hirschhorn, J., Ingelsson, E., & Loos, R. (2010). Association analyses of 249,796 individuals reveal eighteen new loci associated with body mass index. *Nature Genetics*, 42(11), 937–948. <https://doi.org/10.1038/ng.686>.Association
- Bolme, P., Borgstrom, B., & Carlstrom, K. (1995). Longitudinal study of adrenocortical function following allogeneic bone marrow transplantation in children. *Hormone Research*, 43(6), 279–285. <https://doi.org/10.1159/000184311>
- Bonafini, B. A., & Pozzilli, P. (2011). Body weight and beauty: The changing face of the ideal female body weight. *Obesity Reviews*, 12(1), 62–65. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2010.00754.x>
- Bonnefond, A., Keller, R., Meyre, D., Stutzmann, F., Thuillier, D., Stefanov, D. G., ... Kral, J. G. (2016). Eating Behavior, low-frequency functional mutations in the melanocortin-4 receptor (MC4R) gene, and outcomes of bariatric operations: A 6-year prospective study. *Diabetes Care*, 39(8), 1384–1392. <https://doi.org/10.2337/dc16-0115>
- Bouchard, C., Tremblay, A., Després, J. -P, Thériault, G., Nadeauf, A., Lupien, P. J., ... Fournier, G. (1994). The Response to Exercise with Constant Energy Intake in Identical Twins. *Obesity Research*, 2(5), 400–410. <https://doi.org/10.1002/j.1550-8528.1994.tb00087.x>
- Bradfield, J. P., Taal, H. R., Timpson, N. J., Scherag, A., Warrington, N. M., Hypponen, E., ... Der, R. J. P. Van. (2012). NIH Public Access childhood obesity loci. *Nature Genetics*, 44(5), 526–531. <https://doi.org/10.1038/ng.2247>.A
- Brancati, F. L., Kao, W. H. L., Folsom, A. R., Watson, R. L., & Szklo, M. (2000). Incident type 2 diabetes mellitus in African American and white adults: The atherosclerosis risk in communities study. *Journal of the American Medical Association*, 283(17), 2253–2259. <https://doi.org/10.1001/jama.283.17.2253>
- Bray, G. A. (1998). Obesity: A time bomb to be defused. *Lancet*, 352(9123), 160–161. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)22029-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)22029-0)
- Bray, George A. (2004). Medical consequences of obesity. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(6), 2583–2589. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0535>
- BROWN, P. J., & KONNER, M. (1987). An Anthropological Perspective on Obesity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 499(1), 29–46. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1987.tb36195.x>

- Buchwald, H., & Knatterud, M. E. (2000). Morbid Obesity: Perceptions of Character and Comorbidities in Falstaff. *Obesity Surgery, 10*(5), 402–408. <https://doi.org/10.1381/096089200321594255>
- Burris, H. H., Baccarelli, A. A., Byun, H. M., Cantoral, A., Just, A. C., Pantic, I., ... Téllez-Rojo, M. M. (2015). Offspring DNA methylation of the aryl-hydrocarbon receptor repressor gene is associated with maternal BMI, gestational age, and birth weight. *Epigenetics, 10*(10), 913–921. <https://doi.org/10.1080/15592294.2015.1078963>
- Cadena-Obando, D., Ramírez-Rentería, C., Ferreira-Hermosillo, A., Albarrán-Sanchez, A., Sosa-Eroza, E., Molina-Ayala, M., & Espinosa-Cárdenas, E. (2020). Are there really any predictive factors for a successful weight loss after bariatric surgery? *BMC Endocrine Disorders, 20*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12902-020-0499-4>
- Caprio, S., Daniels, S. R., Drewnowski, A., Kaufman, F. R., Palinkas, L. A., Rosenbloom, A. L., & Schwimmer, J. B. (2008). Influence of race, ethnicity, and culture on childhood obesity: Implications for prevention and treatment: A consensus statement of Shaping America's Health and the Obesity Society. *Diabetes Care, 31*(11), 2211–2221. <https://doi.org/10.2337/dc08-9024>
- Carayol, J., Chabert, C., Di Cara, A., Armenise, C., Lefebvre, G., Langin, D., ... Hager, J. (2017). Protein quantitative trait locus study in obesity during weight-loss identifies a leptin regulator. *Nature Communications, 8*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02182-z>
- Carnethon, M. R., De Chavez, P. J. D., Biggs, M. L., Lewis, C. E., Pankow, J. S., Bertoni, A. G., ... Dyer, A. R. (2012). Association of weight status with mortality in adults with incident diabetes. *JAMA - Journal of the American Medical Association, 308*(6), 581–590. <https://doi.org/10.1001/jama.2012.9282>
- Cazzo, E., Da Silva, F. P., Pareja, J. C., & Chaim, E. A. (2014). Predictors for weight loss failure following Roux-en-Y gastric bypass. *Arquivos de Gastroenterologia, 51*(4), 328–330. <https://doi.org/10.1590/S0004-28032014000400011>
- Choi, S. W., Mak, T. S. H., & O'Reilly, P. F. (2018). A guide to performing Polygenic Risk Score analyses. *BioRxiv, 2*, 416545. <https://doi.org/10.1101/416545>
- Choquet, Helene, & Meyre, D. (2011). Genetics of Obesity: What have we Learned? *Current Genomics, 12*(3), 169–179. <https://doi.org/10.2174/138920211795677895>
- Choquet, Hélène, & Meyre, D. (2011). Molecular basis of obesity: current status and future prospects. *Current Genomics, 12*(3), 154–168. <https://doi.org/10.2174/138920211795677921>
- Clasey, J. L., Bouchard, C., Teates, C. D., Riblett, J. E., Thorner, M. O., Hartman, M. L., & Weltman, A. (1999). The use of anthropometric and dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) measures to estimate total abdominal and abdominal visceral fat in men and women. *Obesity Research, 7*(3), 256–264. <https://doi.org/10.1002/j.1550-8528.1999.tb00404.x>
- Cooiman, M. I., Kleinendorst, L., Aarts, E. O., Janssen, I. M. C., van Amstel, H. K. P., Blakemore, A. I., ... van Haelst, M. M. (2020). Genetic Obesity and Bariatric Surgery Outcome in 1014 Patients with Morbid Obesity. *Obesity Surgery, 30*(2), 470–477. <https://doi.org/10.1007/s11695-019-04184-w>
- Cornejo-Pareja, I., Clemente-Postigo, M., & Tinahones, F. J. (2019). Metabolic and Endocrine Consequences of Bariatric Surgery. *Frontiers in Endocrinology, 10*(September). <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00626>
- Cowley, M., Wood, A. J., Böhm, S., Schulz, R., & Oakey, R. J. (2012). Epigenetic control of alternative mRNA processing at the imprinted Herc3/Nap115 locus. *Nucleic Acids Research, 40*(18), 8917–8926. <https://doi.org/10.1093/nar/gks654>

- Cunningham, S. J. (1997). Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity. *Emergency and Office Pediatrics*, *10*(6), 204.
- Curley, J. P., Pinnock, S. B., Dickson, S. L., Thresher, R., Miyoshi, N., Surani, M. A., & Keverne, E. B. (2005). Increased body fat in mice with a targeted mutation of the paternally expressed imprinted gene *Peg3*. *The FASEB Journal*, *19*(10), 1302–1304. <https://doi.org/10.1096/fj.04-3216fje>
- Davidson, M. H., Hauptman, J., DiGirolamo, M., Foreyt, J. P., Halsted, C. H., Heber, D., ... Heymsfield, S. B. (1999). Weight control and risk factor reduction in obese subjects treated for 2 years with orlistat: A randomized controlled trial. *Journal of the American Medical Association*, *281*(3), 235–242. <https://doi.org/10.1001/jama.281.3.235>
- Day, F. R., & Loos, R. J. F. (2011). Developments in obesity genetics in the era of genome-wide association studies. *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics*, *4*(4), 222–238. <https://doi.org/10.1159/000332158>
- de Toro-Martín, J., Guénard, F., Tchernof, A., Pérusse, L., Marceau, S., & Vohl, M. C. (2018). Polygenic risk score for predicting weight loss after bariatric surgery. *JCI Insight*, *3*(17), 1–12. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.122011>
- Demerath, E. W., Guan, W., Grove, M. L., Aslibekyan, S., Mendelson, M., Zhou, Y. H., ... Boerwinkle, E. (2015). Epigenome-wide association study (EWAS) of BMI, BMI change and waist circumference in African American adults identifies multiple replicated loci. *Human Molecular Genetics*, *24*(15), 4464–4479. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv161>
- Dick, K. J., Nelson, C. P., Tsaprouni, L., Sandling, J. K., Aïssi, D., Wahl, S., ... Samani, N. J. (2014). DNA methylation and body-mass index: A genome-wide analysis. *The Lancet*, *383*(9933), 1990–1998. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62674-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62674-4)
- DI, G. (2016). *Annals of Surgery and Perioperative Care Nutritional Complications after Bariatric Surgery*, *1*(2), 2–3.
- Dogan, K., Homan, J., Aarts, E. O., de Boer, H., van Laarhoven, C. J. H. M., & Berends, F. J. (2018). Long-term nutritional status in patients following Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Clinical Nutrition*, *37*(2), 612–617. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2017.01.022>
- Doris, P. A. (2002). Hypertension genetics, single nucleotide polymorphisms, and the common disease: Common variant hypothesis. *Hypertension*, *39*(2 II), 323–331. <https://doi.org/10.1161/hy0202.104087>
- Druce, M. R., Small, C. J., & Bloom, S. R. (2004). Minireview: Gut peptides regulating satiety. *Endocrinology*, *145*(6), 2660–2665. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0089>
- Duren, D. L., Sherwood, R. J., Czerwinski, S. A., Lee, M., Choh, A. C., Siervogel, R. M., & Chumlea, W. C. (2008). Body composition methods: Comparisons and interpretation. *Journal of Diabetes Science and Technology*, *2*(6), 1139–1146. <https://doi.org/10.1177/193229680800200623>
- Eknayan, G. (2006). A History of Obesity, or How What Was Good Became Ugly and Then Bad. *Advances in Chronic Kidney Disease*, *13*(4), 421–427. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2006.07.002>
- Elder, K. A., & Wolfe, B. M. (2007). Bariatric Surgery: A Review of Procedures and Outcomes. *Gastroenterology*, *132*(6), 2253–2271. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.03.057>
- Ellacott, K. L. J., & Cone, R. D. (2006). The role of the central melanocortin system in the regulation of food intake and energy homeostasis: Lessons from mouse models. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *361*(1471), 1265–1274. <https://doi.org/10.1098/rstb.2006.1861>
- Fall, C. H. D. (2011). Evidence for the intra-uterine programming of adiposity in later life.

