

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

L'EFFET DE LA GHRÉLINE SUR LE MÉTABOLISME
DES LIPIDES DU PETIT INTESTIN

MÉMOIRE
PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAITRISE EN KINANTHROPOLOGIE

PAR
NICKOLAS AUCLAIR

OCTOBRE 2018

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.10-2015). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

Je voudrais remercier en premier lieu mes directeurs de recherche Emile Levy et David St-Pierre pour leur soutien et leurs conseils tout au long de ma maîtrise. Grâce à eux, j'ai pu me familiariser avec la recherche universitaire, maîtriser de nombreuses techniques, m'enrichir de connaissances et être productif en publiant deux articles.

Je voudrais aussi remercier elles et ceux qui m'ont fourni leur soutien technique : Jocelyne Mercier, Alain Théophile Sané ainsi que Carole Garofalo pour leur aide et leurs conseils pour les multiples expériences que j'ai effectuées tout au long de ma maîtrise. Merci à Zola pour ses conseils et son aide dans les manuscrits scientifiques. Je voudrais principalement remercier Carole Garofalo pour sa gentillesse, sa bonne humeur ainsi que tout l'effort qu'elle a déployé pour me former.

Merci aussi à mes collègues et amies Lilya Melboucci et Ya Ou pour tout le plaisir partagé avec eux au laboratoire, y compris nos escapades.

Même si mon travail n'implique pas la chromatographie et la spectrométrie de masse, je voudrais remercier Marc-André Lecours pour son enseignement dans ce domaine fort intéressant.

Merci à mes collègues du laboratoire pour la bonne atmosphère et les échanges scientifiques.

Finalement, je voudrais remercier ma famille, principalement ma mère à qui je dois énormément.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES.....	VI
LISTE DES TABLEAUX.....	VIVIII
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	IX
RÉSUMÉ	XII
INTRODUCTION	14
CHAPITRE I.....	16
REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	16
1.1 Informations générales sur le tube digestif.....	16
1.2 Les lipides et leur trajet jusqu'à leur sécrétion en chylomicrons.....	20
1.2.1 Digestion des lipides jusqu'à leur entrée dans la cellule.....	21
1.2.2 Entrée des lipides dans l'entérocyte	22
1.2.3 Assemblage et sécrétion des chylomicrons.....	22
1.2.4 Le métabolisme des chylomicrons dans la circulation.....	25
1.3 Les gouttelettes lipidiques dans l'intestin.....	26
1.3.1 Informations générales sur les gouttelettes lipidiques.....	26
1.3.2 Hypertrophie des gouttelettes lipidiques	28
1.3.3 Hydrolyse des gouttelettes lipidiques.....	30
1.3.4 Régulation des gouttelettes lipidiques.....	32
1.3.5 Rôles des gouttelettes lipidiques	39
1.4 L'intestin et les maladies cardiovasculaires	41
1.5 Le nouvel axe cerveau-intestin	42

1.6	Les peptides gastro-intestinaux et l'obésité.....	45
1.7	La ghréline.....	46
1.7.1	Informations générales sur la ghréline.....	46
1.7.2	La ghréline et son impact sur le métabolisme des lipides.....	51
1.7.3	La ghréline et l'intestin.....	54
	CHAPITRE II.....	55
	PROJET DE RECHERCHE.....	55
2.1	Énoncé du problème.....	55
2.2	Hypothèses.....	55
2.3	Objectifs.....	56
2.4	Stratégie expérimentale.....	56
2.5	Limites du modèle.....	57
	CHAPITRE III.....	59
	ARTICLES.....	59
3.1	Article 1 : «Gastrointestinal factor regulating lipid droplets formation in the intestine ».....	59
	Avant-propos :.....	59
3.2	Article 2 : « Acylated ghrelin and the regulation of lipid metabolism in the intestine».....	121
	Avant-propos :.....	121
	CHAPITRE IV.....	168
	DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION.....	168
	BIBLIOGRAPHIE.....	176

LISTE DES FIGURES

Figure	Page
Figure 1.1 Anatomie du tube digestif.	17
Figure 1.2 Démonstration des 4 couches qui composent le tractus gastro-intestinal : la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculuse et la séreuse	19
Figure 1.3 Composition cellulaire de l'épithélium du petit intestin.....	20
Figure 1.4 Transport et sécrétion des triglycérides et du cholestérol dans les entérocytes.....	22
Figure 1.5 Métabolisme des chylomicrons dans la circulation sanguine.....	25
Figure 1.6 Anatomie de la gouttelette lipidique	27
Figure 1.7 Bourgeonnement de la gouttelette lipidique dans le cytosol	28
Figure 1.8 Fusion des gouttelettes lipidiques grâce à Cidec/Fsp27.....	30
Figure 1.9 Processus de lipolyse des gouttelettes lipidiques dans les tissus adipeux.	31
Figure 1.10 Hydrolyse/réestérification des gouttelettes lipidiques dans le cytosol.	40
Figure 1.11 Diagramme exposant les peptides gastro-intestinaux importants en lien avec leurs majeures fonctions	43
Figure 1.12 Régulation de la balance énergétique par l'axe cerveau-intestin grâce aux cellules L..	44
Figure 1.13 Formation de la ghréline acylée.....	48
Figure 1.14 Structure de la ghréline acylée et désacylée.	49
Figure 1.15 Nombreuses actions et rôles physiologiques de la ghréline acylée	50

Figure 1.16 Actions centrales et périphériques de la ghréline sur le métabolisme des lipides..... 53

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
Tableau 1.1 Effets des régulateurs des GLCs sur leur formation ainsi que sur la sécrétion des chylomicrons.....	36

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACC	Acétyl-CoA carboxylase
ACSL	<i>Acyl-CoA synthetase long-chain family member</i>
AG	Acide gras
AGRP	<i>Agouti-related protein</i>
AMPK	<i>AMP-activated protein kinase</i>
Apo	Apolipoprotéine
ARC	Noyau arqué hypothalamique
ATGL	<i>Adipose triglyceride lipase</i>
CD36	<i>Cluster of differentiation 36</i>
CE	Cholestérol ester
CGI-58	<i>Comparative gene identification-58</i>
CHOL	Cholestérol
CIDE	<i>Cell death-inducing DNA fragmentation factor 45-like effector</i>
CKK	Cholécystokinine
DAG	Diacylglycérol

DGAT	Diacylglycérol acyl transférase
FAS	<i>Fatty acid synthase</i>
FATP	<i>Fatty acid -transport protein</i>
FOXO3	<i>Forkhead box O3</i>
GA	Ghréline acylée
GD	Ghréline désacylée
GHRS1a	<i>Growth hormone secretagogue 1a</i>
GIP	<i>Peptide insulinothrique dépendant du glucose</i>
GLC	Gouttelette lipidique cytosolique
GLP	<i>Glucagon-like peptide</i>
GPR	Protéine G couplée à des récepteurs
LD	Gouttelette lipidique
HSL	<i>Hormone sensitive lipase</i>
LDL	Lipoprotéine de basse densité
I-FABP	<i>Intestinal fatty acid binding protein</i>
L-FABP	<i>Liver fatty acid binding protein</i>
LPL	Lipoprotéine lipase
LXR α	<i>Liver x receptor α</i>

MAG	Monoacylglycérol
MGAT	Monoacylglycerol acyltransferase
mTOR	Cible de la rapamycine chez les mammifères
MTPP	<i>Microsomal triglyceride transfer protein</i>
NPY	Neuropeptide Y
PCTV	Vésicule de transport du pré-CM
PKA	Phosphokinase A
PL	Phospholipide
PLIN	Pénilipines
POMC	Pro-opiomélanocortine
Ppara	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor alpha</i>
PYY	Peptide YY
TAG	Triglycérides
RE	Réticulum endoplasmique
SREBP1	<i>Sterol regulatory element-binding protein</i>
VLDL	Lipoprotéine de très basse densité

RÉSUMÉ

Le développement de l'obésité et des maladies cardiovasculaires devient de plus en plus un problème important dans la population nord-américaine à cause surtout de l'augmentation de la suralimentation. Par conséquent, il devient très pertinent de trouver des avenues préventives et thérapeutiques pour ces maladies. Une cible thérapeutique intéressante semble être les hormones peptidiques gastro-intestinales qui sont sécrétées par des cellules entéroendocrines retrouvées dans l'intestin, l'estomac et le pancréas. Ces peptides jouent de nombreux rôles, que ce soit sur l'appétit, le métabolisme lipidique, l'inflammation, la résistance à l'insuline, etc. Un de ces peptides, synthétisés principalement par l'estomac, est nommé la ghréline qui, une fois liée à son récepteur au niveau du cerveau, augmente la sensation de faim et la prise alimentaire. Cette hormone, que ce soit sous la forme octanoylée (GA) pouvant se lier à son récepteur, ou sous la forme non octanoylée (GD), démontre un effet sur le métabolisme lipidique dans le foie et les tissus adipeux où il joue des rôles substantiels. De son côté, le petit intestin s'illustre ces dernières années par son implication primordiale dans le développement des maladies cardiométaboliques. En effet, son relargage exagéré de CMs dans les conditions postprandiales contribue à la dyslipidémie et aux désordres cardiométaboliques. Il serait donc intéressant de voir si la GA peut agir sur son métabolisme lipidique, comme il le fait dans le foie et les tissus adipeux. Pour ce faire, des cellules Caco-2/15 ont été employées pour examiner l'impact de la GA sur le métabolisme lipidique de l'intestin. Aussi, pour avoir une vision plus globale de leurs possibles effets sur le métabolisme des lipides, des hamsters dorés syriens (sous une diète témoin ou occidentale) ont subi un traitement de GA pendant 2 semaines afin de disséquer ces effets sur le métabolisme intestinal des lipides. Les résultats obtenus démontrent que la GA ne possède pas d'effet en périphérie sur le métabolisme lipidique des cellules Caco-2/15, mais, permet le développement de l'obésité chez les animaux. En plus, ce développement est accompagné d'une grande augmentation de TAGs et de CHOL dans le plasma à jeun, principalement chez les animaux nourris d'une diète riche en sucre et en lipides. Aussi, la relation CMs/GLCs a bien été observée chez cet animal si on compare le groupe sous une diète témoin et occidentale. La GA, quant à elle, n'augmente pas la sécrétion de CMs, mais diminue l'accumulation des GLCs, ce qui, étrangement, empêche d'observer cette relation CMs/GLCs. Pour conclure, il n'avait jamais été

démontré dans la littérature que la GA augmente la sévérité des dyslipidémies en plus de diminuer l'accumulation lipidique dans le petit intestin. D'autres études sont nécessaires pour déterminer par quel mécanisme la GA engendre ces résultats

Mots clés : Chylomicrons, intestin, gouttelettes lipidiques cytosoliques, obésité, maladies cardiovasculaires, métabolisme des lipides, ghréline.

INTRODUCTION

La suralimentation et la sédentarité représentent des composantes centrales dans la pandémie de l'obésité et des maladies métaboliques associées dans la population nord-américaine. Ces désordres augmentent drastiquement le risque de développer des maladies cardiovasculaires. Depuis plusieurs années, des efforts importants ont été mis en place pour trouver un moyen de prévenir ou de traiter les maladies cardiométaboliques. Une avenue thérapeutique privilégiée cible l'emploi de peptides gastro-intestinaux sécrétés par les cellules entéroendocrines de l'intestin, l'estomac et le pancréas. (Xiao *et al.*, 2015) Certaines de ces hormones influencent le contrôle des fonctions métaboliques compte tenu de leurs nombreux effets autocrines et paracrines. En plus de leur rôle dans le métabolisme, certaines d'entre elles sont capables d'agir sur l'appétit en l'augmentant ou en la diminuant. Une de ces hormones, nommée ghréline, se lie à son récepteur *Growth Hormone Secretagogue Receptor 1a* : GHSR1a dans l'hypothalamus et stimule la sensation de faim et conséquemment la prise alimentaire (Kojima *et al.*, 1999). Si ce peptide est biologiquement actif en se liant à son récepteur endogène dans sa forme acylée, la liaison de la forme désacylée, ne provoque pas l'effet orexigène. Ces deux formes ont de nombreux effets autres que leur rôle sur l'appétit. La ghréline acylée (GA) et

désacylée (GD) ont toutes les deux démontré un impact direct en se liant ou non avec son récepteur au niveau de certains organes, ou indirect en agissant sur le cerveau pour intervenir dans le métabolisme des lipides du foie et des tissus adipeux (Rodriguez *et al.*, 2009)(Davies *et al.*, 2009). Elles peuvent ainsi augmenter l'accumulation des lipides dans ces tissus via la stimulation de la lipogenèse *de novo*, en régulant plusieurs facteurs de transcription et enzymes. Par contre, très peu d'information est disponible sur le métabolisme intestinal des lipides par les deux formes de ghréline au niveau de l'intestin. Pourtant, si l'intestin a longtemps été considéré comme un organe passif impliqué surtout dans l'absorption des aliments suite à leur digestion, il est important de constater que, depuis les dix dernières années, l'intestin joue un rôle primordial dans le développement des maladies cardiovasculaires principalement grâce à son pouvoir modulateur de la formation et de la sécrétion des lipoprotéines (Abumrad et Davidson, 2012). Les entérocytes, en plus de transférer les lipides dans la circulation, peuvent les accumuler dans leur cytosol pour produire des gouttelettes lipidiques cytosoliques (GLCs). Cette régulation dans la formation des GLCs semble importante puisqu'elle pourrait modifier la sécrétion des CMs et influencer les dyslipidémies postprandiales. Il serait alors extrêmement intéressant de déterminer si la ghréline agit sur la formation des GLCs pour contrôler ces processus. L'objectif de ce mémoire consiste à élucider les interactions entre les GLCs et les voies d'assemblage des CMs en réponse à l'action de la GA. À l'instar du foie et des tissus adipeux, on pourrait formuler l'hypothèse que les deux formes de ghréline ont des actions sur le métabolisme lipidique dans l'intestin. Pour ce faire, des cellules Caco-2/15 représentant le petit intestin ont été incubées avec de la GA pour explorer, suite à différentes techniques, si chacune d'elles contribue à ces voies anaboliques de façon similaire. Par ailleurs, afin d'obtenir une vision plus globale de l'action de la ghréline dans des situations physiopathologiques, le modèle des hamsters dorés syriens a été utilisé sous une diète riche en lipides et en sucre (mode occidental) et sous une alimentation régulière.

CHAPITRE I

REVUE DE LA LITTÉRATURE

1.1 Informations générales sur le tube digestif

Le tractus gastro-intestinal est composé de plusieurs organes allant de la bouche à l'anus. On retrouve en premier lieu l'œsophage qui permet le passage des aliments vers l'estomac où les aliments sont digérés en milieu acide (pH entre 1,5 et 5) permettant de former le chyme, un produit de transformation. Le chyme est par la suite dirigé vers l'intestin grêle qui se compose du duodénum, jéjunum et iléon. L'absorption de la plus grande partie des nutriments lipidiques se produit dans le jéjunum alors que celle des sels biliaires est effectuée dans l'iléon. Les produits de la digestion poursuivent leur trajectoire vers le cæcum pour aboutir au colon où se déroule l'absorption de l'eau, des vitamines et des minéraux. C'est également dans cette portion du tractus gastro-intestinal (GI) que se produit l'emballage des fèces avant défécation. Les aliments finissent leur chemin au rectum pour être finalement expulsés (Shahid et Nunhuck, 2007) (Figure 1).

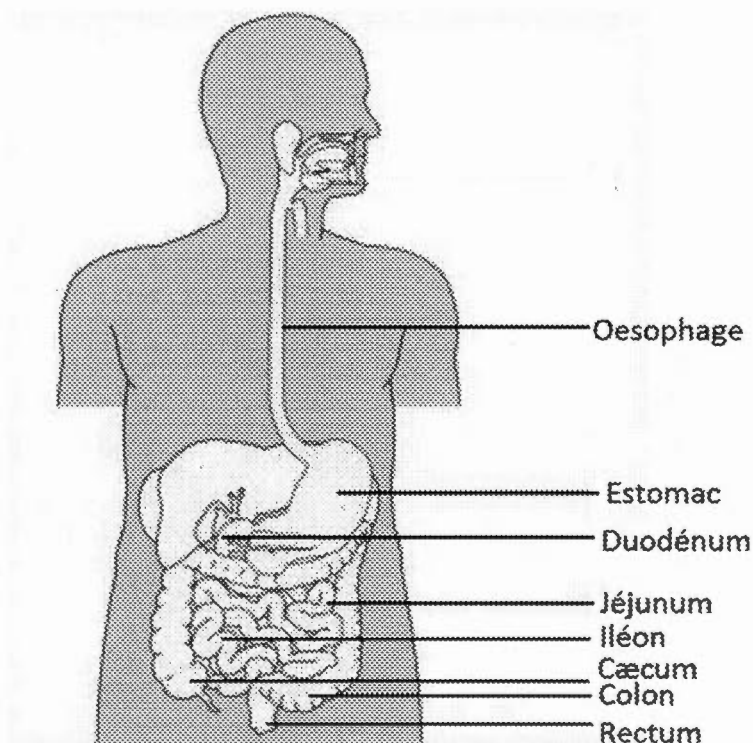


Figure 1.1 Anatomie du tube digestif. Les aliments passent en premier lieu dans l'œsophage pour être ensuite traités dans l'estomac et par différents segments intestinaux. La trajectoire se continue jusqu'au rectum pour l'excrétion des fèces. Image adaptée de B.Wright, et al. 2000 (Wright, 2000).

La paroi du tractus gastro-intestinal est composée de 4 couches : la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculuse et la séreuse. La muqueuse est de son côté composée de l'épithélium, la lamia propia et la couche musculaire. Dans le petit intestin, c'est dans la muqueuse que l'on retrouve des plis circulaires, les villosités et les microvillosités. Ces derniers augmentent considérablement la surface d'absorption, permettant au chyme de se diriger en spirale et non en ligne droite vers le petit intestin alors que les villosités et leurs microvillosités facilitent l'absorption des

nutriments pour finalement les livrer à la circulation qui les distribuera aux différents organes périphériques.

La couche épithéliale joue un rôle de protection tout en favorisant l'absorption et la sécrétion des nutriments. La lamina propria est, quant à elle, majoritairement composée de vaisseaux sanguins et lymphatiques qui aident au passage et transport des nutriments aux autres organes. La couche musculaire est finement composée de muscles lisses qui permettent, principalement à l'estomac et au petit intestin, d'augmenter l'aire de digestion et d'absorption.

La sous-muqueuse, située entre la muqueuse et la musculature, possède plusieurs vaisseaux sanguins et lymphatiques en plus d'un grand réseau de neurones. La musculature s'étale de la bouche à l'œsophage, aux muscles squelettiques responsables de la déglutition et aux muscles lisses dont les contractions involontaires propulsent les aliments dans le tractus gastro-intestinal en plus de les brasser avec le jus gastrique. Finalement, la couche externe ou séreuse fonctionne comme support et est composée d'un tissu conjonctif aréolaire et d'un simple épithélium squameux (Figure 2) (Tortora et Derrickson, 2014).

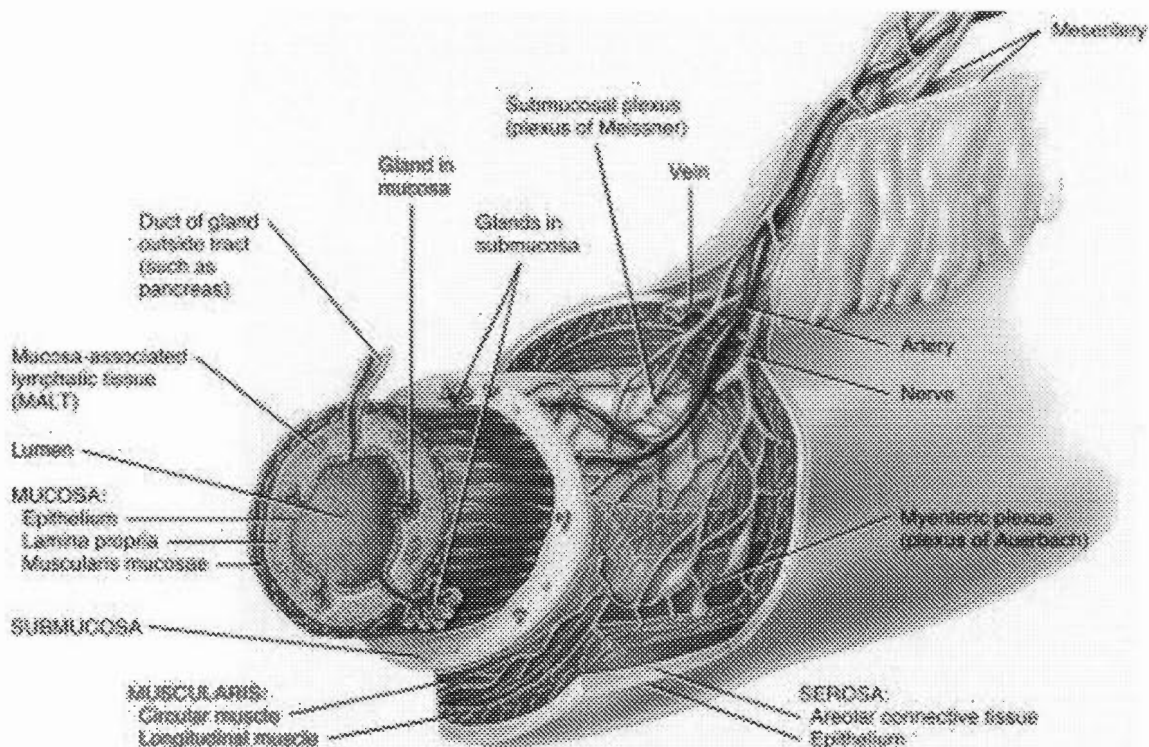


Figure 1.2 Démonstration des 4 couches qui composent le tractus gastro-intestinal : la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculuse et la séreuse. Image empruntée de B.Derrickson, *et al.* (2012)(Tortora et Derrickson, 2014).

Plusieurs types de cellules sont observés dans l'épithélium du petit intestin. Les cellules absorbives ou entérocytes sont les plus nombreuses, dont la fonction est dédiée à l'absorption des nutriments, comme mentionné précédemment. De leur côté, les cellules à gobelets produisent le mucus alors que les cellules de Paneth sécrètent des protéines de défense, comme les lysozymes, servant à lutter contre l'invasion microbienne. Finalement, les cellules entéro-endocrines, comme les cellules L ou X/A, fournissent les hormones ou peptides gastro-intestinaux. Au fond des cryptes, on retrouve les cellules souches et progénitrices (Figure 3)(Tortora et Derrickson, 2014).

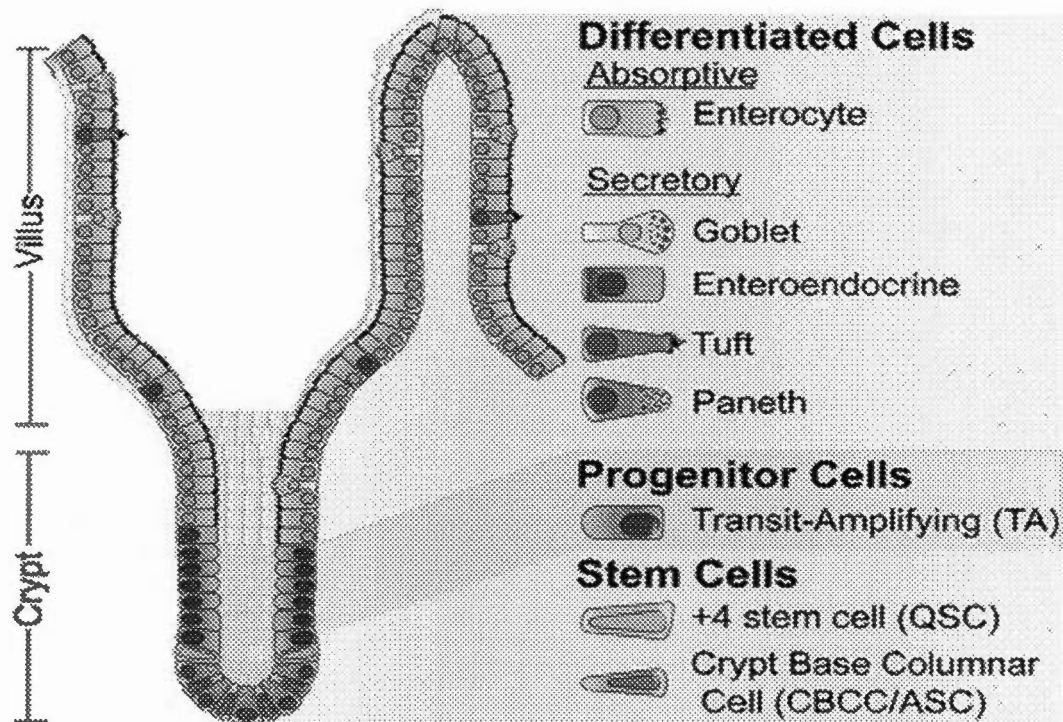


Figure 1.3 Composition cellulaire de l'épithélium du petit intestin. L'épithélium est formé de nombreux types de cellules ayant des rôles très différents, passant de cellules absorbantes à des cellules entéroendocrines et immunitaires. Image empruntée de Carulli, *et al* (2014) (Carulli, Samuelson et Schnell, 2014).

1.2 Les lipides et leur trajet jusqu'à leur sécrétion en chylomicrons

Le tractus gastro-intestinal est un système très complexe qui permet l'absorption des différents types d'aliments ingérés. Comme il a été démontré, il est composé de nombreuses sections et de nombreux types de cellules jouant toutes des rôles très différents. La prochaine section expliquera le traitement des lipides dans le tractus gastro-intestinal, l'entrée des acides gras dans les entérocytes, ainsi que les mécanismes jusqu'à leur sécrétion en CMs.

1.2.1 Digestion des lipides jusqu'à leur entrée dans la cellule

Dans une diète occidentale normale, environ 30 à 40% des calories proviennent des lipides composés de 3 classes principales ; les triacylglycérols (TAGs), les phospholipides (PLs) et le cholestérol (CHOL). Les TAGs sont de loin les plus abondants dans l'alimentation, constituant environ 92 à 96% des graisses alimentaires (Wilson et Rudel, 1994). Quant au CHOL dans la lumière intestinale, il provient majoritairement de sa conversion en acide biliaire dans le foie (Wilson et Rudel, 1994). Les TAGs et les PLs sont formés à partir d'acides gras (AGs) de différentes longueurs, répartis en 3 catégories : les AG à chaînes courtes (2 à 4 carbones), les AG à chaînes moyennes (5 à 12 carbones) et les AG à chaînes longues (plus de 12 carbones). Le cholestérol peut se retrouver sous forme libre ou estérifiée à un AG.

Lorsque les TAGs sont ingérés, une partie d'entre eux sont en premier lieu hydrolysés dans l'estomac grâce à la lipase gastrique (Moreau *et al.*, 1988). Par la suite, ils sont hydrolysés par la lipase pancréatique dans le duodénum, dégradant environ 70-75% des TAGs et des diacylglycérols (DAGs) (Hofmann et Borgstrom, 1963). Ces actions enzymatiques engendrent pour un TAG, 2 AGs non estérifiés et 1 molécule de 2-monocylglycérol, ce qui permet aux produits de la digestion de devenir moins hydrophobes (Pan et Hussain, 2012) en vue de la formation des micelles dans la lumière du duodénum et du jéjunum proximal en combinaison avec les PLs (Murota et Storch, 2005). Ces PLs proviennent à la fois de l'alimentation et de la bile, et subissent une décomposition par la phospholipase pancréatique A2 en acide gras et lysophosphatidylcholine (Abumrad et Davidson, 2012). En fin de compte, les produits de la digestion lipidique, favorisés par la présence des micelles, peuvent désormais être absorbés majoritairement par les cellules intestinales du jéjunum (Klippert, Borm et Noordhoek, 1982).

1.2.2 Entrée des lipides dans l'entérocyte

Les lipides peuvent pénétrer dans la cellule intestinale (entérocyte) soit par diffusion passive ou transport facilité (Murota et Storch, 2005). L'entrée par diffusion passive est causée par un gradient de concentration engendré par la grande quantité de lipides alimentaires retrouvés dans la lumière de l'intestin (Veerkamp *et al.*, 1993). Cependant, c'est un procédé qui est très lent et ne permet pas une entrée de lipides suffisante pour les besoins métaboliques de la cellule (Alpers *et al.*, 2000). À cause de ces contraintes, le transport facilité devient indispensable et est principalement causé par des protéines transporteuses nommées CD36 et FATP 4 (Stahl *et al.*, 1999). Une fois dans la cellule, les acides gras doivent nécessairement être transportés par des protéines de la membrane microvillositaire vers différentes organelles spécifiques, majoritairement le réticulum endoplasmique (RE). Ces protéines sont : *Intestinal fatty acid binding protein* (I-FABP) et *liver intestinal fatty acid binding protein* (L-FABP). Les premières transportent majoritairement les AGs non-estérifiés vers les mitochondries pour la β oxydation alors que la seconde classe favorise plutôt un envoi vers le RE pour la synthèse de TAGs (Bass, 1985).

Pour la synthèse du TAG dans la cellule, les AGs non-estérifiés doivent être premièrement transformés en dérivé par les *acyl-CoA synthetase long-chain family member 3 et 5* (ACSL 3 et 5) (Ellis *et al.*, 2010). Ensuite, ils sont estérifiés par les enzymes monoacylglycérol acyltransférases 2 et 3 (MGAT 2 et 3) et diacylglycérol O-acyltransférases 1 et 2 (DAGT1 et 2) d'abord en DAGs puis en TAG (Cheng *et al.*, 2003). À cet instant, les TAGs peuvent se diriger vers le cytosol et être accumulés en GLCs ou aller vers la lumière du RE pour former les chylomicrons (CMs) qui seront véhiculés à la circulation.

