



**UNIVERSITE TOULOUSE III - PAUL SABATIER**  
**FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

Année : 2022

2022/TOU3/2106

**THESE**

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement par

Clémence TROPIS

Le 18 novembre 2022

**Impact de l'obésité sur les pertes cognitives**  
**liées à la chirurgie**

Directeur de thèse : Dr. Cédric Dray

Co-directeur de thèse : Dr. Vincent Minville

Jury

Président : Mme Catherine Muller

1<sup>er</sup> assesseur : Mme Elisa Boutet

2<sup>ème</sup> assesseur : Mr Bruno Guiard

3<sup>ème</sup> assesseur : Mr Jean-Philippe Pradère

Directeur de thèse : Mr Cédric Dray

Co-directeur de thèse : Mr Vincent Minville

**PERSONNEL ENSEIGNANT**  
**du Département des Sciences Pharmaceutiques de la Faculté de santé**  
**au 4 avril 2022**

**Professeurs Emérites**

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire
M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie

**Professeurs des Universités**

**Hospitalo-Universitaires**

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

**Universitaires**

Mme BERNARDES-GENISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
M. LETISSE F.	Chimie pharmaceutique
Mme MULLER-STAUMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique

## Maîtres de Conférences des Universités

### Hospitalo-Universitaires

M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
Mme KELLER L.	Biochimie
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S.	Biophysique
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

### Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C. (*)	Biophysique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS C.	Immunologie
Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
Mme DERA EVE C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme GADEA A.	Pharmacognosie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C. (*)	Pharmacognosie
M. LE NAOUR A.	Toxicologie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MONFERRAN S	Biochimie
M. PILLOUX L.	Microbiologie
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALLO A.	Pharmacie Galénique
(*)	Pharmacognosie
Mme VANSTEELANDT M.	Mathématiques
Mme WHITE-KONING M. (*)	

(\*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

## Enseignants non titulaires

### Assistants Hospitalo-Universitaires

M. AL SAATI A	Biochimie
Mme BAKLOUTI S.	Pharmacologie
Mme CLARAZ P.	Pharmacie clinique
Mme CHAGNEAU C.	Microbiologie
Mme LARGEAUD L	Immunologie
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie
Mme STRUMIA M.	Pharmacie clinique
Mme TRIBAUDEAU L.	Droit Pharmaceutique

### Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Mme AMRANE Dyhia	Chimie Thérapeutique
------------------	----------------------

## Remerciements

Je tiens à remercier **tous les membres de mon jury**,

**Catherine Muller-Staumont** merci d'être présente aujourd'hui et d'avoir accepté de présider cette thèse.

**Elisa Boutet** merci de m'avoir transmis ta passion et m'avoir encouragée depuis mes débuts.

**Bruno Guiard** merci d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse d'exercice, j'espère avoir l'occasion d'échanger avec vous à nouveau.

**Vincent Minville** merci pour ta confiance sur ce projet et ton optimisme à toute épreuve. Chaque réunion me donne l'impression d'avoir fait de grandes découvertes.

**Cédric Dray** merci de former ce binôme avec moi. Je n'aurais pas pu imaginer meilleure équipe. Merci pour les discussions scientifiques toujours plus folles et poussées, merci pour les discussions sur la vie et l'avenir, merci pour le modèle que vous resterez.

Aux enseignants qui m'ont guidée **Isabelle Lajoie-Mazenc, Jean-Edouard Gairin, Pierre Verhaeghe** merci à vous trois, chacun de vous a contribué à sa manière et à différentes périodes de mon parcours à me mener ici aujourd'hui et m'épanouir dans la recherche.

### **A l'équipe Métabolink,**

Philippe, Mr le Directeur, depuis notre rencontre vous m'avez transmis votre passion pour les sciences. Depuis le jour où vous avez écrit mon avenir sur une feuille de papier et que j'ai suivi le chemin tracé.

Isabelle C, merci pour ton rôle de maman du labo, toujours disponible. Ton écoute, ta bienveillance et ta bonne humeur m'aident à avancer chaque jour.

Armelle, merci pour ton honnêteté, ton intégrité et tes silences qui valent mille mots.

Jean-Philippe, merci pour nos longues discussions, le partage d'expériences, les conseils, les désaccords aussi, qui m'aident toujours à y voir plus clair.

François, merci de m'avoir aidée au début de ce projet et d'être toujours présent aujourd'hui pour sa continuité.

Jean, même si tu nous as abandonné pour rejoindre les parents je te remercie d'être toujours là et m'accompagner (même à la salle) toujours avec le sourire.

Audrey, Isabelle A, Anne, Jean-Charles, Mylène, Céline, Aurélie, Ophélie L, Yannick et Spiro je suis très heureuse de pouvoir partager avec vous au quotidien que ce soit pour la science ou autre. Merci pour votre aide.

**A nos petites mains** sans qui rien ne serait possible.

Sophie, merci pour nos longues journées à huis clos, pour tes conseils scientifiques mais surtout humains.

Ophélie, merci de m'avoir formée et guidée. Merci d'être toujours présente pour m'aider quelle que soit ma demande.

Marie S, merci de m'accompagner sur nos folles journées de manip, d'être autant motivée que moi par ce projet, de me rassurer quand je doute, de me dire « on est à la moitié » quand on manipule 12 heures d'affilées. Tu as supporté mon absence de pédagogie à mes débuts et m'a aidée à grandir.

Anaïs et Luc il vous reste un peu de temps pour venir vous éclater avec moi.

A celles et ceux qui sont partis Nancy, Johanna, Vanessa, Lucas. Merci d'avoir été là.

**Alizée**, mon petit boy, merci d'avoir fait de moi une Machina, merci pour nos milles heures de manips, nos milles discussions et fous rires. Les petits dej, les cafés, les goûters, les « Good Job Boy », les sessions comportement à 7h et les marquages de cytométrie à 21h, les « partie commune Boy ». Tu es devenue une vraie amie.

**Aux thésards,**

Mes puces Marie, Elena et Laurène merci d'être là pour tout. Les bons et mauvais jours, les doutes, les craquages du soir, les ginto, les répétitions, les imitations, le stress partagé, les éclats de rire. Cette thèse c'est aussi un peu la vôtre.

La relève le petit Rémi, Cholé, Marion, Gonçalo et la petite dernière Garance. Je suis très heureuse de vous compter dans l'équipe et de pouvoir partager cette aventure avec vous, merci pour tout.

L'ancien, Enzo, tu me manques.

Aux stagiaires Mathilde, Vincent et Raphaëlle ce fut un réel plaisir et honneur de travailler avec vous.

**A toute la Restore Family** merci à tous d'avoir créé ce super groupe soudé. Chaque moment passé avec vous me donne l'impression d'être en famille.

**A l'équipe du service de toxicologie**, Catherine, Elisa, Fred, Anne, Augustin et Saleha. Merci de votre accueil, grâce à vous j'ai découvert l'autre côté du pupitre.

**A tous mes amis** qui m'accompagnent

Daphnée, Sean, Olivier, Zoé, Raph, Caro, Charlotte, Cédric merci d'être là depuis le début et pour longtemps encore.

Cyrielle, Claire, Salomé, Alexandre, Bruno pour avoir survécu à ces longues années d'études (pas encore tout à fait terminé). Grâce à vous j'ai pu les traverser avec amour, coup de gueule, bienveillance, générosité, folie, rire, raclette, téquila, loup garou (et des choses que je ne peux pas écrire ici). Je n'aurai pas pu imaginer meilleure team pour avancer.

Etienne, Loïc, Maxime, Camille, Théo S, Maylis, Théo A, Romain même si vous me prenez pour une tueuse de souris merci pour nos moments partagés, merci de toujours m'encourager dans mes projets et m'aider à penser à autre chose.

A Nina et Marion, vous êtes bien plus que des amies. Merci d'être toujours là pour moi et de croire en moi. Je sais qu'on a encore plein de belles choses à vivre ensemble.

A mes amies de toujours Lisa, Léa et Julie. Aussi loin que je me rappelle vous avez toujours été là, peu importe les chemins pris, les années et la distance. Vous resterez indispensable à mon bonheur, merci.

**A ma famille**

A mes grands-parents Papé, Mamette, Papi, Mami. Merci à tous les quatre pour tout ce que vous m'avez transmis. Merci de croire plus en moi que n'importe qui.

**A tonton**, merci de toujours penser que je suis la plus intelligente même si c'est faux, merci pour nos soirées concerts de folie passées et à venir, merci de toujours me faire rire.

**A Joël, Geneviève, Fabien, Thibault, Solène**, merci pour votre soutien.

**A mes parents** qui ont toujours cru en moi et m'ont toujours poussée à faire qui me rendrait heureuse. Papa, tu m'as dit que peu importe le métier que je ferai je serai chef et que je ferai tout ce que je veux dans la vie. Merci de m'avoir donné cette détermination. Maman, tu m'as transmis malgré toi ta passion, tu restes mon plus grand modèle de réussite et de bonheur.

**A mon frère Bastien**, même si tu ne comprends pas tout à mes études merci de m'encourager et être toujours là pour moi.

**A la famille Zanchetta-Huc**, Isabelle, Daniel, Francine, Lydie, Solange, Jean-Pierre, Mathilde, PJ, Lisa, Cédric, Marc, Bernadette, Sébastien, Émilie, Émilie, Daniel, Monique, Delphine, Hugues, l'équipe du cochon et tous les petits loups. Merci à tous de m'avoir accueillie dans votre famille et me soutenir à chaque étape.

**Aux Garbitta**, Cathy et Max mes Pinzutu préférés.

**A Adam et Andrea**, mes merveilles.

**A Clément**, c'est toi qui as la place la plus difficile mais tu es toujours là pour moi, merci de me supporter. Merci de m'accompagner depuis le début, merci de m'encourager et croire en moi. Et merci d'être prêt à me suivre dans toutes mes aventures.

## Table des matières

<b>Liste des figures</b> .....	<b>9</b>
Partie I : Synthèse bibliographique .....	9
Partie II : Partie expérimentale : Étude du lien entre l'obésité et trouble cognitif post-opératoire .....	9
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>10</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>11</b>
<b>Partie I : Revue de la littérature</b> .....	<b>13</b>
<b>I. Les fonctions cognitives</b> .....	<b>13</b>
1. La mémoire : l'indispensable interaction avec l'environnement.....	14
2. L'évaluation de la mémoire : de l'Homme et l'Animal .....	18
<b>II. Le trouble cognitif post-opératoire : une perte de mémoire méconnue médiée par l'inflammation</b> .....	<b>22</b>
1. Le trouble cognitif post-opératoire : définition et généralités .....	22
2. Le trouble cognitif post-opératoire : une inflammation systémique aigüe.....	25
3. Le trouble cognitif post-opératoire : une neuroinflammation exacerbée .....	28
<b>III. L'obésité : une inflammation sous-jacente</b> .....	<b>31</b>
1. L'obésité : définition et généralités.....	31
2. L'obésité : un tissu adipeux modifié .....	35
3. L'obésité : un état d'inflammation chronique de bas bruit .....	37
<b>III. L'obésité : un facteur de risque pour le trouble cognitif post-opératoire ?</b> ....	<b>39</b>
1. L'obésité : acteur de la neuroinflammation .....	40
2. L'obésité : Vers le développement d'altérations cognitives.....	43
3. L'obésité : potentialisation du trouble cognitif post-opératoire ?.....	47
<b>Partie II : Partie expérimentale</b> .....	<b>49</b>
<b>Impact de l'obésité sur les pertes cognitives</b> .....	<b>49</b>
<b>liées à la chirurgie</b> .....	<b>49</b>
<b>I. Matériel et Méthodes</b> .....	<b>49</b>
Animaux et régime.....	49
Test de tolérance orale au glucose (OGTT) .....	50
Anesthésie et chirurgie.....	50
Test comportementaux .....	51
Collecte des tissus.....	52
Dosages plasmatiques .....	53
Étude de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique .....	53
Expression protéique par Western blot .....	54
Expression génique par RT-qPCR.....	54
Histologie du tissu adipeux .....	55
Préparation des milieux conditionnés de tissu adipeux .....	56
Culture cellulaire.....	56
Cytométrie en flux.....	57
Statistiques .....	57
<b>II. Résultats</b> .....	<b>59</b>
Validation de l'installation de l'obésité par un régime riche en lipides (HFD). .....	59
L'obésité est associée à une altération spécifique des fonctions cognitives après une chirurgie.....	62



L'obésité est associée à une réponse inflammatoire centrale altérée au cours de la chirurgie. .....	65
Le tissu adipeux pourrait jouer un rôle dans les dysfonctions cognitives post-opératoires via son sécrétome.....	68
<b>III. Discussion.....</b>	<b>71</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>79</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>80</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>89</b>

# Liste des figures

## Partie I : Synthèse bibliographique

Figure 1 : Les fonctions cognitives.

Figure 2 : L'hippocampe.

Figure 3 : Schéma de la transmission synaptique de l'information au cours de la consolidation synaptique.

Figure 4 : Exemples de tests cognitifs réalisés chez l'Homme.

Figure 5 : Exemples de tests cognitifs réalisés chez l'animal.

Figure 6 : Facteurs de risque du trouble cognitif post-opératoire.

Figure 7 : Réponse inflammatoire systémique post-chirurgie.

Figure 8 : Réponse inflammatoire centrale post-chirurgie.

Figure 9 : Évolution de l'incidence de l'obésité au cours du temps.

Figure 10 : Généralités sur l'obésité.

Figure 11 : Les modifications du tissu adipeux induites par l'obésité.

Figure 12 : Inflammation du tissu adipeux de l'individu obèse.

Figure 13 : Obésité, inflammation et cerveau.

## Partie II : Partie expérimentale : Étude du lien entre l'obésité et trouble cognitif post-opératoire

Figure 1 : Validation de l'induction de l'obésité par un régime riche en lipides (HFD).

Figure 2 : L'obésité est associée à une altération spécifique des fonctions cognitives après une chirurgie.

Figure 3 : L'obésité est associée à une réponse inflammatoire centrale altérée au cours de la chirurgie.

Figure 4 : Le tissu adipeux pourrait jouer un rôle dans les dysfonctions cognitives post-opératoires via son sécrétome.

## Liste des abréviations

BDNF : Brain Derived Neurotrophic Factor  
BHE : Barrière hémato-encéphalique  
BSA : Albumine sérique bovine  
BMDM : Bone marrow-derived macrophages  
CA : Corne d'Ammon  
CRP : Protéine C réactive  
DG : Gyrus Denté  
EBSS : Earle's Balanced Salt Solution  
ELB : Erythrocyte lysis buffer  
DAMPS : Damage-associated molecular patterns  
DMEM : Dulbecco's Modified Eagle Medium  
GAPDH : Glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase  
HBSS : Hank's Balanced Salt Solution  
HFD : High Fat Diet  
HMGB1 : high-mobility group box 1  
ICV : Intra-cérébro-ventriculaire  
IL-1 $\beta$  : Interleukine 1  
IL-6 : Interleukine 6  
IMC : indice de masse corporelle  
MMP9 : Métalloprotéase matricielle 9  
MMSE : Mini mental state examination  
ND : Normal Diet  
NF- $\kappa$ B : nuclear factor kappa B  
PFA : Paraformaldéhyde  
PRR : Pattern recognition receptor  
RTH : Rapport tour de taille/tour de hanche  
SVF : Fraction stroma-vasculaire  
TBST : Tris Buffered Saline + Tween  
TCPO : Trouble Cognitif Post-Opératoire  
TLR : Toll like receptor  
TNF- $\alpha$  : Tumor Necrosis Factor

## Introduction

Le trouble cognitif post-opératoire (TCPO) est aujourd'hui reconnu comme un problème de santé publique dont l'incidence augmente avec l'avancée en âge de la population. Ce trouble conduisant à une diminution des capacités cognitives des patients, est associé à une morbidité et une mortalité élevées, et représente un coût pour la société. De plus, pour lutter contre ce trouble, il est nécessaire de mettre en place des stratégies thérapeutiques préventives et curatives qui sont à ce jour encore manquantes. L'étiologie du TCPO, longtemps inconnue, semble aujourd'hui tendre vers un rôle majeur de l'inflammation produite au décours de la chirurgie. En effet, cette inflammation systémique conduit par la propagation de signaux pro-inflammatoires à une neuroinflammation passant par l'entrée de cellules immunes et signaux pro-inflammatoires au niveau central responsables de l'altération des voies de la plasticité synaptique.

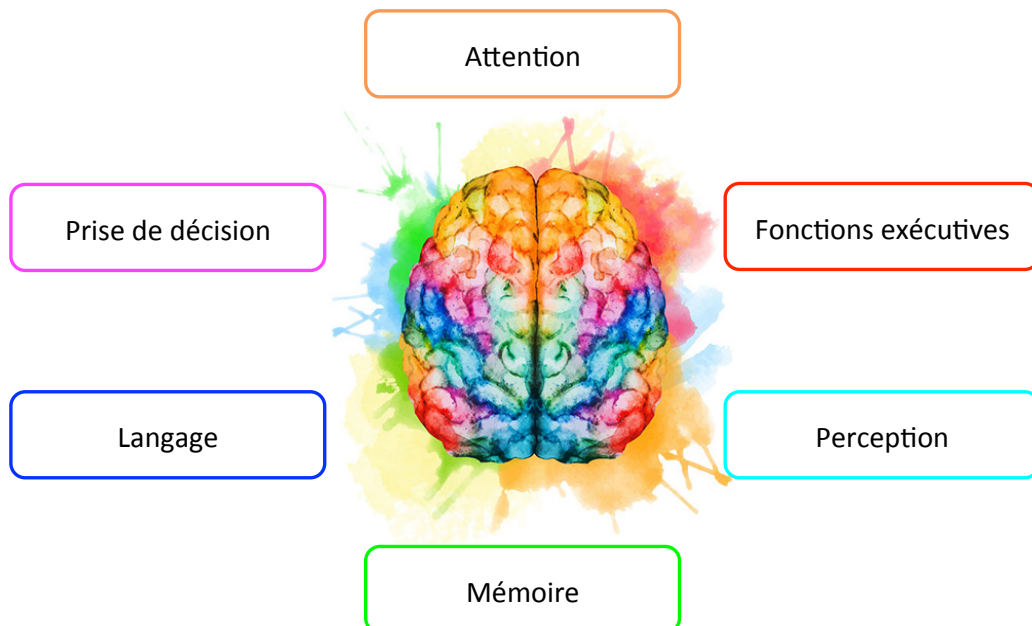
Ainsi la question du statut inflammatoire de base du patient se pose. L'obésité, pathologie présentant une inflammation chronique à bas niveau, pourrait représenter un facteur de risque dans le développement et le maintien des altérations cognitives post-chirurgicales. L'obésité représente le mal de la société moderne et un enjeu de santé publique avec une incidence qui ne cesse d'augmenter et de nombreuses maladies métaboliques et cardiovasculaires associées. Cependant, l'obésité joue également un rôle au niveau neurologique et représente un facteur de risque de maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer ou les démences.

**Dans ce contexte, l'objectif de notre étude a été de déterminer le lien entre les modifications du tissu adipeux associées à l'obésité et le trouble cognitif post-opératoire.** Pour cela, un modèle d'obésité induit par régime riche en lipide (High Fat Diet 60%) associé à un modèle de TCPO induit par fracture fermée du tibia droit, tous deux développés dans l'équipe, ont été choisis et mis en place chez la souris. Dans un premier temps, l'étude du comportement et notamment des capacités mnésiques a mis en évidence une altération des capacités cognitives spécifique des souris obèses suite à la chirurgie. De plus, l'étude des mécanismes impliqués au niveau central signe une altération de la barrière hémato-encéphalique et un remodelage des cellules impliquées dans la neuroinflammation (cellules de la microglie et astrocytes) dans ce modèle de souris obèse fracturée. Afin de comprendre le rôle du tissu adipeux dans les phénomènes observés, l'étude des molécules sécrétées par ce dernier a été entreprise sur des lignées de cellules de microglie d'origine murine *in vitro*.

# Partie I : Revue de la littérature

## I. Les fonctions cognitives

Les fonctions cognitives correspondent à un ensemble fonctionnant de manière coordonnée et permettant l'acquisition, l'analyse et la transmission de l'information. Elles rassemblent plusieurs capacités parmi lesquelles l'attention, la mémoire, la perception, la parole et le langage, mais aussi la prise de décision et le contrôle de la fonction exécutive <sup>1</sup>. Ces fonctions sont associées à différentes aires cérébrales.