- Annals of Human Biology*, 38(4), 410–428. <https://doi.org/10.3109/03014460.2011.592513>
- Fall, T., Mendelson, M., & Speliotes, E. K. (2017). Recent Advances in Human Genetics and Epigenetics of Adiposity: Pathway to Precision Medicine? *Gastroenterology*, 152(7), 1695–1706. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.01.054>
- Fardet, A., & Rock, E. (2015). From a Reductionist to a Holistic Approach in Preventive Nutrition to Define New and More Ethical Paradigms. *Healthcare*, 3(4), 1054–1063. <https://doi.org/10.3390/healthcare3041054>
- Fardet, A., & Rock, E. (2018). Perspective: Reductionist nutrition research has meaning only within the framework of holistic and ethical thinking. *Advances in Nutrition*, 9(6), 655–670. <https://doi.org/10.1093/ADVANCES/NMY044>
- Farhang, B., Diaz, S., Tang, S. L., & Wagner, E. J. (2009). Sex differences in the cannabinoid regulation of energy homeostasis. *Psychoneuroendocrinology*, 34(SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2009.04.007>
- Farias, G., Netto, B. D. M., Boritza, K. C., Bettini, S. C., Dâmaso, A. R., & de Freitas, A. C. T. (2018). Mechanisms of sustained long-term weight loss after RYGB: α -MSH is a key factor. *Neuropeptides*, 69(April), 60–65. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2018.04.005>
- Farooqi, I. S., & O’Rahilly, S. (2007). Genetic factors in human obesity. *Obesity Reviews*, 8(SUPPL. 1), 37–40. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2007.00315.x>
- Farooqi, I. Sadaf, & O’Rahilly, S. (2006). Genetics of obesity in humans. *Endocrine Reviews*, 27(7), 710–718. <https://doi.org/10.1210/er.2006-0040>
- Feil, R., & Fraga, M. F. (2012). Epigenetics and the environment: Emerging patterns and implications. *Nature Reviews Genetics*, 13(2), 97–109. <https://doi.org/10.1038/nrg3142>
- Ferrucci, L., Studenski, S. A., Alley, D. E., Barbagallo, M., & Harris, T. B. (2010). Obesity in aging and art. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 65(1), 53–56. <https://doi.org/10.1093/gerona/glp166>
- Fincham, J. E. (2011). The expanding public health threat of obesity and overweight. *International Journal of Pharmacy Practice*, 19(3), 214–216. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7174.2011.00126.x>
- Fisher, B. L., & Schauer, P. (2002). Medical and surgical options in the treatment of severe obesity. *American Journal of Surgery*, 184(6 SUPPL. 2), S9–S16. [https://doi.org/10.1016/S0002-9610\(02\)01173-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9610(02)01173-X)
- Flegal, K. M., Shepherd, J. A., Looker, A. C., Graubard, B. I., Borrud, L. G., Ogden, C. L., ... Schenker, N. (2009). Plants for working-off bales. *Am J Clin Nutr*, 89(3), 500–508. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26847.INTRODUCTION>
- Florath, I., Butterbach, K., Müller, H., Bewerunge-hudler, M., & Brenner, H. (2014). Cross-sectional and longitudinal changes in DNA methylation with age: An epigenome-wide analysis revealing over 60 novel age-associated CpG sites. *Human Molecular Genetics*, 23(5), 1186–1201. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt531>
- Fong, P., Boss, D., Yap, T., Tutt, A., Wu, P., & Mergui-Roelvink, M. (2010b). New England Journal CREST. *Science*, 609–619. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1109071>
- Fontaine, K. R., Redden, D. T., Wang, C., Westfall, A. O., & Allison, D. B. (2003). Years of life lost due to obesity. *Journal of the American Medical Association*, 289(2), 187–193. <https://doi.org/10.1001/jama.289.2.187>
- Fortin, J., & Hansen, K. D. (2014). Minfi Tutorial. *BioC2014*, 2014(July).
- Fox, W., Borgert, A., Rasmussen, C., Kallies, K., Klas, P., & Kothari, S. (2019). Long-term micronutrient surveillance after gastric bypass surgery in an integrated healthcare system. *Surgery for Obesity and Related Diseases*, 15(3), 389–395.

- <https://doi.org/10.1016/j.soard.2018.12.029>
- Frame-Peterson, L. A., Megill, R. D., Carobrese, S., & Schweitzer, M. (2017). Nutrient Deficiencies Are Common Prior to Bariatric Surgery. *Nutrition in Clinical Practice*, 32(4), 463–469. <https://doi.org/10.1177/0884533617712701>
- Franks, P. W., & Ling, C. (2010). Epigenetics and obesity: The devil is in the details. *BMC Medicine*, 8(1), 88. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-8-88>
- Frayling, T. M., Timpson, N. J., Weedon, M. N., Freathy, R. M., Lindgren, C. M., Perry, J. R. B., ... McCarthy, M. I. (2007). Index and Predisposes to Childhood and Adult Obesity. *Science*, 316(5826), 889–894. <https://doi.org/10.1126/science.1141634.A>
- Friedman, J. M. (2004). Modern science versus the stigma of obesity. *Nature Medicine*, 10(6), 563–569. <https://doi.org/10.1038/nm0604-563>
- Froguel, P. (2015). Les gènes de l'obésité et leur contribution à la balance énergétique. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 199(8–9), 1269–1279. [https://doi.org/10.1016/s0001-4079\(19\)30812-x](https://doi.org/10.1016/s0001-4079(19)30812-x)
- G., M., S., P., A., D. G., C., G., A., I., L., L., ... F., R. (2012). Bariatric surgery versus conventional medical therapy for type 2 diabetes. *New England Journal of Medicine*, 366(17), 1577–1585. Retrieved from <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L364674961%5Cnhttp://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa1200111%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1200111%5Cnhttp://sfx.library.uu.nl/utrecht?sid=EMBASE&issn=00284793&id=doi:10.1056>
- Ganesan, K., & Xu, B. (2018). Anti-obesity effects of medicinal and edible mushrooms. *Molecules*, 23(11). <https://doi.org/10.3390/molecules23112880>
- Gary, P. H. . J. B. M. . S. C. T. et al. (1990). The New England Journal of Medicine Downloaded from [nejm.org](http://www.nejm.org) on April 1, 2015. For personal use only. No other uses without permission. Copyright © 1990 Massachusetts Medical Society. All rights reserved. *The New English Journal of Medicine*, 323(16), 1120–1123.
- Gehrer, S., Kern, B., Peters, T., Christofiel-Courtin, C., & Peterli, R. (2010). Fewer nutrient Deficiencies after laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG) than after Laparoscopic Roux-Y-gastric bypass (LRYGB)-a prospective study. *Obesity Surgery*, 20(4), 447–453. <https://doi.org/10.1007/s11695-009-0068-4>
- Gernand, A. D., Schulze, K. J., Stewart, C. P., West, K. P., & Christian, P. (2016). Effects and Prevention. *Nature Reviews. Endocrinology*, 12(5), 274–289. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.37.Micronutrient>
- Ghafouri-Fard, S., & Taheri, M. (2019). Maternally expressed gene 3 (MEG3): A tumor suppressor long non coding RNA. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 118(May), 109129. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109129>
- Gonzalez-Nahm, S., Mendez, M. A., Benjamin-Neelon, S. E., Murphy, S. K., Hogan, V. K., Rowley, D. L., & Hoyo, C. (2018). DNA methylation of imprinted genes at birth is associated with child weight status at birth, 1 year, and 3 years. *Clinical Epigenetics*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13148-018-0521-0>
- Graff, M., Scott, R. A., Justice, A. E., Young, K. L., Feitosa, M. F., Barata, L., ... Swift, A. J. (2017). George Davey Smith 93 , Graciela E. Delgado 41 , Nicole Dueker 94 , Marcus Dörr 37,95 , Tapani Ebeling 96. *Martina Mü Ller-Nurasyid*, 10, 130. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006528>
- Green, R., Allen, L. H., Børke-Monsen, A. L., Brito, A., Guéant, J. L., Miller, J. W., ... Yajnik, C. (2017). Vitamin B12 deficiency. *Nature Reviews Disease Primers*, 3.

- <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.40>
- Greibe, E., Mahalle, N., Bhide, V., Heegaard, C. W., Naik, S., & Nexø, E. (2018). Increase in circulating holotranscobalamin after oral administration of cyanocobalamin or hydroxocobalamin in healthy adults with low and normal cobalamin status. *European Journal of Nutrition*, 57(8), 2847–2855. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1553-5>
- Guang-Wei Zhang, Li Shen^{2,3}, Wen Zhong², Ying Xiong^{1,*}, Li I. Zhang^{2,3,*}, and Huizhong W. Tao^{2,3,*}. (2016). 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. *Physiology & Behavior*, 176(1), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>
- Guéant, J. L., Caillerez-Fofou, M., Battaglia-Hsu, S., Alberto, J. M., Freund, J. N., Dulluc, I., ... Daval, J. L. (2013). Molecular and cellular effects of vitamin B12 in brain, myocardium and liver through its role as co-factor of methionine synthase. *Biochimie*, 95(5), 1033–1040. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2013.01.020>
- Guéant, J. L., Chéry, C., Oussalah, A., Nadaf, J., Coelho, D., Josse, T., ... Rosenblatt, D. S. (2018). APRDX1 mutant allele causes a MMACHC secondary epimutation in cblC patients. *Nature Communications*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02306-5>
- Gunstad, J., Paul, R. H., Cohen, R. A., Tate, D. F., & Gordon, E. (2006). Obesity is associated with memory deficits in young and middle-aged adults. *Eating and Weight Disorders*, 11(1), 15–19. <https://doi.org/10.1007/BF03327747>
- Guo, Y., He, J., Zhao, S., Wu, H., Zhong, X., Sheng, Q., ... Long, J. (2014). Illumina human exome genotyping array clustering and quality control. *Nature Protocols*, 9(11), 2643–2662. <https://doi.org/10.1038/nprot.2014.174>
- Gurunathan, U., & Myles, P. S. (2016). Limitations of body mass index as an obesity measure of perioperative risk. *British Journal of Anaesthesia*, 116(3), 319–321. <https://doi.org/10.1093/bja/aev541>
- Hainer, V., Stunkard, A., Kunešová, M., Parízková, J., Štich, V., & Allison, D. B. (2001). A twin study of weight loss and metabolic efficiency. *International Journal of Obesity*, 25(4), 533–537. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801559>
- Hakala, P., Rissanen, A., Koskenvuo, M., Kaprio, J., & Rönnemaa, T. (1999). Environmental factors in the development of obesity in identical twins. *International Journal of Obesity*, 23(7), 746–753. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0800923>
- Hanson, A., Wilhelmsen, D., & DiStefano, J. K. (2018). The role of long non-coding RNAs (lncRNAs) in the development and progression of fibrosis associated with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Non-Coding RNA*, 4(3). <https://doi.org/10.3390/ncrna4030018>
- Haslam, D., & Rigby, N. (2010). The art of medicine: A long look at obesity. *The Lancet*, 376(9735), 85–86. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61065-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61065-3)
- Haslam, D. W., & James, W. P. T. (2005). Obesity. *Lancet*, 366(9492), 1197–1209. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67483-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67483-1)
- Hatoum, I. J., Greenawalt, D. M., Cotsapas, C., Daly, M. J., Reitman, M. L., & Kaplan, L. M. (2013). Weight loss after gastric bypass is associated with a variant at 15q26.1. *American Journal of Human Genetics*, 92(5), 827–834. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.04.009>
- Hatoum, I. J., Greenawalt, D. M., Cotsapas, C., Reitman, M. L., Daly, M. J., & Kaplan, L. M. (2011). Heritability of the weight loss response to gastric bypass surgery. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 96(10), 1630–1633. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-1130>
- Haworth, C. M. A., Plomin, R., Carnell, S., & Wardle, J. (2008). Childhood obesity: Genetic and environmental overlap with normal-range BMI. *Obesity*, 16(7), 1585–1590. <https://doi.org/10.1038/oby.2008.240>

- Helali, A. M., Iti, F. M., Ismail, S., & Haque, M. (2013). Genetics of obesity: An overview of current approaches and advancement. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(10), 1–7. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2013.31001>
- Heshmatpour, M. (2015). Bell inequalities for arbitrary situations. *Physics Letters, Section A: General, Atomic and Solid State Physics*, 379(10–11), 870–872. <https://doi.org/10.1016/j.physleta.2015.01.006>
- Heymsfield, S. B., & Wadden, T. A. (2017). Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *New England Journal of Medicine*, 376(3), 254–266. <https://doi.org/10.1056/nejmra1514009>
- Hinney, A., Bettecken, T., Tarnow, P., Brumm, H., Reichwald, K., Lichtner, P., ... Hebebrand, J. (2006). Prevalence, spectrum, and functional characterization of melanocortin-4 receptor gene mutations in a representative population-based sample and obese adults from Germany. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 91(5), 1761–1769. <https://doi.org/10.1210/jc.2005-2056>
- Hinney, A., Wolters, B., Pütter, C., Grallert, H., Illig, T., Hebebrand, J., & Reinehr, T. (2013). No impact of obesity susceptibility loci on weight regain after a lifestyle intervention in overweight children. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 26(11–12), 1209–1213. <https://doi.org/10.1515/jpem-2013-0179>
- Hoffmann, T. J., Choquet, H., Yin, J., Banda, Y., Kvale, M. N., Glymour, M., ... Jorgenson, E. (2018). A large multiethnic genome-wide association study of adult body mass index identifies novel loci. *Genetics*, 210(2), 499–515. <https://doi.org/10.1534/genetics.118.301479>
- Hollensted, M., Fogh, M., Schnurr, T. M., Kloppenborg, J. T., Have, C. T., Ruest Haarmark Nielsen, T., ... Hansen, T. (2018). Genetic Susceptibility for Childhood BMI has no Impact on Weight Loss Following Lifestyle Intervention in Danish Children. *Obesity*, 26(12), 1915–1922. <https://doi.org/10.1002/oby.22308>
- Horvath, S. (2013). DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biol*, 14(10), R115. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-10-r115>
- Horvath, Steve, Erhart, W., Brosch, M., Ammerpohl, O., Von Schönfels, W., Ahrens, M., ... Hampe, J. (2014). Obesity accelerates epigenetic aging of human liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(43), 15538–15543. <https://doi.org/10.1073/pnas.1412759111>
- Horvath, Steve, Gurven, M., Levine, M. E., Trumble, B. C., Kaplan, H., Allayee, H., ... Viechtbauer, W. (2016). An epigenetic clock analysis of race/ethnicity, sex, and coronary heart disease. *Genome Biology*, 17(1), 171. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1030-0>
- Horvath, Steve, Langfelder, P., Kwak, S., Aaronson, J., Rosinski, J., Vogt, T. F., ... Yang, X. W. (2016). Huntington’s disease accelerates epigenetic aging of human brain and disrupts DNA methylation levels. *Aging*, 8(7), 1485–1512. <https://doi.org/10.18632/aging.101005>
- Houde, A. A., Légaré, C., Biron, S., Lescelleur, O., Biertho, L., Marceau, S., ... Bouchard, L. (2015). Leptin and adiponectin DNA methylation levels in adipose tissues and blood cells are associated with BMI, waist girth and LDL-cholesterol levels in severely obese men and women. *BMC Medical Genetics*, 16(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12881-015-0174-1>
- Huang, Y.-T., Maccani, J. Z., Hawley, N. L., Wing, R. R., Kelsey, K. T., McCaffery, J. M., ... Behavior, H. (2015). Epigenetic Patterns in Successful Weight Loss Maintainers: A Pilot Study HHS Public Access. *Int J Obes (Lond)*, 39(5), 865–868. <https://doi.org/10.1038/ijo.2014.213>
- Institut de veille sanitaire. (2011). Prévalences du surpoids et de l’obésité et déterminants de la