1.2.3 Assemblage et sécrétion des chylomicrons.

Les CM sont des lipoprotéines de petite densité (0.95 g/ml) comprenant un noyau lipidique neutre majoritairement composé de TAGs (~90%) avec de légères quantités

de cholestérol ester (CE), entourés de PLs et cholestérol (CHOL), avec une protéine connue sous le nom d'apolipoprotéine B-48 (ApoB-48) et d'autres Apo A-I, Apo A-IV et apo CIII (Demignot, Beilstein et Morel, 2014). Avant de devenir des CMs matures, ces lipoprotéines doivent en premier lieu être formées en pré-CMs. La formation des pré-CMs nécessite absolument 2 protéines soit, l'ApoB-48 et le *microsomal triglyceride transfer protein* (MTTP). L'ApoB-48 est une protéine structurale conditionnant la formation du CM, alors que le MTTP orchestre l'assemblage des lipides et surtout l'Apo B-48 en dirigeant les lipides neutres de la bicouche du RE à l'Apo B-48, à l'intérieur du RE (Abumrad et Davidson, 2012). Après cette étape, les pré-CMs sont transportés du RE au Golgi par la vésicule de transport du pré-CM (PCTV). Cette vésicule est composée de *coat protein II*, de l'ApoB-48, du *cluster of differentiation 36* (CD36), de la L-FABP, et de la *vesicle-associated membrane protein 7* (VAMP7) (Mansbach et Siddiqi, 2010). L-FABP va permettre la synthèse du PCTV et son bourgeonnement hors du RE. Ce processus est initié par la phosphorylation d'une protéine nommée Sar1b (Siddiqi et Mansbach, 2012). Rendu à l'extérieur du RE, VAMP7 permet la fusion du PCTV au cis-Golgi (Mansbach et Siddiqi, 2010). Dans le Golgi, l'apolipoprotéine A-1 (apoA-1) est incorporée dans la particule de CM pendant que l'ApoB-48 est glycosylée. Les CMs matures sont finalement transférés dans des vésicules à partir du trans-Golgi à la membrane basolatérale. Suite à la fusion de leur membrane, le CM est libéré hors de l'entérocyte pour se diriger vers la lymphe, et de là, à la circulation sanguine. (Pan et Hussain, 2012). (Figure 4, partie sur les acides gras libres)

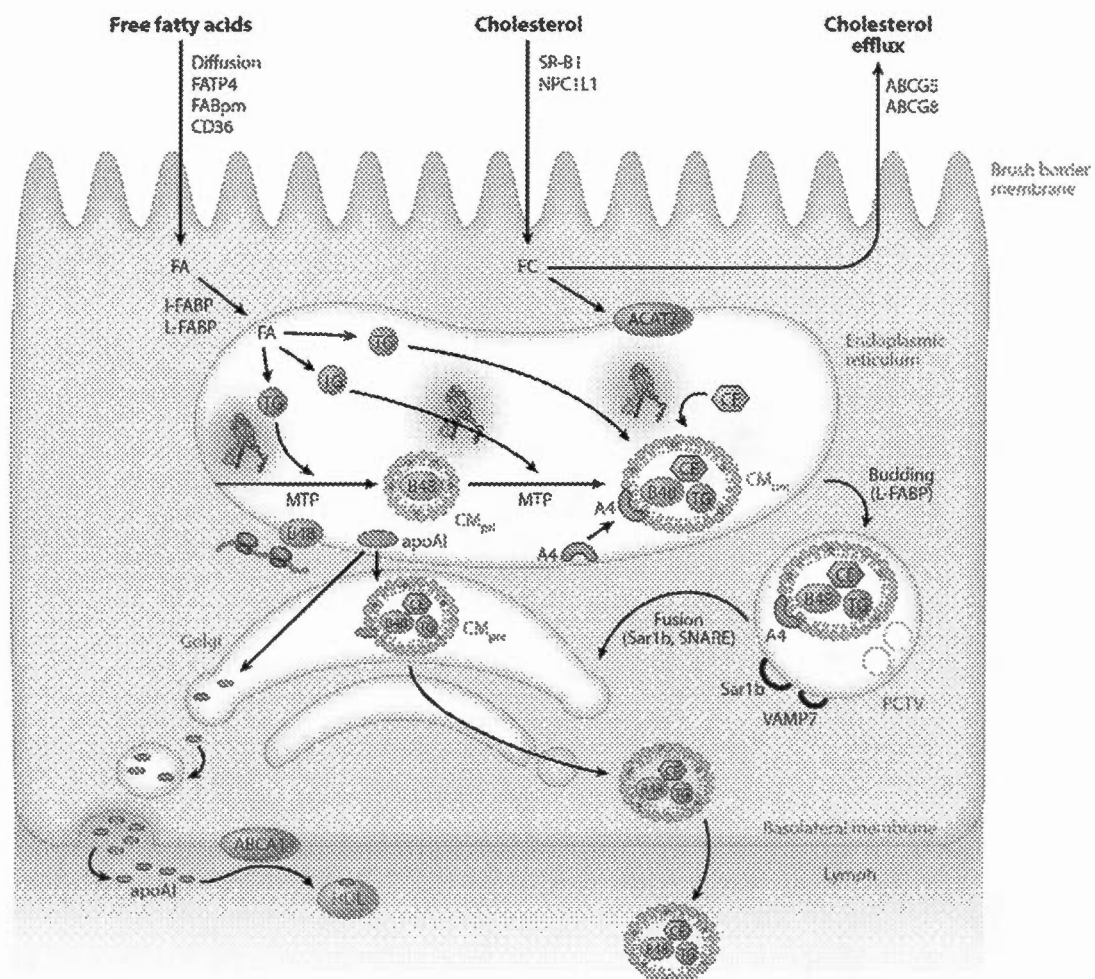


Figure 1.4 Transport et sécrétion des triglycérides et du cholestérol dans les entérocytes. Les acides gras libres peuvent rentrer de différentes façons dans l'entérocyte pour ensuite être transportés par I-FABP et L-FABP dans le RE. Une fois estérifiés par les DGAT1 et DGAT2, ils deviennent les précurseurs des CMs grâce au MTP et à l'ApoB-48. Les CMs sont alors dirigés vers le Golgi pour devenir un chylomicron mature et être sécrété à l'extérieur de la cellule pour se rendre à la circulation. Image prise de Dash, *et al.* (2015) (Dash *et al.*, 2015).

1.2.4 Le métabolisme des chylomicrons dans la circulation

Dans la circulation, les CMs acquièrent différentes apolipoprotéines (C-II, C-III et E) indispensables à leur métabolisme (Cohn, Marcoux et Davignon, 1999 ; Xiao *et al.*, 2011). Par exemple, l'Apo C-II est important pour l'hydrolyse des CMs en étant l'activateur de la lipoprotéine lipase. La dégradation des TAGs conduit à la formation des résidus de CMs et des AGs (Adiels *et al.*, 2012 ; Hassing *et al.*, 2012). Les résidus de CMs, présentant un risque athérogénique, sont retirés de la circulation par le foie grâce à l'apo E, alors que les AGs libres sont captés par différents organes comme le muscle squelettique, comme source d'énergie, et les tissus adipeux pour être accumulés (Figure 5).

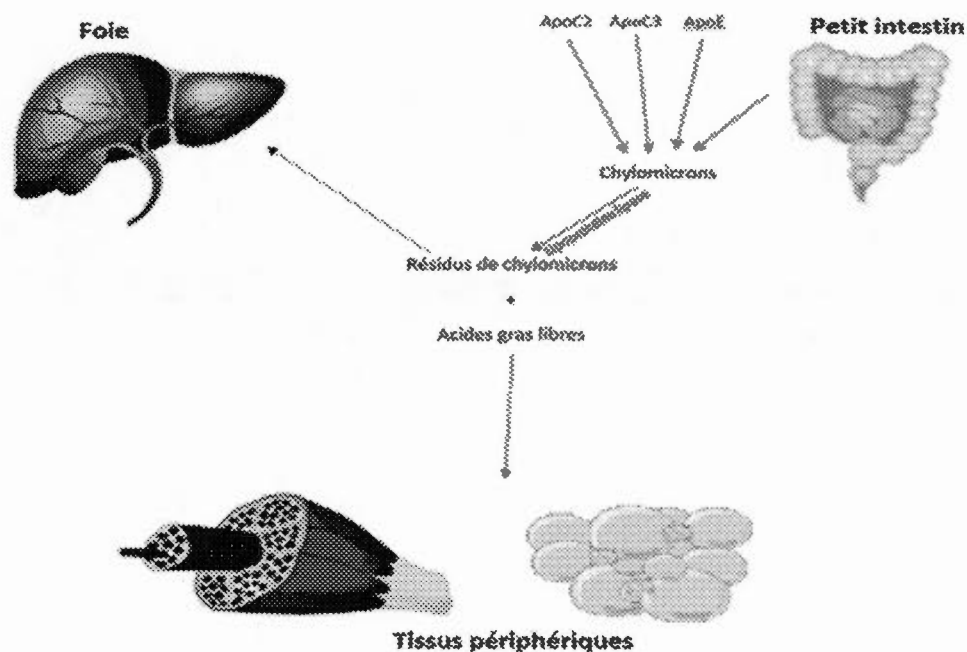


Figure 1.5 Métabolisme des chylomicrons dans la circulation sanguine. Une fois dans la circulation, les CMs reçoivent différentes apolipoprotéines comme l'apo C-II, pour stimuler la lipoprotéine lipase (LPL), permettant ainsi la dégradation des

TAG et la formation des résidus des CM. Ces derniers sont subséquentement éliminés par le foie tandis que les acides gras libres sont soit utilisés par les organes périphériques, soit accumulés dans le tissu adipeux. Adaptée de Yu, *et al.* (2001) (Yu et Cooper, 2001).

1.3 Les gouttelettes lipidiques dans l'intestin

Lorsque les TAGs se retrouvent dans la bicouche lipidique du RE, ils peuvent aller soit dans la lumière du RE pour la formation des CMs ou vers le cytosol pour leur accumulation sous forme de GLCs, qui sont très importants pour l'organisme. La prochaine partie va expliquer en détail leur mécanisme de formation et de lipolyse ainsi que leurs différentes incidences sur leur fonction de l'intestin.

1.3.1 Informations générales sur les gouttelettes lipidiques

Les GLCs sont composées d'un noyau de TAGs et de CHOL ester, entourés par une monocouche de PLs contenant très peu de protéines et molécules de CHOL libre (Hashemi et Goodman, 2015) (Figure 6). Les GLCs peuvent être accumulées dans l'intestin, mais aussi dans de nombreux autres tissus comme le foie, les muscles squelettiques, le cortex corticosurrénal, les macrophages, les glandes mammaires et les tissus adipeux (Walther et Farese, 2012). Dans l'intestin, elles se retrouvent majoritairement dans le jéjunum, mais leur présence a aussi été rapportée en nombre et taille décroissants dans la partie distale du petit intestin (Zhu *et al.*, 2009). La composition en AGs des GLCs dans les entérocytes est très semblable à la diète de l'hôte (Seyer *et al.*, 2013). L'abétalipoprotéïnémie (Berriot-Varoqueaux *et al.*, 2000), l'hypobétalipoprotéïnémie (Bouma *et al.*, 1986) et la maladie de rétention des CMs (Okada *et al.*, 2011) sont les trois seules maladies engendrant une accumulation de gouttelettes lipidiques dans l'intestin. Cette observation, dans les deux premiers cas, serait causée par une inhibition de la sécrétion de CM.

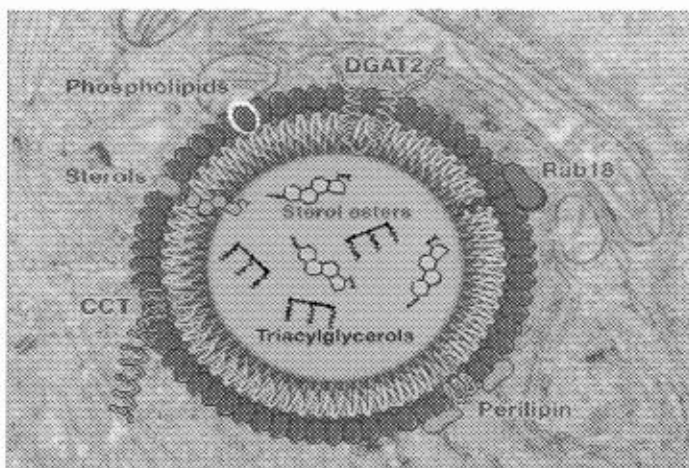


Figure 1.6 Anatomie de la gouttelette lipidique. La gouttelette lipidique est majoritairement formée de TAGs entourés d'une couche de phospholipides et de différentes protéines. Image prise de V.Farese, *et al.* (2009) (Farese et Walther, 2009)

Ces gouttelettes lipidiques sont formées par le regroupement de lipides neutres dans la région hydrophobe entre les deux feuillettes de la membrane du RE (Athenstaedt et Daum, 2006). Comme il a été dit précédemment, les lipides neutres sont synthétisés en TAGs dans cette région par DGAT1 et DGAT2. Les TAGs de DGAT1 sont directement transformés en CMs tandis que les TAGs de DGAT2 sont en fait plutôt accumulés en GLCs (Niot *et al.*, 2009). Quand cette accumulation mène à une certaine grosseur, les TAGs bourgeonnent hors du RE pour former des gouttelettes lipidiques (GL)s naissantes (Figure 7) (Ohsaki *et al.*, 2009). Les GLs du lumen ne possèdent pas d'ApoB-48 et permettent de stabiliser les pré-CMs dans la lumière du RE avec l'aide des PLs (Demignot, Beilstein et Morel, 2014). L'hydrolyse et la réestérification de ces GLs servent aussi à fournir des lipides nécessaires à l'expansion et l'assemblage des CMs (Lehner, Lian et Quiroga, 2012).

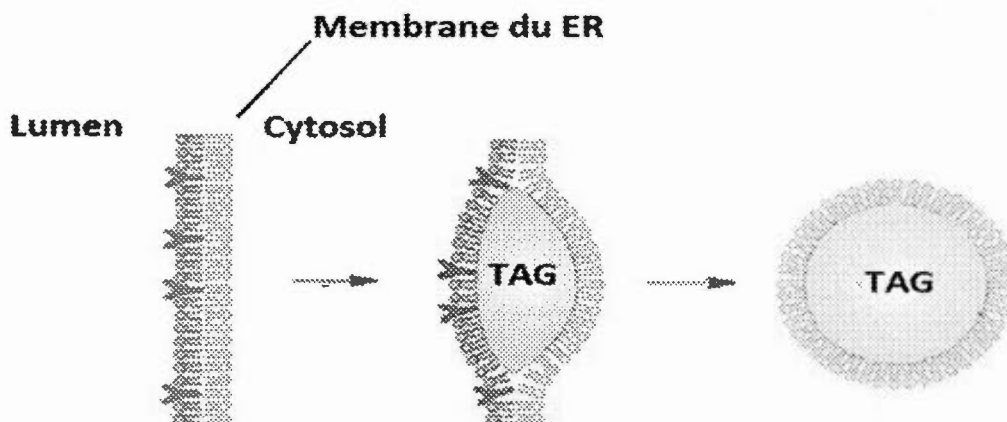


Figure 1.7 Bourgeonnement de la gouttelette lipidique dans le cytosol. Les TAGs dans la bicouche du RE bourgeonnent hors de cette organelle pour aller dans le cytosol de la cellule. Adaptée de Robenek, *et al.* (2004) (Robenek *et al.*, 2004).

Les lipides s'accumulent majoritairement en GLCs qui sont composées d'environ 180 protéines (D'Aquila *et al.*, 2015). De ces protéines, les plus abondantes et importantes sont les périlipines (PLINs) (Sztalryd et Kimmel, 2014)(Sztalryd et Kimmel, 2014)(Sztalryd et Kimmel, 2014)(Sztalryd et Kimmel, 2014)(Sztalryd et Kimmel, 2014). Ces protéines couvrent les gouttelettes lipidiques, ce qui leur permet de réguler leur synthèse et hydrolyse. Dans l'intestin, il en existe deux ; les PLIN-2 et 3 qui sembleraient jouer des rôles distincts. En effet, la PLIN-2 est prédominante lorsqu'il y a une grande ingestion de lipides et la PLIN-3 en présence de peu de lipides alimentaires (Lee *et al.*, 2009).

1.3.2 Hypertrophie des gouttelettes lipidiques

Le grossissement des GLCs peut être régulé de deux façons, soit par la synthèse directe de TAG ou par fusion des GLCs. En fait, la synthèse de TAG peut se produire directement sur la surface des GLCs grâce à la présence d'ACSL-3 et 5 ainsi que MGAT-2. Aussi, ces gouttelettes peuvent s'associer à DGAT2 pour catalyser la conversion des molécules de DAG en TAG, qui leur sont directement injectées dans

les GLCs (Kuerschner, Moessinger et Thiele, 2008). Pendant leur expansion, les GLs ont besoin d'interagir étroitement avec le RE pour accumuler une quantité de lipides suffisante. Il est démontré que la *fatty acid -transport protein 1* (FATP1) et DGAT2 constituent les deux protéines importantes pour l'interaction entre les GLs et le RE. En effet, cette interaction engendre la synthèse d'acyl-CoA dans le RE ainsi que la synthèse de TAGs à la surface des GLs, ce qui permet aux TAGs d'être insérés dans les GLs. Aussi, la relocalisation de ces protéines est importante pour la croissance et l'expansion des GLs puisque cette absence contribue à la formation de petites gouttelettes. Une autre protéine du nom de seipin peut également réguler le contact entre le RE et les GLCs. En effet, la délétion de seipin dans des cellules du carcinome épithélial humain (A431) empêche le transport de protéines et lipides du RE aux GLCs, ce qui n'empêche pas leur formation, mais limite complètement leur croissance (Salo *et al.*, 2016).

Quant à la fusion des gouttelettes, elle est effectuée par des protéines *Cell death-inducing DNA fragmentation factor 45-like effector* (CIDE). On y retrouve Cidea, Cideb et Cidec/Fsp27. Ces protéines peuvent former des pores dans les jonctions entre les GLCs, ce qui favorise le transport des lipides d'une gouttelette à une autre (Figure 8)(Kuerschner, Moessinger et Thiele, 2008). La croissance des GLCs nécessite aussi une addition de phospholipides pour faire grossir la monocouche des gouttelettes et ainsi empêcher leur coalescence (Krahmer *et al.*, 2011). Cette régulation est causée par les lysophosphatidylcholine acyltransférases 2 et 3 retrouvées à la surface (Moessinger *et al.*, 2014).

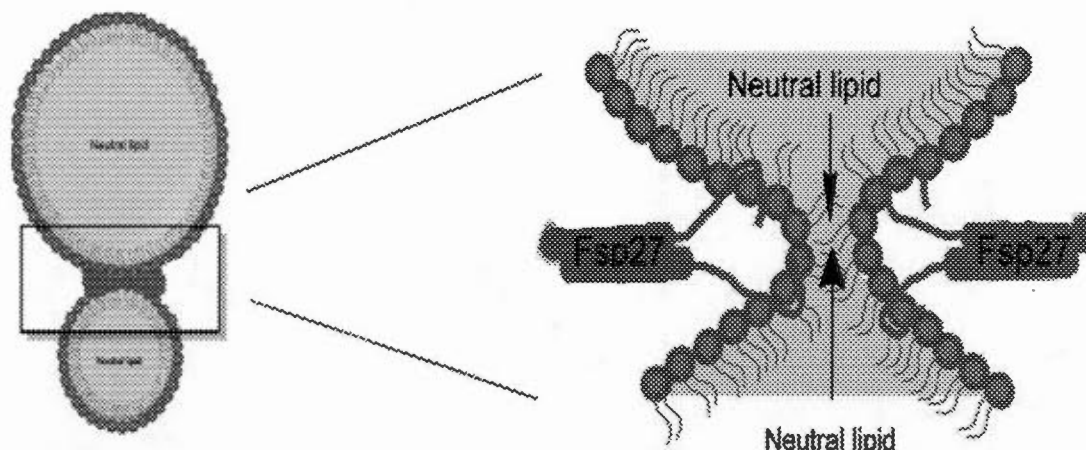


Figure 1.8 Fusion des gouttelettes lipidiques grâce à Cidec/Fsp27. Les GLCs peuvent fusionner grâce à la formation d'un pont entre les deux gouttelettes, produit par la protéine Fsp27. Adaptée de Zu, *et al.* (2012) (Xu, Zhou et Li, 2012)

1.3.3 Hydrolyse des gouttelettes lipidiques

Finalement, les GLCs sont hydrolysées par l'*Adipose triglyceride lipase* (ATGL) pour former des DAGs et AGs non-estérifiés. Ces DAGs peuvent être encore hydrolysés par l'*hormone sensitive lipase* (HSL) et les MGATs en MAG, AGs non-estérifiés et glycérol (Lass *et al.*, 2011). Avant d'engendrer la lipolyse, l'ATGL doit être activé sur son domaine N-Terminal (Sahu-Osen *et al.*, 2015). Cette activation est engendrée par la protéine *Comparative gene identification-58* (CGI-58) après sa phosphorylation par la protéine kinase a (PKA) (Figure 9). La mutation de CGI-58 engendre le syndrome de Chanarin-Dorfman qui cause une accumulation ainsi qu'une hypertrophie massive des GLCs (Yamaguchi et Osumi, 2009). Cet effet a été rapporté dans tous les entérocytes avec une accumulation particulièrement plus importante dans la partie proximale du petit intestin. Une fois hydrolysées, les différentes molécules produites peuvent retourner au RE pour être retransformées en TAGs et être réutilisées pour la formation des CMs et GLCs, pour servir d'oxydation dans les

mitochondries ou utilisées pour la synthèse d'autres lipides (Storch, Zhou et Lagakos, 2008 ; Windmueller et Spaeth, 1978 ; Zhu *et al.*, 2009).

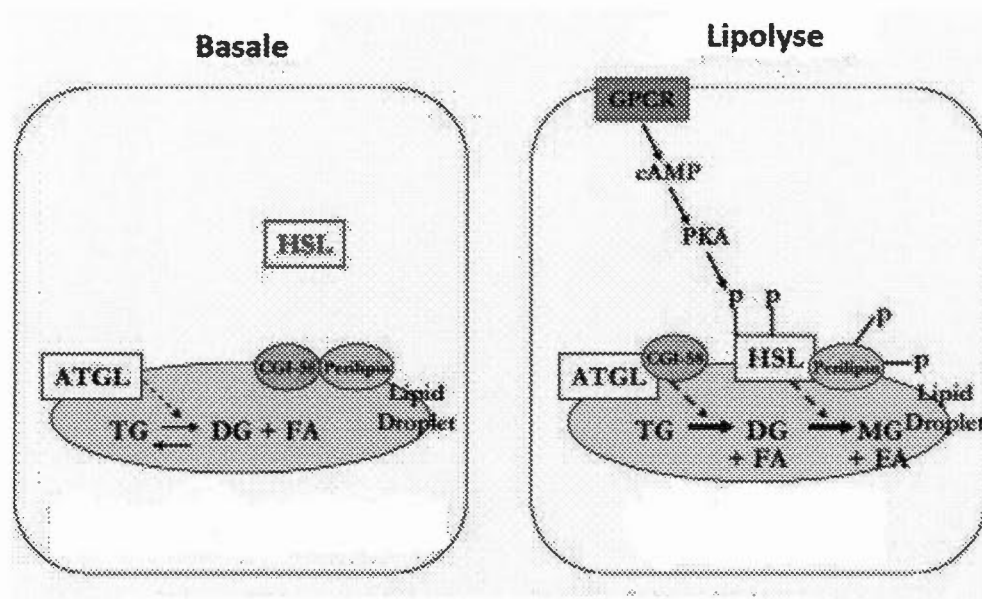


Figure 1.9 Processus de lipolyse des gouttelettes lipidiques dans les tissus adipeux. Durant la lipolyse, la PKA active CGI-58 qui, à son tour, active ATGL, responsable de la lipolyse des TAGs. Les TAGs deviennent donc des DAGs + acides gras libres. Finalement, les DAGs sont une autre fois lipolysés par HSL pour devenir des MAGs + acides gras. Adaptée de Granneman, *et al.* (2007) (Granneman *et al.*, 2007).

Il est aussi suggéré que les GLCs constituent une cible pour l'autophagie, un processus où le contenu cellulaire est compartimenté pour la rupture ainsi que le recyclage de biomolécules (Klionsky, 2007 ; Levine et Klionsky, 2004). Un défaut dans ce processus est associé à une accumulation de protéines dysfonctionnelles qui altèrent les fonctions des cellules et causent la mort cellulaire. Dans l'intestin, il a été démontré que les autophagosomes capturent les GLCs grâce à une réponse autophagique causée par les lipides ingérés (Khaldoun *et al.*, 2014). Cette réponse

cible les GLCs pour les diriger vers les lysosomes. L'inhibition de cette autophagie dans l'intestin, ou plutôt lipophagie, augmente l'accumulation de TAGs et de CEs, ce qui peut diminuer la sécrétion de CMs et les lipoprotéines de hautes densités (HDL). Contrairement à ce qui a été mentionné précédemment dans le foie, le système de lipodation LC3 (marqueur autophagique) semble nécessaire à la production de GLCs (Shibata *et al.*, 2009). Ceci est validé par de souris déficientes en autophagie qui sont incapables d'accumuler des GLCs dans des conditions de jeûne.

1.3.4 Régulation des gouttelettes lipidiques

Un grand nombre de régulateurs des GLCs ont été découverts dans l'intestin, mais seulement quelques-uns seront présentés. Ils appartiennent à plusieurs catégories : régulation par l'alimentation, des facteurs de transcriptions, des peptides gastro-intestinaux et d'autres protéines (Table I).

Alimentation

Différents aliments ingérés et certaines diètes ont été démontrés comme ayant une influence sur la formation des GLCs dans l'intestin. En effet, une diète riche en gras chez des souris cause une diminution du taux de sécrétion de TAGs, mais augmente grandement l'entreposage des TAGs en GLCs dans le petit intestin. Ces lipides sont largement libérés après un jeûne de 6 heures (Douglass *et al.*, 2012). Aussi, le glucose provenant de l'alimentation mobilise les TAGs emmagasinés dans les GLCs au niveau intestinal provenant des repas antérieurs, ce qui a pour effet d'augmenter substantiellement la sécrétion de CMs (Robertson *et al.*, 2003). De façon similaire au glucose, une exposition orale au gras provoque de façon très rapide une sécrétion de CMs à partir des GLCs déjà en réserve dans l'intestin pour laisser de la place aux lipides qui sont en chemin (Chavez-Jauregui, Mattes et Parks, 2010).

Facteurs de transcription

Liver x receptor α (LXR α) est un facteur de transcription qui cible différents gènes importants dans le métabolisme du cholestérol et se retrouve dans de nombreux tissus importants dans le métabolisme des lipides comme le foie, les tissus adipeux et l'intestin (Moschetta, 2015). Son activation favorise le transport inverse du cholestérol et inhibe l'absorption du cholestérol. Dans l'intestin, une surexpression de LXR α retarde le transport des lipides de l'alimentation vers la circulation (Cruz-Garcia et Schlegel, 2014). Aussi, il a été découvert que LXR α induit l'expression de la machinerie cellulaire qui contribue à l'augmentation de la formation des GLCs en dirigeant les lipides vers ces GLCs plutôt que vers les CMs (Kassan *et al.*, 2013). Le LXR α cible ACSL3 causant ainsi sa surexpression, ce qui augmente la formation des GLCs en détournant les lipides absorbés.

Le peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR- α) est un autre facteur de transcription retrouvé en bonne quantité dans l'intestin, modulant le métabolisme des TAGs (Grygiel-Gorniak, 2014). Il a été démontré que des agonistes de PPAR α réduisent la sécrétion des CMs postprandiaux (Kimura *et al.*, 2013). Par ailleurs, le PPAR- α diminue l'accumulation des lipides en GLCs et leur sécrétion en CMs par la voie de l'oxydation des AGs (Kimura *et al.*, 2013 ; Salehi et Khazaei, 2012). En effet, certains produits comme le fenofibrate et l'acide docosahexaénoïque augmentent l'oxydation des acides gras chez des souris soumises à une diète riche en gras diminuent la formation des GLCs et la sécrétion des CMs.

Certaines protéines qui régulent la formation des tumeurs contrôlent la formation des GLCs et leur hypertrophie. Certains cancers comme celui du côlon nécessitent une grande quantité d'énergie pour leur croissance. Il est proposé qu'une augmentation de la quantité de GLCs et simultanément leur croissance, permettent de satisfaire à leur besoin durant le développement tumoral (Tirinato *et al.*, 2015). Le *Forkhead box O3* (FOXO3) est un facteur de transcription qui inhibe la croissance des tumeurs en

activant un inhibiteur du cycle cellulaire p26kip (Brunet *et al.*, 2004). En plus, FOXO3 peut diminuer la grosseur des GLCs. Cet effet a été confirmé par des souris déficientes en FOXO3, qui présentent une augmentation de la densité des GLCs, de la quantité de PLIN-2 et du métabolisme des lipides (Qi *et al.*, 2013). En plus, le FOXO3 augmente l'expression de sirtuine-6 (SIRT6) dans des cellules coloniques, baissant ainsi l'accumulation des lipides.

Peptides gastro-intestinaux

Les peptides gastro-intestinaux sont aussi de possibles régulateurs de plusieurs processus intestinaux et périphériques. Parmi eux, la leptine, le *glucagon-like peptide 2* (GLP-2) et la neurotensine sont les 3 peptides capables d'agir sur la formation des gouttelettes lipidiques.

La leptine, majoritairement produite par les tissus adipeux, est considérée comme un peptide gastro-intestinal car elle est aussi formée par l'estomac (Bado *et al.*, 1998). Elle a montré son potentiel à réduire la sécrétion de lipoprotéines dans les cellules intestinales Caco-2/15 (Stan *et al.*, 2001). La diminution de cette sécrétion est entre autres causée par la réduction de la synthèse d'ApoA-IV (Doi *et al.*, 2001). La leptine exerce également un effet sur le MTTP puisque l'absence du récepteur de la leptine diminue l'expression de MTTP (Iqbal *et al.*, 2010). Finalement, des cellules IEC-6 exhibent une accumulation des GLCs grâce à l'induction de la voie signalétique impliquant le mTOR chez les mammifères et orchestrée par la leptine (Fazolini *et al.*, 2015).