**Figure 1 : Ensemble des fonctions cognitives.**

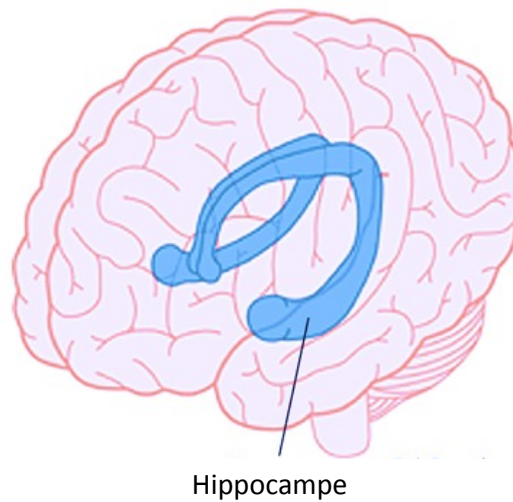
## 1. La mémoire : l'indispensable interaction avec l'environnement

La mémoire est une fonction cognitive majeure permettant l'intégration, la conservation et la restitution des informations pour permettre l'interaction avec notre environnement <sup>2</sup>. Cette mémorisation est divisée en trois grandes étapes : l'apprentissage, la consolidation puis le rappel, décrites pour la première fois en 1990 par Müller et Pilzecker <sup>3</sup>. On retrouve cinq grands types de mémoires dont chacun est associé à une aire cérébrale spécifique :

- La mémoire sémantique, associée au néo-cortex, correspond aux connaissances générales du monde et de soi.
- La mémoire inconsciente procédurale, associée au cervelet, correspond aux gestes faits par automatisme.
- La mémoire implicite, associée au cortex, correspond aux émotions et à l'inconscient.
- La mémoire de travail, associée au cortex pré-frontal, correspond à la mémoire à court terme.
- La mémoire explicite, associée à l'hippocampe, correspond au souvenir propre de chaque individu et dépend du contexte. L'hippocampe est l'aire centrale de cette mémoire puisqu'elle est le siège de la consolidation synaptique.

L'hippocampe est une petite formation cérébrale impliquée dans la formation, l'organisation et le stockage de la mémoire spatio-temporelle, ainsi que l'apprentissage **(Figure 2)** <sup>4, 5</sup>. Cette zone cérébrale est constituée de 2 parties principales, le gyrus denté (DG) et la corne d'Ammon (CA) subdivisée en 3 zones CA1, CA2 et CA3. Les informations venant du cortex suivent un circuit trisynaptique et vont ainsi se propager

du cortex entorhinal vers le DG qui va jouer un rôle de réception de l'information afin de permettre la séparation et l'encodage de cette information <sup>6</sup> puis au niveau des zones CA3 et CA1 qui vont elles-mêmes terminer la boucle en envoyant leurs signaux au niveau du cortex entorhinal.



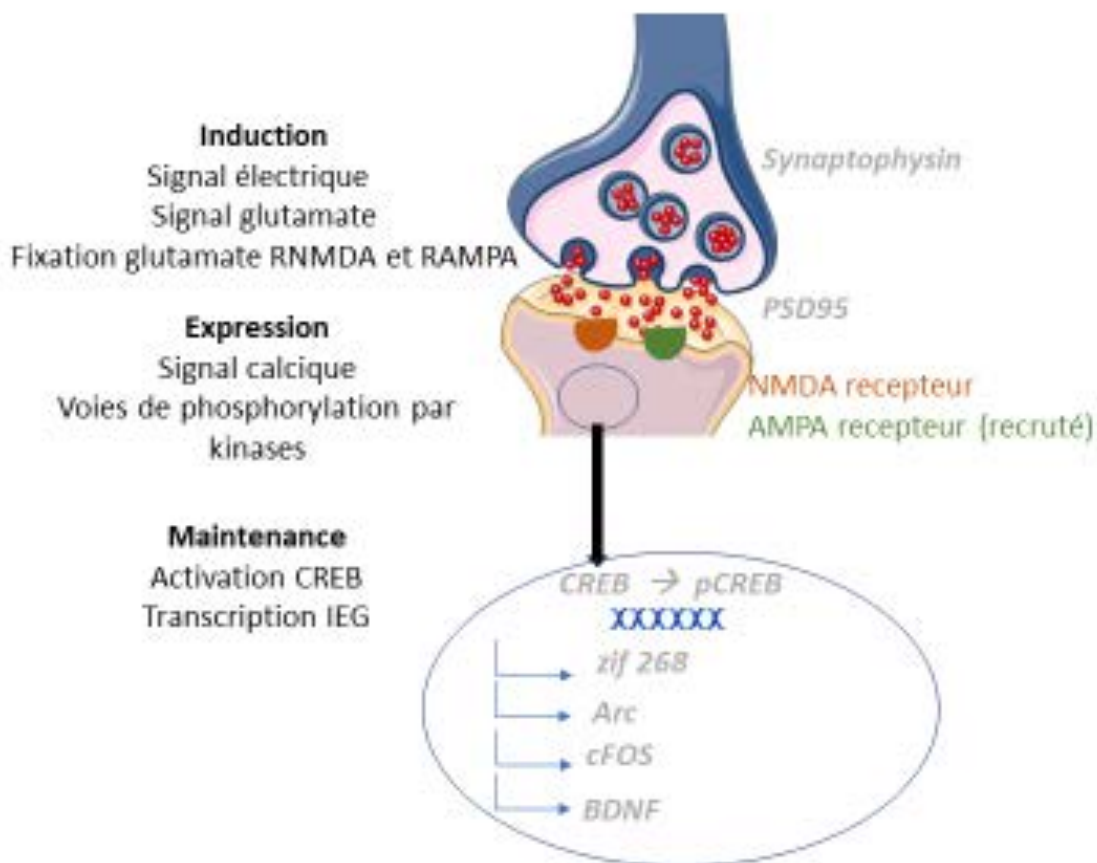
**Figure 2 : Localisation de l'hippocampe chez l'Homme.**

Au cours de l'étape de consolidation synaptique, des modifications des voies synaptiques vont avoir lieu. Au niveau de la synapse on retrouve trois composants : la terminaison du neurone pré-synaptique, la fente synaptique et le neurone post-synaptique (**Figure 3**).

- i) Le neurone pré-synaptique reçoit l'information sous forme de signal électrique. Cette information est alors transmise le long de l'axone jusqu'au bouton terminal. Ceci va être entraîné la libération de neuromédiateurs, tel que le glutamate contenu dans des vésicules, au niveau de la fente synaptique.



- ii) Ce neuromédiateur va ensuite se fixer au niveau de récepteurs tel que le récepteur au glutamate NMDA (N-méthyl-D-aspartate) ou des récepteurs couplés aux protéines G au niveau de la membrane du neurone post-synaptique et ainsi être responsable de l'activation de voies de signalisation et d'un nouveau signal électrique <sup>7</sup>.
- iii) Ces mécanismes de transmission synaptique conduisent par la suite à l'expression de gènes et à la synthèse de protéines responsables de la consolidation. En effet, les voies de signalisation contrôlant les mécanismes de mémorisation s'accompagnent de l'expression précoce de gènes codant pour la protéine CREB, largement impliquée dans la plasticité neuronale, qui agit en amont des facteurs de transcription c-FOS et ZIF 268 (zinc finger protein) intervenant dans la potentialisation à long terme et la stabilisation de la mémoire. De plus, elle induit la production de neurotrophines telles que le BDNF (brain-derived neurotrophic factor) qui jouent un rôle sur la morphologie des neurones, la plasticité synaptique et le circuit hippocampique <sup>8</sup>.



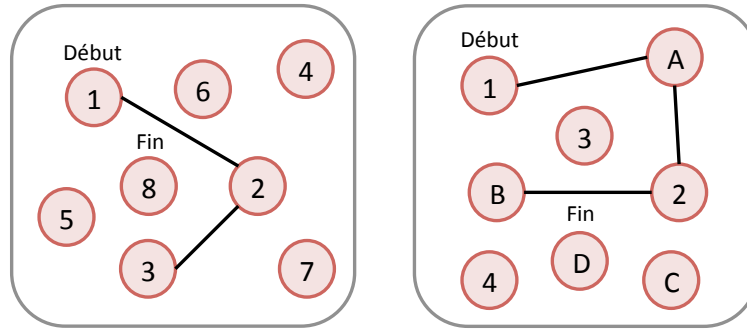
**Figure 3 : Schéma de la transmission synaptique de l'information au cours de la consolidation synaptique.**

La consolidation synaptique se déroule au niveau de l'hippocampe où trois acteurs entrent en jeu : le neurone pré-synaptique, la fente synaptique et le neurone post-synaptique. Sous l'influence d'un stimulus électrique le neurone pré-synaptique libère du glutamate qui, en se fixant au niveau de ses récepteurs post-synaptiques, déclenche des cascades d'activations géniques.

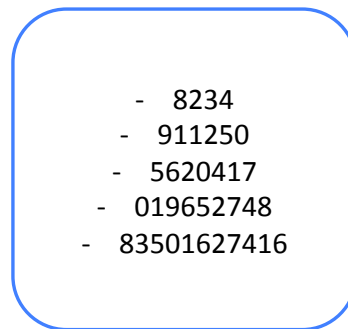
Dans un deuxième temps, on assiste à une consolidation systémique qui met en jeu plusieurs aires cérébrales corticales impliquées dans le stockage et le rappel de la mémoire<sup>9</sup>. Cette étape permet d'ancrer l'information afin que son rappel soit plus rapide.

## 2. L'évaluation de la mémoire : de l'Homme et l'Animal

Chez l'homme, le diagnostic des troubles cognitifs se fait au moyen du score obtenu au MMSE (Mini Mental State Examination) qui permet d'évaluer l'orientation dans le temps et l'espace, l'apprentissage, l'attention, le rappel, le langage et la praxie. En parallèle, des tests permettant d'évaluer l'environnement et l'autonomie du patient sont réalisés parmi lesquels on retrouve le test d'apprentissage oral (Rey Auditory Verbal learning test), la réalisation de tâches multiples au cours desquelles les patients doivent dans un premier temps relier des nombres dans un ordre croissant puis dans un deuxième temps relier des nombres et des lettres par ordre croissant (Trail Making test) (**Figure 4**), la dextérité manuelle (Grooved Pegboard test) et le souvenir de séquences numériques (Digit Span test) (**Figure 4**)<sup>10</sup>. Enfin, des questionnaires permettent l'étude de l'indépendance dans la vie quotidienne tel que le questionnaire IADL (Instrumental Activities of Daily Living) et la qualité de vie par auto-évaluation.



Test de réalisation de tâches multiples : Trial Making Test



Test de mémorisation de suites numériques : Digit Span Test

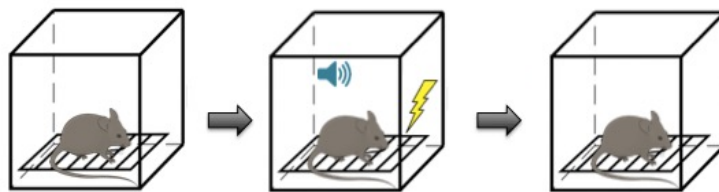
**Figure 4 : Exemples de tests de cognition réalisés chez l'Homme.**

Test de réalisation de tâches multiples : les patients doivent relier les points par ordre croissant de chiffres puis dans un deuxième temps de chiffre et de lettres.  
 Test de mémorisation de séquences numériques.

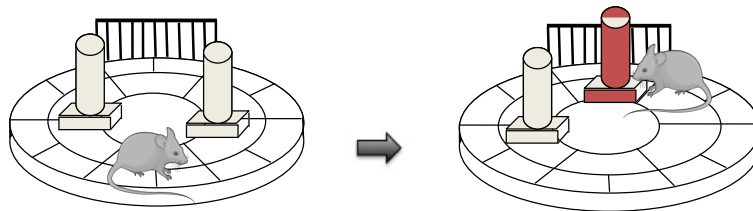
Chez l'animal, plusieurs tests sont utilisés pour mesurer la mémoire. Parmi ces tests certains sont spécifiques de l'évaluation de la mémoire hippocampique, dépendante du contexte (**Figure 5**). On retrouve le test de conditionnement par la peur qui permet d'étudier le rappel de la mémoire en associant un contexte visuel, auditif et tactile à un événement douloureux par choc électrique. Le test de localisation d'objet permet également d'évaluer la mémoire hippocampo-dépendante. Au cours de ce test, les animaux s'aident de repères visuels spatiaux pour se souvenir de la localisation

des objets. Et enfin, le test d'interaction sociale au cours duquel les animaux sont mis en présence d'un individu durant plusieurs essais successifs afin de mesurer le souvenir social envers l'individu présenté.

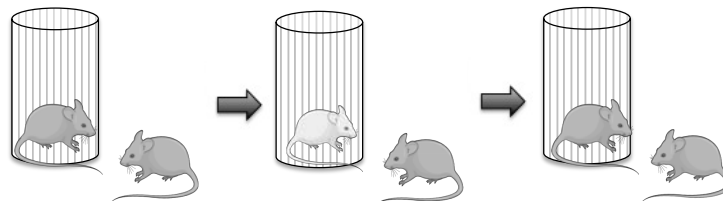
Test de conditionnement par la peur



Test de localisation d'objet



Test d'interaction sociale



**Figure 5 : Exemples de tests cognitifs hippocampo-dépendants réalisés chez l'animal.**

**Test de conditionnement par la peur.** Les animaux sont entraînés à associer un événement visuel, auditif et tactile à un événement douloureux durant la phase d'apprentissage. Puis, au cours de la phase de rappel, ils sont réintroduits dans la même chambre de conditionnement pour évaluer leur mémoire caractérisée par une réaction de peur mesurée par une durée d'immobilisation.

**Test de localisation d'objet.** Les animaux sont entraînés à connaître la position de deux objets situés dans une arène durant la phase d'apprentissage. Puis, un des objets est déplacé et ils sont réintroduits dans l'arène pour évaluer leur mémoire caractérisée par un temps d'intérêt pour l'objet déplacé plus important.

**Test d'interaction sociale.** Les animaux sont mis en présence d'une souris présentatrice au cours de plusieurs essais successifs, leur temps d'interaction est alors le reflet de l'apprentissage social. Puis, au cours du rappel, ces animaux sont replacés en présence l'un de l'autre pour mesurer leur interaction (un essai est réalisé avec une nouvelles souris présentatrice inconnue afin de valider le test).

Ces capacités varient d'un individu à l'autre et chez un même individu, de façon physiologique avec l'avancée en âge, ou pathologique, avec des altérations cognitives comme dans le cas de la maladie d'Alzheimer, des démences ou des troubles neurologiques post-opératoires.

## II. Le trouble cognitif post-opératoire : une perte de mémoire méconnue médiée par l'inflammation

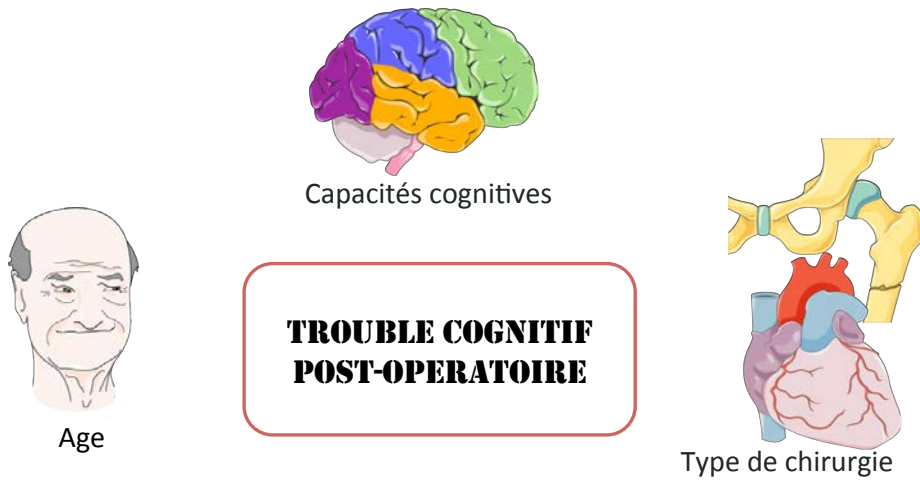
### 1. Le trouble cognitif post-opératoire : définition et généralités

Décrites pour la première fois en 1955 par Bedford <sup>11</sup> comme “*un effet indésirable cérébral de l'anesthésie chez la personne âgée*”, les dysfonctions cognitives post-opératoires sont classées selon deux groupes : le délirium post-opératoire et les **troubles cognitifs post-opératoires** (TCPO) récemment décrits dans la nomenclature du DSM-5 (cinquième édition du Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux rédigé par l'Association Américaine de Psychiatrie) parmi les troubles cognitifs péri-opératoires <sup>12</sup>. Alors que le délirium est défini comme une phase aiguë persistant généralement quelques heures ou quelques jours, le TCPO apparaît à partir d'une semaine après la chirurgie et peut durer plusieurs mois. Le diagnostic du délirium dépend de la susceptibilité individuelle de chaque patient et de vulnérabilités préexistantes telles que la consommation d'alcool, les troubles cognitifs préexistants, la prise de médicaments, la persistance de l'effet de l'anesthésie, la présence de perturbations physiologiques (hypoxie, infection) et les fluctuations de la conscience avec présence d'intervalles de lucidité observés. Le diagnostic du TCPO est lui plus difficile et dépend de la comparaison de l'état cognitif des patients avant et après la chirurgie.

Le TCPO est caractérisé par un déficit de l'attention, de la concentration, de la fonction exécutive, de la perception, de l'apprentissage et de la mémoire, apparaissant juste après la chirurgie. Chez la personne âgée, ce trouble cognitif présente une incidence de 25 à 40% 10 jours après la chirurgie puis il passe à près de 10% à 3 mois avec une résolution progressive dans le temps. Cependant, le TCPO peut persister des années dans 1% des cas et l'on considère alors que le patient est entré dans une phase de démence représentant elle-même une pathologie bien caractérisée <sup>13</sup>. Le TCPO présentant une prévalence élevée, il est donc devenu nécessaire de comprendre cet état pathologique et les mécanismes sous-jacents de son apparition afin de développer des thérapies préventives et curatives permettant de lutter contre ce déclin cognitif. En effet, le trouble cognitif post-opératoire est associé à une dépendance accrue entraînant un retard dans la reprise du travail ou un retrait du travail ainsi qu'une mortalité augmentée.

L'étiologie du TCPO n'est pas encore totalement connue mais plusieurs facteurs de risques ont été identifiées. On retrouve l'âge avancé, dépassant 65 ans, les réserves cognitives avant la chirurgie et un faible niveau d'éducation. De plus, le type de chirurgie joue un rôle capital puisque plus une chirurgie est lourde et invasive, telles que les chirurgies cardiaques et orthopédiques, plus le risque est élevé <sup>14</sup> **(Figure 6)**.