- sédentarité, chez les enfants de 7 à 9 ans en France 2007, 34.
- International HapMap Consortium. (2003). International HapMap Consortium. The International HapMap Project. *Nature*, 426(6968), 789–796. <https://doi.org/10.1038/nature02168>
- Jang, H. S., Shin, W. J., Lee, J. E., & Do, J. T. (2017). CpG and non-CpG methylation in epigenetic gene regulation and brain function. *Genes*, 8(6), 2–20. <https://doi.org/10.3390/genes8060148>
- Jelin, E. B., Daggag, H., Speer, A. L., Hameed, N., Lessan, N., Barakat, M., & Nadler, E. P. (2016). Melanocortin-4 receptor signaling is not required for short-term weight loss after sleeve gastrectomy in pediatric patients. *International Journal of Obesity*, 40(3), 550–553. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.230>
- Jiang, T., Christian, P., Khatry, S. K., Wu, L., & West, K. P. (2005). Micronutrient deficiencies in early pregnancy are common, concurrent, and vary by season among rural nepali pregnant women. *Journal of Nutrition*, 135(5), 1106–1112. <https://doi.org/10.1093/jn/135.5.1106>
- Jin, Z., & Liu, Y. (2018). DNA methylation in human diseases. *Genes and Diseases*, 5(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2018.01.002>
- Journal, T., Endocrinology, C., & Society, T. E. (2002). Printed in U.S.A., 87(3), 1423–1426.
- Junge, K. M., Leppert, B., Jahreis, S., Wissenbach, D. K., Feltens, R., Grützmann, K., ... Lehmann, I. (2018). MEST mediates the impact of prenatal bisphenol A exposure on long-term body weight development. *Clinical Epigenetics*, 10(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13148-018-0478-z>
- Karbiener, M., Glantschnig, C., Pisani, D. F., Laurencikiene, J., Dahlman, I., Herzig, S., ... Scheideler, M. (2015). Mesoderm-specific transcript (MEST) is a negative regulator of human adipocyte differentiation. *International Journal of Obesity*, 39(12), 1733–1741. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.121>
- Kashima, T. (1998). Obesity and Cardiovascular Diseases. *IRYO - Japanese Journal of National Medical Services*, 52(1), 3–7. <https://doi.org/10.11261/iryoy1946.52.3>
- Kaur, Y., de Souza, R. J., Gibson, W. T., & Meyre, D. (2017). A systematic review of genetic syndromes with obesity. *Obesity Reviews*, 18(6), 603–634. <https://doi.org/10.1111/obr.12531>
- Khera, A. V., Chaffin, M., Wade, K. H., Zahid, S., Brancale, J., Xia, R., ... Kathiresan, S. (2019). Polygenic Prediction of Weight and Obesity Trajectories from Birth to Adulthood. *Cell*, 177(3), 587–596.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.03.028>
- Kinde, B., Gabel, H. W., Gilbert, C. S., Griffith, E. C., & Greenberg, M. E. (2015). Reading the unique DNA methylation landscape of the brain: Non-CpG methylation, hydroxymethylation, and MeCP2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(22), 6800–6806. <https://doi.org/10.1073/pnas.1411269112>
- King, K., Murphy, S., & Hoyo, C. (2015). Epigenetic regulation of newborns' imprinted genes related to gestational growth: Patterning by parental race/ethnicity and maternal socioeconomic status. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 69(7), 639–647. <https://doi.org/10.1136/jech-2014-204781>
- Koch, C. M., & Wagner, W. (2011). Epigenetic-aging-signature to determine age in different tissues. *Aging*, 3(10), 1018–1027. <https://doi.org/10.1093/ajph/100395> [pii]
- Kornerup, L. S., Hvas, C. L., Abild, C. B., Richelsen, B., & Nexø, E. (2019). Early changes in vitamin B12 uptake and biomarker status following Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy. *Clinical Nutrition*, 38(2), 906–911. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.02.007>
- Kräutler, B. (2005). Vitamin B12: Chemistry and biochemistry. *Biochemical Society*

- Transactions*, 33(4), 806–810. <https://doi.org/10.1042/BST0330806>
- Kristensson, F. M., Andersson-Assarsson, J. C., Kanerva, N., Peltonen, M., Carlsson, B., & Carlsson, L. M. S. (2017). Long-term effects of bariatric surgery in patients with obesity and chromosome 16 p11.2 microdeletion. *Surgery for Obesity and Related Diseases*, 13(8), 1321–1325. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2017.04.024>
- L. Sheng, M. Christopher, A. M. (2016). 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. *Physiology & Behavior*, 176(1), 100–106. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2016.03.011>
- Lajunen, H. R., Kaprio, J., Rose, R. J., Pulkkinen, L., & Silventoinen, K. (2012). Genetic and environmental influences on BMI from late childhood to adolescence are modified by parental education. *Obesity*, 20(3), 583–589. <https://doi.org/10.1038/oby.2011.304>
- Le Beyec, J., Cugnet-Anceau, C., Dominique Pépin, Alili, R., Cotillard, A., Lacorte, J. M., ... Clément, K. (2013). Homozygous leptin receptor mutation due to uniparental disomy of chromosome 1: Response to bariatric surgery. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 98(2). <https://doi.org/10.1210/jc.2012-2779>
- Li, C., Wang, Z., Hardy, T., Huang, Y., Hui, Q., Crusto, C. A., ... Sun, Y. V. (2019). Association of obesity with DNA methylation age acceleration in african American mothers from the interGEN study. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(17), 1–10. <https://doi.org/10.3390/ijms20174273>
- Li, E., & Zhang, Y. (2014). DNA methylation in mammals. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 6(5). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019133>
- Li, Z., Gueant-Rodriguez, R. M., Quilliot, D., Sirveaux, M. A., Meyre, D., Gueant, J. L., & Brunaud, L. (2018). Folate and vitamin B12 status is associated with insulin resistance and metabolic syndrome in morbid obesity. *Clinical Nutrition*, 37(5), 1700–1706. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2017.07.008>
- Ling, C., & Rönn, T. (2019). Epigenetics in Human Obesity and Type 2 Diabetes. *Cell Metabolism*, 29(5), 1028–1044. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.03.009>
- Lingala, S. M., & Ghany, M. G. M. Mhs. (2016a). 可乐定和右美托咪啶产生抗伤害协同作用 HHS Public Access, 25(3), 289–313. <https://doi.org/10.1007/s11065-015-9294-9>. Functional
- Lingala, S. M., & Ghany, M. G. M. Mhs. (2016b). 可乐定和右美托咪啶产生抗伤害协同作用 HHS Public Access, 25(3), 289–313. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.04.008>
- Lipman, T., & Tiedje, L. B. (2006). Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *MCN The American Journal of Maternal/Child Nursing*, 31(3), 204. <https://doi.org/10.1097/00005721-200605000-00016>
- Locke, A. E., Kahali, B., Berndt, S. I., Justice, A. E., Pers, T. H., Day, F. R., ... Econs, M. J. (2015). Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. *Nature*, 518(7538), 197–206. <https://doi.org/10.1038/nature14177>
- Lokk, K., Modhukur, V., Rajashekar, B., Märten, K., Mägi, R., Kolde, R., ... Tõnisson, N. (2016). Erratum to: DNA methylome profiling of human tissues identifies global and tissue-specific methylation patterns [Genome Biol., 15 (2014), (r54)]. *Genome Biology*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1091-0>
- Loomba, R., Hwang, S. J., O'Donnell, C. J., Ellison, R. C., Vasan, R. S., D'Agostino, R. B., ... Fox, C. S. (2008). Parental Obesity and Offspring Serum Alanine and Aspartate Aminotransferase Levels: The Framingham Heart Study. *Gastroenterology*, 134(4), 953–959. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.01.037>
- Loos, R.J.F., Loos, R. J. F., Lindgren, C. M., Lindgren, C. M., Li, S., Li, S., ... Others. (2008). Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity.

- Nature Genetics*, 40(6), 768–775. <https://doi.org/10.1038/ng.140>. Common
- Loos, Ruth J.F. (2009). Recent progress in the genetics of common obesity. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 68(6), 811–829. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2009.03523.x>
- Loos, Ruth J.F., & Janssens, A. C. J. W. (2017). Predicting Polygenic Obesity Using Genetic Information. *Cell Metabolism*, 25(3), 535–543. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.02.013>
- Lopomo, A., Burgio, E., & Migliore, L. (2016). Epigenetics of Obesity. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 140, 151–184. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2016.02.002>
- Lunsky, I. O., & Meyre, D. (2019). Decoding Mendelian obesity. *Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research*, 4, 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2018.10.002>
- Mägi, R., Manning, S., Yousseif, A., Pucci, A., Santini, F., Karra, E., ... Batterham, R. L. (2013). Contribution of 32 GWAS-Identified Common Variants to Severe Obesity in European Adults Referred for Bariatric Surgery. *PLoS ONE*, 8(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070735>
- Mahawar, K. K., Nimeri, A., Adamo, M., Borg, C. M., Singhal, R., Khan, O., & Small, P. K. (2018). Practices Concerning Revisional Bariatric Surgery: a Survey of 460 Surgeons. *Obesity Surgery*, 28(9), 2650–2660. <https://doi.org/10.1007/s11695-018-3226-8>
- Maksimovic, J., Gordon, L., & Oshlack, A. (2012). SWAN: Subset-quantile within array normalization for illumina infinium HumanMethylation450 BeadChips. *Genome Biology*, 13(6), 1–12. <https://doi.org/10.1186/gb-2012-13-6-r44>
- May, R. (2014). pic pic Health System Performance Report Our Mandate, (May).
- McCaffery, J. M., Papandonatos, G. D., Huggins, G. S., Peter, I., Kahn, S. E., Knowler, W. C., ... Wing, R. R. (2013). FTO predicts weight regain in the Look AHEAD clinical trial. *International Journal of Obesity*, 37(12), 1545–1552. <https://doi.org/10.1038/ijo.2013.54>
- McCaffery, Jeanne M., Papandonatos, G. D., Huggins, G. S., Peter, I., Erar, B., Kahn, S. E., ... Wing, R. R. (2013). Human cardiovascular disease IBC chip-wide association with weight loss and weight regain in the look AHEAD trial. *Human Heredity*, 75(January 2018), 160–174. <https://doi.org/10.1159/000353181>
- McCarthy, M. I., Abecasis, G. R., Cardon, L. R., Goldstein, D. B., Little, J., Ioannidis, J. P. A., & Hirschhorn, J. N. (2008). Genome-wide association studies for complex traits: Consensus, uncertainty and challenges. *Nature Reviews Genetics*, 9(5), 356–369. <https://doi.org/10.1038/nrg2344>
- Mechanick, J. I., Youdim, A., Jones, D. B., Timothy, W., Hurley, D. L., McMahon, M. M., ... Dixon, J. B. (2013). Clinical Practice Guidelines for the Perioperative Bariatric Surgery Patient — 2013 Update : *Endocr Pract.*, 19(2), 337–372. <https://doi.org/10.4158/EP12437.GL.CLINICAL>
- Meneguetti, B. T., Cardoso, M. H., Ribeiro, C. F. A., Felício, M. R., Pinto, I. B., Santos, N. C., ... Franco, O. L. (2019). Neuropeptide receptors as potential pharmacological targets for obesity. *Pharmacology and Therapeutics*, 196, 59–78. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.11.002>
- Merdan, I. (2013). Laparoscopic Entry: a Review of Techniques, Technologies, and Complications. *Basrah Journal of Surgery*, 19(1), 10–23. <https://doi.org/10.33762/bsurg.2013.73613>
- Meyre, D., Delplanque, J., Chèvre, J.-C., Lecoœur, C., Lobbens, S., Gallina, S., ... Froguel, P. (2009a). Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations. *Nature Genetics*, 41(2), 157–159. <https://doi.org/10.1038/ng.301>