Le GLP-2 est sécrété par les cellules L de l'intestin, qui sont majoritairement retrouvées dans l'épithélium du jéjunum (Baggio et Drucker, 2007). Chez des hamsters, le GLP-2 augmente l'absorption intestinale des lipides en activant la captation des produits digestifs via l'induction de l'activité de CD36 (Hsieh *et al.*, 2009). Il augmente aussi la concentration postprandiale de TAGs et des AGs libres

dans la circulation, indiquant un accroissement de la sécrétion des CMs (Meier *et al.*, 2006). Le GLP-2 peut également exporter les GLCs ainsi que les lipoprotéines accumulées dans l'intestin (Dash *et al.*, 2014). Cette mobilisation est causée par le système d'oxyde nitrique capable de réguler la synthèse d'ApoB-48 et le MTTP. Des souris possédant une déficience du système d'oxyde nitrique endothélial ne peuvent pas subir la promotion de la sécrétion des CMs par le GLP-2, mais qui peut être récupérée par l'ajout d'un donneur de NO (Oxyde nitrique), indiquant un rôle important de ce système dans l'expulsion des lipides accumulés dans l'intestin en réponse au GLP-2.

La neurotensine est un peptide majoritairement retrouvé dans les cellules entéroendocrines N de l'intestin (Kitabgi, Carraway et Leeman, 1976). Il a été premièrement démontré que l'injection intrapéritonéale de neurotensine augmente la concentration de TAGs dans le plasma, suggérant la stimulation de l'export des CMs (Piatek *et al.*, 2005). De façon concordante, il fut démontré que des souris neurotensine^{-/-} ont une diminution de la stéatose hépatique, de la concentration de TAGs dans le foie et de lipides dans le tissu adipeux épидидymal (Li *et al.*, 2016). L'ensemble de ces résultats seraient associé à un déclin de l'absorption des graisses alimentaires par le petit intestin. Néanmoins, cet effet négatif peut être annulé par l'administration de neurotensine. Les souris neurotensine^{-/-} possèdent moins de GLC dont la taille est manifestement réduite dans la partie proximale du petit intestin suite à un gavage avec l'huile d'olive. L'incubation de neurotensine dans les cellules intestinales épithéliales de rat (RIE-1) augmente aussi l'absorption des acides gras (Li *et al.*, 2016). Cet effet serait causé par la suppression de Calcium/Calmodulin Dependent Protein Kinase 2 médié par la phosphorylation de l'*AMP-activated protein kinase* (AMPK) par les récepteurs des neurotensines 1 et 3.

Autres protéines régulant la formation des GLCs

La *superoxyde dismutase 1* est une protéine qui joue un rôle important dans la protection contre les espèces réactives de l'oxygène (Fridovich, 1995). Des souris ne possédant pas cette protéine exhibent une malabsorption intestinale des nutriments (Kurahashi *et al.*, 2012). Ces souris possèdent un niveau élevé de GLCs indiquant un dysfonctionnement de la sécrétion des CMs, causé par l'inhibition de l'activité de MTTP, en plus d'une sensibilité exagérée de l'ApoB au dommage oxydatif.

La spastin est une protéine des microtubules, appartenant à la famille de l'*ATPase associated with diverse cellular activity* (AAA), capable d'exercer une influence sur la formation des GLCs (Errico, Ballabio et Rugarli, 2002 ; Evans *et al.*, 2005). Une de ses isoformes, spastin-M1, cible les GLCs et se co-localise à leur surface. La colocalisation de spastin-M1 et d'un peptide marqueur de lipides déposés dans les pré-GLs suggère qu'il est transporté du RE aux GLCs par un mécanisme semblable à celui de l'acide oléique (Papadopoulos *et al.*, 2015). Dans les cellules intestinales de *C.elegans*, la diminution de la régulation de spastin-M1 contribue à une diminution de la grosseur des GLCs, montrant clairement un rôle de cette protéine dans la formation des GLCs. (Papadopoulos *et al.*, 2015)

Tableau 1.1 Effets des régulateurs des GLCs à la fois sur leur formation ainsi que sur la sécrétion des CMs

Régulateurs	Effets sur la sécrétion des CMs	Effets sur la formation des GLCs	Références
Résistance à l'insuline	Augmente la sécrétion des CMs	Réduit l'accumulation des GLCs	(Federico <i>et al.</i> , 2006 ; Haidari <i>et al.</i> , 2002 ; Lewis <i>et al.</i> , 2005), (Zoltowska <i>et al.</i> , 2003)

AMPK	Réduit la sécrétion des CMs	Augmente l'accumulation des GLCs	(Lee <i>et al.</i> , 2014),(Harmel <i>et al.</i> , 2014)
Spastin	-	Augmente la grosseur des GLCs	(Errico, Ballabio et Rugarli, 2002 ; Evans <i>et al.</i> , 2005 ; Papadopoulos <i>et al.</i> , 2015 ; Roll-Mecak et Vale, 2005), (Wiggins et Gibbons, 1992)
FOXO3	-	Diminue la grosseur et l'accumulation des GLCs	(Huang <i>et al.</i> , 2012 ; Qi <i>et al.</i> , 2013 ; Zhang <i>et al.</i> , 2012)
<i>Integrin ligand milk fat globule epidermal growth factor-like 8</i>	Augmente la sécrétion des CMs	Réduit l'accumulation des GLCs	(Khalifeh-Soltani <i>et al.</i> , 2016),(Obrowsky <i>et al.</i> , 2013 ; Xie <i>et al.</i> , 2014)
GLP-2	Augmente la sécrétion des CMs	Réduit l'accumulation des GLCs	(Hsieh <i>et al.</i> , 2009),(Dash <i>et al.</i> , 2014), (Hsieh <i>et al.</i> , 2015)
Neurotensine	Augmente la sécrétion des CMs	Augmente l'accumulation des GLCs	(Li <i>et al.</i> , 2016), (Piatek <i>et al.</i> , 2005)

Leptine	Réduit la sécrétion des CMs	Augmente l'accumulation des GLCs	(Fazolini <i>et al.</i> , 2015)
LxR α	Réduit la sécrétion des CMs	Augmente l'accumulation des GLCs	(Cruz-Garcia et Schlegel, 2014),(Kassan <i>et al.</i> , 2013)
Diète riche en gras induisant l'obésité	Réduit la sécrétion des CMs	Augmente l'accumulation des GLCs	(Douglass <i>et al.</i> , 2012)
Diète riche en glucose	Augmente la sécrétion des CMs	Réduit l'accumulation des GLCs	(Robertson <i>et al.</i> , 2003),(Chavez-Jauregui, Mattes et Parks, 2010)
PPAR α	Réduit la sécrétion des CMs	Réduit l'accumulation des GLCs	(Grygiel-Gorniak, 2014),(Kimura <i>et al.</i> , 2013 ; Salehi et Khazaei, 2012)
Firmicutes	Augmente la sécrétion des CMs	Augmente l'accumulation des GLCs	(Semova <i>et al.</i> , 2012)
Superoxyde dismutase 1	Augmente la sécrétion des CMs	Réduit l'accumulation des GLCs	(Kurahashi <i>et al.</i> , 2012)

Nocturnine	Augmente la sécrétion des CMs	Réduit l'accumulation des GLCs	(Douris <i>et al.</i> , 2011)
Hepatocyte nuclear factor 4 alpha	Augmente la sécrétion des CMs	Augmente l'accumulation des GLCs	(Carriere <i>et al.</i> , 2005 ; Frochot <i>et al.</i> , 2012)
Hedgehog	Augmente la sécrétion des CMs	Réduit l'accumulation des GLCs	(Buhman <i>et al.</i> , 2004 ; Wang <i>et al.</i> , 2002)
CD36	Augmente la sécrétion des CMs	Réduit l'accumulation des GLCs	(Drover <i>et al.</i> , 2005)

1.3.5 Rôles des gouttelettes lipidiques

Les gouttelettes lipidiques sont contrôlées par de nombreux mécanismes et jouent de nombreux rôles. Leur fonction principale dans l'intestin est de contribuer à l'élaboration et la libération des CMs, via un mécanisme d'hydrolyse et de réestérification de TAGs, favorisant la formation des GLCs qui, subséquemment, subissent une lipolyse en faveur de l'estérification des TAGs à la membrane du RE en faveur de l'assemblage des CMs (Gibbons, Islam et Pease, 2000). Ce mécanisme peut aussi convertir les TAGs en d'autres lipides en vue d'autres fonctions telles que la synthèse de phospholipides requises pour la manufacture de la membrane cellulaire (Figure 10) (Wiggins et Gibbons, 1992). Une des raisons principales pour lesquelles la régulation des GLs est centrale par l'augmentation de la disponibilité des lipides et la capacité de produire/sécréter les CMs (Tomkin et Owens, 2001).

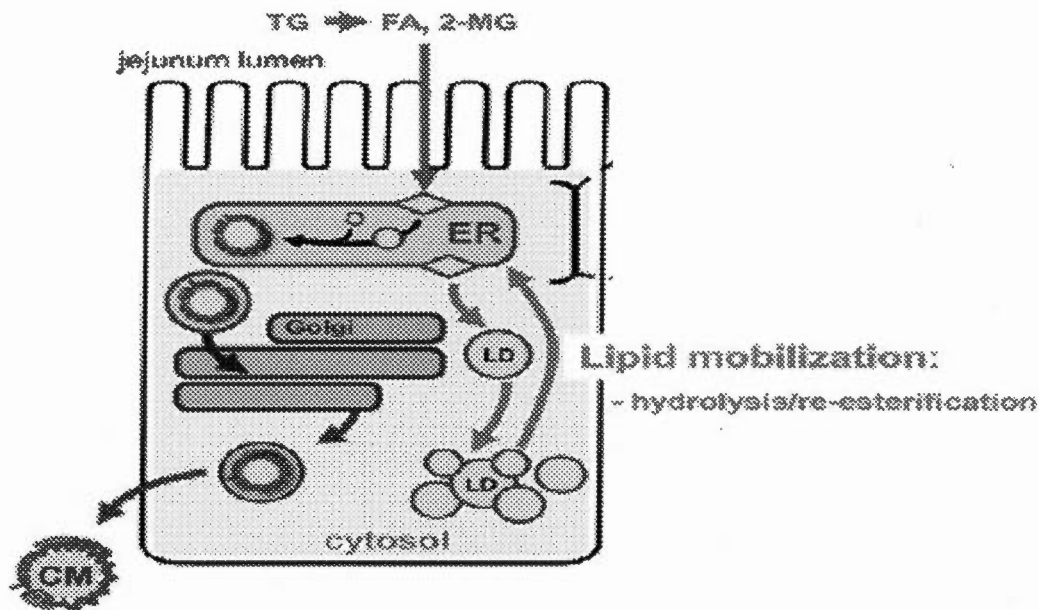


Figure 1.10 Hydrolyse/réestérification des gouttelettes lipidiques dans le cytosol. Les GLCs dans le cytosol peuvent être sujet à une hydrolyse/réestérification où les TAGs provenant de cette hydrolyse retournent dans le RE pour être sécrétés en CMs. Adaptée de Demigot, et al. (2013) (Demignot, Beilstein et Morel, 2014)

Un autre rôle important des GLCs est de protéger les cellules d'une lipotoxicité des acides gras et lipides grâce à l'estérification et l'entreposage d'espèces lipidiques possiblement nocives (Maxfield et Tabas, 2005). En fait, les GLCs ont été démontrées comme pouvant tamponner les concentrations excessives de différents AGs capables de conduire à la mort cellulaire. Dans les hépatocytes, on retrouve un mécanisme de protection par les GLCs, engendré par une hétérogénéité des cellules (Herms *et al.*, 2013), car certaines de ces dernières ont tendance à accumuler une plus grande quantité de GLCs pour suppléer les cellules en lipides dans le voisinage, ce qui les protège contre le développement d'une lipotoxicité. Ce moyen de défense est très intéressant et pourrait se retrouver dans d'autres organes et tissus comme l'intestin (Welte, 2015).

Les GLCs possèdent aussi une proximité physique avec le RE, mais aussi avec les mitochondries (Hesse *et al.*, 2013 ; Shaw, Jones et Wagenmakers, 2008 ; Wang *et al.*, 2011). En effet, dans des conditions de jeûne, les GLCs se retrouvent aux alentours des mitochondries et leur association subséquente contribue à une production suffisante d'énergie pour soutenir les besoins biologiques cellulaires. En réponse à une lipolyse, les GLCs sont transférées directement à la mitochondrie où elles sont utilisées pour la β -oxydation, ce qui suggère que les AGs non-estérifiés provenant de l'hydrolyse du TAGs peuvent être catabolisés dans la mitochondrie, générant de l'énergie pour la formation des CMs.

Les GLCs sont aussi importantes pour la multiplication de certains virus. En effet, l'hépatite C et le virus de la dengue utilisent les GLCs pour augmenter la formation de virions qui est absolument requise à la réplication virale (Miyanari *et al.*, 2007 ; Samsa *et al.*, 2009). Aussi, les rotavirus, qui sont une cause majeure des gastroentérites chez les enfants, s'associent aux GLCs, mais l'inhibition de la formation de ces dernières empêche la réplication du virus (Cheung *et al.*, 2010).

1.4 L'intestin et les maladies cardiovasculaires

Une fois dans la circulation, les TAGs sont hydrolysés par la lipoprotéine lipase (LPL) pour produire des AGs qui sont capturés par différents organes. Les résidus des CMs sont éliminés par le foie grâce au récepteur B/E (Lambert et Parks, 2012). Le métabolisme des CMs joue des rôles importants dans le développement de maladies cardiovasculaires, du diabète de type 2 et des dyslipidémies. Premièrement, l'intestin peut contrôler l'entrée et la sortie des lipides dans la circulation grâce à son exposition directe au gras, ce qui lui permet de jouer un rôle important dans le développement de l'obésité (Patsch *et al.*, 1992). L'intestin produit également des lipoprotéines de très petites densités (VLDLs) semblables à celles du foie, ce qui lui permet d'avoir un impact dans le développement de l'athérosclérose. Ensuite, les résidus de CMs peuvent eux-mêmes pénétrer la paroi artérielle, un phénomène

susceptible de provoquer une induction de la pathogenèse de l'athérosclérose (Tomkin et Owens, 2001). Finalement, l'élévation des lipoprotéines dans le sang est conséquente à la réduction du catabolisme et une augmentation de la production de lipoprotéines (Haidari *et al.*, 2002). L'intestin constitue un carrefour important capable d'influencer non seulement l'absorption des lipides, mais aussi le devenir métabolique des lipoprotéines et l'athérosclérose.

1.5 Le nouvel axe cerveau-intestin

Les cellules entéro-endocrines de l'intestin possèdent plus de 30 gènes de peptides gastro-intestinaux qui permettent d'exprimer plus de 100 peptides bioactifs, et de contribuer à l'apport en nourriture et la balance énergétique (Ahlman et Nilsson, 2001). Ces peptides possèdent une très grande variété de fonctions comme il est rapporté à la Figure 11 (pour les peptides les plus étudiés). C'est lors de l'ingestion des nutriments (à l'exception de la ghréline) que l'intestin sécrète ces peptides considérés comme d'importants signaux agissant sur le cerveau et les tissus périphériques. En plus, la muqueuse intestinale possède un système nerveux entérique complexe composé de 100 millions de neurones, formant un axe cerveau-intestin. Ceci permet à l'intestin de jouer un rôle important dans la détection des nutriments, l'absorption des lipides et nutriments, et le métabolisme de ces derniers (Romijn *et al.*, 2008).

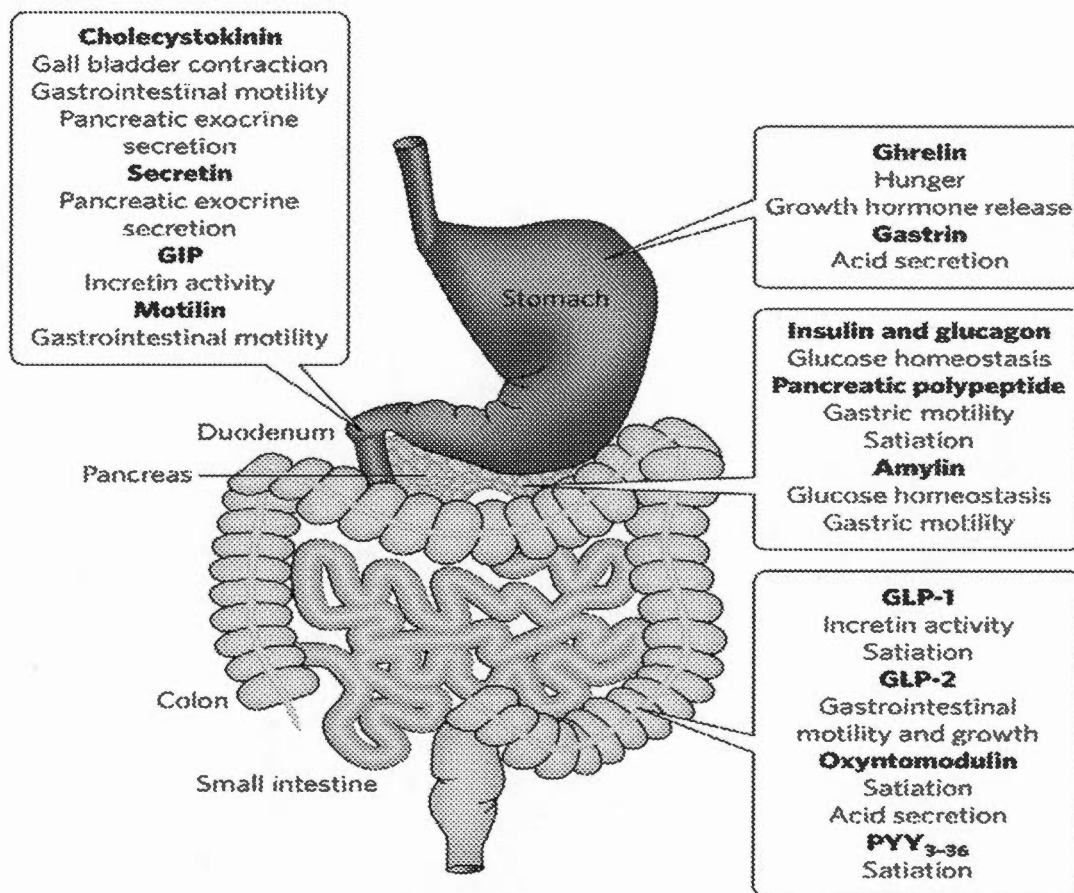


Figure 1.11 Diagramme exposant les peptides gastro-intestinaux importants en lien avec leurs majeures fonctions. Chaque peptide gastro-intestinal possède des effets nombreux et diversifiés, contrôlant les processus allant de la motilité gastro-intestinale à la satiété, en passant par la régulation du métabolisme énergétique. Prise de Murphy, et al. (2006) (Murphy et Bloom, 2006)

L'entrée des lipides dans le duodénum est détectée grâce aux *G protein-coupled receptors* (GPRs) retrouvés sur les cellules entéroendocrines, principalement les GPR 40, 41 et 43 qui induisent l'activation du nerf vague et favorisent la communication entre l'intestin et le cerveau (Monnikes *et al.*, 1997) (Briscoe *et al.*, 2003 ; Hirasawa *et al.*, 2005). Les fibres vagales afférentes ne se retrouvent pas dans la lumière de

l'intestin ; c'est plutôt la sécrétion de peptides gastro-intestinaux qui fonctionnent comme un messager intermédiaire et influencent l'activité des nerfs afférents retrouvés dans le tronc cérébral et la région hypothalamique. En plus d'avoir un effet sur ces nerfs, plusieurs peptides sont directement conduits à la barrière hématoencéphalique pour agir directement sur le cerveau, ex. le GLP-1 (cellules L) et la ghréline (sécritée majoritairement par l'estomac) (Nonaka *et al.*, 2003) (Banks *et al.*, 2002). C'est dans la région hypothalamique que l'on retrouve le noyau arcé hypothalamique (ARC) recevant toutes les hormones circulantes et les signaux nutritionnels grâce à ses nombreux récepteurs et senseurs retrouvés sur ces cellules (Schwartz *et al.*, 2000). Aussi, une certaine sous-population des neurones d'ARC exprime des neuropeptides ayant d'importantes fonctions (Waterson et Horvath, 2015). De ces neuropeptides, on retrouve POMC et AGRP coexprimés avec NPY régulant le métabolisme énergétique (figure 12).

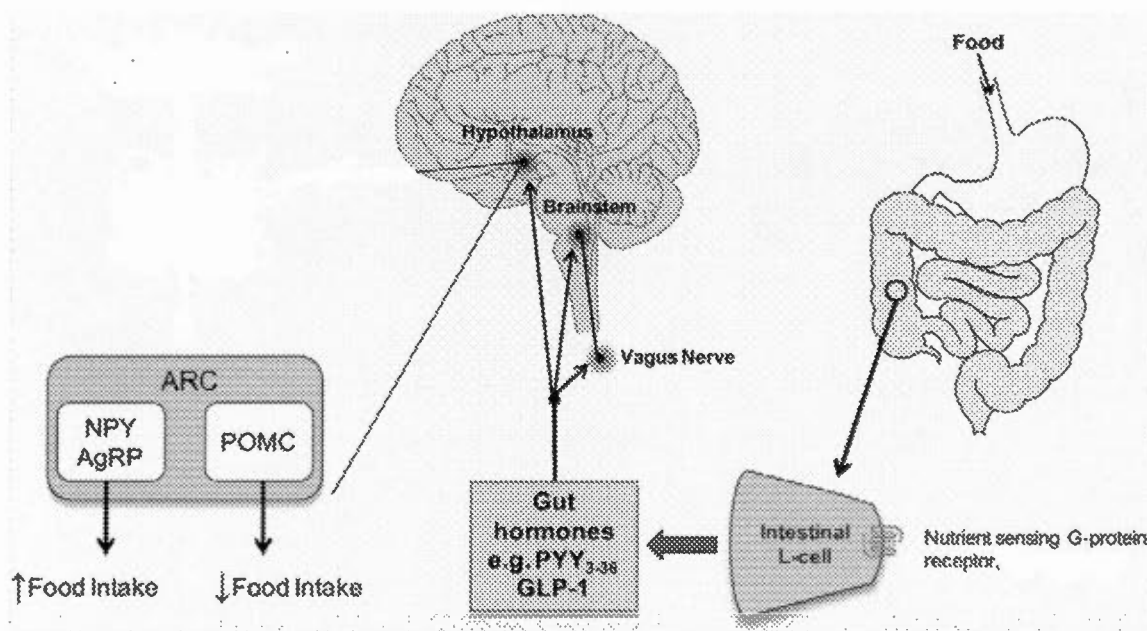


Figure 1.12 Régulation de la balance énergétique par l'axe cerveau-intestin grâce aux cellules L. Les cellules entéroendocrines du tractus gastro-intestinal sécrètent

différents peptides gastro-intestinaux qui agissent sur le nerf vague ainsi que sur l'hypothalamus. Dans ce site, certains peptides activent le NPY et l'AGRP qui stimulent l'apport de nutriments alors que d'autres activent le POMC susceptible de réduire l'influx nutritionnel. Prise de Bewick et al. (2012) (Bewick, 2012)

1.6 Les peptides gastro-intestinaux et l'obésité

Comme il a été dit précédemment, il est important d'avoir une bonne régulation de la sécrétion des peptides gastro-intestinaux puisqu'un problème dans cette régulation peut engendrer des dysfonctions dans le métabolisme et la détection des nutriments. En effet, plusieurs peptides vont causer une sensation de satiété quand ils sont sécrétés, tels que le GLP-1 et le PYY ; quant la ghréline, elle cause plutôt une sensation de faim (Gribble, 2012). Il a été démontré qu'une exposition chronique à une diète riche en gras cause des changements structuraux et fonctionnels dans la détection des nutriments par l'intestin, apportant une désensibilisation de la détection des nutriments que ce soit chez l'adulte ou le nouveau-né (Brandsma *et al.*, 2015 ; Teixeira *et al.*, 2012). Cette désensibilisation à la sécrétion de peptides gastro-intestinaux incrétones comme le GLP-1 et le GIP peut promouvoir l'obésité, la résistance à l'insuline et la stéatose hépatique. L'altération de la sécrétion de ces peptides est parmi les processus responsables des changements dans les fonctions de la barrière intestinale et dans l'augmentation des marqueurs oxydatifs, activant le système immunitaire inné. Ceci peut aussi représenter le mécanisme favorisant le développement des maladies mentionnées précédemment (Xue *et al.*, 2014).

Comme il a été écrit précédemment, certains de ces peptides gastro-intestinaux peuvent réguler la formation des gouttelettes lipidiques dans l'intestin, pouvant engendrer ainsi la sécrétion des CMs et le développement de l'obésité. En plus, d'autres peptides agissent directement sur la production des CMs et le métabolisme des lipides. Par exemple, des agonistes de GLP-1 provoquent une réduction de l'activité de MTTP, de la disponibilité de TAGs et de la production de l'ApoB (Hsieh

et al., 2010 ; Xiao *et al.*, 2014). Ces agonistes ont le potentiel de réduire également la sécrétion de la lipase gastrique, la motilité intestinale et la vidange gastrique, favorisant la diminution des lipides alimentaires tout en constituant une cible thérapeutique hypolipémiante (Nauck *et al.*, 2011). Dans les Caco-2, le PYY réduit l'expression protéique de MTTP et favorise la réduction de la sécrétion des CMs (Grenier *et al.*, 2012). En plus, ce peptide retarde la vidange et la sécrétion gastriques (Adrian *et al.*, 1985 ; Allen *et al.*, 1984). CCK est un autre important peptide gastro-intestinal qui provoque le ralentissement de la vidange gastrique, la sécrétion d'enzymes pancréatiques et la contraction de la vésicule biliaire. Ceci suggère l'implication du CCK dans le développement de l'obésité. (Dockray, 1987) (Moran, 2000).

1.7 La ghréline

Comme il a été dit précédemment, il existe un grand nombre de peptides gastro-intestinaux sécrétés par les cellules entéroendocrines du tractus gastro-intestinal. Plusieurs de ces peptides ont été démontrés comme possédant diverses actions dans le métabolisme des lipides dans plusieurs organes comme le foie, les tissus adipeux et l'intestin. La prochaine section portera sur la ghréline, un peptide qui a largement été étudié pour son rôle dans la sensation de faim. Elle a aussi beaucoup été étudiée pour son rôle dans l'augmentation de l'accumulation des lipides du foie et des tissus adipeux. La prochaine partie va donc expliquer ce qu'est la ghréline en général et comment elle agit sur le métabolisme des lipides dans le foie et les tissus adipeux. Finalement, ses effets potentiels sur les fonctions intestinales seront décrits.

1.7.1 Informations générales sur la ghréline

La ghréline est un peptide de 28 acides aminés, décrit pour la première fois en 1999 par Kojima *et al.*, comme étant une hormone principalement sécrétée par l'estomac. Ce peptide est retrouvé sous deux formes distinctes dans la circulation : avec (GA) ou sans (GD) un résidu de sérine 3 N-octanoylé. La GA est le ligand endogène pour le

GHSR1a, retrouvé dans le cerveau et les tissus périphériques (Kojima *et al.*, 1999). La liaison de la GA avec son récepteur active les neurones NPY et AGRP de l'hypothalamus pour favoriser l'appétit et la prise de nourriture (Chen *et al.*, 2004). La ghréline est majoritairement sécrétée par des cellules X/A et, de façon moins importante, par d'autres organes tels les tissus adipeux et le pancréas (Seim *et al.*, 2013). Les cellules X/A sont retrouvées le long de tout le tractus gastro-intestinal, mais majoritairement dans l'estomac (Sakata et Sakai, 2010).

Le gène de la ghréline encode la preproghréline qui est cotraductionnellement clivée en proghréline (Yang *et al.*, 2008). Une fois relâchée dans la lumière du RE, l'enzyme *ghrelin O-acyltransferase* octanoyle la proghréline pour obtenir la GA qui est la forme active (Figure 13). Les niveaux de GA sont inversement proportionnels à la vidange gastrique alors que la concentration de GA dans le plasma est augmentée en état de jeûne jusqu'à un pic avant l'ingestion du prochain repas (Cummings *et al.*, 2001). Cependant, la sécrétion de GA diminue lors de la digestion de nutriments. Dans le plasma, la GD, sous forme non octanoylée obtenue par la dégradation de la GA, correspond en fait à la grande majorité de la ghréline disponible dans le plasma (Figure 14) (Hosoda *et al.*, 2000). Dépendamment des articles, les niveaux de GD dans le sang vont de 50% à 95%. Ces proportions changent aussi dépendamment de la santé du sujet puisque les obèses ont une augmentation du taux de GA relativement à la GD (Tschop *et al.*, 2001). On a longtemps cru que la GD était seulement un produit de dégradation sans aucun effet puisqu'elle ne pouvait se lier au GHSR1a. Actuellement, cette forme de ghréline semble posséder différentes activités biologiques (Kojima *et al.*, 1999), menant à la réduction de la balance énergétique et à la baisse de l'apport alimentaire, contrairement à la GA (Asakawa *et al.*, 2005).