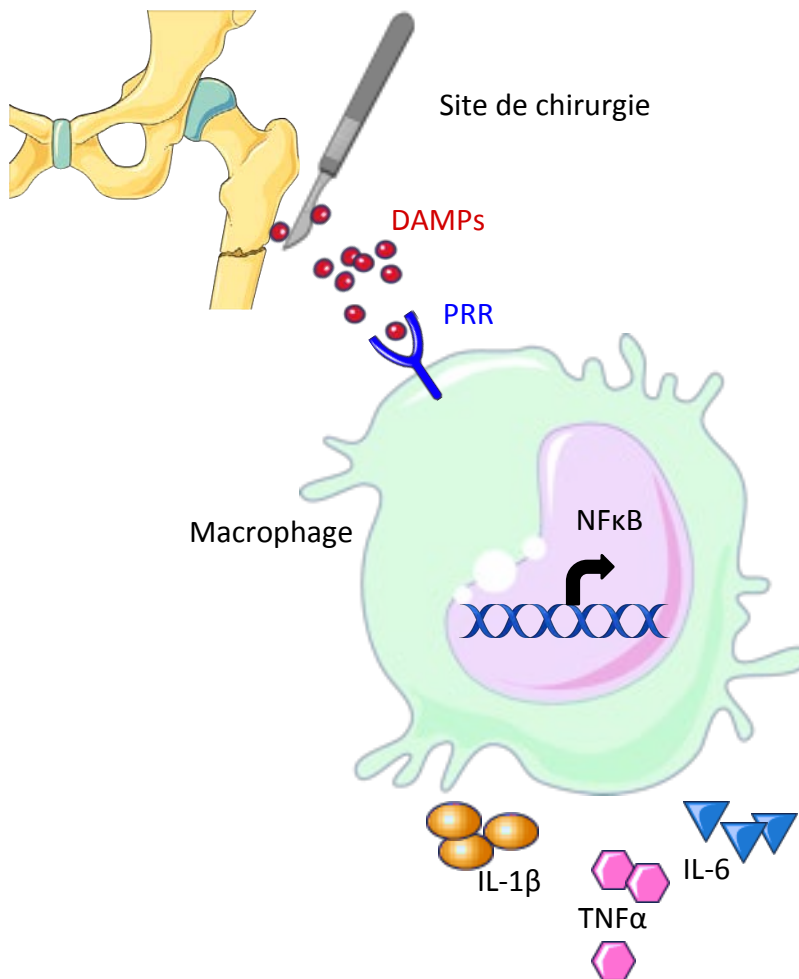
**Figure 6 : Facteurs de risque du trouble cognitif post-opératoire.**

## 2. Le trouble cognitif post-opératoire : une inflammation systémique aigüe

Longtemps l'anesthésie a été désignée comme l'étiologie du TCPO avec une attention particulière portée à l'anesthésie générale. Cependant plusieurs études ont mis en évidence une absence de lien entre le type d'anesthésie, locale ou générale, et le développement de ce déclin cognitif <sup>15</sup>. De plus, des études réalisées chez l'animal montrent que l'anesthésie seule n'est pas responsable d'un TCPO mais que c'est bien le couple anesthésie-chirurgie qui est responsable du déclin cognitif <sup>16</sup>. L'hypothèse actuelle la plus probable quant aux causes du développement du TCPO est donc l'**inflammation (Figure 7)**. L'inflammation est un mécanisme physiologique, caractérisée par la présence de douleur, rougeur, fièvre et sueur (tumor, dolor, rubor, calor) et par 3 phases : l'initiation, l'amplification et la résolution. La première étape est caractérisée par l'arrivée de polynucléaires neutrophiles suivis de monocytes provenant de la circulation qui vont alors se différencier en macrophages inflammatoires de type M1. Ces macrophages pro-inflammatoires vont aboutir à l'activation des macrophages tissulaires dans un phénotype inflammatoire. Par la suite, l'élimination des neutrophiles permet un arrêt de la cascade de signalisation et un changement de phénotype des macrophages au profit d'un type anti-inflammatoire M2 <sup>17</sup>. Ce phénomène est bénéfique en condition physiologique, cependant si l'inflammation est mal maîtrisée elle peut conduire à des altérations <sup>18</sup>.

Ainsi, il a été montré chez l'animal que l'inflammation systémique induite au site de chirurgie semble jouer un rôle majeur et aboutir à une inflammation au niveau du système nerveux central <sup>19, 20</sup>. Chez l'homme, une augmentation des médiateurs pro-

inflammatoires a également été mise en évidence au niveau plasmatique ainsi qu'au niveau du liquide cérébro-spinal <sup>21, 22</sup>. Cependant, les mécanismes exacts de cette inflammation restent à élucider. En effet, la chirurgie entraîne toujours une réponse inflammatoire alors que le TCPO ne se développe pas chez tous les patients ayant subi une chirurgie. Au cours de la chirurgie, un signal pro-inflammatoire va être déclenché passivement par les cellules endommagées *via* la libération de DAMPs (damage associated molecular protein) <sup>23</sup> telle que la molécule HMGB1 (high molecular group box 1 protein) <sup>24, 25</sup>. HMGB1 active des PRR (pattern recognition receptor) comme les TLR (toll like receptor) notamment retrouvés sur les macrophages. Ceci aboutit alors à l'activation du facteur nucléaire NF-κB (nuclear factor kappa B) responsable de la régulation de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6, le TNF-α et l'IL-1β par les macrophages <sup>26</sup>.



**Figure 7 : Réponse inflammatoire systémique post-chirurgie.**

Au décours de la chirurgie, la lésion du tissu entraîne la libération d'alarmines, les DAMPs, qui vont reconnaître des récepteurs PRR situés à la surface des macrophages et induire la transcription du NF-κB lui-même responsable de la libération systémique de cytokines pro-inflammatoires telles que les interleukines 1 et 6 et le tumor necrosis factor  $\alpha$ .

### **3. Le trouble cognitif post-opératoire : une neuroinflammation exacerbée**

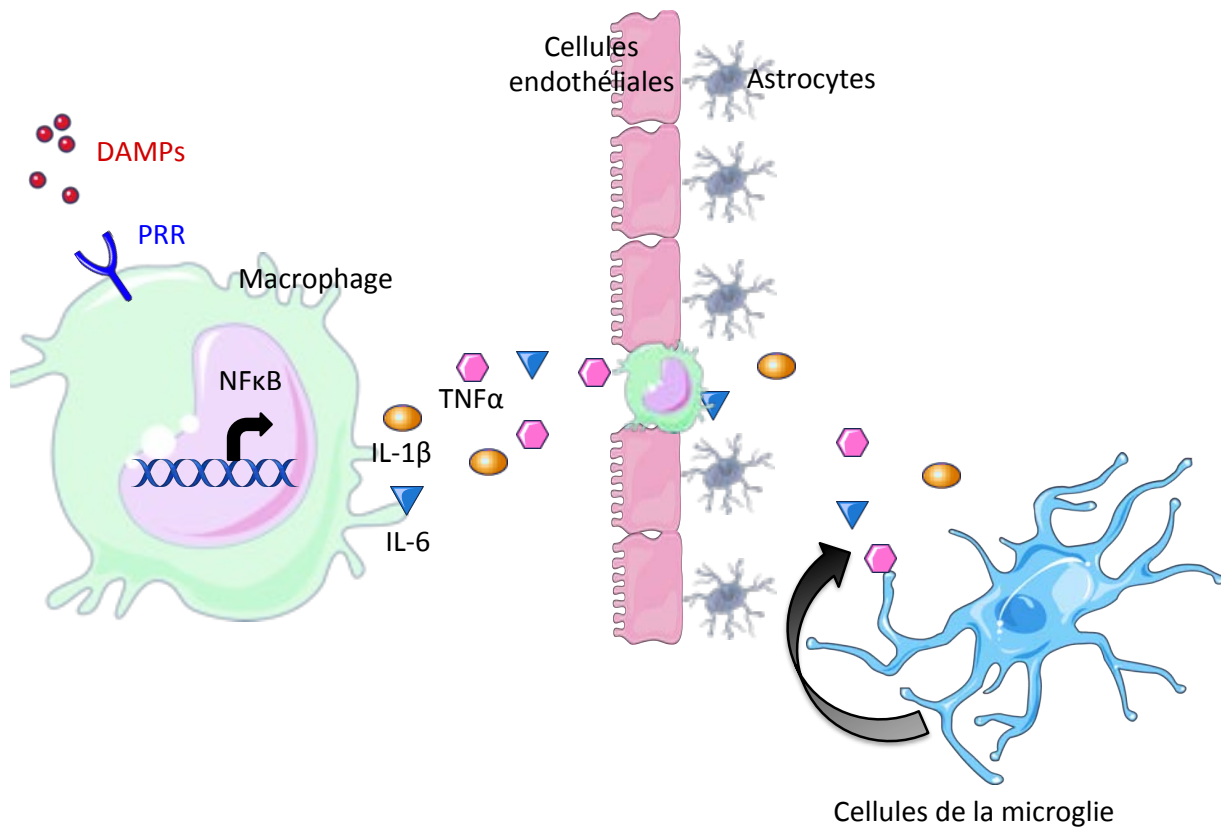
Par la suite, lorsque ce phénomène inflammatoire systémique est mal contrôlé, il va être responsable d'une neuroinflammation transitant par l'altération de la barrière hémato-encéphalique (BHE) (**Figure 8**). En condition physiologique, la BHE est constituée de cellules endothéliales soutenues par la présence de péricytes et d'astrocytes. Les cellules endothéliales sont reliées entre elles *via* des jonctions serrées formées de protéines transmembranaires (claudines, occludines, zonula occludens) <sup>27</sup>. Cependant, au cours de l'inflammation, une rupture de la BHE a lieu conduisant à une plus grande perméabilité aux cytokines pro-inflammatoires et cellules immunes menant à une inflammation hippocampique <sup>28</sup> et donc à un déclin cognitif <sup>29</sup>.

De plus, cette neuroinflammation passe par l'activation de cellules au niveau central. En condition basale, l'environnement des neurones est composé de nombreux types cellulaires chargés de maintenir le système de connexions neuronales et la plasticité synaptique. On retrouve dans cet environnement les cellules de la microglie. Ces dernières sont les cellules immunes principales du cerveau et elles jouent un rôle dans la régulation de la neurogenèse, la formation et disparition de synapse et le remodelage des circuits neuronaux. En condition basale, les cellules de la microglie sont dans un état de quiescence présentant une structure ramifiée mais lorsque la microglie est exposée à un signal de danger, infection, lésion tissulaire, ou inflammation elle s'active <sup>30,31,32</sup>. Cette activation passe par i) un changement de morphologie (avec le passage à une structure sphéroïde avec moins d'embranchements) et par ii) la production de cytokines pro-inflammatoires telles que

l'IL1 $\beta$ , l'IL-6 et le TNF- $\alpha$  pouvant altérer la production des neurones et leur survie<sup>33,34</sup>.

En effet, ceci entraîne une diminution de la neurogenèse, de la voie du BDNF et de la plasticité neuronale<sup>35,36</sup>.

De plus, lorsque le système s'emballe d'autres cellules du SNC vont pouvoir s'activer et s'associer à la microglie, ce sont les astrocytes. En effet, les astrocytes, cellules participant à la constitution de la barrière hémato-encéphalique et reliés aux neurones au niveau de leurs synapses, vont pouvoir s'activer dans un profil pro-inflammatoire suite à l'activation des cellules de la microglie. C'est le phénomène d'astrogliose qui entre en jeu quand l'inflammation centrale ne peut être supportée que par les cellules de la microglie. Les astrocytes sécrètent alors à leur tour des molécules pro-inflammatoires responsables eux aussi de la dégradation des neurones.



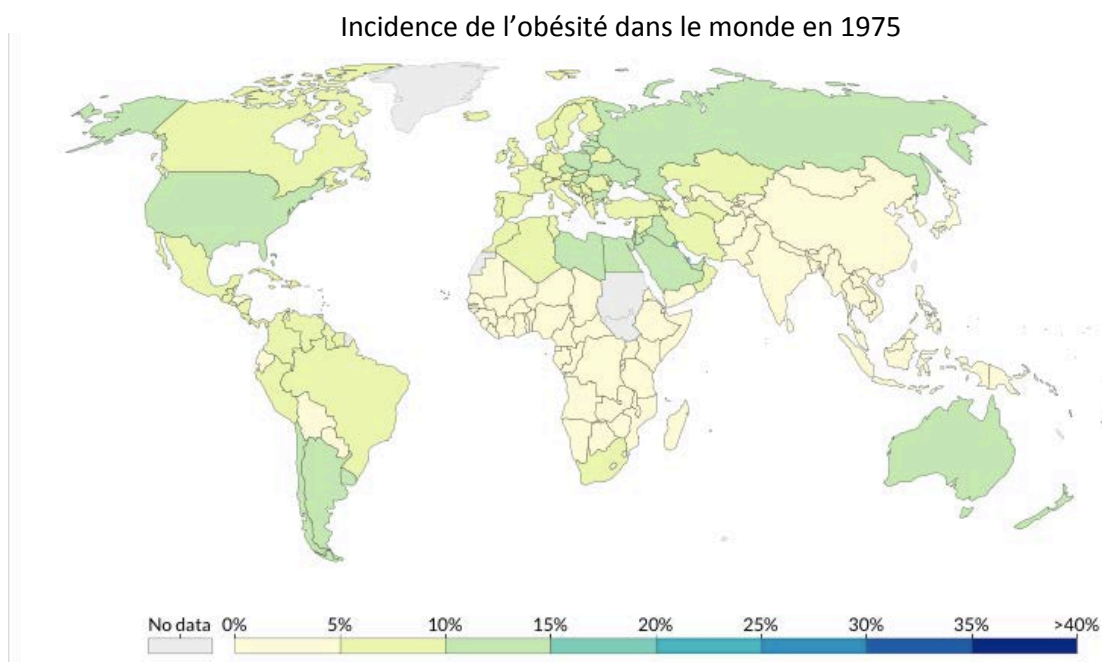
**Figure 8 : Réponse inflammatoire centrale post-chirurgie.**

L'inflammation systémique va conduire à une altération de la barrière hémato-encéphalique conduisant à l'entrée de cellules et molécules pro-inflammatoires dans le système nerveux central. Cette neuroinflammation va entraîner une activation des cellules immunes du cerveau, les cellules de la microglie, qui vont entretenir cet état inflammatoire par leur auto-activation et la sécrétion de molécules pro-inflammatoires.

### III. L'obésité : une inflammation sous-jacente

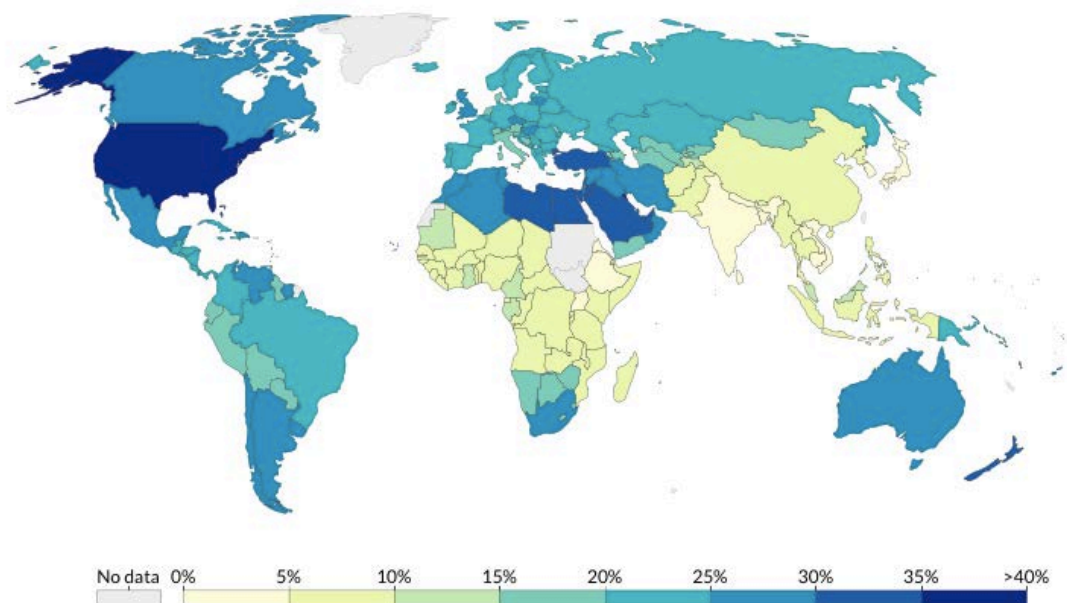
#### 1. L'obésité : définition et généralités

L'obésité touche des millions d'individus dans le monde. Elle peut être la résultante d'une mauvaise alimentation, dans la majorité des cas, ou d'une anomalie génétique. De nos jours, cette pathologie représente un problème de santé publique majeur avec une augmentation constante de sa prévalence. En effet, sa prévalence a triplé entre 1975 et 2016 (**Figure 9**), concernant près de 13% de la population mondiale (11% des hommes et 15% des femmes).





Incidence de l'obésité dans le monde en 2016



**Figure 9 : Évolution de l'incidence de l'obésité au cours du temps (1975-2016).**

*World Health Organisation*

L'obésité est définie par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme « une accumulation anormale et excessive de masse grasse conduisant à un risque pour la santé ». En effet, au cours de l'obésité, les adipocytes dont le rôle est le stockage des lipides, vont subir un remodelage avec une hypertrophie suivie d'une hyperplasie. En effet, face à l'augmentation des lipides provenant de l'alimentation on assiste à une saturation de leur capacité de stockage conduisant à cette expansion. De plus, lorsque les capacités des adipocytes sont atteintes on assiste à une redistribution des dépôts lipidiques et notamment une localisation ectopique des

lipides (au niveau du foie, du muscle) et des dépôts anormaux de tissu adipeux (au niveau péri-cardique, péri-rénal ou de la bosse du bison qui correspondent à des formations lipidiques au niveau du cou et de la nuque). Afin de mesurer cette obésité deux méthodes de mesures sont utilisées en routine :

- i) la mesure de l'indice de masse corporelle (IMC) qui correspond au poids de la personne (en kilogrammes) divisé par le carré de sa taille (en mètres)
- ii) le rapport du tour de taille/hanche (RTH).

Une personne ayant un IMC de 30 ou plus et/ou un rapport taille-hanche  $> 0,85$  pour les femmes et  $> 1$  pour les hommes sera considérée obèse.

De plus, l'obésité est souvent liée à une hypertension et une intolérance au glucose participant à la triade de processus associés au syndrome métabolique (au moins 3 des atteintes suivantes obésité, hypertension, intolérance au glucose, dyslipidémie). L'obésité est un facteur de risque de maladies cardiovasculaires, de diabète de type 2, de certains cancers, d'arthrose mais également de troubles neurologiques (**Figure 10**).

**INCIDENCE MONDIALE DE L'OBÉSITÉ EN AUGMENTATION  
CONSTANTE**

**IMC > 30  
RTH > 0,85 OU 1**

**13% DE LA  
POPULATION**



**CONTRIBUTION A DE NOMBREUSES  
MALADIES**

Maladies Cardiovasculaires - Diabète -  
Arthrose - Cancer - Maladies  
neurologiques

**Figure 10 : Généralités sur l'obésité.**

## 2. L'obésité : un tissu adipeux modifié

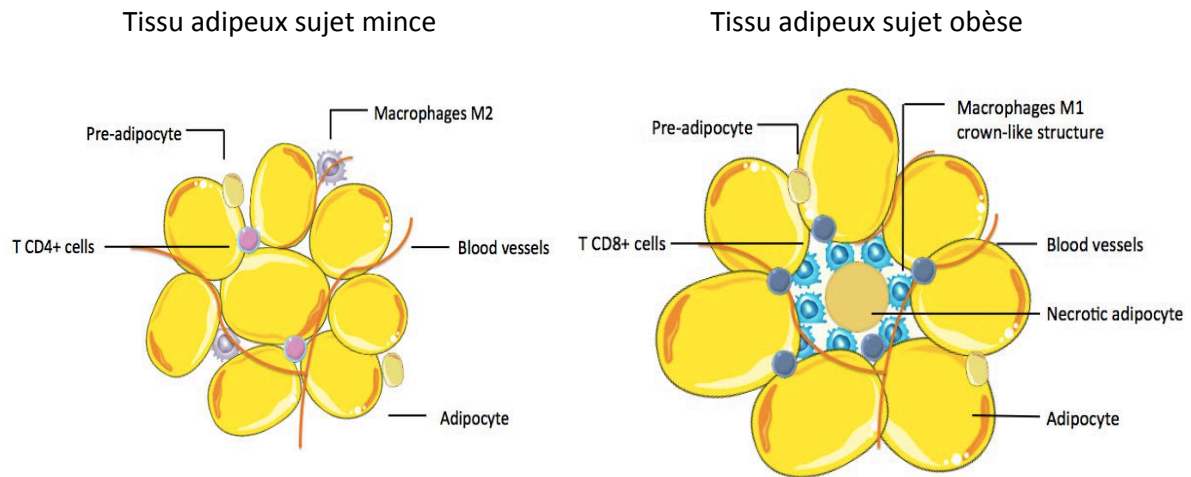
Le tissu adipeux représente 20 à 25% du poids du corps d'un individu. On retrouve deux types de tissus adipeux, le tissu adipeux blanc, qui nous intéresse ici, qui joue un rôle de stockage et de source d'énergie et le tissu adipeux brun qui joue un rôle dans la régulation thermique *via* la thermogénèse. Le tissu adipeux blanc est lui-même divisé en deux grands types : i) le tissu adipeux viscéral ou profond qui a une localisation centrale autour des organes. ii) le tissu adipeux sous-cutané qui est situé sous la peau.