- Meyre, D., Delplanque, J., Chèvre, J. C., Lecoœur, C., Lobbens, S., Gallina, S., ... Froguel, P. (2009b). Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations. *Nature Genetics*, *41*(2), 157–159. <https://doi.org/10.1038/ng.301>
- Millership, S. J., Tunster, S. J., Van de Pette, M., Choudhury, A. I., Irvine, E. E., Christian, M., ... Withers, D. J. (2018). Neuronatin deletion causes postnatal growth restriction and adult obesity in 129S2/Sv mice. *Molecular Metabolism*, *18*(September), 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.09.001>
- Mingrone, G., Panunzi, S., De Gaetano, A., Guidone, C., Iaconelli, A., Leccesi, L., ... Rubino, F. (2012). Bariatric surgery versus conventional medical therapy for type 2 diabetes. *New England Journal of Medicine*, *366*(17), 1577–1585. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1200111>
- Morita, S., Horii, T., Kimura, M., Arai, Y., Kamei, Y., Ogawa, Y., & Hatada, I. (2014). Paternal allele influences high fat diet-induced obesity. *PLoS ONE*, *9*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085477>
- Müller, M. J., Geisler, C., Blundell, J., Dulloo, A., Schutz, Y., Krawczak, M., ... Heymsfield, S. B. (2018). The case of GWAS of obesity: does body weight control play by the rules? *International Journal of Obesity*, *42*(8), 1395–1405. <https://doi.org/10.1038/s41366-018-0081-6>
- Mun, E. C., Blackburn, G. L., & Matthews, J. B. (2001). Current status of medical and surgical therapy for obesity. *Gastroenterology*, *120*(3), 669–681. <https://doi.org/10.1053/gast.2001.22430>
- Mustelin, L., Silventoinen, K., Pietiläinen, K., Rissanen, A., & Kaprio, J. (2009). Physical activity reduces the influence of genetic effects on BMI and waist circumference: A study in young adult twins. *International Journal of Obesity*, *33*(1), 29–36. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.258>
- Myers, C. A., Slack, T., Martin, C. K., Broyles, S. T., & Heymsfield, S. B. (2015). Regional disparities in obesity prevalence in the United States: A spatial regime analysis. *Obesity*, *23*(2), 481–487. <https://doi.org/10.1002/oby.20963>
- National, T. (1991). National Institutes of Health Draft Statement on Gastrointestinal Surgery 25-27 March 1991 for Severe Obesity, 257–265.
- Ng, M. (2014). Global, regional and national prevalence of overweight and obesity in children and adults 1980-2013: A systematic analysis. *Lancet*, *384*(9945), 766–781. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60460-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60460-8).Global
- Ng, M. C. Y., Hester, J. M., Wing, M. R., Li, J., Xu, J., Hicks, P. J., ... Bowden, D. W. (2012). Genome-wide association of BMI in African Americans. *Obesity*, *20*(3), 622–627. <https://doi.org/10.1038/oby.2011.154>
- Nguyen, N. T., & Varela, J. E. (2016). Bariatric surgery for obesity and metabolic disorders: state of the art. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, *14*(3), 160–169. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.170>
- Nguyen, N. T., Vu, S., Kim, E., Bodunova, N., & Phelan, M. J. (2016). Trends in utilization of bariatric surgery, 2009–2012. *Surgical Endoscopy*, *30*(7), 2723–2727. <https://doi.org/10.1007/s00464-015-4535-9>
- NICE. (2013). Weight management : lifestyle services for ov overweight or obese adults. *National Institute for Health and Clinical Excellence*, (October), 1–14. Retrieved from <https://www.nice.org.uk/terms-and-%0Anice.org.uk/guidance/ph53>
- Nickel, F., De La Garza, J. R., Werthmann, F. S., Benner, L., Tapking, C., Karadza, E., ...

- Muller-Stich, B. P. (2019). Predictors of Risk and Success of Obesity Surgery. *Obesity Facts*, 12(4), 427–439. <https://doi.org/10.1159/000496939>
- Nicolas W. Cortes-Penfield, Barbara W. Trautner, R. J. (2017). 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. *Physiology & Behavior*, 176(5), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>
- Nicoletti, C. F., Pinhel, M. A. S., De Oliveira, B. A. P., Marchini, J. S., Salgado, W., Silva, W. A., & Nonino, C. B. (2017). The Genetic Predisposition Score of Seven Obesity-Related Single Nucleotide Polymorphisms Is Associated with Better Metabolic Outcomes after Roux-en-Y Gastric Bypass. *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics*, 9(5–6), 222–230. <https://doi.org/10.1159/000452129>
- Nikonova, L., Koza, R. A., Mendoza, T., Chao, P., Curley, J. P., & Kozak, L. P. (2008). Mesoderm-specific transcript is associated with fat mass expansion in response to a positive energy balance. *The FASEB Journal*, 22(11), 3925–3937. <https://doi.org/10.1096/fj.08-108266>
- Nonino, C. B., Affonso, B., Oliveira, P. De, Cássia, R., Chaves, P., Tabajara, L., ... Nicoletti, C. F. (2019). IS THERE ANY CHANGE IN PHENOTYPIC FOLLOW - UP IN OBESE PATIENTS UNDERGOING ROUX -, 32(3), 1–6.
- Organisation, W. H. (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser*, 894, i–xii.
- Painter, R. C., Roseboom, T. J., & Bleker, O. P. (2005). Prenatal exposure to the Dutch famine and disease in later life: An overview. *Reproductive Toxicology*, 20(3), 345–352. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2005.04.005>
- Paolacci, S., Pompucci, G., Paolini, B., Del Ciondolo, I., Miggiano, G. A. D., Aquilanti, B., ... Bertelli, M. (2019). Mendelian non-syndromic obesity. *Acta Biomedica*, 90(3), 87–89. <https://doi.org/10.23750/abm.v90i10-S.8766>
- Papandonatos, G. D., Pan, Q., Pajewski, N. M., Delahanty, L. M., Peter, I., Erar, B., ... Franks, P. W. (2015). Genetic predisposition to weight loss and regain with lifestyle intervention: Analyses from the diabetes prevention program and the look AHEAD randomized controlled trials. *Diabetes*, 64(12), 4312–4321. <https://doi.org/10.2337/db15-0441>
- Pearce, L. R., Atanassova, N., Banton, M. C., Bottomley, B., Van Der Klaauw, A. A., Revelli, J. P., ... Farooqi, I. S. (2013). XKSR2 mutations are associated with obesity, insulin resistance, and impaired cellular fuel oxidation. *Cell*, 155(4), 765. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.09.058>
- Peters, J. (2014). The role of genomic imprinting in biology and disease: An expanding view. *Nature Reviews Genetics*, 15(8), 517–530. <https://doi.org/10.1038/nrg3766>
- Phillip E. C. Compeau, Pavel A. Pevzner, G. T. (2015). Why are de Bruijn graphs useful for genome assembly? *Nat Biotechnology*, 14(11), 871–882. <https://doi.org/10.1111/obr.12065>. Variation
- Pierre, A. Saint, & Génin, E. (2014). How important are rare variants in common disease? *Briefings in Functional Genomics*, 13(5), 353–361. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elu025>
- Pigeyre, M., Yazdi, F. T., Kaur, Y., & Meyre, D. (2016). Recent progress in genetics, epigenetics and metagenomics unveils the pathophysiology of human obesity. *Clin Sci (Lond)*, 130(12), 943–986. <https://doi.org/10.1042/CS20160136>
- Pilsner, J. R., Hall, M. N., Liu, X., Ilievski, V., Slavkovich, V., Levy, D., ... Gamble, M. V. (2012). Influence of prenatal arsenic exposure and newborn sex on global methylation of cord blood DNA. *PLoS ONE*, 7(5), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037147>
- Pluzhnikov, A., Below, J. E., Konkashbaev, A., Tikhomirov, A. A., Kistner-Griffin, E., Roe, C.

- A., ... Cox, N. J. (2010). Spoiling the whole bunch: Quality control aimed at preserving the integrity of high-throughput genotyping. *American Journal of Human Genetics*, 87(1), 123–128. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.06.005>
- Pope, C., Mishra, S., Russell, J., Zhou, Q., & Zhong, X.-B. (2017). Targeting H19, an Imprinted Long Non-Coding RNA, in Hepatic Functions and Liver Diseases. *Diseases*, 5(1), 11. <https://doi.org/10.3390/diseases5010011>
- Potabattula, R., Dittrich, M., Schorsch, M., Hahn, T., Haaf, T., & Hajj, N. El. (2018). Male obesity effects on sperm and next-generation cord blood DNA methylation. *PLoS ONE*, 14(6), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218615>
- Powell, P., Spears, K., & Rebori, M. (2010). What is Obesogenic Environment? *University of Nevada Cooperation Extension*, (fact sheet 10-11), 1–2.
- Prentice, A. M., & Jebb, S. A. (2001). Beyond body mass index. *Obesity Reviews*, 2(3), 141–147. <https://doi.org/10.1046/j.1467-789x.2001.00031.x>
- Pulit, S. L., Stoneman, C., Morris, A. P., Wood, A. R., Glastonbury, C. A., Tyrrell, J., ... Lindgren, C. M. (2019). Meta-Analysis of genome-wide association studies for body fat distribution in 694 649 individuals of European ancestry. *Human Molecular Genetics*, 28(1), 166–174. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy327>
- Rakyan, V. K., Down, T. A., Balding, D. J., & Beck, S. (2012). Epigenome-Wide Association Studies for common human diseases. *Nature Reviews. Genetics*, 12(8), 529–541. <https://doi.org/10.1038/nrg3000>. Epigenome-Wide
- Ramaswami, R., Bayer, R., & Galea, S. (2018). Precision Medicine from a Public Health Perspective. *Annual Review of Public Health*, 39(1), 153–168. <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-040617-014158>
- Rask-Andersen, M., Karlsson, T., Ek, W. E., & Johansson, Å. (2019). Genome-wide association study of body fat distribution identifies adiposity loci and sex-specific genetic effects. *Nature Communications*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-08000-4>
- Reddon, H., Gueant, J.-L., & Meyre, D. (2016). The importance of gene-environment interactions in human obesity. *Clinical Science*, 130(18), 1571–1597. <https://doi.org/10.1042/CS20160221>
- Reddon, Hudson, Guéant, J. L., & Meyre, D. (2016). The importance of gene-environment interactions in human obesity. *Clinical Science*, 130(18), 1571–1597. <https://doi.org/10.1042/CS20160221>
- Reinehr, T., Hebebrand, J., Friedel, S., Toschke, A. M., Brumm, H., Biebermann, H., & Hinney, A. (2009). Lifestyle intervention in obese children with variations in the melanocortin 4 receptor gene. *Obesity*, 17(2), 382–389. <https://doi.org/10.1038/oby.2008.422>
- Richard D. Bloomberg, Amy Fleishman, Jennifer E. Nalle, Daniel M. Herron, & Subhash Kini. (2005). Nutritional Deficiencies following Bariatric Surgery: What Have We Learned? *Obesity Surgery*, 15(2), 145–154.
- Rinella, E. S., Still, C., Shao, Y., Wood, G. C., Chu, X., Salerno, B., ... Ostrer, H. (2013). Genome-wide association of single-nucleotide polymorphisms with weight loss outcomes after Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 98(6). <https://doi.org/10.1210/jc.2012-3421>
- Ritz, B. R. (2015). Horvath_Ritz_2015_Aging, 7(12), 1130–1142.
- Roadmap Epigenomics Consortium, Kundaje, A., Meuleman, W., Ernst, J., Bilenky, M., Yen, A., ... Kellis, M. (2015). Integrative analysis of 111 reference human epigenomes. *Nature*, 518(7539), 317–329. <https://doi.org/10.1038/nature14248>
- Rokholm, B., Silventoinen, K., Ängquist, L., Skytthe, A., Kyvik, K. O., & Sørensen, T. I. A.