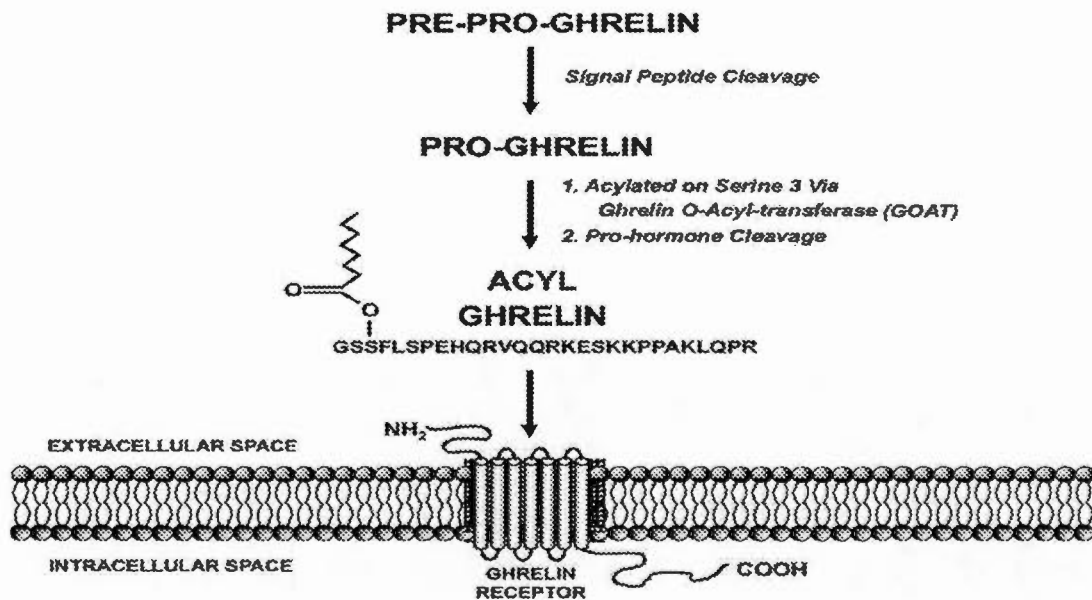


Figure 1.13 Formation de la ghréline acylée. La préproghréline est en premier lieu clivée pour devenir la proghréline et qui obtient ensuite un groupement acyl grâce à la GOAT pour devenir de la ghréline acylée. Prise de Kemp, et al. (2011) (Kemp *et al.*, 2011).

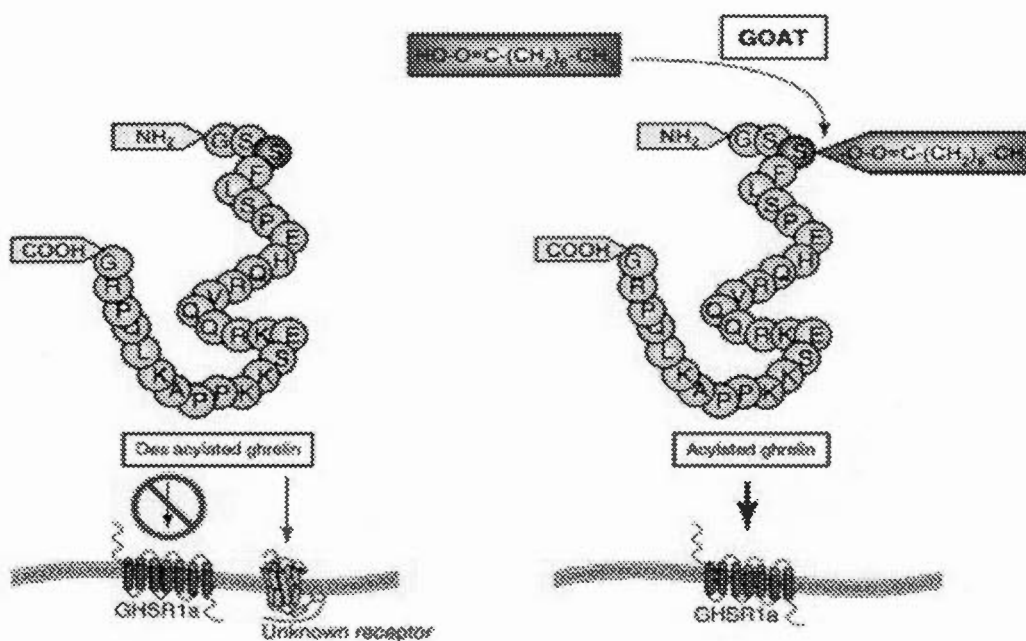


Figure 1.14 Structure de la ghréline acylée et désacylée. La ghréline désacylée ne peut pas se lier au GHSR1a. La GOAT (Ghrelin O Acyltransferase) ajoute le groupement acyle qui permet maintenant à la ghréline de se lier au récepteur. Figure adaptée de Andrews et al. (2011) (Andrews, 2011)

Les deux types de ghréline ont de nombreux effets bien au-delà de leur impact sur l'appétit. La ghréline influence le métabolisme du glucose et de l'insuline, l'inflammation, la prolifération cellulaire, la motilité gastro-intestinale, la sécrétion d'acide gastrique, le métabolisme des lipides, etc. (Figure 14) .

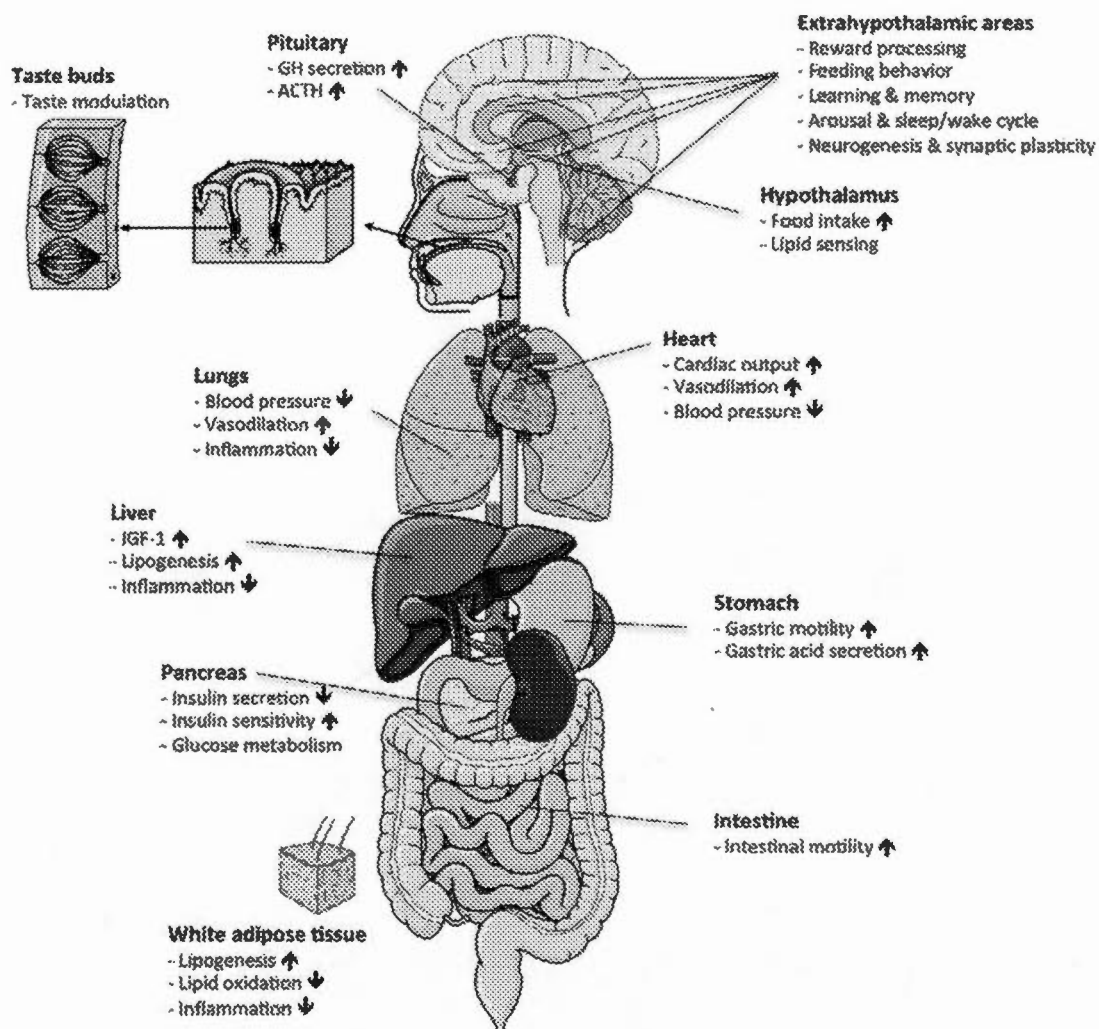


Figure 1.15 Nombreuses actions et rôles physiologiques de la ghréline acylée. La ghréline acylée possède de nombreuses fonctions reliées à de nombreux tissus. Elle se lie à son récepteur au niveau du cerveau pour accomplir différents rôles, agissant sur les tissus périphériques ou sur la sensation de faim. Elle peut également agir directement sur certains tissus pour engendrer son action. Prise de Collden, et al. (2017) (Collden, Tschop et Muller, 2017)

1.7.2 La ghréline et son impact sur le métabolisme des lipides

Chez la souris, l'injection au cerveau (injection centrale) de GA influence le métabolisme des lipides des tissus périphériques en stimulant l'activation dans les neurones du neuropeptide Y (NPY) et de l'*Agouti-related protein* (AGRP) par le système nerveux central (Figure 15) (Theander-Carrillo *et al.*, 2006). Cette stimulation augmente l'expression de différentes protéines d'entreposage comme l'ACC, le FAS, la LPL et les PLINs dans les tissus adipeux. Dans ces derniers, la stimulation par la ghréline peut favoriser l'adipogenèse en augmentant les PPAR γ et SREBP1 (Rodriguez *et al.*, 2009). La GA, lorsqu'est injectée au cerveau, influence aussi le métabolisme des lipides des adipocytes sans que l'activation du récepteur GHSR1a soit nécessaire, via l'axe AMPK-malonyl CoA-CPT1 et la voie de signalisation BSX-FOXO1-pCREB (Varela *et al.*, 2011). Selon ces articles, il y aurait donc une action non spécifique de la GA qui est grandement à définir. De plus, l'AGRP et le NPY ont un rôle non déterminé dans le circuit de la lipogénèse. Dans le foie, une injection centrale est capable de causer une stéatose hépatique en augmentant le nombre de GLCs et de TAGs, grâce à l'augmentation de la lipogénèse *de novo* (Davies *et al.*, 2009). L'action de la GA ne se limite donc pas aux tissus adipeux car il est bien possible qu'elle puisse agir sur plusieurs autres organes.

La ghréline augmente directement l'accumulation des lipides des tissus périphériques sans passer par le cerveau (figure 15). En effet, la GA et la GD sont capables de promouvoir la lipogénèse en augmentant l'expression génique du *Sterol regulatory element-binding proteins 1* (SREBP1) et l'expression protéique de l'ACC, FAS et LPL dans les adipocytes de souris (Rodriguez *et al.*, 2009). En outre, les deux ghrélines peuvent augmenter l'accumulation lipidique selon la concentration et l'expression des PLINs. De son côté, la GD a la capacité de stimuler l'absorption des AGs et de diminuer la lipolyse au niveau des adipocytes (Miegeue *et al.*, 2011). Par ailleurs, dans le foie, l'injection périphérique de GA induit l'expression génique de l'ACC, de FAS, du glucose-6-phosphatase, concomitamment avec une réduction de

l'AMPK phosphorylée, contribuant ainsi à l'accumulation des TAGs (Barazzoni *et al.*, 2005). Ceci indique donc que, de façon similaire à l'injection centrale, l'injection périphérique a aussi un effet important sur différents organes et tissus. Cependant, il n'a pas été encore démontré comment la ghréline peut agir sur les différents facteurs de la lipogénèse. En plus de cela, puisque la GD augmente aussi le métabolisme lipidique, on pourrait croire que cette régulation positive ne soit pas la conséquence de l'interaction avec le GHSR1a.

Le mécanisme qui permet à GA et GD d'influencer directement le métabolisme des lipides demeure largement inconnu, mais il semblerait que le sentier mTOR y soit impliqué (Li *et al.*, 2014). Une confirmation a été apportée par l'inhibition du mTOR qui bloque la régulation positive des facteurs de transcription et des enzymes par la ghréline.

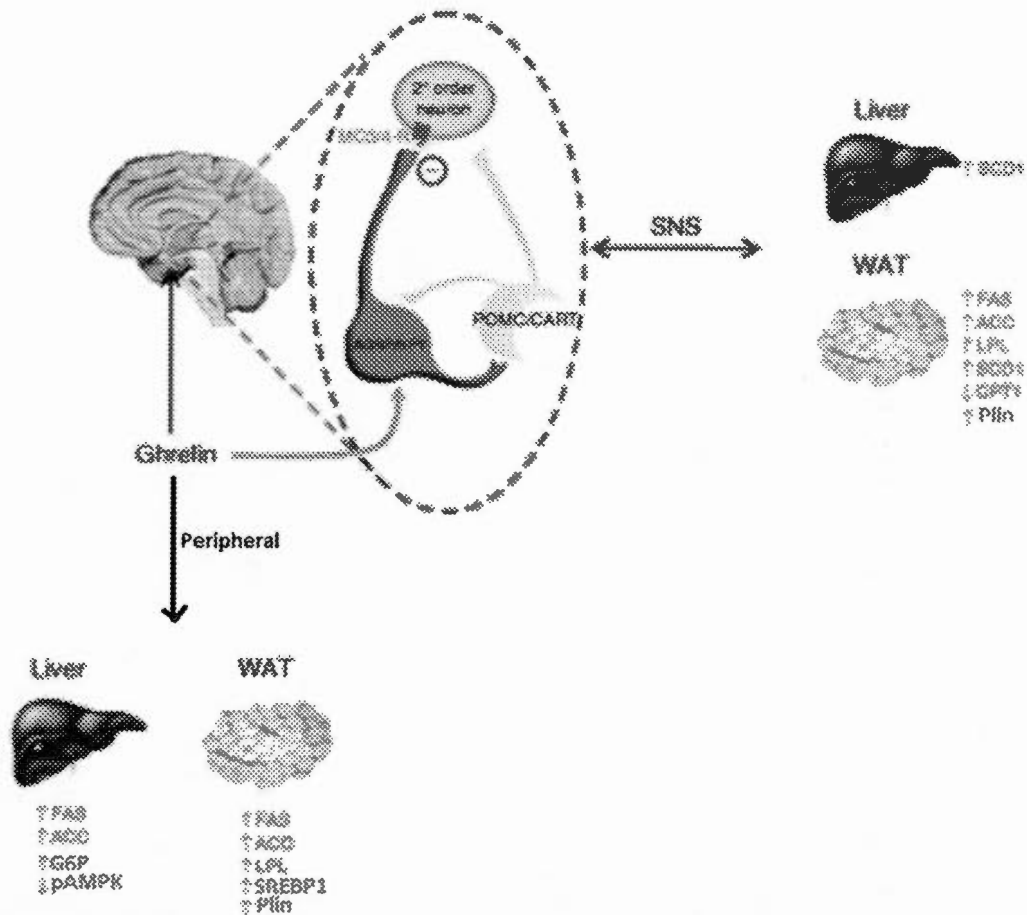


Figure 1.16 Actions centrales et périphériques de la ghréline sur le métabolisme des lipides. Lorsque la ghréline acylée est sécrétée, elle agit directement ou indirectement sur le métabolisme des lipides. Lorsqu'elle se lie à son récepteur au cerveau, elle influence majoritairement l'expression de certaines protéines en lien avec la β -oxydation et la lipogenèse dans les tissus adipeux, mais très peu dans le foie. Par contre, elle démontre un potentiel à induire à la fois dans le foie et les tissus adipeux de nombreuses protéines fonctionnant dans la lipogenèse. Adaptée de Verela, et al. (2011) (Varela *et al.*, 2011)

1.7.3 La ghréline et l'intestin

Même si la ghréline est produite en grande concentration dans le petit intestin et que son immunodétection a été reportée tout le long du tractus gastro-intestinal, il n'y a en ce moment que peu d'information sur son impact localement (Hosoda *et al.*, 2000). Les études suggèrent grandement que la ghréline exerce d'importantes fonctions anti-inflammatoires et protectrices dans différents modèles de maladie gastro-intestinale. Comme exemple, la ghréline semble améliorer des dysfonctions intestinales et alléger les dommages produits par des perfusions tout en protégeant l'organisme contre la septicémie (Shah *et al.*, 2009 ; Wan *et al.*, 2016 ; Wu *et al.*, 2005). En plus, il est rapporté que la ghréline puisse réduire l'inflammation au niveau du côlon (Konturek *et al.*, 2009), restaurer la perméabilité intestinale (Cheng *et al.*, 2015), et limiter les conséquences graves causées par la colite ulcéreuse (Matuszyk *et al.*, 2015). Finalement, la ghréline peut alléger l'impact nocif provoqué par une ischémie-réperfusion (Zhang *et al.*, 2013) ou l'irradiation au niveau intestinal (Wang *et al.*, 2015). En addition, les deux formes de ghréline exercent des effets inverses sur la motilité gastro-intestinale (Charoenthongtrakul *et al.*, 2009 ; Edholm *et al.*, 2004 ; Hirayama *et al.*, 2010) : la GA stimule alors que la GD inhibe la motilité. Finalement, les deux formes de ghréline ont la capacité à promouvoir la prolifération cellulaire au niveau intestinal ou dans les lignées cellulaires IEC-6 et Caco-2 (Waseem *et al.*, 2014 ; Yu, Xu et Fan, 2013). La ghréline aurait par conséquent des effets bénéfiques importants sur l'intestin, mais contribuerait aussi à une augmentation du développement des tumeurs. Elle jouerait donc des rôles très ravirés dans cet organe.

CHAPITRE II

PROJET DE RECHERCHE

2.1 Énoncé du problème

Comme il a été mentionné précédemment, les GLCs jouent un rôle important dans le contrôle de la sécrétion des CMs grâce à leur mécanisme d'hydrolyse/réestérification. Cette observation est bien intéressante car les GLCs semblent avoir le potentiel de réduire fortement le développement des maladies cardiovasculaires en empêchant la sécrétion des CMs dans des conditions postprandiales. La découverte de nouveaux régulateurs est donc essentielle car elle permettrait de traiter les dyslipidémies postprandiales.

La ghréline acylée demeure donc un choix tout à fait pertinent puisqu'il est capable de réguler le métabolisme lipidique au niveau de certains organes, principalement le tissu adipeux et le foie. Des études sont encore nécessaires pour valider si la ghréline acylée a la capacité de moduler le transport des graisses dans le petit intestin.

2.1 Hypothèses

Puisque la ghréline acylée est capable de réguler le métabolisme lipidique de certains organes, nous suggérons qu'elle augmente également l'entrée des lipides dans le petit intestin ainsi que leur estérification et distribution dans les GLCs et chylomicrons. Comme il a été expliqué dans la section de l'introduction, les GLCs ont également un important rôle dans la formation des CMs, principalement grâce à leur capacité à

fournir les acides gras au RE par un mécanisme d'hydrolyse/réestérification. Nous nous attendons alors à une relation réciproque entre les GLCs et CMs dans l'intestin.

2.2 Objectifs

L'objectif principal de ce projet de recherche est de mieux comprendre les mécanismes régulant les interactions entre les GLCs et la formation/sécrétion des CMs en présence ou absence de ghréline. Plus spécifiquement, nos expériences consistent à évaluer si la ghréline acylée a des effets sur le métabolisme des lipides au niveau du petit intestin, principalement sur la formation des gouttelettes lipidiques et la sécrétion des CMs.

2.3 Stratégie expérimentale

Pour répondre aux objectifs de ce projet de recherche, des cellules épithéliales Caco-2/15, largement employées précédemment pour examiner le transport des nutriments, des électrolytes, des médicaments et autres composantes (Angelis et Turco, 2011), seront utilisées pour examiner les interactions GLCs-CM et explorer le rôle de la ghréline acylée. À cette fin, ces cellules seront incubées 2 jours en présence de la ghréline acylée et de l'acide oléique pour observer, par fluorescence, l'accumulation de GLCs. La sécrétion des différentes lipoprotéines, quant à elle, sera analysée suite à l'incubation des cellules avec oléique radioactif C¹⁴. Il a déjà été démontré que ces cellules possèdent bien les récepteurs pour la GA (GHSR1a) après utilisation de la trypsine (An Liu *et al.*, 2016).

En vue des nombreux effets de la ghréline sur divers organes tels que le cerveau, un modèle animal de hamster syrien doré mâle de 9 semaines sera employé et exposé à une diète obésogène. Pour des raisons budgétaires, seulement des mâles seront utilisés pour cette étude car ils ne sont pas pourvus de cycle hormonal, retrouvé chez la femelle. Il est important de noter que des animaux de 9 semaines ont été choisis afin de ne pas avoir à prendre en considération la croissance de l'animal dans nos

paramètres à étudier. Le hamster syrien doré sera nourri *ad libitum* avec une diète conventionnelle ou de type occidental (riche en gras et en lipides) pendant 8 semaines pour lui permettre de développer une dyslipidémie ainsi qu'une résistance à l'insuline. Ces animaux seront traités avec de la GA (100nm/kg/jour) de façon continue durant les 2 dernières semaines sous le régime diététique. Puisque la ghréline acylée se dégrade très rapidement dans la circulation sanguine alors que nous voulons voir ses effets chez une personne avec des niveaux très élevés, il est donc nécessaire de l'administrer de façon continue. Le temps et la concentration utilisés ont été choisis comme conditions permettant le développement de l'obésité et de la dyslipidémie chez le rat (Cong Liu *et al.*, 2016). Il est à noter que cette hormone sera donnée seulement à la fin de la diète, ce qui nous permettra à déterminer si elle a le potentiel d'augmenter la sévérité de la dyslipidémie chez le hamster.

La prise alimentaire et le gain de poids seront évalués toutes les semaines, mais les lipoprotéines plasmatiques seront analysées seulement au moment du sacrifice afin de déterminer l'effet potentiel de la GA sur le développement de la dyslipidémie postprandiale. L'accent sera particulièrement placé sur la sécrétion des CMs en réponse à un repas gras, et la muqueuse du petit intestin sera scrutée pour l'évaluation de la quantité de GLCs et leur contenu en TAGs et protéines.

2.4 Limites du modèle

Les cellules Caco-2/15 sont des cellules ayant des caractéristiques entérocytaires lorsqu'elles sont différenciées. Même si elles possèdent des caractéristiques similaires, elles ont certaines limitations puisqu'elles ne sécrètent que 10-15% des acides gras absorbés, ce qui n'est pas le cas des entérocytes primaires qui exportent la grande majorité des acides gras sous forme de CM. En plus, dans des conditions cellulaires, il est uniquement possible de déterminer l'effet de la GA dans des entérocytes, alors que l'intestin est composé de différents types de cellules, et de plus

il interagit avec plusieurs d'organes. Cependant, nous avons l'avantage de tester l'influence de la GA sur les entérocytes sans interférence des autres cellules et tissus.

Le modèle animal, quant à lui, permet de compenser pour plusieurs défauts du modèle cellulaire, permettant ainsi d'étudier l'effet de la GA sur un système complexe. Le hamster est un meilleur modèle que la souris et le rat pour l'étude du métabolisme lipidique. Ce dernier dans le modèle du hamster est beaucoup plus similaire à l'humain. En effet, le hamster possède une protéine centrale se nommant la protéine de transfert du cholestérol ester, ayant les propriétés de transférer le cholestérol ester des HDLs aux LDLs. Les hamsters peuvent également accumuler les LDLs dans la circulation sanguine et développer des maladies cardiovasculaires à l'instar de l'humain, ce qui n'est pas le cas chez les deux autres rongeurs. Malgré les forces du hamster, il demeure spéculatif d'extrapoler les résultats obtenus au niveau de cet animal à l'humain

CHAPITRE III

ARTICLES

3.1 Article 1 : «Gastrointestinal factor regulating lipid droplets formation in the intestine »

Auclair N et al. Gastrointestinal factor regulating lipid droplets formation in the intestine. *Exp Cell research*. 2018. S0014-4827(17)30693-6

Avant-propos :

L'article revue présenté ici a permis de mieux déterminer les objectifs de ce mémoire. En effet, son but était de faire un tour de la littérature pour bien comprendre tous les mécanismes qui engendrent la formation des gouttelettes lipidiques dans l'intestin et de trouver tous les possibles facteurs gastro-intestinaux qui peuvent avoir un impact sur leur formation. Il a été démontré que plusieurs peptides gastro-intestinaux pourraient avoir un tel effet dans le petit intestin et que, parmi eux, il semblerait que la ghréline ait le plus grand potentiel. Il fut donc décidé de tester l'effet de ce peptide sur le métabolisme lipidique de l'intestin et le développement des dyslipidémies.

J'ai contribué à la conception du plan de l'article, à la revue bibliographique et à sa rédaction. articles et à son écriture. Lilya Melboucci a aidé à la conception des figures. Émile Levy et David St-Pierre ont corrigé l'article et donné leurs commentaires pour l'améliorer.

Gastrointestinal factors regulating lipid droplet formation in the intestine Auclair N^{1,2},
Melbouci L^{1,3}, St-Pierre D^{1,3}, Levy E^{1,2,4}

¹Research Centre, CHU Sainte-Justine and Department of ²Nutrition, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada, H3T 1C5

³Department of Sciences and Physical Activities, UQAM, Quebec, Canada, H2X 1Y4

⁴Institute of Nutrition and Functional Foods (INAF), Université Laval, Quebec, Quebec, Canada, G1V 0A6

Running Head: Cytosolic lipid droplets in intestinal regulation

Keywords: Chylomicrons, lipid droplets, gastrointestinal peptides, intestine, lipid metabolism, enterocytes

Correspondence: Dr Emile Levy, GI-Nutrition Unit, Research Centre, CHU Sainte-Justine, 3175 Sainte-Catherine Road, Montreal, Quebec, Canada H3T 1C4, Telephone: +1 (514) 345-

7783; Fax: +1 (514) 345-4999; email: emile.levy@recherche-ste-justine.qc.ca

Résumé

Les gouttelettes lipidiques cytosoliques (CLD) sont considérées comme étant des réservoirs lipidiques neutres, qui protègent les cellules contre une lipotoxicité. Il est devenu clair que ces organites dynamiques fascinants jouent un rôle non seulement dans le stockage de l'énergie et le métabolisme, mais aussi dans la manipulation cellulaire des lipides et des protéines, la communication interorganelle et la signalisation de diverses fonctions. Leur dysrégulation est associée à de multiples troubles, y compris l'obésité, la stéatose hépatique et les maladies cardiovasculaires. L'objectif central de cette revue est de mettre en évidence le lien entre la dynamique des CLD intraenterocytaires et la formation des chylomicrons, principal véhicule lipidique alimentaire intestinal, après avoir étudié la morphologie, la composition moléculaire, la biogenèse et les fonctions du CLD.

Summary

Cytoplasmic lipid droplets (CLD) are considered as neutral lipid reservoirs, which protect cells from lipotoxicity. It became clear that these fascinating dynamic organelles play a role not only in energy storage and metabolism, but also in cellular lipids and protein handling, inter-organelle communication, and signalling among diverse functions. Their dysregulation is associated with multiple disorders, including obesity, liver steatosis and cardiovascular diseases. The central aim of this review is to highlight the link between intra-enterocyte CLD dynamics and the formation of chylomicrons, the main intestinal dietary lipid vehicle, after overviewing the morphology, molecular composition, biogenesis and functions of CLD.

List of abbreviations

ACC : Acetyl-CoA carboxylase

ACSL : Long-chain acyl-CoA synthetase

AMPK : AMP-activated protein kinase

Apo: Apolipoprotein

ATGL : Adipose triglyceride lipase

CD36 : Cluster of differentiation 36

CGI-58 : Comparative gene identification-58

CIDE : Cell death-inducing DNA fragmentation factor 45-like effector family proteins

CM : Chylomicron

CE: Cholesteryl Ester

CLD : Cytoplasmic lipid droplet

DGAT : Diacylglycerol transferase

ER : Endoplasmic reticulum

ERLLD : ER luminal LD

FA : Fatty acids

FABP : Fatty acid binding protein

FAS : Fatty acid synthase

FOXO3 : Forkhead box O3

GHSR1a : Growth hormone secretagogue receptor of type 1a

GLP-1 : Glucagon-like peptide 1

GLP-2 : Glucagon-like peptide 2

GI : Gastrointestinal

IR: Insulin resistance

MFGE8 : Milk fat globule epidermal growth factor-like 8

MTTP : Microsomal triglyceride transfer protein

PC: Phosphatidylcholine

PL: Phospholipids

PLIN : Perilipin

PYY : Peptide tyrosine-tyrosine

TG : Triacylglycerol

1. Introduction

Cytosolic lipid droplets (CLD) are organelles found in most tissues, which are mainly composed of triacylglycerol (TG) (1). They were primarily studied in the adipose tissue and liver where their accumulation was associated with obesity-related disorders such as insulin resistance (IR), atherosclerosis and non-alcoholic fatty liver steatosis (2). The small intestine is par excellence the organ responsible for the absorption of dietary fat via the obligatory formation of chylomicrons (CM) (3). These vehicles are essential not only for the transport of the alimentary lipid but also for the release of fat-soluble vitamins into the bloodstream via the lymphatic system (4). Thus, non-esterified fatty acids (FAs) become readily available for the different cell types of the organism and eventually for their organelles in terms of structural and signalling purposes, as well as for the regulation of energy homeostasis. The mechanisms controlling CM assembly and output are critical since the up-regulation of these processes in the postprandial state is proposed to cause cardiometabolic disorders (5). Growing evidence shows that FAs, present in excess after dietary fat consumption, can be esterified and incorporated into CLD within enterocytes (3). Hence, the modulation of the enterocyte storage in the form of CLD is extremely important since it protects from FA toxicity and exaggerated postprandial TG levels, which constitute a strong risk for cardiovascular disorders (6). However, despite significant advances, the pathways and key factors coordinating CLD dynamics and CM handling in the gut are incompletely defined. Furthermore, the role of gastrointestinal (GI) peptides on these specific interactions between droplets and CM is far from established. In the present review, the challenging issue relative to the involvement of CLD in CM processing under physiological and pathophysiological conditions will be underlined. The importance of the GI peptides in their interconnection will also be emphasized. Finally, various gaps in this area of research and investigation requirements to further our knowledge will be highlighted.