Le tissu adipeux blanc possède deux composantes majoritaires :

- Les adipocytes qui représentent 90% des cellules sont des cellules mononuclées contenant une vacuole lipidique représentant la quasi-totalité de la cellule. Ces adipocytes vont permettre le stockage des lipides. De plus, les adipocytes confèrent au tissu adipeux une composante endocrine par la sécrétion d'adipokines. Ces sécrétions adipocytaires comprennent des molécules pro et anti-inflammatoires (cytokines, chimiokines) ainsi que des hormones telles que la leptine et l'adiponectine.
- La fraction stroma vasculaire qui assure la fonction support des adipocytes rassemble plusieurs types cellulaires. On retrouve : des cellules endothéliales, des progéniteurs pré-adipocytaires, des fibroblastes, des cellules immunes.

Au cours de l'obésité, le tissu adipeux blanc présente une hyperplasie (augmentation du nombre) et hypertrophie (augmentation de la taille) des adipocytes qui se gorgent de lipides et génère une augmentation de l'adipogénèse. Cette

hypertrophie des adipocytes va conduire au recrutement de nouvelles cellules immunes et une modification des sécrétions vers un profil pro-inflammatoire (**Figure 11**).

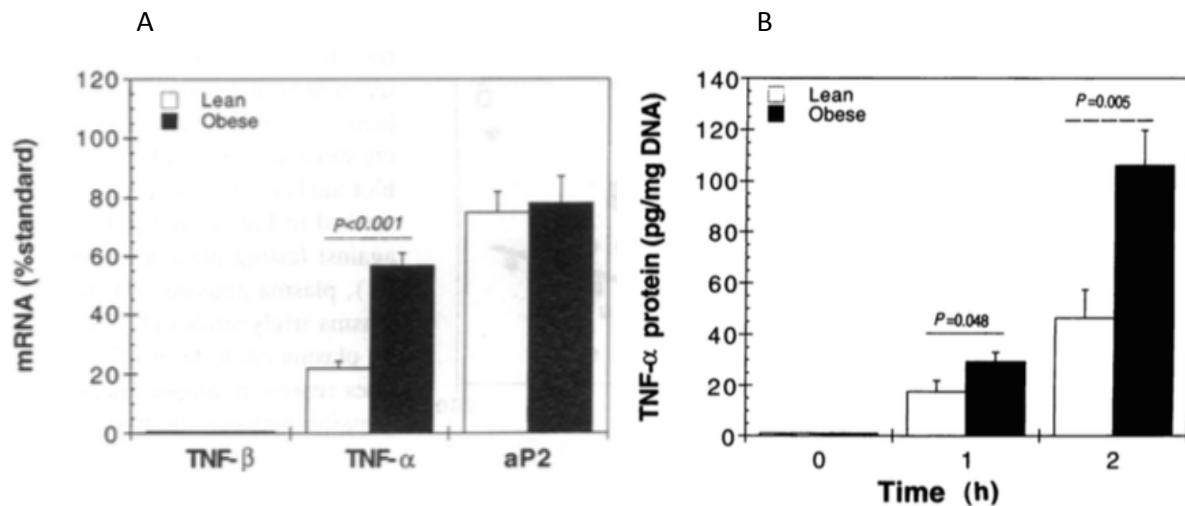


**Figure 11 : Les modifications du tissu adipeux induites par l'obésité.**

En conditions normales le tissu adipeux est constitué de cellules adipocytaires, progéniteurs, cellules immunes et vaisseaux sanguins. Au cours de l'obésité on assiste à une hypertrophie des adipocytes et une augmentation de leurs sécrétions pro-inflammatoires (cytokines et chimiokines) couplé à leur nécrose. Ceci est responsable du recrutement de macrophages pro-inflammatoires (type M1) *via* des signaux po-inflammatoires et une augmentation systémique de l'inflammation.

### 3. L'obésité : un état d'inflammation chronique de bas bruit

Le stockage excessif et anormal de masse grasse retrouvé au cours de l'obésité conduit à une inflammation chronique dite de bas bruit liée à la fonction endocrine exercée par le tissu adipeux. En 1993, Hotamisligil *et al*<sup>40</sup> ont montré une augmentation des taux de la cytokine pro-inflammatoire TNF- $\alpha$  dans le tissu adipeux blanc de femmes obèses comparés au tissu adipeux blanc de femmes normopondérées, ainsi qu'une augmentation des sécrétions pro-inflammatoires de TNF- $\alpha$  issues d'explants de leur tissu adipeux (**Figure 12**). Il a été montré que lors de l'obésité, le tissu adipeux blanc viscéral est plus inflammatoire que le tissu adipeux sous cutané qui joue plutôt un rôle de protection<sup>41</sup>. En effet, chez l'individu obèse une augmentation de l'inflammation, mise en évidence par la mesure plasmatique de la CRP (protéine C réactive), de l'IL-6 et du TNF- $\alpha$  est corrélée avec l'adiposité viscérale des sujets<sup>42, 43</sup>.



**Figure 12 : Inflammation du tissu adipeux de l'individu obèse.** Expression ARNm de TNF- $\alpha$  dans le tissu adipeux blanc de femmes obèses et minces (A). Sécrétion de TNF- $\alpha$  par des explants de tissus adipeux de femmes obèses et minces (B).

Hotamisligil, G. S., Shargill, N. S. & Spiegelman, B. M. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 259, 87–91 (1993).

Ces signaux autocrines, paracrines et endocrines vont conduire à l'infiltration de macrophages pro-inflammatoires M1<sup>44</sup> dans le tissu adipeux sous forme de crown-like structure entourant les adipocytes, eux aussi responsables de la sécrétion de molécules pro-inflammatoires<sup>45, 46</sup>. Cette augmentation de l'inflammation locale va conduire à une inflammation systémique également responsable de l'installation de troubles métaboliques, d'une insulino-résistance et de désordres cardiovasculaires. De plus, l'étude du profil inflammatoire au cours de perte de poids chez l'individu obèse met en évidence une diminution des marqueurs pro-inflammatoires ainsi qu'une augmentation des marqueurs anti-inflammatoires. Ces résultats confirment le rôle du tissu adipeux dans l'installation de cette inflammation chronique de bas bruit et la réversion de cette inflammation lorsque le poids des patients diminue<sup>47, 48</sup>.

### **III. L'obésité : un facteur de risque pour le trouble cognitif post-opératoire ?**

L'inflammation chronique jouerait un rôle dans le développement de nombreuses pathologies et notamment de certains troubles neurologiques. En effet chez l'Homme, des altérations d'aires cérébrales, impliquées dans la régulation des dépenses énergétiques ou dans le maintien des fonctions cognitives, ont été retrouvées au cours de l'obésité. L'obésité, en particulier viscérale, est associée à des altérations du volume cérébral <sup>49</sup> et la diminution de ce volume est principalement due à une perte de densité au niveau de la substance grise <sup>50</sup>. De même, un volume hippocampique réduit a aussi été mis en évidence chez les patients atteints d'un diabète de type 2 et obèses à l'âge adulte. Cette diminution de volume de l'hippocampe est alors associée à des troubles des fonctions mnésiques sans altération des autres capacités cognitives <sup>51</sup>. L'étude de l'effet du syndrome métabolique à l'adolescence signe également une corrélation entre le trouble métabolique et la diminution du volume de l'hippocampe associée à un trouble cognitif <sup>52</sup>. Le syndrome métabolique étant caractérisé par l'association du diabète de type 2, de dyslipidémie et d'une obésité, il est essentiel de comprendre les liens entre l'obésité et ces dysfonctions cognitives (**Figure 13**).



## 1. L'obésité : acteur de la neuroinflammation

L'étude des mécanismes mis en jeu au cours de l'obésité met en évidence la présence d'une neuroinflammation.

La première zone cérébrale identifiée comme exprimant une réponse inflammatoire à l'obésité est l'hypothalamus. L'hypothalamus est la zone cérébrale chargée du contrôle de la consommation alimentaire et de la dépense énergétique *via* la leptine et l'insuline <sup>53</sup>. La consommation anormale et excessive de graisses et notamment d'acides gras saturés conduit à une intolérance à l'insuline et une inflammation systémique générant une réponse inflammatoire centrale au niveau de l'hypothalamus <sup>54</sup>. Cette neuroinflammation passe notamment par une altération de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique due au régime HFD <sup>55</sup>. En effet, un régime riche en lipides est responsable d'une destruction de la BHE par la diminution de l'expression des protéines des jonctions serrées <sup>56</sup>. De ce fait, des signaux de dangers sont perçus par les cellules hypothalamiques *via* des PRR tels que le TLR4 activant les voies de NFκB et JNK, qui jouent un rôle dans la neuroinflammation induite par les lipides <sup>57</sup>. De plus, il a été observé une augmentation précoce des marqueurs de l'inflammation tels que l'IL-6 et le TNF-α au niveau central alors qu'il faut plus de temps pour observer une inflammation au niveau d'organes clefs du métabolisme tels que le foie et le tissu adipeux. Ce phénomène d'inflammation hypothalamique précoce semble cependant transitoire avec une mise en place de phénomènes anti-inflammatoires après plusieurs semaines de régime riche en lipides <sup>58, 59</sup>.

Cependant, l'hypothalamus n'est pas la seule région cérébrale affecté par l'obésité et la consommation excessive de lipides. En effet, l'hippocampe, région

chargée de la cognition et de la mémoire, est également affectée par la neuroinflammation liée à l'obésité. Le modèle de souris db/db (souris rendues hyperphages par mutation du récepteur de la leptine) présente une augmentation de l'inflammation et notamment de cytokines pro-inflammatoires telles que TNF- $\alpha$  et IL-6 au niveau de l'hippocampe. De façon intéressante, cette inflammation centrale est reversée par la pratique d'un exercice physique et/ou une perte de poids des animaux montrant le rôle potentiel de l'obésité et de la réduction du tissu adipeux dans les phénomènes observés <sup>60, 61</sup>.

Tout comme dans un contexte de TCPO, des cellules centrales jouent un rôle majeur dans cette neuroinflammation. Il s'agit dans un premier temps des cellules de la microglie, cellules immunes les plus abondantes du cerveau puis, dans un second temps, des macrophages dérivés des monocytes de la moelle osseuse.

Le régime HFD est responsable de la mise en place d'un phénomène de gliose avec une prolifération des cellules de la microglie et des astrocytes responsables d'altérations neuronales <sup>58</sup>. De ce fait, l'inflammation produite par la consommation d'acides gras saturés conduit à l'activation de la microglie, elle-même responsable de la neuroinflammation. Enfin, l'étude d'imagerie par résonance magnétique nucléaire d'hypothalamus d'individus humains obèses met également en évidence une inflammation hypothalamique montrant un phénomène de gliose avec activation de la microglie <sup>58, 59</sup>. De plus, lorsque la microglie est inhibée on n'observe plus d'inflammation au niveau hypothalamique sous régime riche en lipides <sup>63</sup>. Les cellules de la microglie possèdent des récepteurs reconnaissant les signaux de dangers, les TLR et notamment le TLR4 leur permettant d'activer les cascades de signalisation du NF $\kappa$ B. En réponse à un régime riche en acides gras saturés, l'activation de la microglie

et de la voie du NFκB conduisant à la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires ont ainsi été mis en évidence *in vitro* <sup>64</sup>.

De plus, lorsque la présence du régime riche en lipides persiste, on observe une migration des macrophages dérivés de la moelle osseuse vers l'hypothalamus qui est dépendante de l'activation de la microglie. En effet, ces monocytes dérivés de la moelle osseuse, en traversant la barrière hémato-encéphalique, vont se différencier au niveau central en macrophages venant suppléer la microglie <sup>65</sup>. Après une semaine de régime HFD, on note une augmentation de l'expression de gènes de l'inflammation et de protéines dans l'hypothalamus telles que TNF-α, IL1-β, and IL-6 et la chimiokine MCP-1 impliquée dans la voie MCP1-CCR2 et la migration des monocytes dans le cerveau. Ainsi, il a été montré que cette migration de monocytes dérivés de la moelle osseuse passe par l'axe fractalkine (CX3CL1) et son récepteur (CX3CL1R) <sup>66</sup>.

## 2. L'obésité : Vers le développement d'altérations cognitives

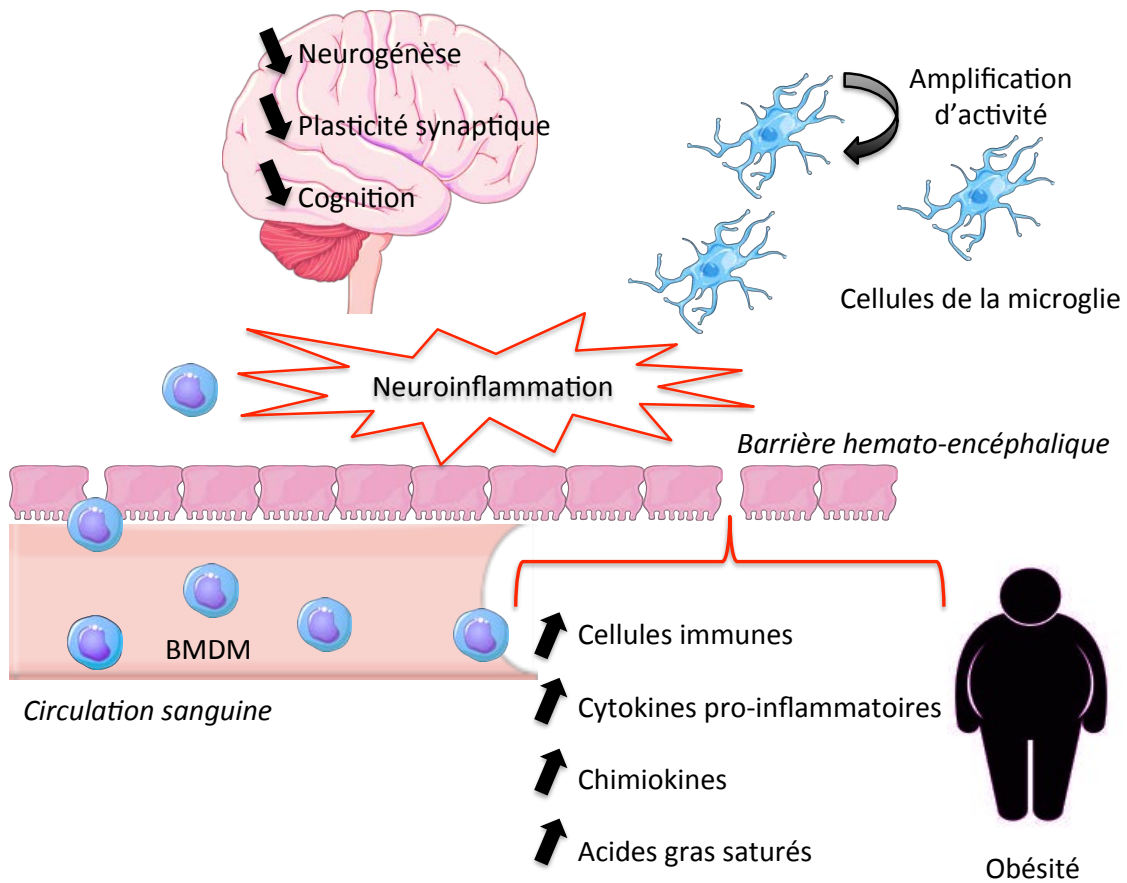
Le phénomène de neuroinflammation lié à l'obésité est par la suite responsable d'altérations des capacités cognitives, que ce soit dans un contexte de pathologie déjà existante comme les démences telle que la maladie d'Alzheimer, ou dans un contexte sans terrain de pathologie neurologique préexistant.

Au niveau des modèles animaux, l'étude de pathologies neurologiques préexistantes telles que la maladie d'Alzheimer, signe un rôle de l'obésité dans l'exacerbation des atteintes observées. En effet, l'utilisation d'un modèle murin de maladie d'Alzheimer a mis en évidence que l'association d'un âge avancé et d'une obésité induit une altération exacerbée de la barrière hémato-encéphalique, une augmentation de la neuroinflammation et du stress oxydant <sup>67</sup>. Cependant, l'obésité joue également un rôle chez des animaux sans troubles neurologiques préexistants. En effet, les premiers modèles étudiés ont été des modèles de rats mis en régime riches en sucres ou lipides altérant les fonctions métaboliques. Les modèles de rats obèses induits par régime riche en saccharose ont montré une altération des fonctions cognitives au cours du test aversif de la Piscine de Morris avec notamment des capacités d'apprentissage et de rappel de la mémoire à long terme altérées <sup>68</sup>. De plus, l'analyse des fonctions cognitives de rats mis en régime riche en lipides saturés et en saccharose montre des altérations des voies de la neurogénèse (BDNF) et de la plasticité neuronale ainsi qu'une diminution du poids de l'hippocampe <sup>69</sup>. L'analyse de l'effet d'un régime riche en lipide chez la souris au moyen de l'étude de la mémoire générale, testée par le test de conditionnement par la peur, ne semble pas affectée par ce régime <sup>70</sup>. Cependant, un régime riche en lipide est associé à des altérations

des fonctions cognitives passant par une altération de la plasticité synaptique avec la diminution du BDNF <sup>71</sup>. De plus, il semblerait qu'un régime altéré qu'il soit riche en lipide ou riche en sucre, comme les régimes alimentaires des sociétés modernes (chez l'Homme), conduise à des altérations cognitives chez la souris via l'activation des cellules de la microglie et la neuroinflammation <sup>72</sup>. Ces effets sont toutefois réversibles suite à un exercice physique. Ceci montre que les désordres alimentaires sont bien responsables de l'altération des fonctions cognitives et que la perte de poids permet de restaurer les fonctions cognitives chez des souris obèses en passant par une amélioration de la sensibilité à l'insuline et ainsi de la neuroplasticité <sup>73</sup>. De même, lorsque la voie de l'inflammation du tissu adipeux viscéral est inhibée *via* le KO de l'inflammasome, on observe une restauration des capacités cognitives d'animaux mis en régime riche en lipides <sup>74</sup>. Tout ceci signe un rôle capital de l'inflammation chronique bas bruit du tissu adipeux dans le développement des altérations de la cognition.

En parallèle de ces études chez l'animal, l'analyse des capacités cognitives chez les patients obèses a également été réalisée. L'étude de la corrélation entre obésité et l'inflammation systémique a permis de conclure que l'obésité représentait un facteur de risque de développement de démences <sup>75</sup>. De même, le suivi de cohorte sur 27 ans permet de montrer que l'obésité à l'âge adulte est un facteur de risque de développer une démence au cours du vieillissement, avec une augmentation de près de 70% <sup>76</sup>. Le lien entre obésité et maladies neurodégénératives a notamment été établi dans la démence majoritairement représentée dans la population, la maladie d'Alzheimer. En effet, un surpoids à l'âge de 70 ans est lié au développement de la maladie d'Alzheimer dans la décennie suivante <sup>77</sup>. Les tests de rappel de mots et des fonctions exécutives ou les tests de substitution de symboles numériques mettent en

évidence un lien entre obésité et altération des performances cognitives chez des patients ne présentant aucune pathologie neurologique connue <sup>78</sup>. De plus, le rôle de l'obésité dans ces altérations cognitives est confirmé par leur réversibilité au cours d'une perte de poids. En effet, l'étude des fonctions cognitives montre une amélioration de la mémoire et des fonctions exécutives 12 et 36 mois après la réalisation d'une chirurgie bariatrique s'accompagnant donc d'une importante perte de poids <sup>79, 80</sup>. Ces données confirment bien un rôle basal de l'obésité et de la neuroinflammation induite dans le développement d'altérations cognitives.



**Figure 13 : Obésité, inflammation et cerveau.**

L'inflammation systémique produite au cours de l'obésité conduit à une neuroinflammation liée à l'altération de la barrière hémato-encéphalique. Cette neuroinflammation a lieu dans un premier temps *via* l'activation des cellules de la microglie puis dans un second temps *via* les monocytes dérivés de la moelle osseuse (BMDM). Le résultat de ces mécanismes conduit à une altération des fonctions cérébrales et ainsi des troubles cognitifs.

### **3. L'obésité : potentialisation du trouble cognitif post-opératoire ?**

L'obésité et le trouble cognitif post-opératoire présentent donc un facteur commun, l'inflammation. Que ce soit l'inflammation chronique de bas bruit retrouvée en contexte d'obésité ou l'inflammation aiguë survenant après la chirurgie, dans les deux cas, si cette inflammation systémique est mal contrôlée, elle peut aboutir à une inflammation centrale et à un déclin cognitif. De ce fait, l'étude d'un lien potentiel entre obésité et TCPO semble pertinente. Cependant, malgré cet intérêt en clinique ce lien reste à ce jour peu étudié.