- (2011). Increased genetic variance of BMI with a higher prevalence of obesity. *PLoS ONE*, 6(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020816>
- Rokholm, B., Silventoinen, K., Tynelius, P., Gamborg, M., Sørensen, T. I. A., & Rasmussen, F. (2011). Increasing genetic variance of body mass index during the Swedish obesity epidemic. *PLoS ONE*, 6(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027135>
- Rose, M. R., Flatt, T., Graves, J. L., Greer, L. F., Martinez, D. E., Matos, M., ... Shahrestani, P. (2012). What is aging? *Frontiers in Genetics*, 3(JUL), 2011–2013. <https://doi.org/10.3389/fgene.2012.00134>
- Roskam, A. J. R., Kunst, A. E., van Oyen, H., Demarest, S., Klumbiene, J., Regidor, E., ... Mackenbach, J. P. (2010). Comparative appraisal of educational inequalities in overweight and obesity among adults in 19 European countries. *International Journal of Epidemiology*, 39(2), 392–404. <https://doi.org/10.1093/ije/dyp329>
- Rössner, S. (2002). Obesity: The disease of the twenty-first century. *International Journal of Obesity*, 26, S2–S4. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802209>
- Roth, J., Qiang, X., Marbán, S. L., Redelt, H., & Lowell, B. C. (2004). The obesity pandemic: where have we been and where are we going? *Obesity Research*, 12 Suppl 2(November), 88S-101S. <https://doi.org/10.1038/oby.2004.273>
- Roust, L. R., & Dibaise, J. K. (2017). Nutrient deficiencies prior to bariatric surgery. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 20(2), 138–144. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000352>
- Rutkowski, J. M., Stern, J. H., & Scherer, P. E. (2015). The cell biology of fat expansion. *Journal of Cell Biology*, 208(5), 501–512. <https://doi.org/10.1083/jcb.201409063>
- Sacks, F. M., Bray, G. A., Carey, V. J., Smith, S. R., Ryan, D. H., Anton, S. D., ... Williamson, D. A. (2009). The new England journal of medicine: Comparison of weight-loss diets with different compositions of fat, protein, and carbohydrates. *New England Journal of Medicine*, 360(9), 859–873. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0804748>
- Sacks, F. M., Harris, A., Sc, M., Johnson, D. W., Ph, D., Kesselhut, J., ... Study, I. (2009). New England Journal CREST. *Science*, 360, 609–619. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1109071>
- Sala, P., Belarmino, G., Torrinhas, R. S., Machado, N. M., Fonseca, D. C., Ravacci, G. R., ... Waitzberg, D. L. (2017). Gastrointestinal Transcriptomic Response of Metabolic Vitamin B12 Pathways in Roux-en-Y Gastric Bypass. *Clinical and Translational Gastroenterology*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/ctg.2016.67>
- Salinas, Y. D., Wang, L., & DeWan, A. T. (2016). Multiethnic genome-wide association study identifies ethnic-specific associations with body mass index in Hispanics and African Americans. *BMC Genetics*, 17(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12863-016-0387-0>
- Samblas, M., Milagro, F. I., & Martínez, A. (2019). DNA methylation markers in obesity, metabolic syndrome, and weight loss. *Epigenetics*, 14(5), 421–444. <https://doi.org/10.1080/15592294.2019.1595297>
- Santoro, N., Perrone, L., Cirillo, G., Raimondo, P., Amato, A., Coppola, F., ... Miraglia del Giudice, E. (2006). Weight loss in obese children carrying the proopiomelanocortin R236G variant. *Journal of Endocrinological Investigation*, 29(3), 226–230. <https://doi.org/10.1007/BF03345544>
- Sargent, M. (2009). Why inequality is fatal. *Nature*, 458(7242), 1109–1110. <https://doi.org/10.1038/4581109a>
- Sarzynski, M. A., Jacobson, P., Rankinen, T., Carlsson, B., Sjöström, L., Bouchard, C., & Carlsson, L. M. S. (2011). Associations of markers in 11 obesity candidate genes with maximal weight loss and weight regain in the SOS bariatric surgery cases. *International*

- Journal of Obesity*, 35(5), 676–683. <https://doi.org/10.1038/ijo.2010.166>
- Schmidt, E., Dhaouadi, I., Gaziano, I., Oliverio, M., Klemm, P., Awazawa, M., ... Kornfeld, J. W. (2018). LincRNA H19 protects from dietary obesity by constraining expression of monoallelic genes in brown fat. *Nature Communications*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05933-8>
- Schork, N. J., Murray, S. S., Frazer, K. A., & Topol, E. J. (2009). Common vs. rare allele hypotheses for complex diseases. *Current Opinion in Genetics and Development*, 19(3), 212–219. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2009.04.010>
- Schwartz, M. W., Seeley, R. J., Zeltser, L. M., Drewnowski, A., Ravussin, E., Redman, L. M., & Leibel, R. L. (2017). Obesity pathogenesis: An endocrine society scientific statement. *Endocrine Reviews*, 38(4), 267–296. <https://doi.org/10.1210/ER.2017-00111>
- Sharp, G. C., & Lawlor, D. A. (2019). Paternal impact on the life course development of obesity and type 2 diabetes in the offspring. *Diabetologia*, 62(10), 1802–1810. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4919-9>
- Sheets, C. S., Peat, C. M., Berg, K. C., White, E. K., Bocchieri-Ricciardi, L., Chen, E. Y., & Mitchell, J. E. (2015). Post-operative Psychosocial Predictors of Outcome in Bariatric Surgery. *Obesity Surgery*, 25(2), 330–345. <https://doi.org/10.1007/s11695-014-1490-9>
- Silventoinen, K., Rokholm, B., Kaprio, J., & Sørensen, T. I. A. (2010). The genetic and environmental influences on childhood obesity: A systematic review of twin and adoption studies. *International Journal of Obesity*, 34(1), 29–40. <https://doi.org/10.1038/ijo.2009.177>
- Silventoinen, Karri, & Konttinen, H. (2020). Obesity and eating behavior from the perspective of twin and genetic research. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 109(June 2019), 150–165. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.12.012>
- Sjöström, L. (2008). Bariatric surgery and reduction in morbidity and mortality: Experiences from the SOS study. *International Journal of Obesity*, 32(2008), S93–S97. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.244>
- Snijder, M. B., Visser, M., Dekker, J. M., Seidell, J. C., Fuerst, T., Tylavsky, F., ... Harris, T. B. (2002). The prediction of visceral fat by DEXA in the elderly: a comparison with computed tomography and anthropometry. *International Journal of Obesity*, 26(7), 984–993. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801968>
- Song, M. A., Ernst, T., Tiirikainen, M., Tost, J., Wilkens, L. R., Chang, L., ... Lim, U. (2018). Methylation of imprinted IGF2 regions is associated with total, visceral, and hepatic adiposity in postmenopausal women. *Epigenetics*, 13(8), 858–865. <https://doi.org/10.1080/15592294.2018.1518100>
- Sorensen, T. I. A., Price, R. A., Stunkard, A. J., & Schulsinger, F. (1989). Genetics of obesity in adult adoptees and their biological siblings. *British Medical Journal*, 298(6666), 87–90. <https://doi.org/10.1136/bmj.298.6666.87>
- Soubry, A., Murphy, S. K., Wang, F., Huang, Z., Vidal, A. C., Fuemmeler, B. F., ... Hoyo, C. (2015). Newborns of obese parents have altered DNA methylation patterns at imprinted genes. *International Journal of Obesity*, 39(4), 650–657. <https://doi.org/10.1038/ijo.2013.193>
- Speliotes, E. K., Willer, C. J., Berndt, S. I., Monda, K. L., Thorleifsson, G., Jackson, A. U., ... Loos, R. J. F. (2010). Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nature Genetics*, 42(11), 937–948. <https://doi.org/10.1038/ng.686>
- Stryjecki, C., Alyass, A., & Meyre, D. (2017). Ethnic and population differences in the genetic predisposition to human obesity. *Obesity Reviews*, (5). <https://doi.org/10.1111/obr.12604>

- Stutzmann, F., Tan, K., Vatin, V., Dina, C., Jouret, B., Tichet, J., ... Meyre, D. (2008). Prevalence of melanocortin-4 receptor deficiency in europeans and their age-dependent penetrance in multigenerational pedigrees. *Diabetes*, *57*(9), 2511–2518. <https://doi.org/10.2337/db08-0153>
- Stutzmann, F., Vatin, V., Cauchi, S., Morandi, A., Jouret, B., Landt, O., ... Meyre, D. (2007). Non-synonymous polymorphisms in melanocortin-4 receptor protect against obesity: The two facets of a Janus obesity gene. *Human Molecular Genetics*, *16*(15), 1837–1844. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm132>
- Sui, X., Lamonte, M. J., D, P., Laditka, J. N., Hardin, J. W., Chase, N., ... Blair, S. N. (2009). Cardiorespiratory Fitness and Adiposity as Mortality Predictors in Older Adults. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, *298*(21), 2507–2516. <https://doi.org/10.1001/jama.298.21.2507>. Cardiorespiratory
- Sukumar, N., Rafnsson, S. B., Kandala, N. B., Bhopal, R., Yajnik, C. S., & Saravanan, P. (2016). Prevalence of Vitamin B-12 insufficiency during pregnancy and its effect on offspring birth weight: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, *103*(5), 1232–1251. <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.123083>
- Takahashi, M., Kamei, Y., & Ezaki, O. (2005). Mest/Peg1 imprinted gene enlarges adipocytes and is a marker of adipocyte size. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, *288*(1 51-1), 117–124. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00244.2004>
- Tam, V., Turcotte, M., & Meyre, D. (2019). Established and emerging strategies to crack the genetic code of obesity. *Obesity Reviews*, *20*(2), 212–240. <https://doi.org/10.1111/obr.12770>
- Tam, Vivian, Patel, N., Turcotte, M., Bossé, Y., Paré, G., & Meyre, D. (2019). Benefits and limitations of genome-wide association studies. *Nature Reviews Genetics*, *20*(8), 467–484. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0127-1>
- Thomas, D. (2010). *Gene-environment-wide association studies: Emerging approaches*. *Nature Reviews Genetics* (Vol. 11). <https://doi.org/10.1038/nrg2764>
- Thorleifsson, G., Walters, G. B., Gudbjartsson, D. F., Steinthorsdottir, V., Sulem, P., Helgadottir, A., ... Stefansson, K. (2009). Genome-wide association yields new sequence variants at seven loci that associate with measures of obesity. *Nature Genetics*, *41*(1), 18–24. <https://doi.org/10.1038/ng.274>
- Ting, R., Dugré, N., Allan, G. M., & Lindblad, A. J. (2018). Tools for Practice - Ketogenic diet for weight loss. *Canadian Family Physician*, *64*(12), 906. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6371871/>
- Tobi, E. W., Goeman, J. J., Monajemi, R., Gu, H., Putter, H., Zhang, Y., ... Heijmans, B. T. (2014). DNA methylation signatures link prenatal famine exposure to growth and metabolism. *Nature Communications*, *5*. <https://doi.org/10.1038/ncomms6592>
- Tobi, E. W., Lumey, L. H., Talens, R. P., Kremer, D., Putter, H., Stein, A. D., ... Heijmans, B. T. (2009). DNA methylation differences after exposure to prenatal famine are common and timing- and sex-specific. *Human Molecular Genetics*, *18*(21), 4046–4053. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp353>
- Torkamani, A., Wineinger, N. E., & Topol, E. J. (2018). The personal and clinical utility of polygenic risk scores. *Nature Reviews Genetics*, *19*(9), 581–590. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0018-x>
- Tremmel, M., Gerdtham, U. G., Nilsson, P. M., & Saha, S. (2017). Economic burden of obesity: A systematic literature review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *14*(4), 1–18. <https://doi.org/10.3390/ijerph14040435>