2. From dietary lipid to chylomicron production

2.1 Fat digestion step

In the intestine, lipid transport and CM formation are regulated through a complex processes (3, 7). In the digestive phase, dietary TGs are partially hydrolyzed by gastric lipase (20-30%) and subsequently by pancreatic lipase (70-80%), resulting in 2 molecules of FA and sn-2 monoacylglycerol (8). The pancreatic phospholipid (PL)-hydrolyzing enzymes include phospholipase A₂ that hydrolyzes phosphatidylcholine (PC), the preponderant dietary PL, to form lyso-PC and FA. The third digestive enzyme is cholesterol esterase that decomposes cholesteryl ester (CE) into free cholesterol and FA (9-11). Concomitantly, lipolytic products are solubilized by bile acids to generate micelles in the lumen of the duodenum and the proximal jejunum (12, 13). Following the formation of micelles, in the presence of low concentrations of long-chain FA, the lipolytic uptake is achieved by passive diffusion (14). By contrast, in the presence of higher levels of long-chain FA, a carrier membrane fatty acid binding protein (FABP) is fully required (15, 16). Later, many additional lipid transporters were discovered in the small intestine. For example, the carrier protein cluster of differentiation 36 (CD36) transports mainly long chain FAs into enterocytes and plays a major role in the regulation of food intake, perception of fat taste and lipid absorption (17, 18). CD36 not only promotes CM formation, but also his protein ubiquitination and degradation by the proteasome (17, 18). Other cholesterol transporters are found in the enterocytes such as scavenger Receptor class B type I, Nieman Pick C1-Like, and ATP Binding Cassette ABCG5/G8 that cooperates to limit sterol intestinal absorption (19-23). Further, ABCA1 is also capable of cholesterol efflux to basolateral apolipoprotein (Apo) A-I to form high-density lipoproteins (HDL) (24).

2.2 Intracellular lipid transport step

After crossing the brush border membrane, the lipolytic products are processed by cytosolic proteins for their intracellular trafficking towards various compartments, including the endoplasmic reticulum (ER), where their re-esterification takes place (25-28). Two cytosolic FABP have been identified: intestinal-FABP (I-FABP) and liver-FABP (L-FABP) (29-31). I- and L-FABP bind differently according to lipid classes, but both proteins with a greater affinity for unsaturated than saturated FAs (32). It is suggested that L-FABP mostly transports FA to mitochondria for β -oxidation while I-FABP promotes TG synthesis in the ER (33). In this organelle, the lipolytic products are re-esterified to form TG, PL and CE through specific enzymatic pathways. Monoacylglycerol acyltransferases (MGAT) 2 and 3 catalyze the esterification of acyl-CoA and monoacylglycerol (MG) to form diacylglycerol (DG) while transferase (DGAT) 1 and 2 esterify DG into TG (25-28). TG are either stored in lipid droplets (LD) or used for CM formation (34).

Following their esterification, hydrophobic lipids are assembled with apolipoproteins (Apo) to form complexes known as CM in order to allow their transport in the blood circulation (35). Three types of proteins are critical for CM assembly and secretion: Apo B-48, microsomal triglyceride transfer protein (MTTP) and Sar1b GTPase (3, 36, 37). Apo B-48 is an essential structural protein facilitating the formation of CM within the ER while MTTP enhances the lipoprotein biogenesis by shuttling neutral lipid to Apo B acceptor molecules. In fact, MTTP can interact physically with Apo B-48, allowing an optimal structural configuration of the latter in order to accept more lipids. The pre-CM vesicle is transported to the Golgi apparatus with the crucial presence of the small Sar1b GTPase that initiates the vesicular coat protein complex

II-dependent transport of cargo from the ER to the Golgi apparatus (38, 39). Genetic defects of *Apo B-48*, *MTP* and *SARIB* lead to hypobetalipoproteinemia, abetalipoproteinemia and CM retention disease, respectively (40).

3 Cytosolic lipid droplets in the intestine

CLDs are composed of a hydrophobic TG and CE core surrounded by a PL monolayer with very few cholesterol molecules and proteins (41, 42). CLD can accumulate in the intestine, liver, skeletal muscle, adrenal cortex, macrophage, mammary glands and adipose tissues (43). In the intestinal tract, they are mainly detected in the jejunum but are also present in decreasing numbers and sizes in the distal part of the small intestine (44). Dietary TGs are directly related to the FA composition of CLD in enterocytes (45). Two distinctive pathologies are associated with excessive CLD accumulation in humans: abetalipoproteinemia and CM retention disease (46, 47). As mentioned before, these two conditions are characterized by defective lipid absorption and especially CM secretion.

3.1 Lipid droplet formation

As mentioned above, CLDs store excess energy in the form of TG and releases FFA by TG degradation, a process highly dynamic in cells. In fact, their lipid storage capacity is determined by their “size” and is controlled by the balance between TG synthesis and hydrolysis.

3.1.1 The importance of DGAT

Approximately 95% of all TG absorbed by the small intestine are used for CLD and CM formation (48, 49). Currently, it is expected that CLD formation results from an initial clustering of neutral lipid within the hydrophobic region of the ER membrane (50). It is within this ER region that FAs are esterified into TG by DGAT1 and DGAT2 (49, 51). Interestingly, TG produced by DGAT1 are directly packaged into

CM while those generated by DGAT2 are mostly stored in CLD (49, 51). Previous studies reported that DGAT1^{-/-} mice have reduced concentrations of TG in most tissues while an accumulation of abnormal lipid levels was observed in the intestine (52). It seems that upon reaching a certain size, sequestered TG bud off from the ER and form nascent LDs that are either transported to the cytosol or the lumen (53-55). However, the mechanisms governing this process remain largely uncharacterized.

3.1.2 Role of endoplasmic luminal lipid droplet

As previously proposed, ER luminal LDs (ERLLDs) that do not carry an Apo B-48 molecule are stabilized as pre-CM following the addition of PL monolayer in the ER lumen (7, 56). In response to ERLLD hydrolysis, lipids are re-esterified and used for CM core expansion and assembly (57). Interestingly, LDs accumulate in the absence of Apo B-48 but not in response to MTTP inactivation when LDs are completely absent in the ER lumen (58, 59). Previous observations indicate that MTTP may associate to ERLLD and fulfill a crucial function in the formation and stabilization of luminal LDs.

3.1.3 Protein composition of CLD

A total of 181 different proteins were recently shown to be associated with CLD (60). Among them, only 19% are expected to influence lipid metabolism and transport. The other proteins are also present in other organelles, such as ER, mitochondria and Golgi, and have various roles in carbohydrate metabolism, localization and transport of proteins, and cytoskeleton integrity, which underlines the necessity to better characterize their physiological relevance moieties in order to improve our knowledge relative to the regulatory functions of CLD. CLD protein composition is proposed to differ depending on its location in the tissues (60). For instance, proteins such as long-chain acyl-CoA synthetase (ACSL) 5, MTTP and Apo A-IV are only reported to be expressed in cultured human Caco-2 epithelial cells whereas

CLDs are mostly coated by perilipins (PLIN) 2 and 3 in the intestine, which is not the case in other organs such as the adipose tissues and liver (60-63). PLIN proteins are the most abundant in CLDs and they are mainly involved in their formation, stabilization and hydrolysis. They translocate from the cytosol to nascent LDs and are later submitted to ubiquitin-proteasome degradation in the cytosol (64, 65). The ingestion of a chronic high fat meal is reported to increase PLIN-2 concentration while an acute lipid challenge is also shown to upregulate PLIN-3 at the level of the CLD membrane (66).

3.2 Lipid droplet hypertrophy

Various ER resident proteins are critical for CLD formation and expansion probably by increasing transfer of lipid and enzyme molecules from ER to CLD.

3.2.1 Hypertrophy by TG synthesis at the surface of the LD

CLD expansion is regulated through two main mechanisms: TG production and CLD fusion (67, 68). TG synthesis is expected to occur directly on the surface of CLD and could be regulated through the activity of acyl-CoA synthetase long-chain family members 3, 4 and 5 (ACSL3, ACSL4 and ACSL5), glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT3) and monoacylglycerol acyltransferase 2 (60, 69). Both ACSL and GPAT3 are responsible for the transformation of FAs into acyl-CoA derivatives that will subsequently be modified by acyltransferase 2 to form DG molecules (70). DGAT2 can attach to CLD where it catalyzes the conversion of DG into TG (69). Their interaction could also explain the accumulation of DG into LD. Newly synthesized TGs are directly aggregated to promote CLD hypertrophy (69). During their expansion, LDs require to be closely interacting with ER to accumulate sufficient amounts of lipids. It is suggested that the presence of fatty acid transport protein 1 (FATP1) and DGAT2 is important for the association between LD and ER, which yields acyl-CoA formation in the ER and TG synthesis at LD surface in

presence to DGAT2 (68). The re-localization of DGAT2 and FATP1 proteins is essential for the growth and expansion of new LDs since their absence lead to formation of smaller LDs (71). Another protein, seipin, is also suspected to regulate the contact between ER and CLD (72). Its inactivation in A431 cells (epidermoid carcinoma) completely stops the transport of proteins and lipids from the ER to CLD. However, this does not influence CLD formation, only its growth. The last protein found to have an impact on CLD growth and accumulation is the Fat storage-inducing transmembrane protein 2. Its knockdown in zebrafish reduces the accumulation of CLD in enterocytes (73).

3.2.2 Hypertrophy by fusion of LDs

LD hypertrophy could also result from the fusion of small LDs (67). The process is mediated by cell death-inducing DNA fragmentation factor 45-like effector family proteins (CIDE), including CIDEa, CIDEb and CIDEc (74). For instance, in 3T3-L1 adipocytes, CIDEc has been suggested to play a major role in the fusion process by promoting the formation of pores at the junction between CLD, possibly in response to the remodelling of PL membrane and promoting the formation of contact sites, allowing the transport of neutral lipids from one CLD to another (75, 76). The storage capacity of small CLDs (i.e. those found in the intestine) appears to be determined by higher concentrations of CIDEb while CIDEa and CIDEc are suggested to determine the greater expansion capacity of large CLDs (i.e. those found in adipocytes) (77, 78). In enterocytes, CIDEb is localized in the ER and CLD (79). However, CIDEb-deficient mice display decreased TG secretion and CM size while promoting CLD hypertrophy in the small intestine (79). Previous studies also support the potential impact of CIDEb on CM synthesis. Lipid droplet-associated hydrolase (LDAH) is a new protein abundantly found in LD which promotes CLD fusion (80). LDAH increases TG accumulation and promotes fusion of CLDs by reducing adipose triglyceride lipase (ATGL).

3.2.3 Importance of phospholipids in CLD growth

Another key factor regulating CLD expansion is the PL availability. During the process of CLD hypertrophy, an important supply of PL is essential for the expansion of the monolayer and prevention of its coalescence (81). The most important and abundant PL required for CLD growth are phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) (1). If PE is the predominant form of PL (>50%) required for CLD growth (1, 82), other PL moieties, such as phosphatidic acid, are present in smaller concentrations but their presence is also necessary

during the CLD hypertrophy process. In humans, lyso-PC acyltransferases 1 and 2 are both localized on CLD surface and they regulate PL synthesis (83). For example, lyso-PC acyltransferases 2 was identified on the surface of CLD in Caco-2 cells, supporting its potential role in enterocytes (84). Further, lyso-PC acyltransferase 3 is also reported to contribute to CLD metabolism through the regulation of CM synthesis in the intestine (85, 86). All these findings reinforce the theory that CLD grow within the ER before being transported by microtubules to the basolateral area of enterocytes where important stocks of neutral lipid accumulate (87). Interestingly, it has been proposed that CLD growth rely on the capacity to be transported through cytoskeletal tracks (88-91).

3.3 Lipolysis of CLD lipids

When extracellular fatty acid supplies diminished, mechanisms are triggered to induce lipolytic pathways.

3.3.1 CLD lipolysis and the role of lipases

In adipose tissues, CLD-derived TGs are hydrolyzed by ATGL to form DG and FA (92). De-esterification of DG is achieved by hormone-sensitive lipase and monoacylglycerol lipase to yield MG, FAs and glycerol molecules (92). Interestingly,

hormone-sensitive lipase knockout mice do not display any effect on TG metabolism but they are highly efficient in maintaining cholesterol homeostasis (93). Thus, other lipases are also proposed to hydrolyze DG: pancreatic lipase and TG hydrolase, which are expected to split cytoplasmic TG in enterocytes. Before it undergoes lipolysis, ATGL has to be activated on its N-terminal domain (44, 94, 95). Previously, this process was reported to be mediated by the comparative gene identification-58 (CGI-58) protein after its release induced by the phosphorylation of the protein kinase A. Mutations in CGI-58 leads to the Chanarin-Dorfman syndrome resulting in massive TG accumulation and CLD hypertrophy (96). The effect has been reported in all enterocytes, but it is particularly important in epithelial cells located in the proximal part of the small intestine. In addition, CGI-58 deficient mice display increased CE concentrations throughout the GI tract, CLD accumulation in the proximal part of the intestine, and reduced TG hydrolase activity and postprandial plasma TG levels (97). In *C. elegans* enterocytes, lipid droplet protein-1, a CGI-58 homolog, is important for upholding ATGL-1 recruitment on CLD along with lipolysis. It is suggested that protein kinase A regulates ATGL-1 and lipid droplet protein-1 activity since it increases lipolysis in the fasting condition (98). After a meal, phosphorylation of ATGL-1 (protein kinase A-mediated) prevents its degradation by the proteasome and/or increases its activity by promoting its binding to lipid droplet protein-1. Hydrolyzed TG can be transported back to the ER to be re-esterified and used for CM or CLD formation, β -oxidation in mitochondria or as building blocks for the synthesis of other lipid species (44, 49, 99).

3.3.2 Lipolysis and the role of autophagy

It is also suggested that CLDs are targets for autophagy, a process through which cellular contents are compartmentalized for biomolecule breakdown and recycling (100, 101). Defects in this pathway are associated with increased accumulation of dysfunctional proteins yielding alterations in cell functions and/or cell death. In the

intestine, autophagosomes capture CLDs while dietary lipid induces specific autophagic response, a process that targets cytosolic CLDs to lysosomes (87). The same authors demonstrated that CLD-autophagosome structures have been observed long after micelle supply, along with sustained microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3 (LC3) lipidation (autophagosomal marker). The inhibition of autophagy results in the accumulation of TG and CE, which could influence CM and HDL secretion. In the liver and potentially the intestine, the LC3 lipidation system is required for CLD production, which is supported by the observation that autophagy-deficient mice are unable to accumulate CLD under fasting condition (102).

3.4 Important roles of lipid droplets

CLD are recognized as dynamic organelles that govern cellular metabolic processes. The current concept is that CLDs in enterocytes constitute a transient pool of stored lipids that help optimize lipid absorption during food consumption. They also provide sustained lipid supply during fasting.] They are increasingly recognized as genuine organelles in close relation with other organelles, with more and more biological functions.

3.4.1 CLD hydrolysis/re-esterification mechanisms

In the intestine, CLDs have long been considered as inert vesicles dedicated to the storage of neutral lipid but there is now growing interest regarding their relevance in the regulation of various biological functions that are not limited to lipid metabolism *per se*. For instance, CLDs are critical vesicles involved in CM formation. In fact, CLDs can be hydrolyzed, thereby raising the release of lipolytic products that can be used to synthesize TG in the ER membrane which, in turn, serve for the formation of newly assembled CM (103, 104). The mechanism of hydrolysis/re-esterification also promotes the transformation of TG into different lipid moieties, such as PL used for different cell functions, e.g. cell membrane integrity maintenance (105). Available

studies suggest the critical relevance of CLDs not only in the intestine but throughout the whole-body system since they are important mediators of lipid availability, provide TG for CM formation/secretion and influence the development of potentially deadly diseases such as atherosclerosis (106).

3.4.2 CLD protection against lipotoxicity

Another important function of CLDs is to protect cells against lipotoxicity through esterification and storage of potentially toxic lipid species (107). In fact, CLDs are shown to buffer the excessive concentrations of different FAs and lipid moieties (especially sterols) that can provoke cell death. Interestingly, CLDs are not necessarily similar in all parts of the same organ or tissue. For instance, in hepatocytes, heterogeneous CLD types and contents are found within neighbouring hepatic cells (108). The cells with hypertrophied CLDs can supply lipid to surrounding cells while protecting them from death. Although it remains generally uncharacterized, it is appealing to consider that this strategy also takes place in other organs and tissues such as the intestine (109).

3.4.3 CLD interactions with mitochondria

It is important to mention that CLDs share physical proximity with both ER and mitochondria. For instance, in the fasting condition, CLDs are found around mitochondria and this association results in the production of sufficient amounts of energy to maintain biological functions (110- 114). In fact, in response to lipolysis, CLDs can transfer FA directly to mitochondria for β -oxidation. We understand that, upon TG hydrolysis, FA can be directed towards catabolism in mitochondria or re-esterified for storage/CM formation/secretion in the small intestine (114). Importantly, mitochondria can be remodelled through fusion and fission, which are features particularly important in the fasting state since they allow mitochondria to

reach and utilize available FA supplies (115). Such assumptions are supported in *Drosophila* where mitochondrial fusion appears important for signalling pathways promoting CLD formation (116).

3.4.4 CLD impacts on protein inactivation

As reported before, the CLD proteome includes approximately 181 proteins from which approximately 19% are associated to the regulation of lipid metabolism (60). Previous findings indicate that CLDs recruit proteins and subsequently activate and/or inhibit their biological activity (117). For instance, ubiquitinated Apo B accumulates in CLD when autophagy and proteasomal activity are inhibited in the liver (118). The UBXD8, a CLD-derived protein found exclusively in hepatocytes, plays a key role in Apo B ubiquitination. Also, in yeast, squalene epoxidase Erg1 can be stored in CLDs or ER, but this protein is enzymatically inactivated when located within CLDs (119, 120).

3.5 Regulation of lipid droplets in the intestine

As previously reviewed and shown in **Table 1**, several mechanisms are proposed to influence CLD formation in the intestine (113, 121). A plethora of factors such as diets (e.g. high-fat/sucrose vs standard diets), intracellular lipid transporters (e.g. CD36), GI peptides (e.g. GLP-2), intracellular signalling systems (Clock genes, Hedgehog), transcription factors (e.g. liver-x receptor α : LXRA) and the microbiota are proposed to modulate the formation and hydrolysis of CLDs in the intestine. In this section, new regulators are proposed.

3.5.1 Cardiometabolic disorders

Insulin resistance (IR) and type 2 diabetes (T2D) have been found to generate abnormal lipoprotein metabolism (122, 123). They lead to an overproduction of hepatic very-low density lipoprotein (VLDL) and enhance CM secretion, thereby causing hypertriglyceridemia in humans and animal models. One explanation is through the increase in intestinal Apo B-48 production, MTP activity and *de novo* lipogenesis observed in insulin-resistant hamsters and *Psammomys obesus* sand rats (123-126). Apparently, the increase in CM secretion could directly reduce CLD production where most lipids are directed exclusively to ER lumen for CM synthesis.

3.5.2 AMP protein kinase and CLDs

The enzyme AMP-activated protein kinase (AMPK) represents a key mechanism, which has an impact on lipid metabolism and CLD lipolysis (127, 128). Under intracellular stresses, AMPK is activated by elevated AMP/ATP ratios or phospho-AMPK^{thr172} concentrations (129, 130). Consequently, there is an increment in the phosphorylation of important enzymes involved in the regulation of energy balance (131). Indeed, AMPK activation results in the inhibition of *de novo* lipogenesis in the liver and skeletal muscle while it improves glucose homeostasis in patients with T2D (131). In the intestine, AMPK regulates lipid metabolism in mature and immature cells and reduce CM secretion (132). Both 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide and metformin are able to stimulate AMPK activation, improve lipid homeostasis and increase insulin sensitivity in *Psammomys obesus*. In contrast, *Psammomys obesus* with type 2 diabetes and IR display less efficient AMPK for the phosphorylation of crucial metabolic enzymes (132). In the intestine, AMPK activation reduces intestinal CLD lipolysis in fasted *C. elegans* (98). In 3T3-L1 adipocytes, AMPK activation shows similar effects by reducing lipolysis and restraining energy depletion (133). Therefore, it seems that AMPK not only improves lipid homeostasis and lessens CLD lipolysis, but it also lowers CM secretion.

3.5.3 Spastin and CLDs

Spastin, a microtubule-severing protein belonging to the AAA family, is another protein able to influence CLD formation in the intestine (134-137). Spastin-M1, one of its isoforms, targets CLDs and co-localizes on their surface. High levels of spastin-M1 expression reduced the number but increased the size of LDs in intestinal cells of *C. elegans*, spastin-1 (137). The authors of this elegant work suggest that defects in spastin, as a modulator of LDs in neurons, may help understand the pathogenesis of hereditary spastic paraplegia (137).

3.5.4 Forkhead box O3 and CLDs

Some proteins involved in the regulation of tumor growth regulate CLD formation and hypertrophy. Tumor growth (e.g., hepatocellular carcinoma and colorectal cancer) requires substantial amounts of energy and it is proposed that increases in CLD numbers and size can fulfill these needs during development (138-140). For instance, Forkhead box O3 (FOXO3) is a transcription factor that reduces tumor growth by activating an inhibitor of the cell cycle, the cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (141-143). FOXO3 contributes to the reduction of CLD size as its knockout in mice resulted in increased CLD density in proliferative colonic epithelial cells (144). Proliferation of colonic cancer cells depends on the LD-mediated loss of FOXO3, leading to a decrease in the cell cycle inhibitor p27kip1. Additionally, FOXO3 upregulates SIRT6 expression in colonic cells, thereby reducing lipid accumulation while promoting lipid mobilization in the adipose tissue and liver (144-146). Based on these data, it is attractive to that FOXO3 inhibition could increase CLD hypertrophy and promote the accumulation of energy required to sustain tumor growth.

3.5.5 Milk fat globule epidermal growth factor-like 8 and CLDs

Integrin ligand milk fat globule epidermal growth factor-like 8 (MFGE8) is another protein that influences CLD formation in the intestine (147). MFGE8 regulates fat absorption by binding the vitronectin receptors $\alpha\beta3$ and $\alpha\beta5$ integrins (148). In response to their binding to the integrins, the PI3 kinase/mTORC2/PKC ζ pathway is activated and increases cellular free FA intake (147). In turn, this activation stimulates CLD hydrolysis and free FA availability for CM production. Interestingly, increased DGAT2 expression and CLD hypertrophy are reported in both MFGE8^{-/-} and $\alpha\beta3/\alpha\beta5$ ^{-/-} mice (REF). Moreover, these mice display a 50% reduction in TG hydrolase activity and this effect is more important than ATGL or CGI-58 knockdown in enterocytes (97, 149). Although these observations highlight the relevance of considering the MFGE8 and $\alpha\beta3/\alpha\beta5$ pathway in the modulation of CLD hypertrophy, additional studies are required to further clarify their involvement in CLD regulation.

4 Gastrointestinal peptides and lipid droplets

Enteroendocrine cells are found in the GI tract, especially in the stomach and intestine, and produce more than 30 GI peptide genes (150). Food intake is the most effective factor that induces or inhibits the secretion of GI peptides, which further act on the brain and peripheral tissues. In turn, GI peptides can regulate food intake and energetic balance, indicating an modulatory role in the development of obesity and cardiometabolic diseases (151). Moreover, GI peptides exert a plethora of important functions in many different tissues. For example, in the intestine, they participate in the control of GI motility, GI growth, lipid metabolism and even in the secretion of other GI peptides (152-157). Surprisingly, the regulation of lipid metabolism by these peptides has poorly been studied in the intestine but substantially examined in the liver and adipose tissues. However, such a modulation in the gut is extremely important given the impact of CM production in link with CLD, on cardiovascular diseases. As seen in **Figure 1**, the GI peptides may use various mechanisms to

regulate intestinal lipid metabolism. Hence, the modulatory effects of GI peptides on LD will be reported not only in the intestine in interaction with CM secretion, but also in the liver and adipose tissues.

4.1 Leptin and CLDs

Leptin has been particularly helpful in understanding the pathophysiology of obesity, but it rapidly appears that it represents a strong regulator of CM and CLDs.

4.1.1 Leptin effects on chylomicron secretion and insulin resistance

Leptin is a peptide hormone mainly derived from adipose tissues and to a lesser extent from the skeletal muscle and the stomach (158, 159). Leptin reduces appetite and stimulates energy expenditure by activating specific brain centres in the hypothalamus (160). In blood, leptin levels are reduced during starvation while they are upregulated in overweight and obese (161, 162). In the intestine, leptin lessens lipoprotein production in cultured Caco- 2 epithelial cells (163). Moreover, the administration of leptin was shown to reduce Apo A-IV synthesis and to decrease CM secretion in rats (164).

Leptin also has an important effect on IR (165, 166). Two popular mice strains with defect in leptin signalling (*ob/ob*) or production (*db/db*) exhibit obesity and T2D (167, 168). Leptin causes IR development by decreasing insulin synthesis, secretion and delivery (169-171). Interestingly, in humans, IR is correlated to an increase in plasma leptin resulting from the reduction of leptin receptor sensitivity (172-174). Plasma leptin is also positively correlated to plasma TG concentration, indicating a raised secretion of TG-rich lipoproteins such as CM particles (175-178). As mentioned before, IR increases CM secretion, making leptin an important contributor in this process (122, 123).

4.1.2 Leptin effects on CLD accumulation

In the intestine and in other peripheral tissues, leptin upregulates the formation of CLDs. In adipose tissues, leptin curtails CLD hyperplasia and hypertrophy by promoting lipolysis and reducing PLIN expression (179-181). The inactivation of the *leptin* gene promotes CLD hypertrophy and hyperplasia, as well as the development of hepatic steatosis in ob/ob mice (182, 183). These effects may be tissue-specific since leptin treatment was reported to stimulate CLD formation through the activation of phosphatidylinositol 3-kinase and the mTOR pathway in cultured macrophages (184). Similarly, *in vitro* studies suggest that leptin promotes CLD formation through the activation of the mTOR pathway in intestinal IEC-6 epithelial cells (185). Overall, leptin plays a role in the regulation of lipid metabolism and CLDs in the intestine. Even though the mechanisms underlying these effects remain to be clarified, it is possible that leptin modulates CM secretion via changes in CLD metabolism.

4.2 Ghrelin and CLDs

4.2.1 General information

Ghrelin is a 28-amino acid peptide, secreted either as acylated (AG) or unacylated (UAG) forms by X/A-like cells of the oxyntic gland of the stomach. It is found in decreasing concentrations in the distal part of the intestine (186). Human ghrelin gene (*ghrl*) encodes proghrelin that is co-translationally cleaved into proghrelin (187). Once released into the lumen of the ER, the proghrelin is post-translationally processed by prohormone convertase 1/3 to produce UAG and obestatin. The enzyme ghrelin O-acyltransferase octanoylates UAG and this yields AG. The latter is the endogenous ligand of the growth hormone secretagogue receptor (GHSR) type 1a expressed both in the periphery and the central nervous system (186, 188). In the hypothalamus, we and others have reported that ghrelin promotes food intake through the activation of neuropeptide Y and agouti-related peptide neurones in the arcuate nucleus of the hypothalamus (120, 189, 190). Currently, the effect of ghrelin on lipid metabolism in the GI tract remains uninvestigated. In the intestine, GI motility is the

only process that could impact lipid metabolism, via AG stimulation (191-194)

4.2.2 Central and peripheral effects of ghrelin on CLD formation and lipid metabolism Growing evidence suggests the role of ghrelin in the regulation of lipid homeostasis and CLD formation in tissues and organs such as the adipose tissue and the liver. Peripheral AG and UAG administration increase lipid accumulation in a dose-dependent manner while stimulating PLIN expression and increasing CLD formation in adipocytes (195). If the effects of UAG remain to be characterized, AG promotes SREBP1 expression, thereby increasing the production of the enzymes acetyl-CoA carboxylase (ACC), fatty acid synthase (FAS) and lipoprotein lipase (LPL) with a crucial impact on the biogenesis of fatty acids. UAG has also been shown to reduce CLD lipolysis and these effects on FA uptake were inhibited by a GHSR1a antagonist, suggesting that the peptide may interact with the AG native receptor (196). Previous studies showed similar observations in the liver since peripheral AG administration induced the expression of ACC and FAS (197). Additionally, AG also increases TG concentration while reducing phosphorylated AMPK in rat liver, indicating that ghrelin could play an important role in the accumulation of CLD in the liver. It is also noteworthy that a decline in lipid accumulation characterizes the liver of GHSR1-deficient mice (198). Conversely, exogenous AG treatment raises average area and diameter of CLD. The same authors reported that this effect is mediated through the mTOR pathway. Interestingly, both the inhibition of the mTOR signalling cascade and PPAR γ blocked the up-regulation of transcription factors and enzymes involved in lipogenesis (198). Central administrations of AG also promotes the accumulation of CLD in the liver and adipose tissues (199). It influences peripheral lipid metabolism through a circuitry that involves the activation of neuropeptide Y, agouti-related peptide neurons and the sympathetic nervous system. By this stimulation, AG upsurges the expression of proteins involved in lipid storage such as ACC, FAS, LPL and PLIN1 in adipocytes (120, 195, 199, 200). In the liver, central administration of AG augments hepatic steatosis by favoring CLD number and TG

concentrations via a GHSR1a-dependent mechanism (201).

4.2.3 Ghrelin and the intestine

Intriguingly, there is no information in the intestine regarding the potential effect of ghrelin (AG or UAG) on lipid status. As mentioned before, AG effect on lipid metabolism could be mediated by the mTOR pathway (198). In the intestine, ghrelin was also shown to activate the mTOR pathway through a GHSR1a-dependent mechanism, suggesting CLD involvement (202). The inhibition of GHSR1a lessens the proliferation of colon cancer cells by blocking Ras, PI3K, Akt, and mTOR signalling pathways downstream. The protective effect of ghrelin against ischemia/reperfusion is likely due to increased activity of mTOR/p70S6K pathway in a GHSR1a-dependent manner (203). Leptin is another factor that increases CLD accumulation in epithelial cells through mTOR activation, indicating that ghrelin could share the same mechanism in the gut (185). In the stomach, AG promotes prostaglandin E2 and this effect is mediated through the increased expression of cytosolic phospholipase A2 that is able to regulate CLD formation and GI motility (204-206). Furthermore, increased production of prostaglandin

and FOXO3 have been reported to be crucial for the stimulation of lipogenesis and the accumulation of fat in lipid droplets of an inflamed intestine (207). They strongly indicate that ghrelin could propel lipid metabolism in the intestine and that this effect may be mediated through the promotion of prostaglandin E2 production. In turn, this could influence lipid availability, CM secretion and CLD formation. These elements suggest the relevance of investigating the roles of ghrelin in lipid metabolism in the intestine.