Les premières études menées chez l'Homme ont mis en évidence un lien entre le syndrome métabolique et la survenue de troubles cognitifs survenant 1 mois après une chirurgie cardiaque<sup>81</sup> ou une chirurgie non cardiaque<sup>82</sup>. Sur l'animal, peu d'études ont été réalisées mais elles vont également dans le sens d'une altération des capacités cognitives plus intense lorsque les animaux développent un syndrome métabolique (obésité, dyslipidémie, résistance à l'insuline et hypertension). En effet, la réalisation d'une chirurgie tibiale chez des rats présentant un syndrome métabolique, entraîne une altération de la résolution de l'inflammation associée à une détérioration des capacités cognitives<sup>83, 84</sup>. Le rôle du syndrome métabolique a été confirmé par la réalisation d'un exercice physique répété en pré-opératoire permettant de restaurer des fonctions métaboliques normales. La pratique de l'exercice a permis une amélioration des troubles cognitifs après la chirurgie chez des rats qui présentaient un syndrome métabolique. Cette restauration des fonctions cognitives est en lien avec une diminution de la neuroinflammation<sup>85</sup>.



De ce fait, la compréhension des facteurs du syndrome métabolique responsables de l'exacerbation du trouble cognitif s'est posée. En 2016, Feinkohl *et al*<sup>86</sup> ont publié une méta-analyse portant sur l'étude de l'incidence du TCPO chez les personnes âgées obèses. Cependant, le résultat de cette étude, qui rassemble 6 publications, n'a pas mis en évidence de réelle augmentation du TCPO dans cette population par rapport à des patients âgés normo-pondérés. Les auteurs insistent alors sur le manque de données comparables et d'expérimentations animales menées. Ainsi, en 2019, une étude sur un modèle de souris en régime riche en lipide a mis en évidence une exacerbation des altérations cognitives chez les animaux obèses après une chirurgie comparé à des groupes animaux de poids normal<sup>87</sup>.

Des études plus poussées sur modèles animaux permettant de mieux appréhender le rôle de l'obésité et les mécanismes associés dans le développement du trouble cognitif post-opératoire sont donc nécessaires. C'est dans ce contexte là que s'inscrit le travail que j'ai effectué au sein de l'équipe du Dr. Cédric Dray avec pour projet l'étude de « L'impact de l'obésité dans les dysfonctions cognitives liées à la chirurgie ».

## **Partie II : Partie expérimentale-**

### **Impact de l'obésité sur les pertes cognitives**

#### **liées à la chirurgie**

##### **I. Matériel et Méthodes**

###### ***Animaux et régime***

Toutes les expérimentations ont été réalisées en accord avec les textes édités par le Ministère de l'agriculture et de la pêche et le Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche (Charte nationale portant sur l'éthique de l'expérimentation animale, 2008, Paris, France).

Des souris adultes mâles C57Bl6/j de 20 semaines (Janvier®, St Berthevin, France) ont été utilisées. Les animaux ont été soumis à un cycle jour-nuit de 12h, et nourris *ad libitum*. Après 8 semaines les souris ont été divisées en 2 groupes, un groupe Normal Diet (ND) et un groupe High Fat Diet (HFD). Le régime HFD étant composé de 60%kJ de lipides, 20%kJ de protéines et 20%kJ de glucides. Chaque animal a suivi ce régime pendant 12 semaines. Ces 2 groupes de souris ont été à leur tour subdivisés en 2 groupes : chirurgie ou non.

Ainsi, les souris ont été réparties en 4 groupes : ND, ND chirurgie, HFD, HFD chirurgie.

### ***Test de tolérance orale au glucose (OGTT)***

Les animaux ont été soumis à un test oral de tolérance au glucose. Brièvement, après une mise à jeun de 6 heures, les animaux ont eu une première prise de glycémie (Glucocheck, Roche, France), suivie, 15 minutes après, d'une administration orale par sonde de gavage d'une solution de 60% glucose (3 g de glucose/kg de poids corporel). La glycémie a été à nouveau relevée immédiatement après le gavage puis 15, 30, 45, 60, 90 et 120 minutes après.

Les résultats ont été exprimés par le calcul des aires moyennes sous la courbe (AUC moyennes).

### ***Anesthésie et chirurgie***

Les groupes d'animaux destinés à une chirurgie ont été soumis à une anesthésie générale par inhalation de Sévoflurane 4% (mélange 50% oxygène- 50% air). La profondeur de l'anesthésie a été appréciée par évaluation du réflexe de retrait de la patte arrière à un stimulus douloureux. Trente minutes avant la chirurgie, une injection intra-péritonéale de Sufentanil 5 µg/kg a été réalisée afin d'assurer l'analgésie durant la procédure. La procédure a consisté en la réalisation d'une fracture fermée, fixée par enclouage centromédullaire du tibia droit avec une aiguille de 27G (BD® Microlance – 27G 3/4 L 19 mm). Par la suite, le tibia a été placé et maintenu sous un système spécialement conçu pour le modèle (poids de 300 g lâché d'une hauteur de 10 cm) assurant ainsi une fracture tibiale reproductible. Minville V, *et al. Anesthesiology*.2008.

## ***Test comportementaux***

- Le **test de conditionnement par la peur** (« fear conditioning ») a été utilisé pour évaluer la mémoire des souris.

La phase d'apprentissage a eu lieu 1 jour après la chirurgie. Chaque souris a eu une phase d'adaptation dans la chambre pendant 120 secondes, suivie par l'exposition à un son (30 secondes, 7000Hz) et un choc électrique aux pattes (2 secondes, 0,75mA) 28 secondes après le début du son. L'exposition a été répétée une deuxième fois avec un intervalle de 60 secondes entre les 2 expositions. Le test de rappel du contexte a été réalisé le lendemain. Chaque souris a été replacée dans la même chambre de conditionnement que pour l'apprentissage pendant la même durée mais sans stimulus sonore et électrique. Le temps de « freezing » défini comme une immobilité totale excepté les mouvements respiratoires a été enregistré manuellement. Le « freezing » signe une réaction de peur de l'animal face à un contexte aversif et donc des capacités cognitives non altérées.

La chambre de conditionnement a été nettoyée avec de l'éthanol 70% après le passage de chaque animal. Toutes ces expériences ont été réalisées grâce au système Ethovision Noldus.

- Le **test de localisation d'objet** a été utilisé pour évaluer la mémoire des souris.

La phase d'apprentissage a lieu 1 jour après la chirurgie. Chaque souris est placée dans une arène circulaire vide pendant 10 minutes pour une phase d'adaptation. Par la suite, les souris sont replacées dans la même arène avec cette fois deux objets placés à droite et à gauche pour une phase d'apprentissage de 10 minutes. Le lendemain, les souris sont replacées dans l'arène où l'objet pour lequel elles avaient présenté le moins d'intérêt a été déplacé. Le temps d'intérêt porté aux objets a été

mesuré. L'arène a été nettoyée avec de l'éthanol 70% après le passage de chaque animal.

- Le **test d'interaction sociale** a été utilisé pour évaluer la mémoire des souris.

La phase d'apprentissage a lieu 1 jour après la chirurgie. Chaque souris est placée dans arène contenant une cage aux dimensions réduites vide pour une phase d'habituation de 10 minutes. Par la suite, la cage vide est remplacée par une cage contenant une souris présentatrice 1 que l'animal testé n'a jamais rencontré. Le temps d'interaction (contact entre les animaux à travers la cage) est mesuré pendant 5 minutes. Puis la cage vide est à nouveau remplacée et ce procédé est répété 6 fois successivement pour mesurer la cinétique d'apprentissage des animaux. Après 6 essais, un dernier essai est réalisé en utilisant une nouvelle souris présentatrice 2 afin de confirmer que l'animal testé ne présente pas de désintéressement pour le test. Le lendemain, les animaux sont à nouveau testés avec la souris présentatrice 1 à deux reprises. L'arène et les cages ont été nettoyées avec de l'éthanol 70% après le passage de chaque animal.

### ***Collecte des tissus***

Après euthanasie des animaux par perfusion intracardiaque de PBS sous anesthésie et décapitation, les tissus ont été collectés. Le sang, le cerveau, et le tissu adipeux péri-gonadique et les tissus adipeux sous-cutanés ont été collectés pour être analysés extemporanément ou suite à une congélation dans l'azote et un stockage à -80°C.

### ***Dosages plasmatiques***

Le sang collecté en tube contenant de l'EDTA a été centrifugé à 10 000rpm pendant 10minutes afin de récupérer le plasma qui a été congelé dans l'azote et stocké à -80°C jusqu'au dosage. La mesure des paramètres métaboliques a été réalisée au moyen d'un kit ELISA pour l'insuline (Kit Alpco -Eurobio Scientifics Référence : 80-INSMU-E10) et de kits colorimétriques pour acides gras libres et le glycérol libre (Kit Sigma; Référence : F6428). La quantification a été réalisée par mesure de la densité optique et la concentration en pg/mL grâce à une gamme étalon.

### ***Étude de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique***

La perméabilité de la BHE a été évaluée par la quantification de l'accumulation de Bleu Evans dans le cerveau. Le Bleu Evans est un colorant se liant à l'albumine plasmatique qui permet d'évaluer l'intégrité des parois vasculaires. Le Bleu Evans (Sigma-Aldrich, E2129) a été utilisé à une concentration de 2% préparé dans de l'eau ultra pure et filtrée à 0,22µm.

Les animaux ont été anesthésiés avec du Sévoflurane 4% et la solution de Bleu Evans a été injectée par voie retro-orbitaire à 4mL/kg. Après une circulation de 1h, les animaux ont été perfusés par voie intra-cardiaque avec 15mL de PBS afin de laver la circulation et ne garder que le colorant ayant pénétré le cerveau. Les animaux ont été décapités et le cerveau pesé et homogénéisé manuellement dans 1mL de formamide (Sigma, S4117). Le mélange a été incubé 24h à 55°C puis centrifugé 20 minutes à 12000g à température ambiante. La densité optique a été mesurée à 610nm. La courbe standard du Bleu Evans dans le formamide a permis de convertir l'absorbance en ng de colorant. Les résultats sont exprimés en ng de bleu/mg de cerveau.

### ***Expression protéique par Western blot***

Les hippocampes, conservés à -80°C, ont été lysés dans un tampon contenant du RIPA (radio immunoprecipitation assay) et des anti-protéases (au 1/100<sup>ème</sup>) et broyés au Precellys® à froid. Le dosage protéique des échantillons a été réalisé par la technique de Bradford à 595nm (Biorad DCTM, Protein assay, Ref 500-0114/5, United States).

Les protéines et le marqueur de taille ont été déposés avec du bleu de charge, contenant du bleu Laemmli, pour suivre la migration sur un gel SDS-PAGE 10%. La migration se fait à 110 V suivi du transfert sur membrane de nitrocellulose.

Avant de les incuber avec l'anticorps primaire avec l'anticorps, les membranes ont été saturées avec du TBST 5% BSA pendant 60min. Les membranes ont été incubées avec des anticorps primaires dirigés contre IBA1 (Abcam, 178846 1/1000), GFAP (Abcam, 4674 1/1000), Claudine 5 (Abcam, 131259 1/1000), Occludine (Abcam, 31721 1/1000), Zonula Occludens 1 (Cell Signaling 5406S 1/1000) et la GAPDH (Cell signaling, 2118, 1/2000) à 4°C toute la nuit. Les membranes ont ensuite été incubées avec des anticorps secondaires Anti-rabbit IgG couplés à la peroxydase (Sigma) dilués au 5000<sup>ème</sup> pendant 60 minutes.

La révélation est faite de manière automatisée par chimiluminescence avec le kit Clarity (Biorad) grâce au logiciel Chemidoc (appareil PIXIE).

### ***Expression génique par RT-qPCR***

Les tissus (tissus adipeux, hippocampes et hématomes), conservés à -80°C, ont été lysés dans 700 µL de Qiazol (Qiagen) et broyés au Precellys®. Après l'ajout de 100 µL

de chloroforme, pour délipider, les échantillons ont été centrifugés 15 minutes à 4000rpm à 4°C pour récupérer la phase aqueuse. Les ARN ont été précipités dans 150 µL d'éthanol absolu puis purifiés grâce au kit « GeneJET RNA Purification » (ThermoScientific). Une étape de traitement par de la DNase (Qiagen) a permis de se débarrasser de l'ADN génomique. Les ARNs ont été repris dans 35 µL d'eau ultrapure.

La concentration totale d'ARN a été dosée par spectrophotométrie (NanoDrop®). Les ADNc correspondants ont été obtenus grâce au kit « High Capacity cDNA reverse transcription » (Applied Biosystems®) : 0,5 µg d'ARN, amorces hexamères (2X), dNTP (80mM) et 50 U d'enzyme MultiScribe™ Reverse Transcriptase. Les échantillons ont été incubés 10 minutes à 25°C puis 60 minutes à 37°C. La réaction a été arrêtée en chauffant 5 minutes à 85°C. Ce cycle a été effectué grâce au thermocycler T3000® (Applied Biosystems®).

Les ADNc obtenus ont subi une réaction de PCR (réaction de polymérisation en chaîne) en temps réel afin de quantifier l'expression des gènes candidats grâce au Vii7 (Applied Biosystems®). L'ADNc a été amplifié grâce à la Taq Polymérase (MESA Blue qPCR MasterMix Plus for SYBR® Assay, Eurogentec®) et aux amorces sens et anti-sens spécifiques des gènes étudiés (Eurogentec®). Cette méthode semi-quantitative permet par comparaison à un gène de ménage (ici 36B4) de déterminer une quantité d'ADNc.

### ***Histologie du tissu adipeux***

Les tissus adipeux ont été fixés dans de la PFA 4% durant 24 heures puis conservés dans de l'éthanol absolu à 4°C. Ils ont ensuite été inclus en paraffine et coupés au



microtome (5 µm).

Afin de repérer les structures adipocytaires, un marquage éosine/hématoxyline a été réalisé. Les coupes ont été déparaffinées par Histo-Clear II (Fischer) puis hydratées en bains d'éthanol successifs (100% à 50% dans de l'eau). Les lames ont été plongées successivement 15 minutes dans un bain d'hématoxyline (HHS32 – Sigma-Aldrich) et 1 minute dans un bain d'éosine (230251 – Sigma-Aldrich), puis montées sur lamelles et séchées à l'air libre avant d'être visualisées au microscope NIKON Eclipse Ti avec le logiciel NIS-element.

### ***Préparation des milieux conditionnés de tissu adipeux***

Les tissus adipeux ont été mis en culture sous forme d'explant de 1 mm<sup>3</sup> afin d'en récupérer les sécrétions. Brièvement, les tissus adipeux ont été collectés dans du PBS 1X puis mis en culture dans du Krebs Buffer avec le ratio suivant : 1 gramme de tissu pour 1 mL de milieu. Les prélèvements ont été incubés 24h à 37°C 5% CO<sub>2</sub> puis les milieux conditionnés et explants de tissus adipeux ont été congelés en azote liquide et conservés à -80°C.

### ***Culture cellulaire***

La lignée murine de cellules de microglie BV2 (fournie par l'équipe du Pr. Rémy Poupot, Infinity, Toulouse) a été utilisée pour les études *in vitro*. Les BV2 sont cultivées dans un milieu de culture de type RPMI 1640 glutaMAX complet (Gibco#61810-010), enrichi en glutamine 2mM, avec ajout de pénicilline et streptomycine (100u/ml) et de sérum de veau foetal inactivé à 5%. Pour les traitements, les cellules ont été

ensemencées en plaques 12 puits (150 000cellules/mL) et traitées par ajout d'IL4 à 10ng/ml et IL13 20ng/ml (pour la polarisation M2) ou de lipopolysaccharide (LPS) à 1 mg/ml (pour la polarisation M1) ou 1% de milieu conditionné issu de tissu adipeux sous-cutané souris ND ou HFD. Après 24h de traitement, les cellules sont arrêtées pour des études par cytométrie en flux.

### ***Cytométrie en flux***

Les populations cellulaires ont été étudiées avec le cytomètre BD LSR Fortessa et le logiciel Diva Version 6.2.

Après lavage au PBS 1X, les cellules ont été marquées avec 1  $\mu$ L/mL de réactif Live/Dead yellow afin de pouvoir différencier les populations cellulaires vivantes des débris avant de rajouter du Fc Block. Deux tubes ont été préparés par prélèvement : un contenant le mix d'anticorps à étudier (1  $\mu$ L/ $10^6$  cellules) ; et un non marqué contenant les IgG correspondantes de chaque anticorps. Les cellules ont été fixées avec de la PFA puis conservées à 4°C dans 300  $\mu$ L de tampon FACS.

### ***Statistiques***

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne accompagnée d'erreur standard à la moyenne (ESM). Les données ont été soumises à un test T de Student de comparaison de moyennes (figure 1), une ANOVA two-way avec multiple comparaison (figure 2), une comparaison à une valeur théorique (figure 2) *via* le logiciel PRISM 7

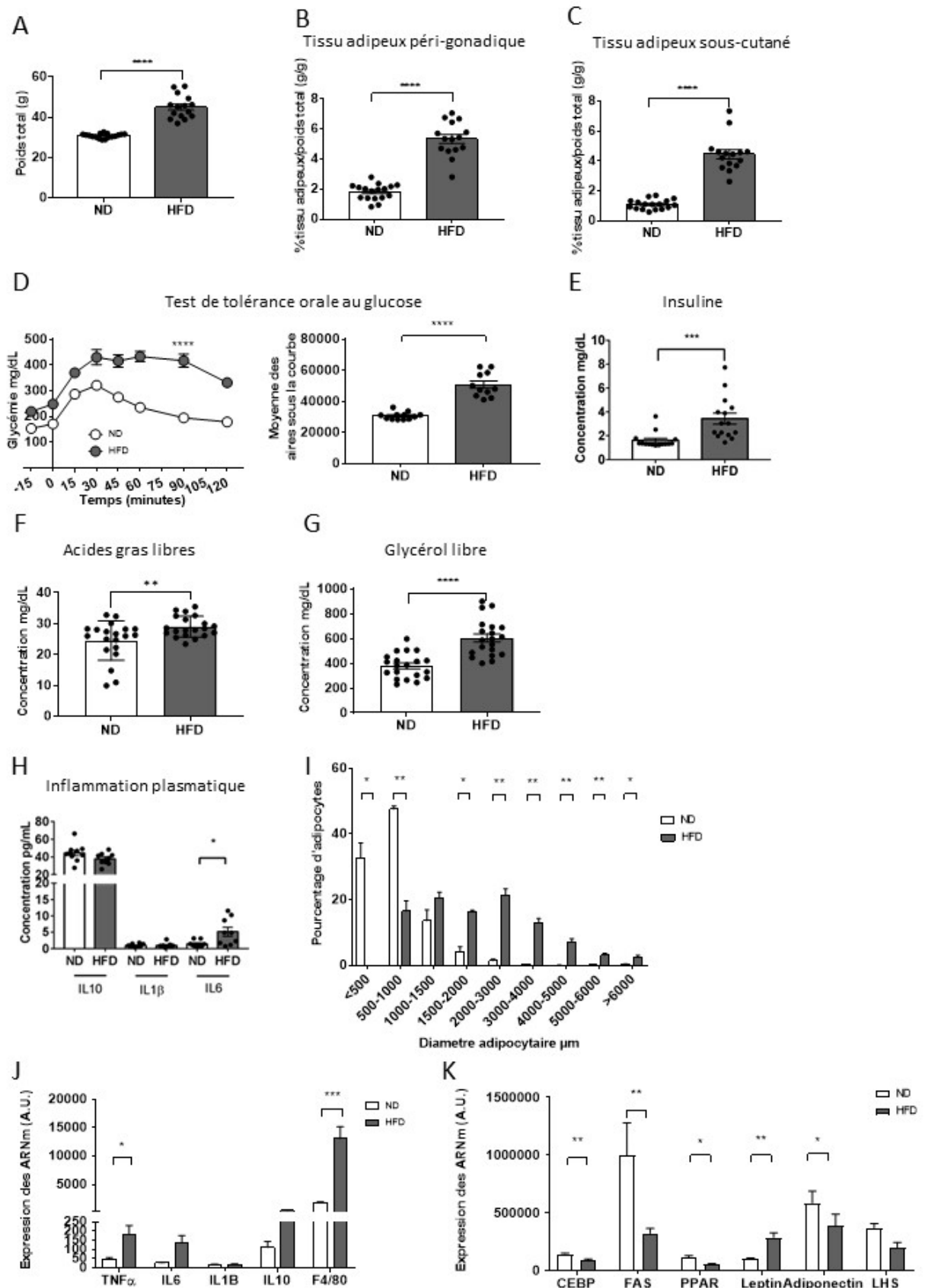
GraphPad®. Le niveau de significativité choisi est la p-value < 0,05 (\*), p-value < 0,01 (\*\*), p-value < 0,001 (\*\*\*) et p-value < 0,0001 (\*\*\*\*).