- Turcot, V., Lu, Y., Highland, H. M., Schurmann, C., Justice, A. E., Fine, R. S., ... Loos, R. J. F. (2018). Protein-altering variants associated with body mass index implicate pathways that control energy intake and expenditure in obesity. *Nature Genetics*, *50*(1), 26–35. <https://doi.org/10.1038/s41588-017-0011-x>
- Turner, S., Armstrong, L. L., Bradford, Y., Carlson, C. S., Dana, C., Crenshaw, A. T., ... Ritchie, M. D. (2011). Voss M. Work and Health - Epidemiological studies, 2002.pdf. *Current Protocols in Human Genetics*, 1–24. <https://doi.org/10.1002/0471142905.hg0119s68.Quality>
- Valette, M., Poitou, C., Le Beyec, J., Bouillot, J. L., Clement, K., & Czernichow, S. (2012). Melanocortin-4 Receptor Mutations and Polymorphisms Do Not Affect Weight Loss after Bariatric Surgery. *PLoS ONE*, *7*(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048221>
- Valsesia, A., Wang, Q. P., Gheldof, N., Carayol, J., Ruffieux, H., Clark, T., ... Hager, J. (2019). Genome-wide gene-based analyses of weight loss interventions identify a potential role for NKX6.3 in metabolism. *Nature Communications*, *10*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08492-8>
- van Baak, M. A., & Mariman, E. C. M. (2019). Mechanisms of weight regain after weight loss — the role of adipose tissue. *Nature Reviews Endocrinology*, *15*(5), 274–287. <https://doi.org/10.1038/s41574-018-0148-4>
- Van Der Klaauw, A. A., & Farooqi, I. S. (2015). The hunger genes: Pathways to obesity. *Cell*, *161*(1), 119–132. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.03.008>
- Van Dijk, S. J., Molloy, P. L., Varinli, H., Morrison, J. L., Muhlhausler, B. S., Buckley, M., ... Tellam, R. L. (2015a). Epigenetics and human obesity. *International Journal of Obesity*, *39*(1), 85–97. <https://doi.org/10.1038/ijo.2014.34>
- Van Dijk, S. J., Molloy, P. L., Varinli, H., Morrison, J. L., Muhlhausler, B. S., Buckley, M., ... Tellam, R. L. (2015b). Epigenetics and human obesity. *International Journal of Obesity*, *39*(1), 85–97. <https://doi.org/10.1038/ijo.2014.34>
- van Vliet-Ostapchouk, J. V., Snieder, H., & Lagou, V. (2012). Gene-Lifestyle Interactions in Obesity. *Current Nutrition Reports*, *1*(3), 184–196. <https://doi.org/10.1007/s13668-012-0022-2>
- Villareal, D. T., Apovian, C. M., Kushner, R. F., & Klein, S. (2005). Obesity in older adults: Technical review and position statement of the American Society for Nutrition and NAASO, The Obesity Society. *American Journal of Clinical Nutrition*, *82*(5), 923–934. <https://doi.org/10.1038/oby.2005.228>
- Vimaleswaran, K. S., Berry, D. J., Lu, C., Tikkanen, E., Pilz, S., Hiraki, L. T., ... Hirschhorn, J. N. (2013). Causal Relationship between Obesity and Vitamin D Status: Bi-Directional Mendelian Randomization Analysis of Multiple Cohorts. *PLoS Medicine*, *10*(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001383>
- Visscher, P. M., Wray, N. R., Zhang, Q., Sklar, P., McCarthy, M. I., Brown, M. A., & Yang, J. (2017). 10 Years of GWAS Discovery: Biology, Function, and Translation. *American Journal of Human Genetics*, *101*(1), 5–22. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.06.005>
- Voigt, A., Ribot, J., Sabater, A. G., Palou, A., Bonet, M. L., & Klaus, S. (2015). Identification of Mest/Pegl1 gene expression as a predictive biomarker of adipose tissue expansion sensitive to dietary anti-obesity interventions. *Genes and Nutrition*, *10*(5). <https://doi.org/10.1007/s12263-015-0477-z>
- Vrang, N., Meyre, D., Froguel, P., Jelsing, J., Tang- M., Vatin, V., ... Larsen, P. J. (2010). NIH Public Access, *18*(7), 1289–1296. <https://doi.org/10.1038/oby.2009.361>
- Wang, X., Zhu, H., Snieder, H., Su, S., Munn, D., Harshfield, G., ... Shi, H. (2010). Obesity

- related methylation changes in DNA of peripheral blood leukocytes. *BMC Medicine*, 8(1), 87. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-8-87>
- Wardle, J., Carnell, S., Haworth, C. M. A., Farooqi, I. S., O'Rahilly, S., & Plomin, R. (2008). Obesity associated genetic variation in FTO is associated with diminished satiety. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93(9), 3640–3643. <https://doi.org/10.1210/jc.2008-0472>
- Waseem, T., Mogensen, K. M., Lautz, D. B., & Robinson, M. K. (2007). Pathophysiology of obesity: Why surgery remains the most effective treatment. *Obesity Surgery*, 17(10), 1389–1398. <https://doi.org/10.1007/s11695-007-9220-1>
- Wei, S., Punyanitya, M., Jun, C., Gallagher, D., Albu, J., Pi-Sunyer, X., ... Heymsfield, S. B. (2006). Waist circumference correlates with metabolic syndrome indicators better than percentage fat. *Obesity*, 14(4), 727–736. <https://doi.org/10.1038/oby.2006.83>
- Weiss, L. A., Shen, Y., Korn, J. M., Arking, D. E., Miller, D. T., Fossdal, R., ... Daly, M. J. (2008). new england journal.
- Welbourn, R., Hollyman, M., Kinsman, R., Dixon, J., Liem, R., Ottosson, J., ... Himpens, J. (2019). Bariatric Surgery Worldwide: Baseline Demographic Description and One-Year Outcomes from the Fourth IFSO Global Registry Report 2018. *Obesity Surgery*, 29(3), 782–795. <https://doi.org/10.1007/s11695-018-3593-1>
- Wen, W., Zheng, W., Okada, Y., Takeuchi, F., Tabara, Y., Hwang, J. Y., ... Tanaka, T. (2014). Meta-analysis of genome-wide association studies in East Asian-ancestry populations identifies four new loci for body mass index. *Human Molecular Genetics*, 23(20), 5492–5504. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu248>
- Wilkinson, R., & Pickett, K. (2010). Why Greater Equality Makes Societies Stronger, 1–374.
- Willer, C. J., Willer, C. J., Speliotes, E. K., Speliotes, E. K., Loos, R. J. F., Loos, R. J. F., ... Others. (2009). Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nature Genetics*, 41(1), 25. <https://doi.org/10.1038/ng.287>. Six
- Wolfe, B. M., Kvach, E., & Eckel, R. H. (2016). Treatment of Obesity: Weight Loss and Bariatric Surgery. *Circulation Research*, 118(11), 1844. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.307591>
- World Health Organisation. (2018). Latest global cancer data. *International Agency for Research on Cancer*, (September), 13–15. Retrieved from <http://gco.iarc.fr/>,
- World Health Organization. (2005). a Vital Investment. *World Health*, 202. Retrieved from <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Preventing+Chronic+Diseases:+A+Vital+Investment#3>
- Xanthakos, S. A. (2009). Nutritional Deficiencies in Obesity and After Bariatric Surgery. *Pediatric Clinics of North America*, 56(5), 1105–1121. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2009.07.002>
- Xu, X., Su, S., Barnes, V. A., De Miguel, C., Pollock, J., Ownby, D., ... Wang, X. (2013). A genome-wide methylation study on obesity: Differential variability and differential methylation. *Epigenetics*, 8(5), 522–533. <https://doi.org/10.4161/epi.24506>
- Yajnik, C. S., Deshpande, S. S., Jackson, A. A., Refsum, H., Rao, S., Fisher, D. J., ... Fall, C. H. D. (2008a). Vitamin B12 and folate concentrations during pregnancy and insulin resistance in the offspring: The Pune Maternal Nutrition Study. *Diabetologia*, 51(1), 29–38. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0793-y>
- Yajnik, C. S., Deshpande, S. S., Jackson, A. A., Refsum, H., Rao, S., Fisher, D. J., ... Fall, C. H. D. (2008b). Vitamin B12 and folate concentrations during pregnancy and insulin resistance in the offspring: The Pune Maternal Nutrition Study. *Diabetologia*, 51(1), 29–38.

- <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0793-y>
- Yajnik, Chittaranjan Sakerlal, & Deshmukh, U. S. (2012). Fetal programming: Maternal nutrition and role of one-carbon metabolism. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 13(2), 121–127. <https://doi.org/10.1007/s11154-012-9214-8>
- Yale, C. E., Gohdes, P. N., & Schilling, R. F. (1993). Cobalamin absorption and hematologic status after two types of gastric surgery for obesity. *American Journal of Hematology*, 42(1), 63–66. <https://doi.org/10.1002/ajh.2830420113>
- Yang, G., Sau, C., Lai, W., Cichon, J., & Li, W. (2014). Leveraging population admixture to explain missing heritability of complex traits, 46(12), 1356–1362. <https://doi.org/10.1126/science.1249098.Sleep>
- Yang, J., Bakshi, A., Zhu, Z., Hemani, G., Vinkhuyzen, A. A. E., Lee, S. H., ... Visscher, P. M. (2015). Genetic variance estimation with imputed variants finds negligible missing heritability for human height and body mass index. *Nature Genetics*, 47(10), 1114–1120. <https://doi.org/10.1038/ng.3390>
- Yang, W., Kelly, T., & He, J. (2007). Genetic epidemiology of obesity. *Epidemiologic Reviews*, 29(1), 49–61. <https://doi.org/10.1093/epirev/mxm004>
- Yengo, L., Sidorenko, J., Kemper, K. E., Zheng, Z., Wood, A. R., Weedon, M. N., ... Visscher, P. M. (2018). Meta-analysis of genome-wide association studies for height and body mass index in ~700 000 individuals of European ancestry. *Human Molecular Genetics*, 27(20), 3641–3649. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy271>
- Zakeri, R., & Batterham, R. L. (2018). Potential mechanisms underlying the effect of bariatric surgery on eating behaviour. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 25(1), 3–11. <https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000379>
- Zhang, Y., Liu, J., Yao, J., Ji, G., Qian, L., Wang, J., ... Liu, Y. (2014). Obesity: Pathophysiology and intervention. *Nutrients*, 6(11), 5153–5183. <https://doi.org/10.3390/nu6115153>
- Zhao, S., Jing, W., Samuels, D. C., Sheng, Q., Shyr, Y., & Guo, Y. (2018). Strategies for processing and quality control of Illumina genotyping arrays. *Briefings in Bioinformatics*, 19(5), 765–775. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx012>
- Zhu, Y., Gui, W., Lin, X., & Li, H. (2020). Knock-down of circular RNA H19 induces human adipose-derived stem cells adipogenic differentiation via a mechanism involving the polypyrimidine tract-binding protein 1. *Experimental Cell Research*, 387(2), 111753. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2019.111753>
- Ziegler, O., Sirveaux, M. A., Brunaud, L., Reibel, N., & Quilliot, D. (2009). Medical follow up after bariatric surgery: nutritional and drug issues General recommendations for the prevention and treatment of nutritional deficiencies. *Diabetes and Metabolism*, 35(6 PART II), 544–557. [https://doi.org/10.1016/S1262-3636\(09\)73464-0](https://doi.org/10.1016/S1262-3636(09)73464-0)

APPENDICE

ClinicalTrials.gov Protocol and Results Registration System (PRS) Receipt
Release Date: 01/20/2016

ClinicalTrials.gov ID: NCT02663388

Study Identification

Unique Protocol ID: 2015-A01175-44

Brief Title: Epigenetic Mechanisms and Severe Obesity (Biological Tissue Collection) (OBESSEPI)

Official Title: Influence of Vitamins Status on Severe Obesity Related Complications

Secondary IDs:

Study Status

Record Verification: January 2016

Overall Status: Recruiting

Study Start: January 2016

Primary Completion: January 2026 [Anticipated]

Study Completion:

Sponsor/Collaborators

Sponsor: University of Lorraine

Responsible Party: Principal Investigator

Investigator: Laurent Brunaud [lbrunaud]

Official Title: Pr Laurent BRUNAUD, MD, PhD

Affiliation: University of Lorraine

Collaborators:

Oversight

FDA Regulated?: No

IND/IDE Protocol?: No

Review Board: Approval Status: Approved

Approval Number: PSS 2015/OBESSEPI-BRUNAUD/MS

Board Name: DRI - Direction Recherche et Innovation

Board Affiliation: CHU Nancy

Phone:

Email: m.starck@chu-nancy.fr

Data Monitoring?:

Plan to Share Data?:

Oversight Authorities: France: CPP Est III le 29/09/2015

France: ANSM le 10/08/2015

Study Description

Brief Summary: The purpose of this study is to evaluate the role of vitamins status, epigenetic mechanisms on severe obesity related-complications.