4.3 Glucagon-like peptide 1 and CLDs

4.3.1 General information and role in the intestine

Glucagon-like peptide (GLP) 1 is another GI hormone encoded by the *proglucagon* gene and it is mostly secreted from L cells of the intestine (mostly in the jejunum but also in the colon and distal region) (208, 209). Its secretion can be triggered by direct contact with nutrients, hormones and neurotransmitters but also many by other factors such as intestinal bacteria (gut microbiota) and polyphenols (210, 211). As an incretin peptide, GLP-1 plays an important role in the promotion of insulin secretion and satiety after the ingestion of a meal (212). Its anorexigenic effects are mediated through a paracrine action involving the transmission of signals via an intestinal vagal afferent to the nucleus of the solitary tract. The incretin properties of GLP-1 have been exhaustively characterized and, apparently, it plays an important role in the regulation of lipid metabolism and accumulation in CLD in different tissues (213). In the intestine, GLP-1 agonists reduce MTP activity, TG availability and Apo B production (214, 215). GLP-1 agonists are also reported to reduce gastric lipase secretion, intestinal motility and gastric emptying (153, 194). Previous studies indicate that GLP-1 could decrease absorption and limit processing and availability of dietary fat, which would reduce CM production and secretion (194).

4.3.2 Glucagon-like peptide 1 impacts on CLD formation

In various tissues, GLP-1 decreases CLD accumulation. For instance, in 3T3-L1 preadipocytes, GLP-1 promotes adipocyte differentiation without lipid accumulation (216). Although no effect of GLP-1 could be detected on lipid metabolism, the hormone is shown to considerably reduce CLD size while enhancing hyperplasia in adipocytes, which is crucial since small CLDs are associated with optimal glucose and lipid homeostasis (217, 218). In the liver, exendin-4 (an agonist of the GLP-1 receptor) lowers the number of large CLDs by stimulating lipolysis through the elevation of PLIN phosphorylation and hormone-sensitive lipase expression (219). Exendin-4 also decreases CLD hypertrophy and hyperplasia by activating autophagy (220). Liraglutide, another GLP-1 agonist, decreases hepatic lipid content by down-

regulating ACC and FAS expression (221). Previous studies indicate the importance of GLP-1 in the reduction and even prevention of hepatic steatosis. Importantly, liraglutide is able to curtail CLD accumulation in foam cells, indicating that it should be considered as a therapeutic target against atherosclerosis (222). In the intestine, there is currently no information regarding the potential regulatory role of GLP-1 in CLD alteration. However, the reduction of lipid absorption and CM secretion in the gut could indicate a reduction in CLD formation.

4.4 Glucagon-like peptide 2

The glucagon-like peptide 2 (GLP-2) is also encoded by the *proglucagon* gene and is co-secreted with GLP-1 (223). Even though the GLP-2 receptor is not expressed in enterocytes, it was reported to regulate lipid metabolism as well as fat accumulation in intestinal CLDs (224). In animal models, GLP-2 increases CD36 activity and lipid absorption, as well as CM production and secretion (225). Similar mechanisms are likely to take place in humans since GLP-2 increases postprandial concentrations of TG and FA in the circulation (226). Accordingly, GLP-2 promotes CLD excretion by increasing CM secretion, probably via the nitric oxide system, which stimulates Apo B48 synthesis and MTTP activity (224, 227). Confirmation has been obtained by experiments involving endothelial nitric oxide deficient mice and hamsters treated with specific nitric oxide inhibitors. Both species show no alteration in CM secretion following the administration of GLP-2 (203). Interestingly, for CM production, lipid can only be derived from CLDs in the presence of nitric oxide donors. One can conclude that nitric oxide system is critical for stimulating GLP-2 effects on the excretion of lipid accumulated in the intestine (203). These results highlight the role of GLP-2 and its potential link to CLD accumulation in link with CM secretion.

4.4 Neurotensin and CLDs

Neurotensin is a 13-amino acid peptide mainly produced by enteroendocrine N cells

of the intestine and neuronal vesicles of the central nervous system (228, 229). It is co-expressed and co-released with GLP-1 and peptide tyrosine-tyrosine (PYY) in response to fat availability/digestion, which may explain its effects on satiety (230, 231). In the intestine, neurotensin stimulates cancer growth, improves intestinal barrier integrity and stimulates the translocation of FAs into the intestinal lumen (232-234). Until recently, the effects of neurotensin on lipid metabolism and CLD formation remained unsuspected. In rats, when administered into the intraperitoneal region, neurotensin increases plasma TG indicating a potential increase in CM secretion (235). Support of these findings was obtained with specific inhibitors of neurotensin receptor type 2. The influence of neurotensin on the development of obesity and CLD formation has also been reported recently (236). The same authors observed that neurotensin knockout (NT^{-/-}) mice display reduced weight gain, hepatic steatosis, liver TG and epididymal fat pads, via the reduction of CLD accumulation in the liver and adipose tissue. These NT^{-/-} mice also had fewer and smaller CLDs in the proximal section of the small intestine after an oral gavage with olive oil, a phenomenon likely mediated by the decrease of intestinal lipid absorption (but not malabsorption) (236). Importantly, NT^{-/-} animals display decreased TG accumulation that were normalized upon administration of exogenous neurotensin. In the same report, neurotensin was also shown to increase FA uptake in rat intestinal epithelial cells through the activation of NTR1 and NTR3 receptors and phosphorylation decline of AMPK via a CAMKK2-dependent mechanism (236). Previous reports have provided novel information regarding the involvement of neurotensin in the regulation of lipid homeostasis and CLD formation in the intestine. Overall, the neurotensin peptide raises CLD accumulation and CM secretion via stimulation of FA uptake, making it an interesting target for treating metabolic disorders.

4.5 Other gastrointestinal peptides and CLDs

A plethora of GI peptides have important physiological effects, but their impact on

lipid metabolism have been overlooked in key metabolic tissues and organs such as the liver and intestine. In fact, most of these peptides were only found to have an impact on very few specific types of organs/tissues. For instance, glucagon is now reported to reduce hepatic *de novo* lipogenesis through the activation of CREBH-Insig-2a signalling and CLD production via the reorganization of ER in the liver (237, 238). Another peptide, motilin, may increase CLD accumulation in rat immortalized 3T3-L1 adipocytes (239). This finding is associated with the upregulation of PPAR γ , CEBP β , DGAT1 and CD36 while causing an induction of lipogenesis and FA uptake. Depending on culture conditions in adipocytes, Substance P decreases (in presence of normal glucose concentrations) or increases (in presence of high glucose concentrations) lipid accumulation in CLDs (240, 241).

In the intestine, PYY influences lipid metabolism *in vitro*. The incubation of Caco-2 cells with different concentrations of PYY can reduce the secretion of CM and the expression of MTTP (242). Prior observations could either be explained by the increased β -oxidation or lipid accumulation in CLD. GI PYY peptide and glucose-dependent insulinotropic polypeptide decrease intestinal motility and increase gastric emptying time with a potential impact on lipid availability and CM secretion (243, 244). Cholecystokinin may also regulate gastric lipase secretion and bile acid release (243-248). Furthermore, its impact on CLD formation, lipid absorption and CM production needs clarification as is the case for additional GI hormones, including secretin, vasoactive intestinal peptides, amylin and oxyntomodulin.

5 Conclusion and perspectives

The physiological relevance of CLDs in the intestine is currently the matter of a growing interest from the scientific community. However, the mechanisms underlying these effects still remain poorly characterized. As presented in this review, CLD formation/hypertrophy/stabilization/degradation involves a plethora of factors and their role in deciding the fate of postprandial lipids is critical since it has a direct

incidence on postprandial dyslipidemia and cardiometabolic diseases. Therefore, intestinal CLDs should be considered as an appealing target against the dreadful effects of obesity-related diseases. To do so, it is critical to improve our understanding of CLD physiology in link with postprandial CM secretion. In the last few years, GI peptides have been the focus of multiple studies in view of their multifactorial, important roles in the regulation of many diseases. In particular, their functional effects on lipid metabolism, obesity development and cardiometabolic disorders have been (reviewed in many articles such as (249-252)) However, efforts need to be deployed to elucidate their mechanisms of action and relevance in the physiological regulation of CLD and CM. Under these circumstances, it is likely that the critical roles of GI peptides in the regulation of intestinal functions have been overlooked in the past, which underlines the urgent need to characterize their effects in the intestine.

COMPETING INTERESTS\ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by the J. A. DeSève Research Chair in Nutrition. The authors thank Mrs Schohraya Spahis for her excellent technical assistance. The funders had no role in study design, decision to publish, or preparation of the manuscript. Therefore, the authors have declared that no competing interests exist

Table I : Effects of CLD's regulator on their formation and the secretion of CM

Regulators	Species/cell type		Effect on CM secretion	Effect on LD formation	References
GI peptides					
Glucagon-like peptide 2	Syrian hamster	golden	↑CM secretion	↓CLD accumulation	(224, 225, 227)
	C57BL/6 mice	Healthy human			
Leptin	IEM-6 cells		↓CM secretion	↑CLD accumulation	(185)
Diets					
High-fat obesity	diet inducing	<i>Ob/Ob</i> mice	C57BL/6	↑CM secretion	↑CLD accumulation (253)
Glucose diet	Healthy human		↑CM secretion	↓CLD accumulation	(34 , 254)
Intracellular signalling systems					
Hedgehog	Balb/cJ mice	<i>Ob/Ob</i>	↑CM secretion	↓CLD accumulation	(255, 256)
	mice C57BL/6				

Nocturnin	Noc ^{-/-} mice	Noc ^{+/+} mice	↑CM secretion	↓CLD accumulation	(257)
Transcription factors					
Liver x receptor alpha	Zebrafish		↓CM secretion	↑CLD accumulation	(258)
Peroxisome proliferator-activated receptor alpha	Caco-2 cells	Wistar rats	↓CM secretion	↓CLD accumulation	(259-261)
Hepatocyte nuclear factor 4 alpha	Caco-2 cells	Hnf-4α ^{intΔ} mice	↑CM secretion	↑CLD accumulation	(262, 263)
Intracellular lipid transporters					
Cluster of differentiation 36	CD ^{-/-} mice		↑CM secretion	↓CLD accumulation	(264)
Other factors					
Firmicutes	Zebrafish		↑CM secretion	↑CLD accumulation	(265)
Superoxide dismutase	SOD1 ^{-/-} mice		↑CM secretion	↓CLD accumulation	(266)

CD: Cluster of differentiatio; CM : Chylomicrons; CLD : Cytosolic lipid droplet; Hnf4α : Hepatocyte nuclear factor 4 alpha; Noc : Nocturin; SOD1 : Superoxide dismutase 1; ↑: increase; ↓: decrease

2: Gastrointestinal peptide regulation on several mechanisms with a potential impact on CLD formation

GI peptide			regulation or mechanism	accumulation	92	
AG	Liver	C57BL/6 mice	↑mTOR	↑	(198)	
		GHSR1a ^{-/-} mice				
		db/db mice				
		Wistar rats	↓G6P, ↓pAMPK		(197)	
			↑ACC, ↑FAS			
		Sprague-Dawley rats	No data		(201)	
	Adipose tissue	3T3-L1 cells	No data		↑	(196)
		Wistar rats	↑ACC, ↑LPL			(199)
			↑CPT1 α , ↑FAS			
			↑SCD1			
		GH-deficient rats	No data		(200)	
	Tgr rats					
	Human	↑PLIN, ↑FAS			(195)	
	visceral adipocytes	↑SREBP1 ↑ACC, ↑LPL				
	Intestine	Wistar rats	↑cPLA2	No data	(204-206)	
		HT29, HCT-15 cells	↑mTOR		(202)	
		Healthy human	↑Motility			(191-194)
UAG	Adipose tissue	Wistar rats	↓Motility	↑	(160)	
		3T3-L1 cells	↓Lipolysis		(196)	
Leptin	Liver	Lepr ^{flox/flox} AlbCre mice	↓LPL	↓	(183)	
		Lepr ^{flox/flox} AlbCre ob/Ob mice				

		C57BL/6 Mice	↑CPT1a, ↑ACADL		(182)
			↑Acox1		
	Adipose tissue	3T3-L1 cells β3AR ^{+/+} , LepgTg mice	↓PPARγ	↓	(179)
			↓PKA, ↓PLIN		(181)
		Human white preadipocytes	↓FAS		(180)
	Intestine	Caco-2 cells	↑mTOR		↑(221)
		Sprague-Dawley rats	↓Apo A-IV		(164)
GLP-1	Liver	Apo E ^{-/-} mice	↓ACC, ↓FAS		↓(221)
			↑pAMPK		
		C57/BL6 mice	↓PLIN, ↑HSL		(219)
		Primary human hepatocytes	↑Autophagy		(220)
	Adipose tissue	3T3-L1 cells	↑FABP4, ↑PPARγ		↓(216)
			↑LPL		
	Intestine	Syrian golden hamster C57/BL6 Mice	↓MTTP, ↓Apo B-48, ↓TG availability		↓(215)
		Healthy human	↓Motility		(153, 194)
			↓Gastric emptying		
			↓Lipase secretion		
GLP-2	Intestine	Syrian golden	↑MTTP, ↑CD36		↑(225)

		Hamster			
		CD36 ^{-/-} Mice			
		Healthy human	↑Lipid absorption		(226)
Neurotensin	Liver	Nt ^{-/-} , Nt ^{+/+} Mice	No data		↑(236)
	Adipose tissue	Nt ^{-/-} , Nt ^{+/+} Mice	No data		↑(236)
	Intestine	Wistar Rats	↓pAMPK		↑(235)
		Nt ^{-/-} , Nt ^{+/+} Mice			(236)
Glucagon	Liver	HepG2 cells McA cells	↑CREBH-Insig-2a		↑(237)
		C57BL/6 mice			(238)
Motilin	Adipose tissue	3T3-L1 cells	↑PPAR γ , ↑CEBP β ↑DGAT1, ↑CD36		↑(239)
Substance P	Adipose tissue	3T3-L1 cells	↑AMPK		↑↓(229, 240, 241)
PYY	Intestine	Caco-2 cells	↓MTTP	No data	(242)
		Healthy human	↓Motility		(244)
			↓Gastric emptying		(244)
GIP	Intestine	C57BL/6	↓Motility	No data	(243)
		Healthy human	↓Gastric emptying		(245)
CCK	Intestine	Healthy human	↑Lipase secretion	No data	(246)
			↑Motility		(247)
			↑Gastric emptying		(248)

ACADL : Acyl-CoA dehydrogenase long chain; ACC : Acetyl-CoA carboxylase; ACOX1 : Peroxisomal acyl- coenzyme A oxidase 1; AMPK : AMP-activated protein kinase; ApoA-IV : Apolipoprotein A-IV; ApoB-48 : Apolipoprotein B-48; CCK: Cholecystokinin; CD36 : Cluster of differentiation 36; CLD : Cytoplasmic lipid droplet; cPLA2: Cytosolic phospholipases A2; CPT1a: Carnitine palmitoyltransferase I a; CREBH : Cyclic AMP- responsive element-binding protein 3-like 3, hepatocyte specific; DGAT1 : Diacylglycerol transferase 1; FABP4

: fatty acid binding protein 4; FAS : Fatty acid synthase; GIP: Gastric inhibitory polypeptide; G6P : Glucose- 6-phosphate; HSL : Hormone-sensitive lipase; LPL : Lipoprotein lipase; mTOR : mechanistic target of rapamycin; MTTP : Microsomal triglyceride transfer protein; pAMPK : Phosphorylated AMP-activated protein kinase; PKA

: Phosphokinase A; PLIN : Perilipin; PPAR γ : Peroxisome proliferator-activated receptor γ ; SREBP1: Sterol regulatory element-binding proteins; TG : Triglyceride; \uparrow : increase; \downarrow : decrease

6 References

1. Bartz R, Li WH, Venables B, Zehmer JK, Roth MR, Welti R, et al. Lipidomics reveals that adiposomes store ether lipids and mediate phospholipid traffic. *Journal of lipid research*. 2007;48(4):837-47.
2. Kraemer N, Farese RV, Jr., Walther TC. Balancing the fat: lipid droplets and human disease. *EMBO molecular medicine*. 2013;5(7):973-83.
3. Abumrad NA, Davidson NO. Role of the gut in lipid homeostasis. *Physiol Rev*. 2012;92(3):1061-85.
4. Kono N, Arai H. Intracellular transport of fat-soluble vitamins A and E. *Traffic*. 2015;16(1):19-34.
5. Nakajima K, Nakano T, Tokita Y, Nagamine T, Inazu A, Kobayashi J, et al. Postprandial lipoprotein metabolism: VLDL vs chylomicrons. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2011;412(15-16):1306-18.
6. Luchoomun J, Hussain MM. Assembly and secretion of chylomicrons by differentiated Caco-2 cells. Nascent triglycerides and preformed phospholipids are preferentially used for lipoprotein assembly. *The Journal of biological chemistry*. 1999;274(28):19565-72.
7. Dash S, Xiao C, Morgantini C, Lewis GF. New Insights into the Regulation of Chylomicron Production. *Annu Rev Nutr*. 2015;35:265-94.
8. Pan X, Hussain MM. Gut triglyceride production. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1821(5):727-35.
9. Nouri-Sorkhabi MH, Chapman BE, Kuchel PW, Gruca MA, Gaskin KJ. Parallel secretion of pancreatic phospholipase A(2), phospholipase A(1), lipase, and colipase in children with exocrine pancreatic dysfunction. *Pediatric research*. 2000;48(6):735-40.
10. Borgstrom B. Importance of phospholipids, pancreatic phospholipase A2, and fatty acid for the digestion of dietary fat: in vitro experiments with the porcine enzymes. *Gastroenterology*. 1980;78(5 Pt 1):954-62.
11. Peretti N, Marcil V, Drouin E, Levy E. Mechanisms of lipid malabsorption in Cystic Fibrosis: the impact of essential fatty acids deficiency. *Nutrition & metabolism*. 2005;2(1):11.

12. Murota K, Storch J. Uptake of micellar long-chain fatty acid and sn-2-monoacylglycerol into human intestinal Caco-2 cells exhibits characteristics of protein-mediated transport. *J Nutr*. 2005;135(7):1626-30.
13. Wilson FA, Sallee VL, Dietschy JM. Unstirred water layers in intestine: rate determinant of fatty acid absorption from micellar solutions. *Science*. 1971;174(4013):1031-3.
14. Trotter PJ, Ho SY, Storch J. Fatty acid uptake by Caco-2 human intestinal cells. *Journal of lipid research*. 1996;37(2):336-46.
15. Clarke SD, Armstrong MK. Cellular lipid binding proteins: expression, function, and
16. Ockner RK, Manning JA. Fatty acid-binding protein in small intestine. Identification, isolation, and evidence for its role in cellular fatty acid transport. *The Journal of clinical investigation*. 1974;54(2):326-38.
17. Schwenk RW, Luiken JJ, Bonen A, Glatz JF. Regulation of sarcolemmal glucose and fatty acid transporters in cardiac disease. *Cardiovasc Res*. 2008;79(2):249-58.
18. Su X, Abumrad NA. Cellular fatty acid uptake: a pathway under construction. *Trends Endocrinol Metab*. 2009;20(2):72-7.
19. Suc I, Brunet S, Mitchell G, Rivard GE, Levy E. Oxidative tyrosylation of high density lipoproteins impairs cholesterol efflux from mouse J774 macrophages: role of scavenger receptors, classes A and B. *Journal of cell science*. 2003;116(Pt 1):89-99.
20. Levy E, Menard D, Suc I, Delvin E, Marcil V, Brissette L, et al. Ontogeny, immunolocalisation, distribution and function of SR-BI in the human intestine. *Journal of cell science*. 2004;117(Pt 2):327-37.
21. Sane AT, Sinnott D, Delvin E, Bendayan M, Marcil V, Menard D, et al. Localization and role of NPC1L1 in cholesterol absorption in human intestine. *Journal of lipid research*. 2006;47(10):2112-20.
22. Iyer SP, Yao X, Crona JH, Hoos LM, Tetzloff G, Davis HR, Jr., et al. Characterization of the putative native and recombinant rat sterol transporter Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) protein. *Biochim Biophys Acta*. 2005;1722(3):282-92.
23. Levy E, Spahis S, Sinnott D, Peretti N, Maupas-Schwalm F, Delvin E, et al. Intestinal cholesterol transport proteins: an update and beyond. *Current opinion in lipidology*. 2007;18(3):310-8.

24. Brunham LR, Kruit JK, Iqbal J, Fievet C, Timmins JM, Pape TD, et al. Intestinal ABCA1 directly contributes to HDL biogenesis in vivo. *The Journal of clinical investigation*. 2006;116(4):1052-62.
25. Akesson B, Gronowitz S, Herslof B, Ohlson R. Absorption of synthetic, stereochemically defined acylglycerols in the rat. *Lipids*. 1978;13(5):338-43.
26. Cheng D, Nelson TC, Chen J, Walker SG, Wardwell-Swanson J, Meegalla R, et al. Identification of acyl coenzyme A:monoacylglycerol acyltransferase 3, an intestinal specific enzyme implicated in dietary fat absorption. *The Journal of biological chemistry*. 2003;278(16):13611-4.
27. Yen CL, Farese RV, Jr. MGAT2, a monoacylglycerol acyltransferase expressed in the small intestine. *The Journal of biological chemistry*. 2003;278(20):18532-7.
28. Yen CL, Stone SJ, Koliwad S, Harris C, Farese RV, Jr. Thematic review series: glycerolipids. DGAT enzymes and triacylglycerol biosynthesis. *Journal of lipid research*. 2008;49(11):2283-301.
29. E, Menard D, Delvin E, Montoudis A, Beaulieu JF, Mailhot G, et al. Localization, function and regulation of the two intestinal fatty acid-binding protein types. *Histochemistry and cell biology*. 2009;132(3):351-67.
30. Montoudis A, Seidman E, Boudreau F, Beaulieu JF, Menard D, Elchebly M, et al. Intestinal fatty acid binding protein regulates mitochondrion beta-oxidation and cholesterol uptake. *Journal of lipid research*. 2008;49(5):961-72.
31. Dube N, Delvin E, Yotov W, Garofalo C, Bendayan M, Veerkamp JH, et al. Modulation of intestinal and liver fatty acid-binding proteins in Caco-2 cells by lipids, hormones and cytokines. *Journal of cellular biochemistry*. 2001;81(4):613-20.
32. Storch J, Corsico B. The emerging functions and mechanisms of mammalian fatty acid-binding proteins. *Annu Rev Nutr*. 2008;28:73-95.
33. Bass NM. Function and regulation of hepatic and intestinal fatty acid binding proteins. *Chemistry and physics of lipids*. 1985;38(1-2):95-114.
34. Robertson MD, Parkes M, Warren BF, Ferguson DJ, Jackson KG, Jewell DP, et al. Mobilisation of enterocyte fat stores by oral glucose in humans. *Gut*. 2003;52(6):834-9.
35. Tso P, Balint JA. Formation and transport of chylomicrons by enterocytes to the lymphatics. *Am J Physiol*. 1986;250(6 Pt 1):G715-26.

36. Levy E, Marcel Y, Deckelbaum RJ, Milne R, Lepage G, Seidman E, et al. Intestinal apoB synthesis, lipids, and lipoproteins in chylomicron retention disease. *Journal of lipid research*. 1987;28(11):1263-74.
37. Levy E, Harmel E, Laville M, Sanchez R, Emonnot L, Sinnott D, et al. Expression of Sar1b enhances chylomicron assembly and key components of the coat protein complex II system driving vesicle budding. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2011;31(11):2692-9.
38. Siddiqi S, Saleem U, Abumrad NA, Davidson NO, Storch J, Siddiqi SA, et al. A novel multiprotein complex is required to generate the prechylomicron transport vesicle from intestinal ER. *Journal of lipid research*. 2010;51(7):1918-28.
39. Siddiqi S, Mansbach CM, 2nd. Phosphorylation of Sar1b protein releases liver fatty acid-binding protein from multiprotein complex in intestinal cytosol enabling it to bind to endoplasmic reticulum (ER) and bud the pre-chylomicron transport vesicle. *The Journal of biological chemistry*. 2012;287(13):10178-88.
40. Levy E. Insights from human congenital disorders of intestinal lipid metabolism. *Journal of lipid research*. 2015;56(5):945-62.
41. Hashemi HF, Goodman JM. The life cycle of lipid droplets. *Curr Opin Cell Biol*. 2015;33:119-24.
42. Fujimoto T, Parton RG. Not just fat: the structure and function of the lipid droplet. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2011;3(3).
43. Walther TC, Farese RV, Jr. Lipid droplets and cellular lipid metabolism. *Annu Rev Biochem*. 2012;81:687-714.
44. Raabe M, Veniant MM, Sullivan MA, Zlot CH, Bjorkegren J, Nielsen LB, et al. Analysis of the role of microsomal triglyceride transfer protein in the liver of tissue-specific knockout mice. *The Journal of clinical investigation*. 1999;103(9):1287-98.
45. D'Aquila T, Sirohi D, Grabowski JM, Hedrick VE, Paul LN, Greenberg AS, et al. Characterization of the proteome of cytoplasmic lipid droplets in mouse enterocytes after a dietary fat challenge. *PLoS One*. 2015;10(5):e0126823.
46. Sztalryd C, Kimmel AR. Perilipins: lipid droplet coat proteins adapted for tissue-specific energy storage and utilization, and lipid cytoprotection. *Biochimie*. 2014;96:96-101.
47. Kern PA, Di Gregorio G, Lu T, Rassouli N, Ranganathan G. Perilipin expression in

- human adipose tissue is elevated with obesity. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89(3):1352-8.
48. Wang C, Zhao Y, Gao X, Li L, Yuan Y, Liu F, et al. Perilipin 5 improves hepatic lipotoxicity by inhibiting lipolysis. *Hepatology*. 2015;61(3):870-82.
 49. Takahashi Y, Shinoda A, Kamada H, Shimizu M, Inoue J, Sato R. Perilipin2 plays a positive role in adipocytes during lipolysis by escaping proteasomal degradation. *Sci Rep*. 2016;6:20975.
 50. Wolins NE, Rubin B, Brasaemle DL. TIP47 associates with lipid droplets. *The Journal of biological chemistry*. 2001;276(7):5101-8.
 51. Lee B, Zhu J, Wolins NE, Cheng JX, Buhman KK. Differential association of adipophilin and TIP47 proteins with cytoplasmic lipid droplets in mouse enterocytes during dietary fat absorption. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1791(12):1173-80.
 52. Park HH. Structural insight into CIDE domains: the Janus face of CIDEs. *Apoptosis*. 2015;20(2):240-9.
 53. Xu N, Zhang SO, Cole RA, McKinney SA, Guo F, Haas JT, et al. The FATP1-DGAT2 complex facilitates lipid droplet expansion at the ER-lipid droplet interface. *J Cell Biol*. 2012;198(5):895-911.
 54. Kuerschner L, Moessinger C, Thiele C. Imaging of lipid biosynthesis: how a neutral lipid enters lipid droplets. *Traffic*. 2008;9(3):338-52.
 55. Ellis JM, Frahm JL, Li LO, Coleman RA. Acyl-coenzyme A synthetases in metabolic control. *Current opinion in lipidology*. 2010;21(3):212-7.
 56. Wilfling F, Wang H, Haas JT, Kraemer N, Gould TJ, Uchida A, et al. Triacylglycerol synthesis enzymes mediate lipid droplet growth by relocalizing from the ER to lipid droplets. *Dev Cell*. 2013;24(4):384-99.
 57. Salo VT, Belevich I, Li S, Karhinen L, Vihinen H, Vigouroux C, et al. Seipin regulates ER-lipid droplet contacts and cargo delivery. *The EMBO journal*. 2016;35(24):2699-716. Kadereit B, Kumar P, Wang WJ, Miranda D, Snapp EL, Severina N, et al. Evolutionarily conserved gene family important for fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(1):94-9.
 58. Gao G, Chen FJ, Zhou L, Su L, Xu D, Xu L, et al. Control of lipid droplet fusion and growth by CIDE family proteins. *Biochim Biophys Acta*. 2017;1862(10 Pt B):1197-204.

59. Gong J, Sun Z, Wu L, Xu W, Schieber N, Xu D, et al. Fsp27 promotes lipid droplet growth by lipid exchange and transfer at lipid droplet contact sites. *J Cell Biol.* 2011;195(6):953- 63.
60. Sun Z, Gong J, Wu H, Xu W, Wu L, Xu D, et al. Perilipin1 promotes unilocular lipid droplet formation through the activation of Fsp27 in adipocytes. *Nat Commun.* 2013;4:1594.
61. Xu W, Wu L, Yu M, Chen FJ, Arshad M, Xia X, et al. Differential Roles of Cell Death- inducing DNA Fragmentation Factor-alpha-like Effector (CIDE) Proteins in Promoting Lipid Droplet Fusion and Growth in Subpopulations of Hepatocytes. *The Journal of biological chemistry.* 2016;291(9):4282-93.
62. Zweytick D, Athenstaedt K, Daum G. Intracellular lipid particles of eukaryotic cells. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1469(2):101-20.
63. Zhang LJ, Wang C, Yuan Y, Wang H, Wu J, Liu F, et al. Cideb facilitates the lipidation of chylomicrons in the small intestine. *Journal of lipid research.* 2014;55(7):1279-87.
64. Goo YH, Son SH, Paul A. Lipid Droplet-Associated Hydrolase Promotes Lipid Droplet Fusion and Enhances ATGL Degradation and Triglyceride Accumulation. *Sci Rep.* 2017;7(1):2743.
65. Kraemer N, Guo Y, Wilfling F, Hilger M, Lingrell S, Heger K, et al. Phosphatidylcholine synthesis for lipid droplet expansion is mediated by localized activation of CTP:phosphocholine cytidyltransferase. *Cell Metab.* 2011;14(4):504-15.
66. Yang H, Galea A, Sytnyk V, Crossley M. Controlling the size of lipid droplets: lipid and protein factors. *Curr Opin Cell Biol.* 2012;24(4):509-16.
67. Moessinger C, Klizaitė K, Steinhagen A, Philippou-Massier J, Shevchenko A, Hoch M, et al. Two different pathways of phosphatidylcholine synthesis, the Kennedy Pathway and the Lands Cycle, differentially regulate cellular triacylglycerol storage. *BMC Cell Biol.* 2014;15:43.
68. Nakano T, Inoue I, Katayama S, Seo M, Takahashi S, Hokari S, et al. Lysophosphatidylcholine for efficient intestinal lipid absorption and lipoprotein secretion in caco-2 cells. *Journal of clinical biochemistry and nutrition.* 2009;45(2):227-34.
69. Bouchoux J, Beilstein F, Pauquai T, Guerrera IC, Chateau D, Ly N, et al. The proteome of cytosolic lipid droplets isolated from differentiated Caco-2/TC7 enterocytes reveals cell-specific characteristics. *Biol Cell.* 2011;103(11):499-517.