## II. Résultats

### Validation de l'installation de l'obésité par un régime riche en lipides (HFD).

Dans le but de valider le modèle d'obésité, les souris ont été soumises à 12 semaines de régime riche en lipides (High Fat Diet 60%). Ces animaux présentent une augmentation significative du poids (moyenne de 30.85 g + /- 0.25 chez les ND et 45.1 g +/- 1.49 chez les HFD) (**Figure 1A**), ainsi qu'une masse des tissus adipeux péri-gonadique et sous-cutané significativement supérieure (**Figure 1B et 1C**). De plus, les souris en régime HFD présentent des altérations métaboliques caractéristiques de l'obésité avec : i) une intolérance au glucose caractérisée par une augmentation de la glycémie de base qui persiste après administration orale de glucose (**Figure 1D**) ii) une hyperinsulinémie (**Figure 1E**) iii) une augmentation des acides gras libres (**Figure 1F**) et iv) une augmentation du glycérol libre (**Figure 1G**). De plus, l'inflammation de bas bruit, caractéristique de l'obésité, est retrouvée chez les souris en régime HFD avec une augmentation plasmatique de la concentration en IL-6 (**Figure 1H**). Enfin, l'étude histologique des tissus adipeux a permis de retrouver l'hypertrophie adipocytaire observée au cours de l'obésité (**Figure 1I**) et confirmée par l'étude génique de marqueurs impliqués dans la synthèse d'acides gras (*FAS*) et de l'adipogénèse (*PPARY*, *CEBPα*) diminués en situation d'obésité alors que la leptine, hormone de satiété, est augmentée (**Figure 1K**). Enfin, l'étude transcriptomique de ces tissus confirme l'état pro-inflammatoire du tissu adipeux de la souris obèse avec

notamment une augmentation du TNF- $\alpha$  et de macrophages infiltrants identifiés par la présence du marqueur F4/80 (**Figure 1J**).



**Figure 1 : Validation de l'installation de l'obésité par un régime riche en lipides (HFD).** Mesure du poids total des animaux (A) et du poids des tissus adipeux péri-gonadiques (B) et sous cutanés (C) en grammes, après 12 semaines de régime HFD ou ND (n=15 par groupe). Mesure de la tolérance au glucose avec la glycémie en mg/dL (C et D) (n=12 par groupe). Mesure plasmatique de l'insuline, acides gras libres et glycérol libre (E, F et G). Mesure de l'inflammation plasmatique (H) (n=5 par groupe). Analyse histologique de coupes de tissu adipeux sous-cutané (I) (n=3 par groupe). Etude de l'expression de gènes dans le tissu adipeux péri-gonadique des souris ND et HFD (n=6 par groupe) (J et K). Les valeurs représentant des moyennes +/- esm. Test T de Student avec \* p<0,05 ; \*\* p<0,01 ; \*\*\* p<0,001 et \*\*\*\* p<0,0001.

ND = Normal Diet et HFD = High Fat Diet.

## **L'obésité est associée à une altération spécifique des fonctions cognitives après une chirurgie.**

Afin de déterminer le rôle de l'obésité sur le développement du TCPO, des souris en régime ND ou HFD ont subi ou pas une fracture fermée du tibia droit puis ont été exposées à différents tests de comportement mettant en jeu la mémoire hippocampo-dépendante. Cette mémoire met en jeu l'association d'un événement à un contexte afin d'évaluer les performances cognitives.

Pour cela, trois tests ont été réalisés (conditionnement par la peur, localisation d'objet et interaction sociale) afin d'évaluer les conséquences de la chirurgie sur le processus complet de mémorisation en réalisant la fracture avant l'apprentissage (**Figure 2A**).

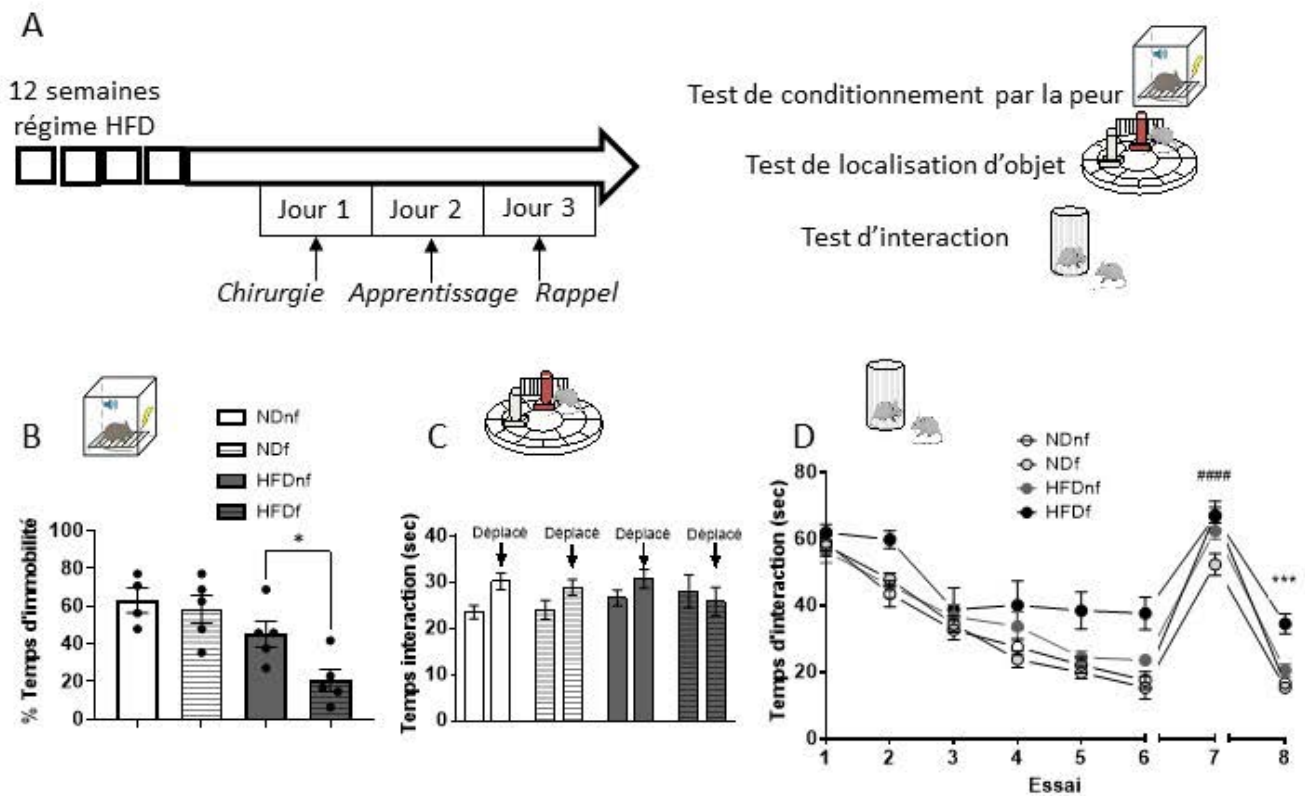
Pour le test de conditionnement par la peur, les animaux ont tout d'abord été soumis à une chirurgie par fracture fermée du tibia. Le lendemain, les animaux ont été conditionnés durant la phase d'apprentissage à associer un environnement sonore, olfactif et tactile avec un stimulus douloureux par un choc électrique. Le lendemain, les animaux ont été réintroduits dans la même chambre pour une phase de rappel afin d'évaluer leurs capacités cognitives par la mesure de l'immobilité appelée « freezing ». Alors que les souris en régime normal (ND) ne présentent aucune diminution des capacités cognitives au cours de la chirurgie, les souris HFD ont une diminution des performances cognitives avec la fracture (**Figure 2B**).

Pour le test de localisation d'objet, le lendemain de la chirurgie, les animaux ont été mis en présence de deux objets au cours de la phase d'apprentissage. Puis, le jour suivant, les animaux sont réintroduits dans l'arène contenant les deux objets mais dont l'un des deux a été déplacé. Les capacités cognitives ont été évaluées par la mesure du temps passé à chaque objet le deuxième jour. Les résultats montrent que seules

les souris obèses fracturées n'ont pas de préférence pour l'objet déplacé, indiquant une dysfonction du processus de la mémorisation hippocampo-dépendante (**Figure 2C**).

Le test d'interaction sociale a été réalisé le lendemain de la chirurgie. Pour cela le processus d'apprentissage a été réalisé en mettant l'animal testé en présence d'une souris présentatrice 1. La courbe d'apprentissage (**Figure 2D**, essai 1 à 6) montre une altération spécifiquement chez les souris obèses qui semblent ne pas se souvenir de la souris qui leur est présentée. Après ces 6 essais, un septième essai est réalisé avec une nouvelle souris présentatrice 2 inconnue pour l'animal testé afin de valider le bon fonctionnement du test. Cet essai montre qu'aucun des quatre groupes ne se désintéresse du test puisque l'on voit une augmentation du temps d'interaction. Le lendemain (essai 8), les animaux sont de nouveau testés avec la souris présentatrice 1. A nouveau, seul le groupe de souris obèses fracturées montre un temps d'interaction élevé signe de leur altération cognitive (**Figure 2D**).





**Figure 2 : L'obésité est associée à une altération spécifique des fonctions cognitives après une chirurgie.** Représentation schématique des protocoles d'évaluation des performances cognitives (A). Mesure du pourcentage de temps d'immobilité sur la période de rappel (B) (n=5 par groupe). Mesure du temps d'interaction au test de localisation d'objet (C) et d'interaction sociale (D) (n=10 par groupe). Les valeurs représentant des moyennes +/- esm. B Test ANOVA two way (\*) avec multiple comparaison (#). D test T de Student de comparaison à valeur de 50 avec \* p<0,05 ; \*\* p<0,01 ; \*\*\* p<0,001 et \*\*\*\* p<0,0001. E Test ANOVA two way essai 8 (\*) et test ANOVA three way essai 6-7(#).

NDnf = Normal Diet non fracturé, NDf = Normal Diet fracture, HFDnf = High Fat Diet non fracturé et HFDf = High Fat Diet fracturé.

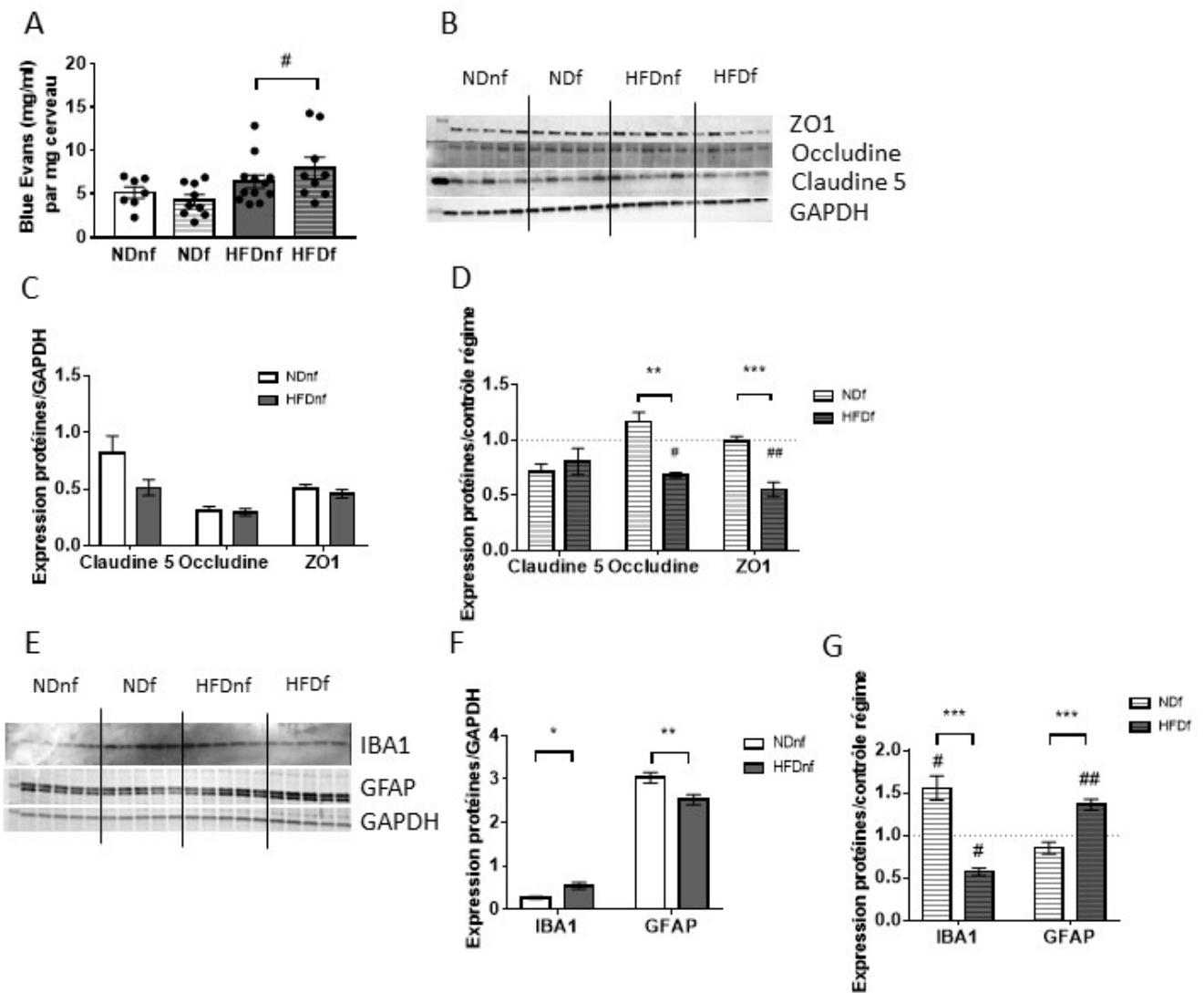
## **L'obésité est associée à une réponse inflammatoire centrale altérée au cours de la chirurgie.**

Afin de comprendre les mécanismes centraux inflammatoires impliqués dans la perte de fonction cognitive, les cerveaux entiers ou les hippocampes ont été collectés à différents temps après la chirurgie.

Un des mécanismes pouvant conduire à une altération centrale et à une neuroinflammation est la rupture de la protection assurée par la barrière hématoencéphalique (BHE). En effet, nous avons constaté une augmentation de la perméabilité de BHE des souris obèses 24h après la chirurgie grâce au test du bleu Evans (**Figure 3A**). Ce résultat est renforcé par l'étude des protéines impliquées dans la fermeture de cette BHE (Claudine 5, Occludine et Zonula Occludens 1). Bien que ces protéines ne varient pas en condition basale sans chirurgie entre ND et HFD (**Figure 3B – 3C**), on observe une diminution de l'expression de l'Occludine et de la Zonula Occludens 1 après la chirurgie chez les souris obèses (**Figure 3D**).

Afin d'étudier la neuroinflammation, la mesure de deux marqueurs clefs de l'activation des cellules impliquées dans cette réponse a été réalisée. L'expression protéique d'IBA1 (marqueur d'activation de la microglie) et de GFAP (marqueur d'activation des astrocytes) a démontré une réponse différente entre les souris ND et HFD (**Figure 3E**). Sans chirurgie, les souris HFD présentent une augmentation du marqueur d'activation de la microglie IBA1 et une moindre expression du marqueur d'activation des astrocytes GFAP (**Figure 3F**) comparée à leurs homologues en régime normal. Alors qu'une augmentation de ces deux marqueurs serait attendue dans un contexte d'inflammation, une réponse différente a été constatée entre les souris ND et HFD au

cours de la chirurgie. Afin de pouvoir comparer la réponse des animaux dans chaque groupe, les résultats des groupes fracturés sont exprimés par rapport à leur contrôle régime. Alors que les souris ND fracturées (NDf) présentent une augmentation de IBA1 avec la chirurgie, de manière surprenante, les souris HFD fracturées (HFDf) voient ce marqueur diminuer par rapport à leur contrôle. En parallèle, alors que le marqueur d'activité des astrocytes GFAP n'est pas modifié par la chirurgie chez les souris ND, on constate chez les souris HFDf une augmentation de ce marqueur. Ce résultat pourrait indiquer un relai pris par les astrocytes sur la microglie au cours de la chirurgie chez les souris HFD (**Figure 3G**).



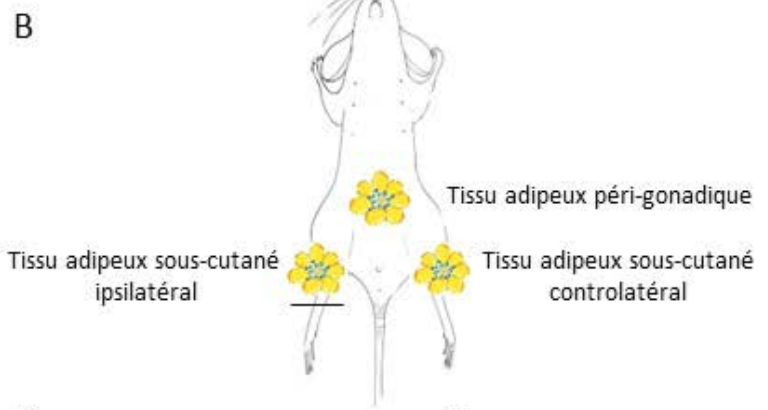
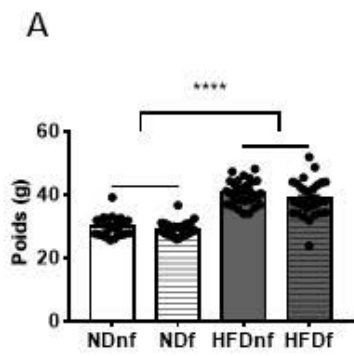
**Figure 3 : L'obésité est associée à une réponse inflammatoire centrale altérée.**

Analyse de la perméabilité de barrière hémato-encéphalique par la méthode du Bleu Evans au niveau du cerveau (A) (n=8 par groupe) et l'étude protéique des protéines des jonctions serrées au niveau de l'hippocampe (B, C, D) (n=5 par groupe). Analyse de l'expression protéique au niveau hippocampique des cellules de la microglie et astrocytes (E, F, G) (n=5 par groupe). Les valeurs représentant des moyennes +/- esm. Test T de Student avec \* p<0,05 ; \*\* p<0,01 ; \*\*\* p<0,001 et # pourcentage de comparaison au contrôle régime.

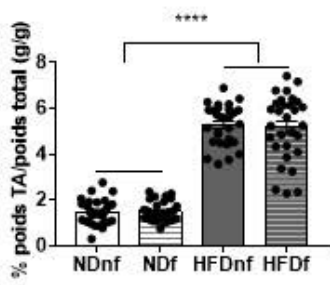
NDnf = Normal Diet non fracturé, NDf = Normal Diet fracture, HFDnf = High Fat Diet non fracturé et HFDf = High Fat Diet fracturé.

## **Le tissu adipeux pourrait jouer un rôle dans les dysfonctions cognitives post-opératoires *via* son sécrétome.**

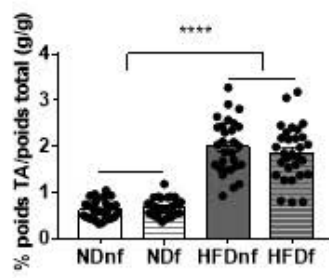
Afin de comprendre les mécanismes mis en jeu au cours de l'obésité pouvant expliquer l'impact de la chirurgie, une éventuelle rupture de l'homéostasie métabolique a été étudiée. Cependant aucun des paramètres métaboliques mesurés ne semble être impacté par la chirurgie (*résultats non montrés*). Les modifications du tissu adipeux blanc et son rôle dans le profil inflammatoire associé à l'obésité nous ont mené à étudier ce tissu lors d'une chirurgie. Ainsi, nous avons constaté que la chirurgie n'induit pas de modification du poids total des animaux, quel que soit le régime (**Figure 4A**). De même, l'étude des trois tissus adipeux blanc modifiés au cours de l'obésité (**Figure 4B**) ne montre pas de modification de leur poids que ce soit le tissu adipeux péri-gonadique (**Figure 4C**), sous-cutané ipsilatéral (**Figure 4D**) ou controlatéral (**Figure 4E**). Nous avons émis l'hypothèse que le tissu adipeux pourrait jouer un rôle direct sur le système nerveux central *via* ses sécrétions. Afin de vérifier cela, nous avons collecté les sécrétions de tissu adipeux sous-cutané ipsilatéral sous forme de milieu conditionné (cf. Matériel et Méthodes). Ces sécrétions ont ensuite été utilisées pour traiter des cellules issues d'une lignée murine de microglie, les BV2. L'analyse en cytométrie en flux des marqueurs membranaires CD40 et CD206 nous a permis d'évaluer le profil pro ou anti-inflammatoire de ces cellules. Ainsi, nous avons pu mettre en évidence le fait que les sécrétions de tissus adipeux issues de souris en régime normal ne semblent pas modifier la polarisation des lignées de microglie (**Figure 4F**) alors que les milieux conditionnés issus de souris obèses semblent polariser les cellules vers un profil plutôt pro-inflammatoire caractérisé par l'augmentation du marqueur CD40 (**Figure 4G**).