Detailed Description:

Conditions

Conditions: Obesity
Diabetes
Metabolic Diseases
Non-alcoholic Fatty Liver Disease

Keywords:

Study Design

Study Type: Observational [Patient Registry]

Observational Study Model: Cohort

Time Perspective: Prospective

Biospecimen Retention: Samples With DNA

Biospecimen Description: blood, liver, fat tissue (subcutaneous, visceral, mesenteric), small bowel, feces

Enrollment: 20000 [Anticipated]

Number of Groups/Cohorts: 1

Target Follow-Up Duration: 10 Years

Groups and Interventions

Intervention Details:

Procedure/Surgery: gastric bypass, sleeve, gastric banding

Outcome Measures

Primary Outcome Measure:

1. Evaluation of folate mediated one-carbon metabolic pathway parameters (Folates, Vitamin B12, Methionine, Homocysteine) on severe obesity-related complications before and after bariatric surgery
[Time Frame: 10 years] [Safety Issue: No]

Secondary Outcome Measure:

2. Evaluation of DNA Methylation on severe obesity-related complications before and after bariatric surgery
[Time Frame: 10 years] [Safety Issue: No]

Eligibility

Study Population: Patients who undergo bariatric surgery following french national guidelines (HAS 2009)

Sampling Method: Non-Probability Sample

Minimum Age: 18 Years
Maximum Age: 65 Years
Gender: Both
Accepts Healthy Volunteers?: Yes
Criteria: Inclusion Criteria:

- indication for bariatric surgery with BMI > 35 kg/m2

Exclusion Criteria:

- unable to receive clear information
- refusal to sign the consent form

Contacts/Locations

Central Contact: Laurent BRUNAUD, MD, PhD
Email: l.brunaud@chu-nancy.fr
Central Contact Backup: laurent BRUNAUD, MD, PhD
Email: l.brunaud@chu-nancy.fr
Study Officials: laurent BRUNAUD, MD, PhD
Study Principal Investigator
University of Lorraine, CHU Nancy
Locations: France
University of Lorraine, CHU Nancy
[Recruiting]
Vandoeuvre Les Nancy, France, 54511
Contact: laurent brunaud l.brunaud@chu-nancy.fr
Contact: laurent brunaud

References

Citations:
Links:
Study Data/Documents:

JOHN WILEY AND SONS LICENSE TERMS AND CONDITIONS

May 25, 2020

This Agreement between Darlene Antoine ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.

License Number 4766440088407

License date Feb 12, 2020

Licensed Content
Publisher John Wiley and Sons

Licensed Content
Publication Obesity Reviews

Licensed Content
Title Body weight and beauty: the changing face of the ideal female body weight

Licensed Content
Author P. Pozzilli, B. A. Bonafini

Licensed Content
Date Dec 24, 2010

Licensed Content
Volume 12

Licensed Content
Issue 1

Licensed Content 4
Pages

Type of use Dissertation/Thesis

Requestor type University/Academic

Format Electronic

Portion Figure/table

Number of figures/tables 2

Will you be translating? No

Title Integrative study of environmental factors, genomics, and epigenomics of the obese patient before and after bariatric surgery

Expected presentation date Mar 2020

Portions Figure 1 and 4

Requestor Darlene Antoine
1133 des forets Avenue

Location Ottawa, ON K1C5K8
Canada
Attn: Darlene Antoine

Publisher Tax ID EU826007151

Total 0.00 CAD

Terms and Conditions

TERMS AND CONDITIONS

This copyrighted material is owned by or exclusively licensed to John Wiley & Sons, Inc. or one of its group companies (each a "Wiley Company") or handled on behalf of a society with which a Wiley Company has exclusive publishing rights in relation to a particular work (collectively "WILEY"). By clicking "accept" in connection with completing this licensing transaction, you agree that the following terms and conditions apply to this transaction (along with the billing and payment terms and conditions established by the Copyright Clearance Center Inc., ("CCC's Billing and Payment terms and conditions"), at the time that you opened your RightsLink account (these are available at any time at <http://myaccount.copyright.com>).

Terms and Conditions

- The materials you have requested permission to reproduce or reuse (the "Wiley Materials") are protected by copyright.
- You are hereby granted a personal, non-exclusive, non-sub licensable (on a stand-alone basis), non-transferable, worldwide, limited license to reproduce the Wiley Materials for the purpose specified in the licensing process. This license, **and any CONTENT (PDF or image file) purchased as part of your order**, is for a one-time use only and limited to any maximum distribution number specified in the license. The first instance of republication or reuse granted by this license must be completed within two years of the date of the grant of this license (although copies prepared before the end date may be distributed thereafter). The Wiley Materials shall not be used in any other manner or for any other purpose, beyond what is granted in the license. Permission is granted subject to an appropriate acknowledgement given to the author, title of the material/book/journal and the publisher. You shall also duplicate the copyright notice that appears in the Wiley publication in your use of the Wiley Material. Permission is also granted on the understanding that nowhere in the text is a previously published source acknowledged for all or part of this Wiley Material. Any third party content is expressly excluded from this permission.
- With respect to the Wiley Materials, all rights are reserved. Except as expressly granted by the terms of the license, no part of the Wiley Materials may be copied, modified, adapted (except for minor reformatting required by the new Publication), translated, reproduced, transferred or distributed, in any form or by any means, and no derivative works may be made based on the Wiley Materials without the prior permission of the respective copyright owner.**For STM Signatory Publishers**

clearing permission under the terms of the [STM Permissions Guidelines](#) only, the terms of the license are extended to include subsequent editions and for editions in other languages, provided such editions are for the work as a whole in situ and does not involve the separate exploitation of the permitted figures or extracts,

You may not alter, remove or suppress in any manner any copyright, trademark or other notices displayed by the Wiley Materials. You may not license, rent, sell, loan, lease, pledge, offer as security, transfer or assign the Wiley Materials on a stand-alone basis, or any of the rights granted to you hereunder to any other person.

- The Wiley Materials and all of the intellectual property rights therein shall at all times remain the exclusive property of John Wiley & Sons Inc, the Wiley Companies, or their respective licensors, and your interest therein is only that of having possession of and the right to reproduce the Wiley Materials pursuant to Section 2 herein during the continuance of this Agreement. You agree that you own no right, title or interest in or to the Wiley Materials or any of the intellectual property rights therein. You shall have no rights hereunder other than the license as provided for above in Section 2. No right, license or interest to any trademark, trade name, service mark or other branding ("Marks") of WILEY or its licensors is granted hereunder, and you agree that you shall not assert any such right, license or interest with respect thereto
- NEITHER WILEY NOR ITS LICENSORS MAKES ANY WARRANTY OR REPRESENTATION OF ANY KIND TO YOU OR ANY THIRD PARTY, EXPRESS, IMPLIED OR STATUTORY, WITH RESPECT TO THE MATERIALS OR THE ACCURACY OF ANY INFORMATION CONTAINED IN THE MATERIALS, INCLUDING, WITHOUT LIMITATION, ANY IMPLIED WARRANTY OF MERCHANTABILITY, ACCURACY, SATISFACTORY QUALITY, FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE, USABILITY, INTEGRATION OR NON-INFRINGEMENT AND ALL SUCH WARRANTIES ARE HEREBY EXCLUDED BY WILEY AND ITS LICENSORS AND WAIVED BY YOU.
- WILEY shall have the right to terminate this Agreement immediately upon breach of this Agreement by you.
- You shall indemnify, defend and hold harmless WILEY, its Licensors and their respective directors, officers, agents and employees, from and against any actual or threatened claims, demands, causes of action or proceedings arising from any breach of this Agreement by you.
- IN NO EVENT SHALL WILEY OR ITS LICENSORS BE LIABLE TO YOU OR ANY OTHER PARTY OR ANY OTHER PERSON OR ENTITY FOR ANY SPECIAL, CONSEQUENTIAL, INCIDENTAL, INDIRECT, EXEMPLARY OR PUNITIVE DAMAGES, HOWEVER CAUSED, ARISING OUT OF OR IN CONNECTION WITH THE DOWNLOADING, PROVISIONING, VIEWING OR USE OF THE MATERIALS REGARDLESS OF THE FORM OF ACTION, WHETHER FOR BREACH OF CONTRACT, BREACH OF WARRANTY, TORT, NEGLIGENCE, INFRINGEMENT OR OTHERWISE (INCLUDING, WITHOUT

LIMITATION, DAMAGES BASED ON LOSS OF PROFITS, DATA, FILES, USE, BUSINESS OPPORTUNITY OR CLAIMS OF THIRD PARTIES), AND WHETHER OR NOT THE PARTY HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES. THIS LIMITATION SHALL APPLY NOTWITHSTANDING ANY FAILURE OF ESSENTIAL PURPOSE OF ANY LIMITED REMEDY PROVIDED HEREIN.

- Should any provision of this Agreement be held by a court of competent jurisdiction to be illegal, invalid, or unenforceable, that provision shall be deemed amended to achieve as nearly as possible the same economic effect as the original provision, and the legality, validity and enforceability of the remaining provisions of this Agreement shall not be affected or impaired thereby.
- The failure of either party to enforce any term or condition of this Agreement shall not constitute a waiver of either party's right to enforce each and every term and condition of this Agreement. No breach under this agreement shall be deemed waived or excused by either party unless such waiver or consent is in writing signed by the party granting such waiver or consent. The waiver by or consent of a party to a breach of any provision of this Agreement shall not operate or be construed as a waiver of or consent to any other or subsequent breach by such other party.
- This Agreement may not be assigned (including by operation of law or otherwise) by you without WILEY's prior written consent.
- Any fee required for this permission shall be non-refundable after thirty (30) days from receipt by the CCC.
- These terms and conditions together with CCC's Billing and Payment terms and conditions (which are incorporated herein) form the entire agreement between you and WILEY concerning this licensing transaction and (in the absence of fraud) supersedes all prior agreements and representations of the parties, oral or written. This Agreement may not be amended except in writing signed by both parties. This Agreement shall be binding upon and inure to the benefit of the parties' successors, legal representatives, and authorized assigns.
- In the event of any conflict between your obligations established by these terms and conditions and those established by CCC's Billing and Payment terms and conditions, these terms and conditions shall prevail.
- WILEY expressly reserves all rights not specifically granted in the combination of (i) the license details provided by you and accepted in the course of this licensing transaction, (ii) these terms and conditions and (iii) CCC's Billing and Payment terms and conditions.
- This Agreement will be void if the Type of Use, Format, Circulation, or Requestor Type was misrepresented during the licensing process.

- This Agreement shall be governed by and construed in accordance with the laws of the State of New York, USA, without regards to such state's conflict of law rules. Any legal action, suit or proceeding arising out of or relating to these Terms and Conditions or the breach thereof shall be instituted in a court of competent jurisdiction in New York County in the State of New York in the United States of America and each party hereby consents and submits to the personal jurisdiction of such court, waives any objection to venue in such court and consents to service of process by registered or certified mail, return receipt requested, at the last known address of such party.

WILEY OPEN ACCESS TERMS AND CONDITIONS

Wiley Publishes Open Access Articles in fully Open Access Journals and in Subscription journals offering Online Open. Although most of the fully Open Access journals publish open access articles under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY) License only, the subscription journals and a few of the Open Access Journals offer a choice of Creative Commons Licenses. The license type is clearly identified on the article.

The Creative Commons Attribution License

The [Creative Commons Attribution License \(CC-BY\)](#) allows users to copy, distribute and transmit an article, adapt the article and make commercial use of the article. The CC-BY license permits commercial and non-

Creative Commons Attribution Non-Commercial License

The [Creative Commons Attribution Non-Commercial \(CC-BY-NC\) License](#) permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.(see below)

Creative Commons Attribution-Non-Commercial-NoDerivs License

The [Creative Commons Attribution Non-Commercial-NoDerivs License](#) (CC-BY-NC-ND) permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, is not used for commercial purposes and no modifications or adaptations are made. (see below)

Use by commercial "for-profit" organizations

Use of Wiley Open Access articles for commercial, promotional, or marketing purposes requires further explicit permission from Wiley and will be subject to a fee.

Further details can be found on Wiley Online Library
<http://olabout.wiley.com/WileyCDA/Section/id-410895.html>

Other Terms and Conditions:

v1.10 Last updated September 2015

Questions? customer@copyright.com or +1-855-239-3415 (toll free in the US) or +1-978-646-2777.



**SPRINGER NATURE LICENSE
TERMS AND CONDITIONS**

May 25, 2020

This Agreement between Darlene Antoine ("You") and Springer Nature ("Springer Nature") consists of your license details and the terms and conditions provided by Springer Nature and Copyright Clearance Center.

License Number	4766590147202
License date	Feb 12, 2020
Licensed Content Publisher	Springer Nature
Licensed Content Publication	Nature Reviews Endocrinology
Licensed Content Title	Obesity: global epidemiology and pathogenesis
Licensed Content Author	Matthias Blüher
Licensed Content Date	Feb 27, 2019
Type of Use	Thesis/Dissertation
Requestor type	academic/university or research institute
Format	print and electronic

Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	2
High-res required	no
Will you be translating?	no
Circulation/distribution	1 - 29
Author of this Springer Nature content	no
Title	Integrative study of environmental factors, genomics, and epigenomics of the obese patient before and after bariatric surgery
Institution name	n/a
Expected presentation date	Mar 2020
Order reference number	NA
Portions	Figure 3 and 4
Requestor Location	Darlene Antoine 1133 des forets Avenue Ottawa, ON K1C5K8 Canada Attn: Darlene Antoine
Total	0.00 CAD

Terms and Conditions

**Springer Nature Customer Service Centre GmbH
Terms and Conditions**

This agreement sets out the terms and conditions of the licence (the **Licence**) between you and **Springer Nature Customer Service Centre GmbH** (the **Licensor**). By clicking 'accept' and completing the transaction for the material (**Licensed Material**), you also confirm your acceptance of these terms and conditions.