70. Rong X, Wang B, Dunham MM, Hedde PN, Wong JS, Gratton E, et al. Lpcat3-dependent production of arachidonoyl phospholipids is a key determinant of triglyceride secretion. *Elife*. 2015;4.
71. Khaldoun SA, Emond-Boisjoly MA, Chateau D, Carriere V, Lacasa M, Rousset M, et al. Autophagosomes contribute to intracellular lipid distribution in enterocytes. *Mol Biol Cell*. 2014;25(1):118-32.
72. Brownhill K, Wood L, Allan V. Molecular motors and the Golgi complex: staying put and moving through. *Semin Cell Dev Biol*. 2009;20(7):784-92.
73. Derby MC, Gleeson PA. New insights into membrane trafficking and protein sorting. *Int Rev Cytol*. 2007;261:47-116.
74. Lupashin V, Sztul E. Golgi tethering factors. *Biochim Biophys Acta*. 2005;1744(3):325-39.
75. Goud B, Gleeson PA. TGN golgins, Rabs and cytoskeleton: regulating the Golgi trafficking highways. *Trends Cell Biol*. 2010;20(6):329-36.
76. Lass A, Zimmermann R, Oberer M, Zechner R. Lipolysis - a highly regulated multi-enzyme complex mediates the catabolism of cellular fat stores. *Prog Lipid Res*. 2011;50(1):14-27.
77. Obrowsky S, Chandak PG, Patankar JV, Pfeifer T, Povoden S, Schreiber R, et al. Cholesteryl ester accumulation and accelerated cholesterol absorption in intestine-specific hormone sensitive lipase-null mice. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1821(11):1406-14.
78. Sahu-Osen A, Montero-Moran G, Schittmayer M, Fritz K, Dinh A, Chang YF, et al. CGI- 58/ABHD5 is phosphorylated on Ser239 by protein kinase A: control of subcellular localization. *Journal of lipid research*. 2015;56(1):109-21.
79. Granneman JG, Moore HP, Krishnamoorthy R, Rathod M. Perilipin controls lipolysis by regulating the interactions of AB-hydrolase containing 5 (Abhd5) and adipose triglyceride lipase (Atgl). *The Journal of biological chemistry*. 2009;284(50):34538-44.
80. Yamaguchi T, Osumi T. Chanarin-Dorfman syndrome: deficiency in CGI-58, a lipid droplet-bound coactivator of lipase. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1791(6):519-23.
81. Xie P, Guo F, Ma Y, Zhu H, Wang F, Xue B, et al. Intestinal Cgi-58 deficiency reduces

- postprandial lipid absorption. *PLoS One*. 2014;9(3):e91652.
82. Lee JH, Kong J, Jang JY, Han JS, Ji Y, Lee J, et al. Lipid droplet protein LID-1 mediates ATGL-1-dependent lipolysis during fasting in *Caenorhabditis elegans*. *Mol Cell Biol*. 2014;34(22):4165-76.
 83. Windmueller HG, Spaeth AE. Identification of ketone bodies and glutamine as the major respiratory fuels in vivo for postabsorptive rat small intestine. *The Journal of biological chemistry*. 1978;253(1):69-76.
 84. Levine B, Klionsky DJ. Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy. *Dev Cell*. 2004;6(4):463-77.
 85. Klionsky DJ. Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8(11):931-7.
 86. Shibata M, Yoshimura K, Furuya N, Koike M, Ueno T, Komatsu M, et al. The MAP1- LC3 conjugation system is involved in lipid droplet formation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;382(2):419-23.
 87. Gibbons GF, Islam K, Pease RJ. Mobilisation of triacylglycerol stores. *Biochim Biophys Acta*. 2000;1483(1):37-57.
 88. Olofsson SO, Bostrom P, Andersson L, Rutberg M, Perman J, Boren J. Lipid droplets as dynamic organelles connecting storage and efflux of lipids. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1791(6):448-58.
 89. Wiggins D, Gibbons GF. The lipolysis/esterification cycle of hepatic triacylglycerol. Its role in the secretion of very-low-density lipoprotein and its response to hormones and sulphonylureas. *Biochem J*. 1992;284 (Pt 2):457-62.
 90. Tomkin GH, Owens D. Abnormalities in apo B-containing lipoproteins in diabetes and atherosclerosis. *Diabetes Metab Res Rev*. 2001;17(1):27-43.
 91. Maxfield FR, Tabas I. Role of cholesterol and lipid organization in disease. *Nature*. 2005;438(7068):612-21.
 92. Herms A, Bosch M, Ariotti N, Reddy BJ, Fajardo A, Fernandez-Vidal A, et al. Cell-to-cell heterogeneity in lipid droplets suggests a mechanism to reduce lipotoxicity. *Curr Biol*. 2013;23(15):1489-96.
 93. Welte MA. Expanding roles for lipid droplets. *Curr Biol*. 2015;25(11):R470-81.
 94. Shaw CS, Jones DA, Wagenmakers AJ. Network distribution of mitochondria and

- lipid droplets in human muscle fibres. *Histochemistry and cell biology*. 2008;129(1):65-72.
95. Tarnopolsky MA, Rennie CD, Robertshaw HA, Fedak-Tarnopolsky SN, Devries MC, Hamadeh MJ. Influence of endurance exercise training and sex on intramyocellular lipid and mitochondrial ultrastructure, substrate use, and mitochondrial enzyme activity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007;292(3):R1271-8.
 96. Wang H, Sreenivasan U, Hu H, Saladino A, Polster BM, Lund LM, et al. Perilipin 5, a lipid droplet-associated protein, provides physical and metabolic linkage to mitochondria. *Journal of lipid research*. 2011;52(12):2159-68.
 97. D'Aquila T, Hung YH, Carreiro A, Buhman KK. Recent discoveries on absorption of dietary fat: Presence, synthesis, and metabolism of cytoplasmic lipid droplets within enterocytes. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1861(8 Pt A):730-47.
 98. Hesse D, Jaschke A, Chung B, Schurmann A. Trans-Golgi proteins participate in the control of lipid droplet and chylomicron formation. *Biosci Rep*. 2013;33(1):1-9.
 99. Hoppins S. The regulation of mitochondrial dynamics. *Curr Opin Cell Biol*. 2014;29:46- 52.
 100. Sandoval H, Yao CK, Chen K, Jaiswal M, Donti T, Lin YQ, et al. Mitochondrial fusion but not fission regulates larval growth and synaptic development through steroid hormone production. *Elife*. 2014;3.
 101. Ohsaki Y, Cheng J, Fujita A, Tokumoto T, Fujimoto T. Cytoplasmic lipid droplets are sites of convergence of proteasomal and autophagic degradation of apolipoprotein B. *Mol Biol Cell*. 2006;17(6):2674-83.
 102. Suzuki M, Otsuka T, Ohsaki Y, Cheng J, Taniguchi T, Hashimoto H, et al. Derlin-1 and UBXD8 are engaged in dislocation and degradation of lipidated ApoB-100 at lipid droplets. *Mol Biol Cell*. 2012;23(5):800-10.
 103. Leber R, Landl K, Zinser E, Ahorn H, Spok A, Kohlwein SD, et al. Dual localization of squalene epoxidase, Erg1p, in yeast reflects a relationship between the endoplasmic reticulum and lipid particles. *Mol Biol Cell*. 1998;9(2):375-86.
 104. Tschop M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*. 2000;407(6806):908-13.
 105. Beilstein F, Carriere V, Leturque A, Demignot S. Characteristics and functions of lipid

- droplets and associated proteins in enterocytes. *Exp Cell Res.* 2016;340(2):172-9.
106. Rivellese AA, De Natale C, Di Marino L, Patti L, Iovine C, Coppola S, et al. Exogenous and endogenous postprandial lipid abnormalities in type 2 diabetic patients with optimal blood glucose control and optimal fasting triglyceride levels. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2004;89(5):2153-9.
 107. Federico LM, Naples M, Taylor D, Adeli K. Intestinal insulin resistance and aberrant production of apolipoprotein B48 lipoproteins in an animal model of insulin resistance and metabolic dyslipidemia: evidence for activation of protein tyrosine phosphatase-1B, extracellular signal-related kinase, and sterol regulatory element-binding protein-1c in the fructose-fed hamster intestine. *Diabetes.* 2006;55(5):1316-26.
 108. Lewis GF, Uffelman K, Naples M, Szeto L, Haidari M, Adeli K. Intestinal lipoprotein overproduction, a newly recognized component of insulin resistance, is ameliorated by the insulin sensitizer rosiglitazone: studies in the fructose-fed Syrian golden hamster. *Endocrinology.* 2005;146(1):247-55.
 109. Haidari M, Leung N, Mahbub F, Uffelman KD, Kohen-Avramoglu R, Lewis GF, et al. Fasting and postprandial overproduction of intestinally derived lipoproteins in an animal model of insulin resistance. Evidence that chronic fructose feeding in the hamster is accompanied by enhanced intestinal de novo lipogenesis and ApoB48-containing lipoprotein overproduction. *The Journal of biological chemistry.* 2002;277(35):31646-55.
 110. Zoltowska M, Ziv E, Delvin E, Sinnett D, Kalman R, Garofalo C, et al. Cellular aspects of intestinal lipoprotein assembly in *Psammomys obesus*: a model of insulin resistance and type 2 diabetes. *Diabetes.* 2003;52(10):2539-45.
 111. Xie M, Roy R. AMP-Activated Kinase Regulates Lipid Droplet Localization and Stability of Adipose Triglyceride Lipase in *C. elegans* Dauer Larvae. *PLoS One.* 2015;10(6):e0130480.
 112. Viollet B, Guigas B, Leclerc J, Hebrard S, Lantier L, Mounier R, et al. AMP-activated protein kinase in the regulation of hepatic energy metabolism: from physiology to therapeutic perspectives. *Acta Physiol (Oxf).* 2009;196(1):81-98.
 113. Hardie DG. AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007;8(10):774-85.
 114. Kemp BE, Stapleton D, Campbell DJ, Chen ZP, Murthy S, Walter M, et al. AMP-activated protein kinase, super metabolic regulator. *Biochem Soc Trans.* 2003;31(Pt

- 1):162-8.
115. Carling D, Hardie DG. The substrate and sequence specificity of the AMP-activated protein kinase. Phosphorylation of glycogen synthase and phosphorylase kinase. *Biochim Biophys Acta*. 1989;1012(1):81-6.
 116. Harmel E, Grenier E, Bendjoudi Ouadda A, El Chebly M, Ziv E, Beaulieu JF, et al. AMPK in the small intestine in normal and pathophysiological conditions. *Endocrinology*. 2014;155(3):873-88.
 117. Gauthier MS, Miyoshi H, Souza SC, Cacicedo JM, Saha AK, Greenberg AS, et al. AMP- activated protein kinase is activated as a consequence of lipolysis in the adipocyte: potential mechanism and physiological relevance. *The Journal of biological chemistry*. 2008;283(24):16514-24.
 118. Errico A, Ballabio A, Rugarli EI. Spastin, the protein mutated in autosomal dominant hereditary spastic paraplegia, is involved in microtubule dynamics. *Hum Mol Genet*. 2002;11(2):153-63.
 119. Evans KJ, Gomes ER, Reisenweber SM, Gundersen GG, Lauring BP. Linking axonal degeneration to microtubule remodeling by Spastin-mediated microtubule severing. *J Cell Biol*. 2005;168(4):599-606.
 120. Roll-Mecak A, Vale RD. The *Drosophila* homologue of the hereditary spastic paraplegia protein, spastin, severs and disassembles microtubules. *Curr Biol*. 2005;15(7):650-5.
 121. Papadopoulos C, Orso G, Mancuso G, Herholz M, Gumeni S, Tadepalle N, et al. Spastin binds to lipid droplets and affects lipid metabolism. *PLoS Genet*. 2015;11(4):e1005149.
 122. Heid HW, Moll R, Schwetlick I, Rackwitz HR, Keenan TW. Adipophilin is a specific marker of lipid accumulation in diverse cell types and diseases. *Cell Tissue Res*. 1998;294(2):309-21.
 123. Straub BK, Herpel E, Singer S, Zimbelmann R, Breuhahn K, Macher-Goeppinger S, et al. Lipid droplet-associated PAT-proteins show frequent and differential expression in neoplastic steatogenesis. *Mod Pathol*. 2010;23(3):480-92.
 124. Tirinato L, Liberale C, Di Franco S, Candeloro P, Benfante A, La Rocca R, et al. Lipid droplets: a new player in colorectal cancer stem cells unveiled by spectroscopic imaging. *Stem Cells*. 2015;33(1):35-44.
 125. Lee RY, Hench J, Ruvkun G. Regulation of *C. elegans* DAF-16 and its human

ortholog

- FKHRL1 by the daf-2 insulin-like signalling pathway. *Curr Biol.* 2001;11(24):1950-7.
126. Medema RH, Kops GJ, Bos JL, Burgering BM. AFX-like Forkhead transcription factors mediate cell-cycle regulation by Ras and PKB through p27kip1. *Nature.* 2000;404(6779):782-7.
 127. Brunet A, Sweeney LB, Sturgill JF, Chua KF, Greer PL, Lin Y, et al. Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase. *Science.* 2004;303(5666):2011-5.
 128. Qi W, Fitchev PS, Cornwell ML, Greenberg J, Cabe M, Weber CR, et al. FOXO3 growth inhibition of colonic cells is dependent on intraepithelial lipid droplet density. *The Journal of biological chemistry.* 2013;288(23):16274-81.
 129. Zhang K, Li L, Qi Y, Zhu X, Gan B, DePinho RA, et al. Hepatic suppression of Foxo1 and Foxo3 causes hypoglycemia and hyperlipidemia in mice. *Endocrinology.* 2012;153(2):631-46.
 130. Huang YN, Qi JH, Xiang L, Wang YZ. Construction of adiponectin-encoding plasmid DNA and overexpression in mice in vivo. *Gene.* 2012;502(2):87-93.
 131. Khalifeh-Soltani A, Gupta D, Ha A, Iqbal J, Hussain M, Podolsky MJ, et al. Mfge8 regulates enterocyte lipid storage by promoting enterocyte triglyceride hydrolase activity. *JCI Insight.* 2016;1(18):e87418.
 132. Khalifeh-Soltani A, McKleroy W, Sakuma S, Cheung YY, Tharp K, Qiu Y, et al. Mfge8 promotes obesity by mediating the uptake of dietary fats and serum fatty acids. *Nat Med.* 2014;20(2):175-83.
 133. Obrowsky S, Chandak PG, Patankar JV, Povoden S, Schlager S, Kershaw EE, et al. Adipose triglyceride lipase is a TG hydrolase of the small intestine and regulates intestinal PPARalpha signalling. *Journal of lipid research.* 2013;54(2):425-35.
 134. Ahlman H, Nilsson. The gut as the largest endocrine organ in the body. *Ann Oncol.* 2001;12 Suppl 2:S63-8.
 135. Romijn JA, Corssmit EP, Havekes LM, Pijl H. Gut-brain axis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2008;11(4):518-21.
 136. Farr S, Taher J, Adeli K. Glucagon-like peptide-1 as a key regulator of lipid and lipoprotein metabolism in fasting and postprandial states. *Cardiovasc Hematol Disord*

- Drug Targets. 2014;14(2):126-36.
137. Xiao C, Dash S, Morgantini C, Adeli K, Lewis GF. Gut Peptides Are Novel Regulators of Intestinal Lipoprotein Secretion: Experimental and Pharmacological Manipulation of Lipoprotein Metabolism. *Diabetes*. 2015;64(7):2310-8.
 138. Waseem T, Duxbury M, Ashley SW, Robinson MK. Ghrelin promotes intestinal epithelial cell proliferation through PI3K/Akt pathway and EGFR trans-activation both converging to ERK 1/2 phosphorylation. *Peptides*. 2014;52:113-21.
 139. Yu H, Xu G, Fan X. The effect of ghrelin on cell proliferation in small intestinal IEC-6
 . *Biomed Pharmacother*. 2013;67(3):235-9.
 140. Ohno T, Mochiki E, Kuwano H. The roles of motilin and ghrelin in gastrointestinal motility. *Int J Pept*. 2010;2010.
 141. Xu G, Hong X, Tang H, Jiang S, Liu F, Shen Z, et al. Ghrelin regulates GLP-1 production through mTOR signalling in L cells. *Mol Cell Endocrinol*. 2015;416:9-18.
 142. Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, et al. The stomach is a source of leptin. *Nature*. 1998;394(6695):790-3.
 143. Wang J, Liu R, Hawkins M, Barzilai N, Rossetti L. A nutrient-sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. *Nature*. 1998;393(6686):684-8.
 144. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372(6505):425-32.
 145. MacDougald OA, Hwang CS, Fan H, Lane MD. Regulated expression of the obese gene product (leptin) in white adipose tissue and 3T3-L1 adipocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(20):9034-7.
 146. Trayhurn P, Thomas ME, Duncan JS, Rayner DV. Effects of fasting and refeeding on ob gene expression in white adipose tissue of lean and obese (ob/ob) mice. *FEBS Lett*. 1995;368(3):488-90.
 147. Stan S, Levy E, Bendayan M, Zoltowska M, Lambert M, Michaud J, et al. Effect of human recombinant leptin on lipid handling by fully differentiated Caco-2 cells. *FEBS Lett*. 2001;508(1):80-4.
 148. Doi T, Liu M, Seeley RJ, Woods SC, Tso P. Effect of leptin on intestinal

- apolipoprotein AIV in response to lipid feeding. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2001;281(3):R753-9.
149. Paz-Filho G, Mastronardi C, Wong ML, Licinio J. Leptin therapy, insulin sensitivity, and glucose homeostasis. *Indian journal of endocrinology and metabolism.* 2012;16(Suppl 3):S549-55.
 150. Yadav A, Kataria MA, Saini V, Yadav A. Role of leptin and adiponectin in insulin resistance. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry.* 2013;417:80- 4.
 151. Drel VR, Mashtalir N, Ilnytska O, Shin J, Li F, Lyzogubov VV, et al. The leptin-deficient (ob/ob) mouse: a new animal model of peripheral neuropathy of type 2 diabetes and obesity. *Diabetes.* 2006;55(12):3335-43.
 152. Kobayashi K, Forte TM, Taniguchi S, Ishida BY, Oka K, Chan L. The db/db mouse, a model for diabetic dyslipidemia: molecular characterization and effects of Western diet feeding. *Metabolism: clinical and experimental.* 2000;49(1):22-31.
 153. Ceddia RB, Koistinen HA, Zierath JR, Sweeney G. Analysis of paradoxical observations on the association between leptin and insulin resistance. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology.* ;16(10):1163-76.
 154. Covey SD, Wideman RD, McDonald C, Unniappan S, Huynh F, Asadi A, et al. The pancreatic beta cell is a key site for mediating the effects of leptin on glucose homeostasis. *Cell Metab.* 2006;4(4):291-302.
 155. Seufert J. Leptin effects on pancreatic beta-cell gene expression and function. *Diabetes.* 2004;53 Suppl 1:S152-8.
 156. Osegbe I, Okpara H, Azinge E. Relationship between serum leptin and insulin resistance among obese Nigerian women. *Annals of African medicine.* 2016;15(1):14-9.
 157. Wang TN, Chang WT, Chiu YW, Lee CY, Lin KD, Cheng YY, et al. Relationships between changes in leptin and insulin resistance levels in obese individuals following weight loss. *The Kaohsiung journal of medical sciences.* 2013;29(8):436-43.
 158. Zimmet PZ, Collins VR, de Courten MP, Hodge AM, Collier GR, Dowse GK, et al. Is there a relationship between leptin and insulin sensitivity independent of obesity? A population-based study in the Indian Ocean nation of Mauritius. *Mauritius NCD*

- Study Group. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 1998;22(2):171-7.
159. Wu DM, Shen MH, Chu NF. Relationship between plasma leptin levels and lipid profiles among school children in Taiwan--the Taipei Children Heart Study. *European journal of epidemiology*. 2001;17(10):911-6.
 160. Shimamura M, Matsuda M, Ando Y, Koishi R, Yasumo H, Furukawa H, et al. Leptin and insulin down-regulate angiopoietin-like protein 3, a plasma triglyceride-increasing factor. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;322(3):1080-5.
 161. Picard F, Richard D, Huang Q, Deshaies Y. Effects of leptin adipose tissue lipoprotein lipase in the obese ob/ob mouse. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 1998;22(11):1088-95.
 162. Valle M, Gascon F, Martos R, Bermudo F, Ceballos P, Suanes A. Relationship between high plasma leptin concentrations and metabolic syndrome in obese pre-pubertal children. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2003;27(1):13-8.
 163. Kim WK, Lee CY, Kang MS, Kim MH, Ryu YH, Bae KH, et al. Effects of leptin on lipid metabolism and gene expression of differentiation-associated growth factors and transcription factors during differentiation and maturation of 3T3-L1 preadipocytes. *Endocrine journal*. 2008;55(5):827-37.
 164. Singh P, Peterson TE, Sert-Kuniyoshi FH, Glenn JA, Davison DE, Romero-Corral A, et al. Leptin signalling in adipose tissue: role in lipid accumulation and weight gain. *Circulation research*. 2012;111(5):599-603.
 165. Ke Y, Qiu J, Ogus S, Shen WJ, Kraemer FB, Chehab FF. Overexpression of leptin in mice leads to decreased basal lipolysis, PKA activity, and perilipin levels. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;312(4):1165-70.
 166. Tan X, Sun X, Li Q, Zhao Y, Zhong W, Sun X, et al. Leptin deficiency contributes to the pathogenesis of alcoholic fatty liver disease in mice. *The American journal of pathology*. 2012;181(4):1279-86.
 167. Huynh FK, Neumann UH, Wang Y, Rodrigues B, Kieffer TJ, Covey SD. A role for hepatic leptin signalling in lipid metabolism via altered very low density lipoprotein composition and liver lipase activity in mice. *Hepatology*. 2013;57(2):543-54.
 168. Maya-Monteiro CM, Almeida PE, D'Avila H, Martins AS, Rezende AP, Castro-Faria-Neto H, et al. Leptin induces macrophage lipid body formation by a

- phosphatidylinositol 3-kinase- and mammalian target of rapamycin-dependent mechanism. *The Journal of biological chemistry*. 2008;283(4):2203-10.
169. Fazolini NP, Cruz AL, Werneck MB, Viola JP, Maya-Monteiro CM, Bozza PT. Leptin activation of mTOR pathway in intestinal epithelial cell triggers lipid droplet formation, cytokine production and increased cell proliferation. *Cell Cycle*. 2015;14(16):2667-76.
 170. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth- hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*. 1999;402(6762):656-60.
 171. Mohan H, Gasner M, Ramesh N, Unniappan S. Ghrelin, ghrelin-O-acyl transferase, nucleobindin-2/nesfatin-1 and prohormone convertases in the pancreatic islets of Sprague Dawley rats during development. *J Mol Histol*. 2016;47(3):325-36.
 172. Zigman JM, Jones JE, Lee CE, Saper CB, Elmquist JK. Expression of ghrelin receptor mRNA in the rat and the mouse brain. *J Comp Neurol*. 2006;494(3):528-48.
 173. Chen HY, Trumbauer ME, Chen AS, Weingarth DT, Adams JR, Frazier EG, et al. Orexigenic action of peripheral ghrelin is mediated by neuropeptide Y and agouti-related protein. *Endocrinology*. 2004;145(6):2607-12.
 174. St-Pierre DH, Wang L, Tache Y. Ghrelin: a novel player in the gut-brain regulation of growth hormone and energy balance. *News Physiol Sci*. 2003;18:242-6.
 175. Hirayama H, Shiina T, Shima T, Kuramoto H, Takewaki T, J BF, et al. Contrasting effects of ghrelin and des-acyl ghrelin on the lumbo-sacral defecation center and regulation of colorectal motility in rats. *Neurogastroenterol Motil*. 2010;22(10):1124-31.
 176. Edholm T, Levin F, Hellstrom PM, Schmidt PT. Ghrelin stimulates motility in the small intestine of rats through intrinsic cholinergic neurons. *Regul Pept*. 2004;121(1-3):25-30.
 177. Charoenthongtrakul S, Giuliana D, Longo KA, Govek EK, Nolan A, Gagne S, et al. Enhanced gastrointestinal motility with orally active ghrelin receptor agonists. *J Pharmacol Exp Ther*. 2009;329(3):1178-86.
 178. Nauck MA, Kemmeries G, Holst JJ, Meier JJ. Rapid tachyphylaxis of the glucagon-like peptide 1-induced deceleration of gastric emptying in humans. *Diabetes*. 2011;60(5):1561-5.
 179. Rodriguez A, Gomez-Ambrosi J, Catalan V, Gil MJ, Becerril S, Sainz N, et al.

- Acylated and desacyl ghrelin stimulate lipid accumulation in human visceral adipocytes. *Int J Obes (Lond)*. 2009;33(5):541-52.
180. Miegueu P, St Pierre D, Broglio F, Cianflone K. Effect of desacyl ghrelin, obestatin and related peptides on triglyceride storage, metabolism and GHSR signalling in 3T3-L1 adipocytes. *Journal of cellular biochemistry*. 2011;112(2):704-14.
 181. Barazzoni R, Bosutti A, Stebel M, Cattin MR, Roder E, Visintin L, et al. Ghrelin regulates mitochondrial-lipid metabolism gene expression and tissue fat distribution in liver and skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2005;288(1):E228-35.
 182. Li Z, Xu G, Qin Y, Zhang C, Tang H, Yin Y, et al. Ghrelin promotes hepatic lipogenesis by activation of mTOR-PPARgamma signalling pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(36):13163-8.
 183. Theander-Carrillo C, Wiedmer P, Cettour-Rose P, Nogueiras R, Perez-Tilve D, Pfluger P, et al. Ghrelin action in the brain controls adipocyte metabolism. *The Journal of clinical investigation*. 2006;116(7):1983-93.
 184. Thompson NM, Gill DA, Davies R, Loveridge N, Houston PA, Robinson IC, et al. Ghrelin and des-octanoyl ghrelin promote adipogenesis directly in vivo by a mechanism independent of the type 1a growth hormone secretagogue receptor. *Endocrinology*. 2004;145(1):234-42.
 185. Davies JS, Kotokorpi P, Eccles SR, Barnes SK, Tokarczuk PF, Allen SK, et al. Ghrelin induces abdominal obesity via GHS-R-dependent lipid retention. *Mol Endocrinol*. 2009;23(6):914-24.
 186. Lien GS, Lin CH, Yang YL, Wu MS, Chen BC. Ghrelin induces colon cancer cell proliferation through the GHS-R, Ras, PI3K, Akt, and mTOR signalling pathways. *Eur J Pharmacol*. 2016;776:124-31.
 187. Zhang H, Cui Z, Luo G, Zhang J, Ma T, Hu N, et al. Ghrelin attenuates intestinal ischemia/reperfusion injury in mice by activating the mTOR signalling pathway. *Int J Mol Med*. 2013;32(4):851-9.
 188. Guijas C, Rodriguez JP, Rubio JM, Balboa MA, Balsinde J. Phospholipase A2 regulation of lipid droplet formation. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1841(12):1661-71.
 189. Slomiany BL, Slomiany A. Involvement of constitutive nitric oxide synthase in ghrelin-induced cytosolic phospholipase A(2) activation in gastric mucosal cell protection against ethanol cytotoxicity. *Inflammopharmacology*. 2009;17(5):245-53.
 190. Iizuka Y, Kuwahara A, Karaki S. Role of PGE2 in the colonic motility: PGE2

- generates and enhances spontaneous contractions of longitudinal smooth muscle in the rat colon. *J Physiol Sci*. 2014;64(2):85-96.
191. Heller S, Cable C, Penrose H, Makboul R, Biswas D, Cabe M, et al. Intestinal inflammation requires FOXO3 and prostaglandin E2-dependent lipogenesis and elevated lipid droplets. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2016;310(10):G844-54.
 192. Hansen CF, Bueter M, Theis N, Lutz T, Paulsen S, Dalboge LS, et al. Hypertrophy dependent doubling of L-cells in Roux-en-Y gastric bypass operated rats. *PLoS One*. 2013;8(6):e65696.
 193. Nikolaidis LA, Mankad S, Sokos GG, Miske G, Shah A, Elahi D, et al. Effects of glucagon-like peptide-1 in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction after successful reperfusion. *Circulation*. 2004;109(8):962-5.
 194. Tolhurst G, Reimann F, Gribble FM. Nutritional regulation of glucagon-like peptide-1 secretion. *The Journal of physiology*. 2009;587(1):27-32.
 195. Breton J, Tennoune N, Lucas N, Francois M, Legrand R, Jacquemot J, et al. Gut Commensal *E. coli* Proteins Activate Host Satiety Pathways following Nutrient-Induced Bacterial Growth. *Cell Metab*. 2016;23(2):324-34.
 196. Ruttimann EB, Arnold M, Hillebrand JJ, Geary N, Langhans W. Intrameal hepatic portal and intraperitoneal infusions of glucagon-like peptide-1 reduce spontaneous meal size in the rat via different mechanisms. *Endocrinology*. 2009;150(3):1174-81.
 197. Tsimihodimos V, Elisaf MS. Incretins And Lipid Metabolism. *Current medicinal chemistry*. 2017.
 198. Xiao C, Dash S, Morgantini C, Patterson BW, Lewis GF. Sitagliptin, a DPP-4 inhibitor, acutely inhibits intestinal lipoprotein particle secretion in healthy humans. *Diabetes*. 2014;63(7):2394-401.
 199. Hsieh J, Longuet C, Baker CL, Qin B, Federico LM, Drucker DJ, et al. The glucagon-like peptide 1 receptor is essential for postprandial lipoprotein synthesis and secretion in hamsters and mice. *Diabetologia*. 2010;53(3):552-61.
 200. Yang J, Ren J, Song J, Liu F, Wu C, Wang X, et al. Glucagon-like peptide 1 regulates adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *Int J Mol Med*. 2013;31(6):1429-35.
 201. Hoffstedt J, Arner E, Wahrenberg H, Andersson DP, Qvisth V, Lofgren P, et al. Regional impact of adipose tissue morphology on the metabolic profile in morbid obesity. *Diabetologia*. 2010;53(12):2496-503.