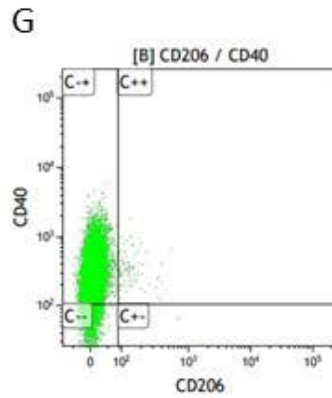
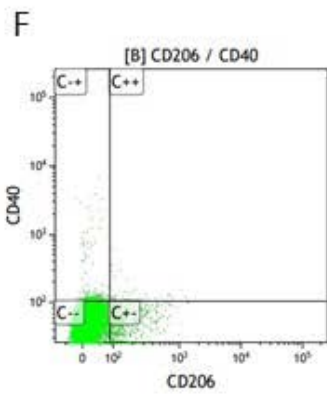
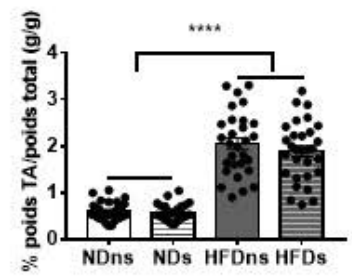
**C**  
Tissu adipeux péri-gonadique



**D**  
Tissu adipeux sous-cutané ipsilatéral



**E**  
Tissu adipeux sous-cutané controlatéral



**Figure 4 : Le tissu adipeux pourrait jouer un rôle dans les dysfonctions cognitives post-opératoires via son secrétome.**

Poids total des animaux (A). Représentation schématique de la localisation des tissus adipeux dans le modèle murin (B). Poids des tissus adipeux pré-gonadique (C) et sous-cutanés ipsilatéral (D) et controlatéral (E) après chirurgie (n=15 par groupe). Cytométrie en flux de l'expression de marqueurs pro (cd40) ou CD40 et anti-inflammatoire (cd206) ou CD206 de lignée de cellule de microglie traitées par milieux conditionnés de tissus adipeux de souris ND (F) et HFD (G). Les valeurs représentant des moyennes +/- esm. Test T de Student avec \* p<0,05 ; \*\* p<0,01 ; \*\*\* p<0,001 ; \*\*\*\* p<0,0001.

NDnf = Normal Diet non fracturé, NDf = Normal Diet fracture, HFDnf = High Fat Diet non fracturé et HFDf = High Fat Diet fracturé.

### III. Discussion

Les troubles cognitifs post-opératoires (TCPO) représentent à l'heure actuelle un problème de santé publique impactant la vie des patients et l'économie de la santé avec une altération de l'indépendance et une morbidité et mortalité augmentées. Des avancées récentes ont permis la mise en évidence d'hypothèses étiologiques du TCPO, dont la plus probable semble être l'inflammation produite au site de chirurgie qui, par sa propagation au niveau central conduit à une neuroinflammation et ainsi un déclin cognitif. L'âge avancé et le type de chirurgie ayant déjà été caractérisés comme des facteurs de risques du TCPO, ceci a conduit à envisager de nouveaux facteurs aggravants potentiels contre lesquels lutter. C'est ainsi que l'obésité, dont l'incidence ne cesse d'augmenter, s'est positionnée comme facteur potentiel aggravant du TCPO. En effet, l'obésité présente une inflammation chronique de bas bruit pouvant agir selon deux axes sur la survenue des TCPO : un axe direct avec une communication entre le tissu adipeux et le cerveau qui conditionnerait le cerveau à une sensibilité plus accrue à un événement pro-inflammatoire et un axe indirect qui ferait intervenir une potentialisation de l'inflammation présente au site de fracture conduisant à une aggravation du TCPO.

Dans un premier temps, le modèle d'obésité induit par régime gras (60% de lipides pendant 12 semaines) a été validé au niveau phénotypique, avec une augmentation du poids corporel ainsi que des tissus adipeux. De plus, les souris HFD présentent une dysfonction métabolique caractéristique de l'obésité avec une intolérance au glucose, une hyperinsulinémie et des désordres lipidiques (augmentation des acides gras libres et du glycérol). Au niveau des tissus adipeux



blancs, une hypertrophie des adipocytes et une modulation de gènes spécifiquement retrouvés au cours de l'obésité sont mis en évidence. Enfin, une inflammation de bas bruit, caractéristique de l'obésité, a pu être retrouvée chez ce modèle de souris en régime HFD. Afin d'étudier la relation entre obésité et TCPO, ce modèle d'obésité a été associé à un modèle de TCPO par fracture fermée associée à un enclouage centromédullaire du tibia droit. Ce modèle de TCPO a été choisi pour se rapprocher le plus possible de la clinique humaine où la chirurgie orthopédique est la plus largement représentée chez le sujet obèse en raison des troubles articulaires associés à l'obésité. Quatre groupes de souris ont ainsi été constitués : des animaux en régime normal fracturés ou non et des animaux en régime gras fracturés ou non. Ces groupes ont été soumis à différents tests de comportement afin d'en évaluer les performances cognitives. Ainsi, nous avons pu montrer que la fracture induisait une altération des fonctions cognitives spécifiquement chez les souris obèses. Ce résultat est à rapprocher d'une étude récente menée par Zhao *et al*<sup>87</sup> ayant démontré un lien entre les TCPO et l'obésité chez des souris présentant un âge avancé qui est un facteur de risque supplémentaire et déjà identifié du TCPO. Nous montrons donc pour la première fois que l'obésité seule peut représenter un facteur de risque de développement de TCPO. L'étude des mécanismes cellulaires et moléculaires mis en jeu permettrait de mieux comprendre les phénomènes observés qui pourraient s'expliquer par une perte neuronale ou une perte de leur activation associée à la transmission synaptique.

Cependant d'autres modèles de chirurgie pourraient être envisagés. En effet, comme décrit précédemment, plus la chirurgie est lourde et plus le TCPO développé sera important. Nous pouvons donc envisager de réaliser chez l'animal obèse des

chirurgies plus invasives comme une laparotomie souvent utilisée comme modèle de TCPO et qui, de plus, pourrait se rapprocher de la chirurgie bariatrique chez l'homme. La chirurgie bariatrique est une intervention lourde appliquée en cas d'obésité sévère. En réduisant les capacités d'absorption de l'estomac, cette intervention permet une amélioration du poids de l'individu associé à un gain des fonctions cardiaques et métaboliques. Une des conséquences inattendues de cette intervention a été une amélioration des fonctions cognitives après plusieurs mois. Cependant, une altération précoce des fonctions cognitives pourrait être investiguée chez les patients opérés. En effet, on peut supposer que l'inflammation produite au cours de cette intervention causerait dans les premiers jours/semaines un trouble cognitif post-opératoire.

En parallèle de ce modèle d'obésité induit par régime riche en lipides, mimant la majorité des troubles retrouvés chez l'homme, d'autres modèles d'obésité ou de maladie métabolique sont à envisager. En effet, bien que les troubles alimentaires représentent la majorité des cas d'obésité, une partie de la population obèse présente une altération génétique. Ainsi, le modèle de souris mutées pour le récepteur de la leptine (db/db), nous permettrait de savoir si les phénomènes observés sont généralisables à tous les types d'obésité et indépendants de la qualité du régime. De même, un modèle de souris métaboliquement altérées par régime riche en lipides et en glucose durant une courte période permettrait d'étudier les effets du syndrome métabolique indépendamment des effets de l'obésité. Même si nos résultats semblent exclure un rôle significatif du métabolisme sur le TCPO, ceci nous permettrait de caractériser plus finement la part de l'obésité et des complications métaboliques associées dans le TCPO.

Afin de comprendre les mécanismes centraux mis en jeu au cours de la chirurgie de l'individu obèse, les acteurs impliqués dans la neuroinflammation ont été investigués. Dans un premier temps, une altération de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique semble être présente 24h après la chirurgie. En effet, l'utilisation d'un colorant se liant à l'albumine plasmatique, le bleu Evans nous a permis de mettre en évidence une augmentation de la perméabilité de la barrière spécifiquement chez les souris obèses fracturées. Ce résultat est à mettre en lien avec la diminution des protéines des jonctions serrées Occludine et Zonula Occludens 1 retrouvées spécifiquement chez les souris obèses au décours de la chirurgie signifiant là aussi une altération de la structure de la barrière hémato-encéphalique. De plus, au niveau cellulaire, l'étude des cellules de la glie, astrocytes et microglie, caractérisées par leur rôle au cours de la neuroinflammation montre une différence de réponse selon le régime. En effet, en condition normale les cellules de la microglie voient leur activité augmenter après la chirurgie, comme décrit dans la littérature. Cependant, dans un contexte d'obésité on assiste à une diminution de ces cellules microgliales au profit des astrocytes. Ce phénomène est présenté dans la littérature comme l'astrogliose, qui survient quand les cellules de la microglie seules ne peuvent répondre à l'inflammation signant une inflammation potentielle centrale incontrôlée au cours de l'obésité. L'activation différentielle de ces cellules pourrait être qualitative (moins de potentiel d'activation) ou quantitative (moins de cellules). Des études histologiques permettront de répondre à cette question et de mieux comprendre la réponse centrale inflammatoire.

Compte tenu de l'effet de l'obésité sur le TCPO, l'objectif a été, par la suite, de comprendre la relation physiopathologique entre ces deux désordres. Face à

l'absence de rupture de l'homéostasie métabolique des souris obèses après une chirurgie, l'hypothèse du rôle du tissu adipeux blanc a été privilégiée. L'analyse macroscopique des tissus adipeux et de leur poids n'a pas montré d'effet de la chirurgie. L'étude des composantes du tissu adipeux (cellulaire et endocrine) permettra de déterminer si la chirurgie a un impact sur ces tissus adipeux. L'hypothèse est faite d'une réponse différente selon leur proximité au site de chirurgie. En effet, le tissu adipeux sous-cutané ipsilatéral proche du site de chirurgie semble subir un impact majoré comparé aux autres au moment de la fracture et participerait donc différemment aux réponses. Afin de confirmer cette hypothèse, des expériences de résection de ce tissu adipeux chez les souris obèses sont en cours. L'étude du comportement de ces animaux permettra de confirmer ou non le rôle majeur de ce tissu adipeux dans les phénomènes observés ou de déterminer s'il ne participe que partiellement au déclin cognitif. De même, afin de confirmer le rôle du tissu adipeux, un modèle de xénogreffe (souris/souris et homme/souris) de tissu adipeux est envisagé pour étudier les effets systémiques de l'apport de tissu adipeux chez une souris normale et apporter la preuve de concept de l'implication du tissu adipeux dans les phénomènes cognitifs observés.

Le tissu adipeux pourrait jouer un rôle *via* ses sécrétions. L'hypothèse testée ici est un rôle du sécrétome du tissu adipeux qui est modifié au cours de l'obésité et pourrait également l'être au cours de la chirurgie. Parmi les molécules sécrétées, les cytokines pourraient participer à augmenter la réponse inflammatoire systémique. Afin de mesurer des différences potentielles, ces cytokines devront être dosées au sein du tissu adipeux, de son milieu conditionné et dans le plasma afin de mettre en évidence une corrélation possible entre ces compartiments de l'organisme. De plus, le relargage

de lipides par la délipidation des adipocytes pourrait participer à la modification du profil résolutoire de l'inflammation. En effet, la résolution est une phase primordiale qui permet l'arrêt de tout phénomène inflammatoire et qui fait intervenir de nombreux acteurs parmi lesquels des molécules d'origine lipidique : les résolvines. Il serait alors intéressant de savoir si, dans les modèles de souris obèses TCPO, le profil des résolvines est perturbé par la délipidation des adipocytes. Pour cela, nous pourrions analyser par spectrométrie de masse des résolvines comme l'EPA (acide eicosapentaénoïque), le DHA (acide docosahexaénoïque), le PDX (protectin DX) et l'acide arachidonique dans nos modèles de souris obèses TCPO.

Afin d'étudier le rôle endocrine du tissu adipeux sur le système nerveux central au cours de ces processus, nous avons utilisé la culture cellulaire de la lignée de microglie BV2. Le traitement de ces cellules de la microglie avec du milieu conditionné de tissu adipeux de souris ND ou HFD nous a permis d'étudier les remodelages de la microglie survenant au cours de son activation. Ainsi, nous avons constaté une activation différente selon l'origine du milieu conditionné utilisé avec une augmentation du profil pro-inflammatoire lorsque l'on utilise le sécrétome de souris obèses. *In vivo*, afin de confirmer l'effet de ce sécrétome, des expérimentations de perfusion intra-cérébro-ventriculaires de milieu conditionné de tissu adipeux sont envisagées. En effet, en imprégnant le cerveau de souris ND par le sécrétome de souris obèse fracturée, nous pourrions mimer les effets observés sur le comportement. Cela confirmerait le rôle sécrétoire du tissu adipeux de l'individu obèse sur une potentielle sensibilisation du cerveau à des événements inflammatoires aigus observés au cours de la chirurgie.

Enfin, la mise en place d'une étude clinique associée à ce travail en octobre 2021 ((NCT04907565) « ODCOTA Impact of Obesity on Post-operative Cognitive Dysfunction: Role of Adipose Tissue ») nous permettra de transcrire les effets observés chez la souris à l'homme. Cette étude observationnelle, prospective, mono centrique est menée au CHU de Toulouse dans le service de chirurgie orthopédique de Purpan et le service de chirurgie cardiaque de Rangueil. Au cours de cette étude, les patients obèses et normo-pondérés sont suivis en pré et post-chirurgie. L'objectif principal est de rechercher un lien entre l'obésité et le TCPO. L'évaluation des performances cognitives est faite au moyen de deux tests, le CAM (Confusion Assessment Method) permettant d'évaluer le délirium et le MMSE (Mini Mental State Examination) permettant d'évaluer les dysfonctions cognitives. En parallèle de ces évaluations fonctionnelles, des prélèvements biologiques sont réalisés. Le sang des patients, collecté avant et après la chirurgie, permettra de mettre en évidence un lien en TCPO, obésité et inflammation. Ainsi, notre hypothèse est que le sang des patients obèses présentera un profil pro-inflammatoire corrélé à l'apparition des troubles cognitifs après la chirurgie plus importante. De plus, un prélèvement de tissu adipeux sous-cutané de la région chirurgicale sera réalisé au moment de l'opération. L'objectif ici est de lier le tissu adipeux et son profil au TCPO afin d'identifier un potentiel lien de cause à effet entre ce tissu et des dysfonctions.

En ce qui concerne les perspectives thérapeutiques, une analyse protéomique et lipidomique (cytokines et lipides) des sécrétions de tissu adipeux permettra d'envisager des outils afin de lutter contre les altérations cognitives en préventif d'une chirurgie du sujet obèse. En effet, si une implication des cytokines était vérifiée, l'utilisation d'anticorps anti-cytokiniques serait envisageable au décours de chirurgie

d'urgence. De plus, cette étude permettrait de renforcer les mesures de prévention à long terme pour la lutte contre l'obésité en faisant de ce trouble un facteur de risque supplémentaire et confirmé de l'acte chirurgical.

En proposant des cibles innovantes et originales, nos travaux permettraient de participer à la lutte contre les altérations cognitives post-opératoires qui pourraient, dans les années à venir, devenir un problème majeur de Santé Publique chez l'individu obèse. En effet, l'obésité s'étend de plus en plus dans nos sociétés et aboutira prochainement à des individus possédant plusieurs facteurs de risques de développement de TCPO comme un âge avancé et une altération du métabolisme. Il sera donc nécessaire de proposer des axes stratégiques permettant de lutter contre ces altérations cognitives pour améliorer la qualité de vie des patients et l'économie de la santé.

## Conclusion

Une altération des capacités cognitives, dont la mémoire, signe des altérations au niveau de l'hippocampe. Ces dysfonctions cognitives sont notamment retrouvées en post-chirurgie sous le nom de troubles cognitifs post-opératoires. Ces troubles représentent un problème de santé publique encore peu caractérisé dont l'incidence augmente avec l'avancée en âge de la population. La neuroinflammation semble jouer un rôle majeur dans leur développement. Ainsi, l'objectif de notre projet est d'étudier le lien entre le tissu adipeux de l'individu obèse et le TCPO. Tout d'abord, nous avons validé le modèle animal d'obésité induit par régime HFD. Nous avons par la suite couplé ce modèle d'obésité à un modèle de TCPO induit par fracture fermée du tibia. Nous avons ainsi montré, pour la première fois, une exacerbation des troubles cognitifs chez les souris obèses quelle que soit la cinétique de réalisation de la chirurgie (avant ou après l'apprentissage). De plus, cet effet fonctionnel a été renforcé par l'étude des mécanismes centraux mis en jeu dans ces altérations. Ainsi, une neuroinflammation exacerbée et une altération de la barrière hémato-encéphalique ont été mis en évidence chez les souris obèses ayant subi une chirurgie. Le potentiel effet endocrine du tissu adipeux sur la sphère centrale a été étudié *in vitro* sur une lignée de cellules, BV2, de la microglie du système nerveux central impliquée dans la neuroinflammation. Les résultats préliminaires montrent un rôle pro inflammatoire du sécrétome de tissu adipeux de souris obèse comparé à celui de souris ND. Ces travaux mettent donc en évidence un rôle de l'obésité sur l'apparition des dysfonctions cognitives après une chirurgie. Cependant, les mécanismes mis en jeu et la participation du tissu adipeux restent à élucider afin de proposer des stratégies thérapeutiques permettant d'atténuer ces effets.



## Références bibliographiques

1. Forrest *et al.* Dendritic Structural plasticity and neuropsychiatric disease. *Nat Rev Neurosci.* 19(4):215-234. (2018).
2. Bliss T and Collingridge G. A Synaptic Model of Memory: Long-term Potentiation in the Hippocampus. *Nature.* **361**, 31-39 (1993).
3. Lechner, H. A., Squire, L. R. & Byrne, J. H. 100 years of consolidation — remembering Müller and Pilzecker. *Learn. Mem.* **6**, 77–87 (1999).
4. Tyng, C. M. *et al.* The Influences of Emotion on Learning and Memory. *Front. Psychol.* **8**, 1454. (2017).
5. Anacker, C. and Hen, R. Adult hippocampal neurogenesis and cognitive flexibility-linking memory and mood. *Nat Rev Neurosci.* **18**, 335–346. (2017).
6. Morris, A. M. *et al.* Selective lesions of the dentate gyrus produce disruptions in place learning for adjacent spatial locations. *Neurobiol of learning and memory.* **97**, 326-331. (2012).
7. Laroche, S. Les mécanismes de la mémoire. *Pour la Science.* **31**. (2001).
8. Ana Paula De Vincenti *et al.* Mechanisms That Modulate and Diversify BDNF Functions: Implications for Hippocampal Synaptic Plasticity. *Front Cell Neurosci.* (2019).
9. Shimizu, E., Tang, Y. P., Rampon, C. & Tsien, J. Z. NMDA receptor-dependent synaptic reinforcement as a crucial process for memory consolidation. *Science* **290**, 1170–1174 (2000).
10. McClelland, J. L., McNaughton, B. L. & O'Reilly, R. C. Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychol. Rev.* **102**, 419–457 (1995).
11. Rundshagen, I. Postoperative Cognitive Dysfunction. *Dtsch. Ärztebl. Int.* **111**, 119–125 (2014).