1. Grant of License

- 1. 1.** The Licensor grants you a personal, non-exclusive, non-transferable, world-wide licence to reproduce the Licensed Material for the purpose specified in your order only. Licences are granted for the specific use requested in the order and for no other use, subject to the conditions below.
- 1. 2.** The Licensor warrants that it has, to the best of its knowledge, the rights to license reuse of the Licensed Material. However, you should ensure that the material you are requesting is original to the Licensor and does not carry the copyright of another entity (as credited in the published version).
- 1. 3.** If the credit line on any part of the material you have requested indicates that it was reprinted or adapted with permission from another source, then you should also seek permission from that source to reuse the material.

2. Scope of Licence

- 2. 1.** You may only use the Licensed Content in the manner and to the extent permitted by these Ts&Cs and any applicable laws.
- 2. 2.** A separate licence may be required for any additional use of the Licensed Material, e.g. where a licence has been purchased for print only use, separate permission must be obtained for electronic re-use. Similarly, a licence is only valid in the language selected and does not apply for editions in other languages unless additional translation rights have been granted separately in the licence. Any content owned by third parties are expressly excluded from the licence.
- 2. 3.** Similarly, rights for additional components such as custom editions and derivatives require additional permission and may be subject to an additional fee. Please apply to Journalpermissions@springernature.com/bookpermissions@springernature.com for these rights.
- 2. 4.** Where permission has been granted **free of charge** for material in print,

permission may also be granted for any electronic version of that work, provided that the material is incidental to your work as a whole and that the electronic version is essentially equivalent to, or substitutes for, the print version.

2. 5. An alternative scope of licence may apply to signatories of the [STM Permissions Guidelines](#), as amended from time to time.

3. Duration of Licence

3. 1. A licence for is valid from the date of purchase ('Licence Date') at the end of the relevant period in the below table:

Scope of Licence	Duration of Licence
Post on a website	12 months
Presentations	12 months
Books and journals	Lifetime of the edition in the language purchased

4. Acknowledgement

4. 1. The Licensor's permission must be acknowledged next to the Licenced Material in print. In electronic form, this acknowledgement must be visible at the same time as the figures/tables/illustrations or abstract, and must be hyperlinked to the journal/book's homepage. Our required acknowledgement format is in the Appendix below.

5. Restrictions on use

5. 1. Use of the Licensed Material may be permitted for incidental promotional use and minor editing privileges e.g. minor adaptations of single figures, changes of format, colour and/or style where the adaptation is credited as set out in Appendix 1 below. Any other changes including but not limited to, cropping, adapting, omitting material that affect the meaning, intention or moral rights of the author are strictly prohibited.

5. 2. You must not use any Licensed Material as part of any design or trademark.

5. 3. Licensed Material may be used in Open Access Publications (OAP) before publication by Springer Nature, but any Licensed Material must be removed from OAP sites prior to final publication.

6. Ownership of Rights

6. 1. Licensed Material remains the property of either Licensor or the relevant third party and any rights not explicitly granted herein are expressly reserved.

7. Warranty

IN NO EVENT SHALL LICENSOR BE LIABLE TO YOU OR ANY OTHER PARTY OR ANY OTHER PERSON OR FOR ANY SPECIAL, CONSEQUENTIAL, INCIDENTAL OR INDIRECT DAMAGES, HOWEVER CAUSED, ARISING OUT OF OR IN CONNECTION WITH THE DOWNLOADING, VIEWING OR USE OF THE MATERIALS REGARDLESS OF THE FORM OF ACTION, WHETHER FOR BREACH OF CONTRACT, BREACH OF WARRANTY, TORT, NEGLIGENCE, INFRINGEMENT OR OTHERWISE (INCLUDING, WITHOUT LIMITATION, DAMAGES BASED ON LOSS OF PROFITS, DATA, FILES, USE, BUSINESS OPPORTUNITY OR CLAIMS OF THIRD PARTIES), AND WHETHER OR NOT THE PARTY HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES. THIS LIMITATION SHALL APPLY NOTWITHSTANDING ANY FAILURE OF ESSENTIAL PURPOSE OF ANY LIMITED REMEDY PROVIDED HEREIN.

8. Limitations

8. 1. *BOOKS ONLY:* Where 'reuse in a dissertation/thesis' has been selected the following terms apply: Print rights of the final author's accepted manuscript (for clarity, NOT the published version) for up to 100 copies, electronic rights for use only on a personal website or institutional repository as defined by the Sherpa guideline (www.sherpa.ac.uk/romeo/).

9. Termination and Cancellation

9. 1. Licences will expire after the period shown in Clause 3 (above).

9. 2. Licensee reserves the right to terminate the Licence in the event that payment is not received in full or if there has been a breach of this agreement by you.

Appendix 1 – Acknowledgements:

For Journal Content:

Reprinted by permission from [the Licensor]: [Journal Publisher (e.g. Nature/Springer/Palgrave)] [JOURNAL NAME] [REFERENCE CITATION]

(Article name, Author(s) Name), [COPYRIGHT] (year of publication)

For Advance Online Publication papers:

Reprinted by permission from [the Licensor]: [Journal Publisher (e.g. Nature/Springer/Palgrave)] [JOURNAL NAME] [REFERENCE CITATION (Article name, Author(s) Name), [COPYRIGHT] (year of publication), advance online publication, day month year (doi: 10.1038/sj.[JOURNAL ACRONYM].)]

For Adaptations/Translations:

Adapted/Translated by permission from [the Licensor]: [Journal Publisher (e.g. Nature/Springer/Palgrave)] [JOURNAL NAME] [REFERENCE CITATION (Article name, Author(s) Name), [COPYRIGHT] (year of publication)]

Note: For any republication from the British Journal of Cancer, the following credit line style applies:

Reprinted/adapted/translated by permission from [the Licensor]: on behalf of Cancer Research UK: : [Journal Publisher (e.g. Nature/Springer/Palgrave)] [JOURNAL NAME] [REFERENCE CITATION (Article name, Author(s) Name), [COPYRIGHT] (year of publication)]

For Advance Online Publication papers:

Reprinted by permission from The [the Licensor]: on behalf of Cancer Research UK: [Journal Publisher (e.g. Nature/Springer/Palgrave)] [JOURNAL NAME] [REFERENCE CITATION (Article name, Author(s) Name), [COPYRIGHT] (year of publication), advance online publication, day month year (doi: 10.1038/sj.[JOURNAL ACRONYM].)]

For Book content:

Reprinted/adapted by permission from [the Licensor]: [Book Publisher (e.g. Palgrave Macmillan, Springer etc)] [Book Title] by [Book author(s)] [COPYRIGHT] (year of publication)

Other Conditions:

Version 1.2

Questions? customercare@copyright.com or +1-855-239-3415 (toll free in the US) or +1-978-646-2777.

CONTRIBUTION DES COLLABORATEURS

Cette thèse contient quelques expériences et analyses qui avaient besoin de l'expertise de certains de nos collaborateurs. Il aurait été impossible de réaliser ces travaux sans leurs contributions. Cette section du manuscrit sert à mettre en lumière leurs efforts. Sébastien HERGALANT a conseillé et supervisé le méthylome en suggérant les outils les plus efficaces à utiliser. Pierre ROUYER a contribué à ces travaux en réalisant l'expérience de méthylation sur le foie. Philippe GERARD a contribué en réalisant et en me guidant sur la réalisation du dosage de la vitamine B₁₂, des folates et de l'insuline. Jean-Claude CHEVRE a contribué en analysant le méthylome et en fournissant des critiques cruciales pour ce manuscrit. Abderrahim OUSSALAH a contribué en ré-analysant le méthylome. Je leur suis infiniment reconnaissante.

DÉCLARATION

Je soussignée, Darlene Antoine, déclare avoir fidèlement effectué toutes les expériences, et extrait moi-même toutes les données présentées ici dans ce manuscrit de la base de données du CHRU Nancy, à l'exception de celles mentionnées dans la section CONTRIBUTION DES COLLABORATEURS, et ai rédigé ce manuscrit dans le cadre de ma thèse sous la supervision de mes deux encadrants : Pr. Rosa-Maria Rodriguez-GUEANT et Pr. David MEYRE, et ai suivi les directives de l'école doctorale BIOSE de l'Université de Lorraine, Nancy, FRANCE.

Abstract for the public

Obesity is a complex and multifactorial disease, resulting from genetic and environmental influences. In 2016, obesity affected more than 1.9 billion people worldwide, and this disorder is associated with multiple comorbidities. In France, few treatment options are available to manage obesity such as lifestyle and behavior changes with poor results. In contrast, bariatric surgery leads to significant weight loss, better quality of life and decreased mortality rate. However, it is associated with nutritional complications. We evaluated in a cohort of patients undergoing bariatric surgery (OBESEPI "severe and epigenetic obesity") nutritional, genetic and epigenetic factors at medium-term following surgery. First, we observed that the vitamin B12 concentration before surgery was the only predictor of vitamin B12 concentration at a period of time (e.g. 2 years) after surgery, and it was also associated with age and aspartate aminotransferase / platelet ratio score. Second, we studied 14 rare / uncommon coding variants in "OBESEPI" patients as cases, and in the French Exome (FREX) as controls. We constructed a risk score, or protective score based on 11 rare variants. The results showed that neither the risk score nor the protective score was associated with preoperative BMI in patients with obesity or having an effect on the change in BMI in response to a lifestyle /behavior modification. In contrast, rare protective variants (decreased BMI) were significantly less common in patients with severe obesity compared to healthy controls. Third, we compared DNA methylation profiles using genome-wide analysis in cases and controls from the OBESEPI and the Marseille Thrombosis Association (MARTHA). This study showed that DNA methylation profiles in people with obesity were similar between the whole blood and liver, but not the visceral adipose tissue. In conclusion, this integrative approach to this work provided evidence for the interaction between genetic and environmental exposures in the pathogenesis of the obese phenotype.

Keywords: Obesity, bariatric surgery, vitamin B12, rare genetic variants, epigenetics, DNA methylation.

Résumé pour le public

L'obésité est une maladie complexe et multifactorielle, résultant d'influences génétiques et environnementales. En 2016, l'obésité touchait plus de 1,9 milliards de personnes dans le monde, et cette maladie est associée à de multiples comorbidités. En France, peu d'options thérapeutiques sont disponibles pour lutter contre l'obésité, telles que les modifications du mode de vie et du comportement, avec des résultats médiocres. En revanche, la chirurgie bariatrique entraîne une perte de poids significative, une meilleure qualité de vie et une diminution du taux de mortalité. Cependant, elle est associée à des complications nutritionnelles. Nous avons évalué dans une cohorte de patients subissant une chirurgie bariatrique (OBESEPI « obésité sévère et épigénétique ») les facteurs nutritionnels, génétiques et épigénétiques qui peuvent jouer sur le statut nutritionnel et sur la perte de poids à moyen terme après chirurgie. Tout d'abord, nous avons observé que la concentration de vitamine B12 avant la chirurgie était le seul prédicteur de la concentration de vitamine B12 à une période (par exemple, 2ans) après la chirurgie, et qu'elle était également associée à l'âge et au score du rapport aspartate aminotransférase/plaquettes. Par la suite, nous avons étudié 14 des variants codants rares / peu fréquents chez les patients « OBESEPI » comme cas, et dans la cohorte d'Exome français (FREX) comme témoins. Nous avons construit un score, soit risque, soit protecteur, basé sur 11 variants rares. Les résultats ont montré que, ni le score à risque, ni le score protecteur, ne sont associés à l'IMC, avant l'intervention chez les patients atteints d'obésité ou ayant un effet sur la modification de l'IMC en réponse à une modification de style de vie/comportement. Par contre, les variants rares protecteurs (diminution de l'IMC), sont significativement moins fréquents chez les patients souffrant d'obésité sévère par rapport aux témoins sains. Pour terminer, nous avons comparé les profils de méthylation de l'ADN à l'aide d'une analyse à l'échelle du génome dans des cas et des contrôles de l'OBESEPI et de la Marseille Thrombosis Association (MARTHA). Cette étude a montré que les profils de méthylation de l'ADN des personnes atteintes d'obésité sont similaires entre le sang total et le foie, mais pas le tissu adipeux viscéral. En conclusion, cette approche intégrative de ce travail a fourni des preuves de l'interaction entre les expositions génétiques et environnementales dans la pathogenèse du phénotype obèse.

Mots clés : Obésité, chirurgie bariatrique, vitamine B12, variants génétiques rares/basse fréquence, épigénétique, méthylation de l'ADN.