12. Bedford, P. D. Adverse cerebral effects of anaesthesia on old people. *Lancet Lond. Engl.* **269**, 259–263 (1955).
13. L. Evered, *et al.* Recommendations for the Nomenclature of Cognitive Change Associated with Anaesthesia and Surgery—2018. *Anesthesiology*. 129:872-9. (2018).
14. Deiner, S. & Silverstein, J. H. Postoperative delirium and cognitive dysfunction. *BJA Br. J. Anaesth.* **103**, i41–i46 (2009).
15. O' Brien, H., Mohan, H., Hare, C. O., Reynolds, J. V. & Kenny, R. A. Mind Over Matter? The Hidden Epidemic of Cognitive Dysfunction in the Older Surgical Patient. *Ann. Surg.* **265**, 677–691 (2017).
16. Evered L, *et al.* Postoperative cognitive dysfunction is independent of type of surgery and anesthetic. *Anesth Analg.* **112**, 1179–85. (2011)
17. Cao X-Z, *et al.* Postoperative cognitive deficits and neuroinflammation in the hippocampus triggered by surgical trauma are exacerbated in aged rats. *Progr Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **34**, 1426–32. (2010).
18. Gallin, J.I., *et al.* Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates. *Lippincott Williams & Wilkins.* (1999).
19. Larsen, G. L. and Henson, P. M. Mediators of inflammation. *Anu.Rev.Immunol.* **1**,335–359 (1983).
20. Terrando, N. *et al.* Tumor necrosis factor- $\alpha$  triggers a cytokine cascade yielding postoperative cognitive decline. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **107**, 20518–20522 (2010).
21. Rei Fidalgo A. *et al.* Systemic inflammation enhances surgery-induced cognitive dysfunction in mice. *Neuroscience Letters.* **498**, 63–66 (2011).
22. Hirsch J, *et al.* Perioperative cerebrospinal fluid and plasma inflammatory markers after orthopedic surgery. *J Neuroinflammat.* 13-211. (2016).

23. Liu X, Yu Y, Zhu S. Inflammatory markers in postoperative delirium (POD) and cognitive dysfunction (POCD): a meta-analysis of observational studies. *PLoS One*. (2018).
24. Zhang Q, *et al*. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*. **464**:104–7. (2010).
25. Susana Vacas *et al*. High-mobility Group Box 1 Protein Initiates Postoperative Cognitive Decline by Engaging Bone Marrow-derived Macrophages. *Anesthesiology*. **120**(5): 1160–1167. (2014).
26. Terrando N, *et al*. Systemic HMGB1 neutralization prevents postoperative neurocognitive dysfunction in aged rats. *Front Immunol*. **7**:441. (2016).
27. So Yeong Cheon *et al*. Cell-penetrating interactomic inhibition of nuclear factor-kappa B in a mouse model of postoperative cognitive dysfunction. *Scientific Report*. **7**: 13482 (2017).
28. Abbott, N. J. *et al*. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nat Rev Neurosci*. **7**(1):41-53. (2006).
29. Terrando, N. *et al*. Resolving postoperative neuroinflammation and cognitive decline. *Ann. Neurol*. **70**, 986–995 (2011).
30. Cibelli, M *et al*. Role of Interleukin-1 $\beta$  in Postoperative Cognitive Dysfunction. *Ann Neurol*. **68**:360–8. (2010).
31. Elise C. Cope *et al*. Adult Neurogenesis, Glia, and the Extracellular Matrix. *Cell Stem Cell*. **24**(5):690-705. (2019).
32. Degos, V., *et al*. Depletion of Bone Marrow-derived Macrophages Perturbs the Innate Immune Response to Surgery and Reduces Postoperative Memory Dysfunction. *Anesthesiology*. **118**, 527–536. (2013).

33. Zhang, X., *et al.* Activated brain mast cells contribute to postoperative cognitive dysfunction by evoking microglia activation and neuronal apoptosis. *Journal of Neuroinflammation*. 13, 127. (2016).
34. Saijo and Glass. Microglial cell origin and phenotypes in health and disease. *Nature Review*. (2011).
35. Wohleb ES, *et al.* Monocyte trafficking to the brain with stress and inflammation: a novel axis of immune-to-brain communication that influences mood and behavior. *Front Neurosci*. 8:447. (2014).
36. Hovens, I. B. *et al.* Postoperative cognitive dysfunction: Involvement of neuroinflammation and neuronal functioning. *Brain. Behav. Immun*. **38**, 202–210 (2014).
37. Feng, X. Microglia mediate postoperative hippocampal inflammation and cognitive decline in mice. *JCI Insight*. 2(7). (2017)
38. Saxena S, Maze M. Impact on the brain of the inflammatory response to surgery. *La Presse Med*. 47:e73–e81. (2018)
39. Serhan C.N. *et al.* Novel Pro-Resolving Lipid Mediators in Inflammation Are Leads for Resolution Physiology. *Nature*. **510**(7503):92-101.(2014).
40. Terrando N, *et al.* Aspirin-triggered resolvin D1 prevents surgery-induced cognitive decline. *FASEB J*. 27:3564–71. (2013).
41. Hotamisligil, G. S., Shargill, N. S. & Spiegelman, B. M. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* **259**, 87–91 (1993).

42. Bruun J. M., *et al.* Monocyte chemoattractant protein-1 release is higher in visceral than subcutaneous human adipose tissue (AT): implication of macrophages resident in the AT. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **90**, 2282–2289. (2005).
43. Park, H. S. *et al.* Relationship of obesity and visceral adiposity with serum concentrations of CRP, TNF- $\alpha$  and IL-6. *Diabetes Research and Clinical Practice.* **69**, 29–35. (2005).
44. Hotamisligil, G. S. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* **444**(7121):860-7. (2006)
45. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* **112**,1796–808. (2003).
46. Ouchi, N., Parker, J. L., Lugus, J. J. & Walsh, K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat. Rev. Immunol.* **11**, 85–97 (2011).
47. Canello R, Henegar C, Viguerie N, Taleb S, Poitou C, Rouault C, *et al.* Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery-induced weight loss. *Diabetes.* **54**,2277–86. (2005).
48. Esposito K, Pontillo A, Di Palo C, Giugliano G, Masella M, Marfella R, *et al.* Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *JAMA.* **289**, 1799–804. (2003).
49. Clement K, Viguerie N, Poitou C, Carette C, Pelloux V, Curat CA, *et al.* Weight loss regulates inflammation-related genes in white adipose tissue of obese subjects. *Faseb J.* **18**,1657–69. (2004).
50. Ward, M. A., *et al.* The effect of body mass index on global brain volume in middle-aged adults: a cross sectional study. *BMC Neurol.* **5**, 23. (2005).

51. Hamer, M. & Batty, G. D. Association of body mass index and waist-to-hip ratio with brain structure: UK Biobank study. *Neurology* **92**, e594–e600 (2019).
52. Gold, S. M. *et al.* Hippocampal damage and memory impairments as possible early brain complications of type 2 diabetes. *Diabetologia*. **50**, 711-9. (2007).
53. Yau, P. L., *et al.* Obesity and metabolic syndrome and functional and structural brain impairments in adolescence. *Pediatrics* **130**, e856–e864. (2012).
54. G. J. Morton *et al.* Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature*. 443-21. (2006).
55. De Souza *et al.* Consumption of a Fat-Rich Diet Activates a Proinflammatory Response and Induces Insulin Resistance in the Hypothalamus. *Endocrinology*. **146**, 4192–4199. (2005).
56. Ramalho *et al.* Dietary fats promote functional and structural changes in the median eminence blood/spinal fluid interface—the protective role for BDNF. *Journal of Neuroinflammation*. **15**, 10. (2018).
57. Scott E. Kanoski *et al.* The Effects of a High-Energy Diet on Hippocampal Function and Blood-Brain Barrier Integrity in the Rat. *J Alzheimers Dis*. **21**, 207–219. (2010).
58. M. Milanski *et al.* Saturated Fatty Acids Produce an Inflammatory Response Predominantly through the Activation of TLR4 Signaling in Hypothalamus: Implications for the Pathogenesis of Obesity. *The Journal of Neuroscience*. **29**, 359–370. (2009).
59. Thaler *et al.* Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. *Clin Invest*. **122**, 153–162. (2012).

60. C. Baufeld *et al.* High-fat diet-induced brain region-specific phenotypic spectrum of CNS resident microglia. *Acta Neuropathol.* **132**, 361–375. (2016).
61. Erion *et al.* Obesity Elicits Interleukin 1-Mediated Deficits in Hippocampal Synaptic Plasticity. *The Journal of Neuroscience.* **34**, 2618 –2631. (2014)
62. Diné, A.-L. *et al.* Cognitive and emotional alterations are related to hippocampal inflammation in a mouse model of metabolic syndrome. *PloS One* **6**, e24325 (2011).
63. Valdearcos *et al.* Microglia Dictate the Impact of Saturated Fat Consumption on Hypothalamic Inflammation and Neuronal Function. *Cell Rep.* **24**, 2124–2138 (2014).
64. Zhen Wang *et al.* Saturated fatty acids activate microglia *via* Toll-like receptor 4/NF- $\kappa$ B signalling. *British Journal of Nutrition.* **107**, 229–241. (2012).
65. Valdearcos *et al.* Microglial Inflammatory Signaling Orchestrates the Hypothalamic Immune Response to Dietary Excess and Mediates Obesity Susceptibility. *Cell Metab.* **26**, 185–197. (2017).
66. Morari *et al.* Fractalkine (CX3CL1) Is Involved in the Early Activation of Hypothalamic Inflammation in Experimental Obesity . *Diabetes.* **63**, 3770–3784. (2014).
67. Tucsek, Z., *et al.* Obesity in aging exacerbates blood-brain barrier disruption, neuroinflammation, and oxidative stress in the mouse hippocampus: effects on expression of genes involved in Beta-amyloid generation and Alzheimer’s disease. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* **69**, 1212–1226. (2014).
68. Jurdak, N., Lichtenstein, A. H. & Kanarek, R. B. Diet-induced obesity and spatial cognition in young male rats. *Nutr. Neurosci.* **11**, 48–54 (2008).
69. Wu, A. *et al.* A saturated-fat diet aggravates the outcome of traumatic brain injury on hippocampal plasticity and cognitive function by reducing brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience.* **119**, 365-375. (2003).

70. Frankie D. Heyward *et al.* Adult Mice Maintained on a High-Fat Diet Exhibit Object Location Memory Deficits and Reduced Hippocampal SIRT1 Gene Expression. *Neurobiol Learn Mem.* **98**, 25–32. (2012).
71. Pistell, P. J. *et al.* Cognitive Impairment Following High Fat Diet Consumption is Associated with Brain Inflammation. *J Neuroimmunol.* **219**, 25–32. (2010).
72. E. C. Cope *et al.* Microglia Play an Active Role in Obesity-Associated Cognitive Decline. *The Journal of Neuroscience.* **38**, 8889 – 8904. (2018).
73. Park, H. E., *et al.* Exercise Alleviates Cognitive Functions by Enhancing Hippocampal Insulin Signaling and Neuroplasticity in High-Fat Diet-Induced Obesity. *Nutrients.* **11**, 1603. (2019).
74. De-Huang Guo *et al.* Visceral adipose NLRP3 impairs cognition in obesity via IL-1R1+ on CX3CR1 cells. *J Clin Invest.* (2020).
75. Koyama, A., *et al.* The role of peripheral inflammatory markers in dementia and Alzheimer's disease: a meta-analysis. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* **68**, 433–440. (2013).
76. Whitmer, RA, *et al.* Obesity in middle age and future risk of dementia: a 27 year longitudinal population based study. *BMJ.* **330**, 1360. (2005).
77. Gustafson, D., *et al.* An 18-Year Follow-up of Overweight and Risk of Alzheimer Disease. *Arch Intern Med.* **163**, 1524-1528. (2003)
78. Cournot, M. *et al.* Relation between body mass index and cognitive function in healthy middle-aged men and women. *Neurology* **67**, 1208–1214 (2006).
79. Miller, L. A. *et al.* Bariatric surgery patients exhibit improved memory function 12 months postoperatively. *Obes. Surg.* **23**, 1527–1535 (2013).



80. Alosco, M. L., *et al.* Cognitive Function Following Bariatric Surgery: Evidence for Improvement 3 Years Post-Surgery. *Am J Surg.* 207, 870–876. (2014).
81. Hudetz, J. A., *et al.* Metabolic syndrome exacerbates short-term postoperative cognitive dysfunction in patients undergoing cardiac surgery: results of a pilot study. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* **25**, 282–7. (2011).
82. Hudetz, J. A., *et al.* Postoperative cognitive dysfunction after noncardiac surgery: effects of metabolic syndrome. *J Anesth.* **25**, 337–344. (2011).
83. Feng, X. *et al.* Surgery results in exaggerated and persistent cognitive decline in a rat model of the Metabolic Syndrome. *Anesthesiology.* 118(5):1098-105. (2013).
84. Xiao, S., *et al.* Dysfunction of Inflammation-Resolving Pathways Is Associated with Exaggerated Postoperative Cognitive Decline in a Rat Model of the Metabolic Syndrome. *Mol Med.* **18**, 1481-1490. (2012).
85. Feng, X., *et al.* Exercise Prevents enhanced Postoperative neuroinflammation and cognitive Decline and rectifies the gut Microbiome in a rat Model of Metabolic syndrome. *Front. Immunol.* **8**, 1768. (2017).
86. Feinkohl I., *et al.* Obesity and post-operative cognitive dysfunction: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Metab Res Rev.* (2016).
87. Z. Zhao *et al.* Obesity caused by high-fat diet regulates the Sirt1/PGC-1 $\alpha$ /FNDC5/BDNF pathway to exacerbate isoflurane-induced postoperative cognitive dysfunction in older mice. *Nutritional Neuroscience.* 1-12. (2019).

## Annexes

	<b>Anticorps primaire</b>	<b>Anticorps secondaire</b>
<b>Détection de IBA1</b>	Abcam, IBA1 : ref 178846	SIGMA-Aldrich, Anti Rabbit IgG (whole molecule)-peroxydase conjugate ref : A6154
<b>Détection de GFAP</b>	Abcam, GFAP : ref 4674	SIGMA-Aldrich, Anti Chicken IgG (whole molecule)-peroxydase conjugate ref : A9046
<b>Détection de ZO1</b>	Cell signaling, : ref 5406S	SIGMA-Aldrich, Anti Rabbit IgG (whole molecule)-peroxydase conjugate ref : A6154
<b>Détection de Claudine 5</b>	Abcam, Claudine 5 Rabbit : ref 131259	SIGMA-Aldrich, Anti Rabbit IgG (whole molecule)-peroxydase conjugate ref : A6154
<b>Détection de Occludine</b>	Abcam, Occludine Rabbit : ref 31721	SIGMA-Aldrich, Anti Rabbit IgG (whole molecule)-peroxydase conjugate ref : A6154
<b>Détection de GAPDH</b>	Cell Signaling Technology, GAPDH (14C10) XP(R) (mouse specific) Rabbit : ref 2118	SIGMA-Aldrich, Anti Rabbit IgG (whole molecule)-peroxydase conjugate ref : A6154

<b>Annexe 1 : Anticorps utilisés pour les Western blots</b>
---

<b>Gène à 4500nM</b>	<b>Amorce sens</b>	<b>Amorce anti-sens</b>
<b>m36B4</b>	AGTCGGAGGAATCAGATGACGAT	GGCTGACTTGGTTGCTTTGG
<b>mTNF-<math>\alpha</math></b>	TGGGACAGTGACCTGGACTGT	TTCGGAAAGCCCATTGAGT
<b>mIL-6</b>	GCCCACCAAGAACGATAGTCA	CAAGAAGGCAACTGGATGGAA
<b>mIL-1<math>\beta</math></b>	CAACCAACAAGTGATATTCTCGATG	GATCCACACTCTCCAGCTGCA
<b>mIL-10</b>	AGAAGCTGAAGACCCTCAGGA	TTCACCTGCTCCACTGCC
<b>mF4/80</b>	TGACAACCAGACGGCTTGTG	GCAGGCGAGGAAAAGATAGTGT
<b>mFAS</b>	ATCCTGGAACGAGAACACGATCT	AGAGACGTGTCACTCCTGGACTT
<b>mCEP<math>\beta</math></b>	CGCAAGAGCCGAGATAAAGC	CGGTCATTGTCACTGGTCAACT
<b>mPPARY<sub>1/2</sub></b>	CCGAAGAACCATCCGATTGA	TTTGTGGATCCGGCAGTTAAG
<b>mLeptin</b>	GGGCTTCACCCATTCTGA	TGGCTATCTGCAGCACATTTTG
<b>mAdiponectin</b>	TGGAATGACAGGAGCTGAAGG	TATAAGCGGCTTCTCCAGGCT

**Annexe 2 : Séquences des amorces sens et anti-sens utilisées pour la PCR en temps réel**

<b>Anticorps</b>	<b>Référence</b>	<b>Fluorochrome</b>
<b>Live Dead Yellow</b>	ThermoFischer L101119	BV605
<b>CD40</b>	BD 553790	FITC
<b>CD206</b>	Biolegend 141719	PE-Cy7

**Annexe 3 : Anticorps utilisés pour la cytométrie en flux et IgG correspondantes**

**TITLE:** Obesity and adipose tissue secretions: impact on post-operative cognitive disease

### **THESIS ABSTRACT**

Postoperative Cognitive Dysfunction (POCD) is characterized by a deficit in attention, concentration, executive function, perception, learning and memory arising just after surgery. POCD has an impact, on patient health and quality of life, and also on health economy. Thus, a need to understand the mechanisms involved in POCD development is rising in order to develop preventive or curative therapeutics. Surgery may induce major variations in systemic inflammation and blood brain barrier disruption leading to central inflammation and cognitive decline. Thus, pre-existing inflammatory pathologies such as obesity could represent a high risk factor enhancing POCD inflammation and cognitive damages. The aim of the project is to understand if obesity associated adipose tissue low-grade inflammation is involved in brain inflammation occurring in postoperative cognitive disorder after surgery. To answer this question, we have studied the link between obesity and POCD using obese mouse model and cognitive damage model induced by surgery and the inflammatory process. Then the specific role of adipose tissue in POCD development was studied. Our hypothesis for the involvement of obesity in POCD inflammation is that adipose tissue effect could be added to surgery effect *via* pro-inflammatory cytokines and then lead to cognitive inflammation.

This project could help preventing POCD in obese population, which are at higher risk of disease.

**KEY WORDS:** cognitive dysfunction, obesity, adipose tissue, surgery, and inflammation.

**AUTEUR** : Clémence TROPIS

**TITRE** : Rôle du tissu adipeux de l'individu obèse au cours de pertes cognitives liées à la chirurgie

**DIRECTEUR DE THESE** : Dr. Cédric DRAY

**LIEU ET DATE DE LA SOUTENANCE** : Faculté de Pharmacie, Toulouse le 18 novembre 2022.

### **RESUME EN FRANCAIS**

L'altération des capacités cognitives telles que des déficits de l'apprentissage et de la mémoire, survenant juste après une chirurgie est dénommée trouble cognitif post-opératoire. Ce trouble représente en post-chirurgie un problème de santé publique encore peu caractérisé. L'inflammation semble jouer un rôle majeur dans ce développement. C'est pourquoi, une inflammation préexistante retrouvée dans certaines pathologies telles que l'obésité, pourrait représenter un facteur de risque de développement du TCPO ou l'augmenter. Ainsi, l'objectif est d'étudier le lien entre le tissu adipeux de l'individu obèse et son inflammation de bas bruit et le TCPO. Un modèle murin d'obésité et de chirurgie par fracture fermée du tibia montre une exacerbation spécifique des troubles cognitifs chez les souris obèses après la chirurgie. L'étude des mécanismes impliqués, signe une altération de la barrière hémato-encéphalique et un remodelage des cellules immunes au niveau cérébral chez ces souris obèses. Le tissu adipeux et l'inflammation chronique qui lui est associée semblent jouer un rôle dans les phénomènes observés en potentialisant l'inflammation produite par la chirurgie chez l'individu obèse.

Ainsi, ce projet pourra permettre de mieux caractériser l'apparition de TCPO chez l'individu obèse au moyen de mesures hygiéno-diététiques renforcées ou de traitements ciblés.

**MOTS CLEFS** : obésité, tissu adipeux, capacités cognitives, chirurgie, inflammation.

**DISCIPLINE ADMINISTRATIVE** : Pharmacie.

**INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR** : Université Paul SABATIER Toulouse III – Faculté de Santé – Département des Sciences Pharmaceutiques – 31062 Toulouse Cedex 09