202. Kang JG, Park CY, Ihm SH, Yoo HJ, Park H, Rhee EJ, et al. Mechanisms of adipose tissue redistribution with rosiglitazone treatment in various adipose depots. *Metabolism: clinical and experimental*. 2010;59(1):46-53.
203. Gupta NA, Kolachala VL, Jiang R, Abramowsky C, Romero R, Fifadara N, et al. The glucagon-like peptide-1 receptor agonist Exendin 4 has a protective role in ischemic injury of lean and steatotic liver by inhibiting cell death and stimulating lipolysis. *The American journal of pathology*. 2012;181(5):1693-701.
204. Sharma S, Mells JE, Fu PP, Saxena NK, Anania FA. GLP-1 analogs reduce hepatocyte steatosis and improve survival by enhancing the unfolded protein response and promoting macroautophagy. *PLoS One*. 2011;6(9):e25269.
205. Zhao XY, Zhang LL, Suolang QZ, Yang GY, Li L, Li SB, et al. [Liraglutide protects against nonalcoholic fatty liver disease in ApoE knockout mice with high-fat diet and silenced Acrp30 by increasing AMPK]. *Zhonghua gan zang bing za zhi = Zhonghua ganzangbing zazhi = Chinese journal of hepatology*. 2014;22(11):849-53.
206. Wang YG, Yang TL. Liraglutide reduces oxidized LDL-induced oxidative stress and fatty degeneration in Raw 264.7 cells involving the AMPK/SREBP1 pathway. *Journal of geriatric cardiology : JGC*. 2015;12(4):410-6.
207. Baggio LL, Drucker DJ. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*. 2007;132(6):2131-57.
208. Hsieh J, Trajcevski KE, Farr SL, Baker CL, Lake EJ, Taher J, et al. Glucagon-Like Peptide 2 (GLP-2) Stimulates Postprandial Chylomicron Production and Postabsorptive Release of Intestinal Triglyceride Storage Pools via Induction of Nitric Oxide Signaling in Male Hamsters and Mice. *Endocrinology*. 2015;156(10):3538-47.
209. Hsieh J, Longuet C, Maida A, Bahrami J, Xu E, Baker CL, et al. Glucagon-like peptide-2 increases intestinal lipid absorption and chylomicron production via CD36. *Gastroenterology*. 2009;137(3):997-1005, e1-4.
210. Meier JJ, Nauck MA, Pott A, Heinze K, Goetze O, Bulut K, et al. Glucagon-like peptide 2 stimulates glucagon secretion, enhances lipid absorption, and inhibits gastric acid secretion in humans. *Gastroenterology*. 2006;130(1):44-54.
211. Dash S, Xiao C, Morgantini C, Connelly PW, Patterson BW, Lewis GF. Glucagon-like peptide-2 regulates release of chylomicrons from the intestine. *Gastroenterology*. 2014;147(6):1275-84 e4.

212. Carraway R, Leeman SE. The isolation of a new hypotensive peptide, neurotensin, from bovine hypothalami. *The Journal of biological chemistry*. 1973;248(19):6854-61.
213. Kitabgi P, Carraway R, Leeman SE. Isolation of a tridecapeptide from bovine intestinal tissue and its partial characterization as neurotensin. *The Journal of biological chemistry*. 1976;251(22):7053-8.
214. Grunddal KV, Ratner CF, Svendsen B, Sommer F, Engelstoft MS, Madsen AN, et al. Neurotensin Is Coexpressed, Coreleased, and Acts Together With GLP-1 and PYY in Enteroendocrine Control of Metabolism. *Endocrinology*. 2016;157(1):176-94.
215. Luttinger D, King RA, Sheppard D, Strupp J, Nemeroff CB, Prange AJ, Jr. The effect of neurotensin on food consumption in the rat. *Eur J Pharmacol*. 1982;81(3):499-503.
216. Evers BM. Neurotensin and growth of normal and neoplastic tissues. *Peptides*. 2006;27(10):2424-33.
217. Assimakopoulos SF, Alexandris IH, Scopa CD, Mylonas PG, Thomopoulos KC, Georgiou CD, et al. Effect of bombesin and neurotensin on gut barrier function in partially hepatectomized rats. *World J Gastroenterol*. 2005;11(43):6757-64.
218. Armstrong MJ, Parker MC, Ferris CF, Leeman SE. Neurotensin stimulates [³H]oleic acid translocation across rat small intestine. *Am J Physiol*. 1986;251(6 Pt 1):G823-9.
219. Piatek J, Witmanowski H, Paluszak J, Krauss H, Krawczyk J. The effects of neurotensin on selected parameters of lipid metabolism in rats. *Peptides*. 2005;26(5):837-43.
220. Li J, Song J, Zaytseva YY, Liu Y, Rychahou P, Jiang K, et al. An obligatory role for neurotensin in high-fat-diet-induced obesity. *Nature*. 2016;533(7603):411-5.
221. Wang H, Zhao M, Sud N, Christian P, Shen J, Song Y, et al. Glucagon regulates hepatic lipid metabolism via cAMP and Insig-2 signalling: implication for the pathogenesis of hypertriglyceridemia and hepatic steatosis. *Sci Rep*. 2016;6:32246.
222. Takahashi K, Sasabe N, Ohshima K, Kitazato K, Kato R, Masuda Y, et al. Glucagon regulates intracellular distribution of adipose differentiation-related protein during triacylglycerol accumulation in the liver. *Journal of lipid research*. 2010;51(9):2571-80.
223. Miegueu P, Cianflone K, Richard D, St-Pierre DH. Motilin stimulates preadipocyte proliferation and differentiation and adipocyte lipid storage. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2011;301(5):E758-66.

224. Miegueu P, St-Pierre DH, Lapointe M, Poursharifi P, Lu H, Gupta A, et al. Substance P decreases fat storage and increases adipocytokine production in 3T3-L1 adipocytes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2013;304(4):G420-7.
225. Dubon MJ, Byeon Y, Park KS. Substance P enhances the activation of AMPK and cellular lipid accumulation in 3T3L1 cells in response to high levels of glucose. *Mol Med Rep*. 2015;12(6):8048-54.
226. Grenier E, Garofalo C, Delvin E, Levy E. Modulatory role of PYY in transport and metabolism of cholesterol in intestinal epithelial cells. *PLoS One*. 2012;7(7):e40992.
227. Ogawa E, Hosokawa M, Harada N, Yamane S, Hamasaki A, Toyoda K, et al. The effect of gastric inhibitory polypeptide on intestinal glucose absorption and intestinal motility in mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;404(1):115-20.
228. Savage AP, Adrian TE, Carolan G, Chatterjee VK, Bloom SR. Effects of peptide YY (PYY) on mouth to caecum intestinal transit time and on the rate of gastric emptying in healthy volunteers. *Gut*. 1987;28(2):166-70.
229. Edholm T, Degerblad M, Gryback P, Hilsted L, Holst JJ, Jacobsson H, et al. Differential incretin effects of GIP and GLP-1 on gastric emptying, appetite, and insulin-glucose homeostasis. *Neurogastroenterol Motil*. 2010;22(11):1191-200, e315.
230. Grider JR. Role of cholecystokinin in the regulation of gastrointestinal motility. *J Nutr*. 1994;124(8 Suppl):1334S-9S.
231. Borovicka J, Schwizer W, Mettraux C, Kreiss C, Remy B, Asal K, et al. Regulation of gastric and pancreatic lipase secretion by CCK and cholinergic mechanisms in humans. *Am J Physiol*. 1997;273(2 Pt 1):G374-80.
232. Scarpignato C, Varga G, Corradi C. Effect of CCK and its antagonists on gastric emptying. *J Physiol Paris*. 1993;87(5):291-300.
233. Vincent RP, Ashrafian H, le Roux CW. Mechanisms of disease: the role of gastrointestinal hormones in appetite and obesity. *Nature clinical practice Gastroenterology & hepatology*. 2008;5(5):268-77.
234. Mells JE, Anania FA. The role of gastrointestinal hormones in hepatic lipid metabolism. *Seminars in liver disease*. 2013;33(4):343-57.
235. Szmítko PE, Leiter LA, Verma S. The incretin system and cardiometabolic disease. *The Canadian journal of cardiology*. 2010;26(2):87-95.

236. Mellitzer G, Gradwohl G. Enteroendocrine cells and lipid absorption. *Current opinion in lipidology*. 2011;22(3):171-5.
237. Douglass JD, Malik N, Chon SH, Wells K, Zhou YX, Choi AS, et al. Intestinal mucosal triacylglycerol accumulation secondary to decreased lipid secretion in obese and high fat fed mice. *Front Physiol*. 2012;3:25.
238. Chavez-Jauregui RN, Mattes RD, Parks EJ. Dynamics of fat absorption and effect of sham feeding on postprandial lipemia. *Gastroenterology*. 2010;139(5):1538-48.
239. Wang LC, Nassir F, Liu ZY, Ling L, Kuo F, Crowell T, et al. Disruption of hedgehog signalling reveals a novel role in intestinal morphogenesis and intestinal-specific lipid metabolism in mice. *Gastroenterology*. 2002;122(2):469-82.
240. Buhman KK, Wang LC, Tang Y, Swietlicki EA, Kennedy S, Xie Y, et al. Inhibition of Hedgehog signalling protects adult mice from diet-induced weight gain. *J Nutr*. 2004;134(11):2979-84.
241. Douris N, Kojima S, Pan X, Lerch-Gaggl AF, Duong SQ, Hussain MM, et al. Nocturnin regulates circadian trafficking of dietary lipid in intestinal enterocytes. *Curr Biol*. 2011;21(16):1347-55.
242. Cruz-Garcia L, Schlegel A. Lxr-driven enterocyte lipid droplet formation delays transport of ingested lipids. *Journal of lipid research*. 2014;55(9):1944-58.
243. Grygiel-Gorniak B. Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications--a review. *Nutr J*. 2014;13:17.
244. Kimura R, Takahashi N, Lin S, Goto T, Murota K, Nakata R, et al. DHA attenuates postprandial hyperlipidemia via activating PPARalpha in intestinal epithelial cells. *Journal of lipid research*. 2013;54(12):3258-68.
245. Salehi E, Khazaei M. Fenofibrate, a peroxisome proliferator-activated receptor alpha, improves myocardial capillary density in diabetic rats. *J Pak Med Assoc*. 2012;62(3 Suppl 2):S9-12.
246. Carriere V, Vidal R, Lazou K, Lacasa M, Delers F, Ribeiro A, et al. HNF-4-dependent induction of apolipoprotein A-IV gene transcription by an apical supply of lipid micelles in intestinal cells. *The Journal of biological chemistry*. 2005;280(7):5406-13.
247. Frochet V, Alqub M, Cattin AL, Carriere V, Houllier A, Baraille F, et al. The transcription factor HNF-4alpha: a key factor of the intestinal uptake of fatty acids in mouse. *Am J Gastrointest Liver Physiol*. 2012;302(11):G1253-63.

248. Drover VA, Ajmal M, Nassir F, Davidson NO, Nauli AM, Sahoo D, et al. CD36 deficiency impairs intestinal lipid secretion and clearance of chylomicrons from the blood. *The Journal of clinical investigation*. 2005;115(5):1290-7.
249. Semova I, Carten JD, Stombaugh J, Mackey LC, Knight R, Farber SA, et al. Microbiota regulate intestinal absorption and metabolism of fatty acids in the zebrafish. *Cell Host Microbe*. 2012;12(3):277-88.
250. Kurahashi T, Konno T, Otsuki N, Kwon M, Tsunoda S, Ito J, et al. A malfunction in triglyceride transfer from the intracellular lipid pool to apoB in enterocytes of SOD1-deficient mice. *FEBS Lett*. 2012;586(24):4289-9

FIGURE LEGENDS

Figure 1 Possible effects of gastrointestinal peptides in the regulation of cytosolic lipid droplets formation in the intestine.

GI peptides have been found to regulate many mechanisms in every organ of the human body, ranging from satiety to cell proliferation. In the intestine, they also regulate many mechanisms such as intestinal lipid metabolism and/or CLD formation. Some of these effects could be caused directly by the peptide or indirectly by his action on the brain.

Figure 2 Regulation of cytosolic lipid droplets formation by gastrointestinal peptides in the intestine, liver and adipose tissue.

Leptin, acylated ghrelin (AG) and glucagon-like peptide (GLP)-1 were all found to have an impact on cytosolic lipid droplets (CLD) formation in the liver and adipose tissue by regulating important proteins in lipogenesis, β -oxidation and lipolysis. GLP-2 is the only peptide not found have any impact on these tissues while having an impact in the intestine. In the intestine, way less proteins or pathways were found to regulate CLD formation. The mammalian target of rapamycin (mTOR) signalling pathway is a possible target by the leptin and AG, while GLP-1 was only found to reduce microsomal triglyceride transfer protein (MTTP) expression, and neurotensin only found to reduce phosphorylated AMP activated protein kinase (pAMPK) expression. GLP-2 is the only peptide clearly found to reduce CLD accumulation and increase chylomicrons (CM) secretion in the intestine. Peptide YY (PYY), motilin and glucagon also increase CLD in a specific tissue.

Figure 1:

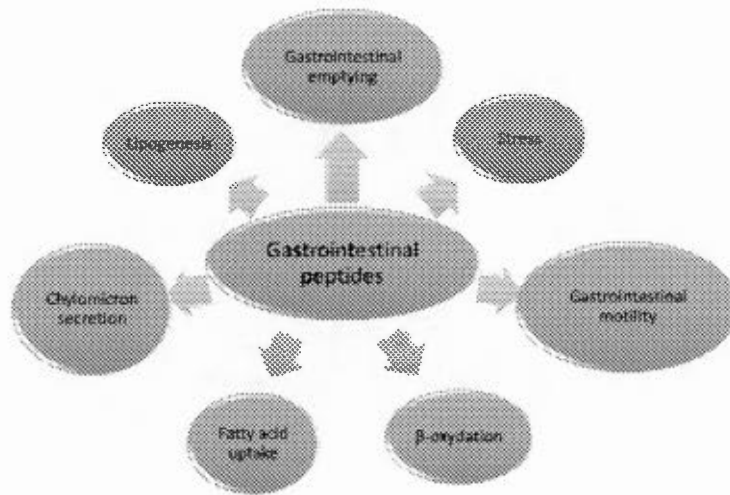
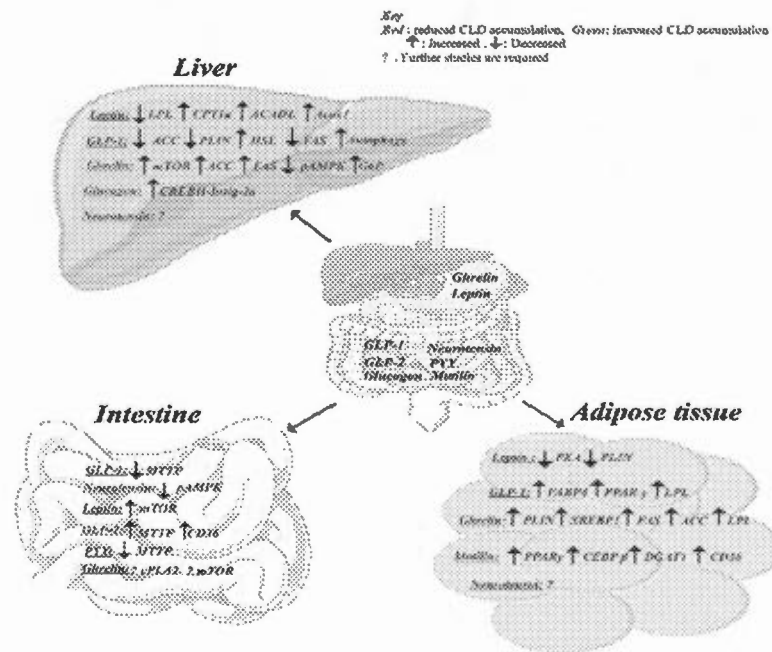


Figure 2:



3.2 Article 2 : « Acylated ghrelin and the regulation of lipid metabolism in the intestine»

Auclair N et al. Acylated ghrelin and the regulation of lipid metabolism in the intestine. 2018. Soumis à International journal of obesity.

Avant-propos :

Les travaux présentés dans cet article ont permis de répondre aux objectifs de ce mémoire. Le but était de savoir si la ghréline a un effet sur le métabolisme lipidique de l'intestin et aussi de savoir si elle joue un rôle sur le développement des dyslipédimies. Les résultats démontrent que la ghréline acylée augmente la dyslipidémie chez les animaux sous une diète riche en gras et diminue l'accumulation de GLCs sans avoir un effet sur la sécrétion des chylomicrons. La ghréline acylée diminue aussi l'entrée des lipides dans les Caco-2, mais n'a pas eu d'impact dans la sécrétion des lipoprotéines et les lipides intracellulaires dans les conditions de l'expérience.

J'ai contribué à la conception de l'étude, aux manipulations, à l'analyse des résultats et à l'écriture de l'article. Lilya Melboucci ainsi que Luciane Magri ont aidées à l'occupation des animaux et aux sacrifices. Carole Garofalo et Alain Sané ont aussi aidé à différentes manipulations lors du sacrifice. Émile Levy et David St-Pierre ont aidé à l'interprétation des résultats et à la correction de l'article pour l'obtention de la version finale.

From: ijo@nature.com
Sent: April 27, 2018 10:32 AM
To: Auclair, Nickolas
Subject: 2018IJO00636 Receipt of New Paper by International Journal of Obesity

Dear Mr Auclair,

On 27th Apr 2018, I received your manuscript entitled "ACYLATED GHRELIN AND THE REGULATION OF LIPID METABOLISM IN THE INTESTINE" by Nickolas Auclair, Lilya Melbouci, Ya Ou, Luciane Tomaz, Alain Sané, Carole Garofalo, Emile Levy, and David H. St-Pierre.

Your manuscript has been assigned the Paper #: 2018IJO00636.

You may check on the status of this manuscript by selecting the "Check Manuscript Status" link under the following URL:

<http://mts-ijo.nature.com/cgi-bin/main.plx?el=A5BR3NDQ3A2xsw4F7A9fdPAoH7U9jBfxeizbxiQikgZ>

(Press/Click on the above link to be automatically sent to the web page.)

Thank you for submitting your work to the International Journal of Obesity.

Sincerely,

Editor
International Journal of Obesity
<http://www.nature.com/ijo>

This email has been sent through the Springer Nature Manuscript Tracking System NY-610A-Springer Nature&MTS

Confidentiality Statement:

This e-mail is confidential and subject to copyright. Any unauthorised use or disclosure of its contents is prohibited. If you have received this email in error please notify our Manuscript Tracking System Helpdesk team at <http://platformsupport.nature.com>.

Details of the confidentiality and pre-publicity policy may be found here <http://www.nature.com/authors/policies/confidentiality.html>

[Privacy Policy](#) | [Update Profile](#)

Acylated ghrelin and the regulation of lipid metabolism in the intestine

Auclair N^{1,2}, Melbouci L^{1,3}, Ou Y³, Magri L³, Sané A¹, Garofalo C¹, Levy E^{1,2,4}, St-Pierre DH^{1,3,4}

¹ CHU Sainte-Justine Research Center

² Departement of Nutrition, University of Montreal, Montreal, Quebec, Canada, H3T 1C5

³Department of Exercise Science, University of Quebec in Montreal (UQAM), Québec, Canada, H2X 1Y4

⁴Institute of Nutrition and Functional Foods (INAF), Laval University, Quebec, Québec, Canada, G1V 0A6

Running Head: Ghrelin and chylomicron-lipid droplet interaction

Keywords: Chylomicrons, lipid droplets, ghrelin, intestine, lipid metabolism, enterocytes, dyslipidemia.

Correspondence: David H St-Pierre, Department of Exercise Science, 141 President-Kennedy Ave, Montreal, Quebec, Canada H3C 3P8, Telephone: +1 (514) 987-3000 ext 5150#; Fax: +1 (514) 987-6616; email: st-pierre.david_h@uqam.ca

Résumé

CONTEXTE: Les gouttelettes lipidiques cytosoliques (CLD) sont des organelles impliquées dans le stockage des graisses et la protection contre la lipotoxicité cellulaire, mais leur dysfonction influence aussi le développement des troubles cardiométaboliques. Dans l'intestin, les triacylglycérols (TAG) dérivés des CLDs sont hydrolysés et réestérifiés pour la synthèse des chylomicrons (CM) dans le réticulum endoplasmique (ER). La ghréline acylée (AG) est un peptide gastro-intestinal (GI) principalement produit par l'estomac qui favorise la croissance des CLDs dans le foie et les tissus adipeux, mais son rôle reste largement inexploré dans l'intestin.

OBJECTIF: Déterminer l'impact de l'AG sur le métabolisme des lipides de l'intestin.

MÉTHODES: Les effets de l'AG et de l'acide oléique (OA) sur la formation des CLDs et la sécrétion des CMs ont été étudiés dans les entérocytes Caco-2/15. Les hamsters dorés syriens ont également été soumis à des régimes alimentaires occidentaux (WD) ou conventionnels (CD) pendant 8 semaines et continuellement administrés avec de la AG ou du salin physiologique pendant les deux dernières semaines.

RÉSULTATS: Le traitement des cellules avec de l'OA a favorisé la croissance des CLDs et cet effet a été renforcé par l'inhibition de la production des CMs. Cependant, dans les conditions utilisées, l'AG n'a pas influencé le métabolisme des lipides. Chez les hamsters WD, la taille des CLDs a été réduite tandis que la sécrétion de CMs postprandiale a été augmentée. En réponse à une WD, la perfusion d'AG a favorisé la dyslipidémie et réduit l'accumulation de CLDs dans l'intestin.

DISCUSSION: Ces résultats soutiennent la relation intime entre l'accumulation de CLDs et la sécrétion de CMs dans l'intestin. Par conséquent, AG réduit l'accumulation de CLDs tout en favorisant le poids du foie et la dyslipidémie. Cela confirme la pertinence d'étudier de plus près les mécanismes par lesquels AG exerce ses effets sur le métabolisme des lipides dans l'intestin à l'aide du modèle hamster syrien doré.

Abstract

BACKGROUND: Cytosolic lipid droplets (CLD) are organelles involved in fat storage and protection against cellular lipotoxicity but their dysfunction influences the development of cardiometabolic disorders. In the intestine, CLD-derived triacylglycerol (TAG) is hydrolyzed and re-esterified for chylomicron (CM) synthesis in the endoplasmic reticulum (ER). Acylated ghrelin (AG) is a gastrointestinal (GI) peptide mainly produced from the stomach that promotes CLD growth in liver and adipose tissues but its role remains largely unexplored in the intestine. **OBJECTIVE:** To determine the impact of AG on lipid metabolism in the intestine. **METHODS:** The effects of AG and oleic acid (OA) on CLD formation and CM secretion were studied in Caco-2/15 enterocytes. Syrian Golden Hamsters were also submitted to Western (WD) or conventional chow (CD) diets for 8 weeks and continuously administered with AG or physiological saline over the ultimate 2 weeks. **RESULTS:** Treatment with OA promoted CLD growth and this effect was enhanced by the inhibition of CM production in Caco-2/15 cells. However, in the conditions used in cultured enterocytes, AG did not influence lipid metabolism. In WD hamsters, CLD size was reduced while postprandial CM secretion was increased. In response to WD, AG infusion promoted WD-related dyslipidemia and reduced CLD accumulation in the intestine. **DISCUSSION:** These results support the intimate relationship between CLD accumulation and CM secretion in the intestine. Hence, AG reduced CLD accumulation in the intestine while promoting liver weight and dyslipidemia. This supports the relevance of further investigating the mechanisms through which AG exerts its effects on lipid metabolism in the intestine using the Syrian Golden Hamster model.

List of abbreviations

AG : Acylated ghrelin

ApoB-48 : Apolipoprotein B-48

CD : Chow diet

CM : Chylomicron

CLD : Cytoplasmic lipid droplet

ER : Endoplasmic reticulum

FA : Fatty acids

FABP : Fatty acid binding protein

GHSR1a : Growth hormone secretagogue receptor of type 1a

GI : Gastrointestinal peptide

MTTP : Microsomal triglyceride transfer protein

NAFLD : Non-alcoholic fatty liver disease

OA : Oleic acid

TAG : Triacylglycerol

UAG : Unacylated ghrelin

WD : Western diet

1. Introduction

The alarming increase in the incidence of obesity and ensuing cardiometabolic disorders is a major issue for social health authorities worldwide. It is characterized by postprandial dyslipidemia, which mainly results from impairments in the regulation of lipoprotein secretion from the intestine and liver (1, 2). Evidently, postprandial lipid disorders are intimately associated to the progression of cardiometabolic diseases.

As reviewed in (3), under normal conditions, in the postprandial state, apolipoprotein B-48 (apoB-48)-containing lipoproteins are formed in the endoplasmic reticulum, moved to the Golgi apparatus and later secreted as chylomicrons (CM) at the basolateral membrane of the enterocytes. Once they reach the circulation, triacylglycerol (TAG) content of CM particles is hydrolyzed by lipoprotein lipase to provide peripheral tissues with free fatty acids (FA). Furthermore, this process reduces the volume of the CM to produce CM remnants (CMR). Later, these CMR particles are internalized by the liver or accumulate in the arterial endothelium to increase the risk of developing cardiovascular diseases.

Lipids absorbed by enterocytes can also be stored in cytosolic lipid droplets (CLDs) (4). These cellular organelles contain a hydrophobic core of TAG and cholesterol ester surrounded by a phospholipid monolayer comprising few free cholesterol molecules. Hence, they are formed by the clustering of neutral lipids within the hydrophobic region of the endoplasmic reticulum (5). Cytosolic lipid droplet accumulation and hypertrophy occur in organs and tissues with key metabolic functions such as adipose tissues and liver (6). In the liver excessive CLD accumulation is intimately associated to the development of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) (7). As recently reviewed by our group, CLDs are key lipid

reserves that undergo hydrolysis/re-esterification to provide the endoplasmic reticulum (ER) with sufficient TAG sources for CM synthesis and secretion (3). In the intestine, CLDs are suggested to exert beneficial effects by delaying the transfer of dietary TAG to the ER and CM synthesis/secretion while optimizing the system's capacity to cope with postprandial lipids (8). However, important questions remain regarding the mechanisms promoting CLD formation and their physiological outcome on lipid metabolism in the intestine.

Gastrointestinal (GI) peptides are secreted by enteroendocrine cells located throughout tissues in the stomach, small intestine and colon (9). Many of these hormones are key neuroendocrine regulators of vital functions such as eating behavior, glucose homeostasis, energy expenditure and lipid metabolism. Some of these peptides such as glucagon-like peptide 1 (GLP-1), glucagon-like peptide 2 (GLP-2), neurotensin, and leptin, were previously shown to regulate CLD accumulation and/or chylomicron secretion in the small intestine (10-12). Ghrelin is an orexigenic GI peptide mainly secreted in the blood by X/A cells of the stomach but also in decreased concentrations by the distal part of the intestine (13). In the circulation, ghrelin can be found under the acylated (AG) and unacylated (UAG) forms (13). The growth hormone secretagogue receptor of type 1a (GHSR-1a) is recognized as the endogenous receptor mediating the activity of AG in the periphery and in the central nervous system (CNS) (13, 14). Hence, AG was shown to stimulate food intake by activating NPY and agouti-related peptide (AGRP) neurons of the hypothalamus (15). In the periphery, ghrelin promotes CLD formation in the liver and adipose tissues. In adipocytes, we and others reported that both ghrelin forms increase lipid accumulation and CLD growth by increasing intracellular FA uptake and reducing lipolysis (16, 17). Both UAG and AG are reported to influence GI motility but important questions remain regarding their effects on lipid metabolism and/or

CLD accumulation in the intestine (18-21). Since there is currently no available data on the role of ghrelin in the small intestine, it is critical to determine whether the hormone regulates lipid metabolism as previously reported in other tissues.

This study intended to clarify the role of AG on CLD accumulation and CM formation *in vitro* using Caco-2/15 enterocytes as well as *in vivo* in Syrian Golden Hamsters, a unique and representative model of human lipoprotein physiology. In the conditions tested, AG did not influence CLD formation or CM secretion in Caco-2/15 enterocytes. However, AG potently reduced CLD accumulation without influencing CM production. Further, AG increased body weight while promoting dyslipidemia.

2. Materials and methods

2.1 Enterocyte culture

Caco-2/15 cells were cultured at 37°C and 5 % of CO₂ in EMEM medium (Wisent Inc., Canada) containing 10% fetal bovine serum (FBS; Wisent Inc.), 1% penicillin/streptomycin and 1% non-essential amino acids (GIBCO, USA) as described previously (22, 23). Cells were maintained in T-75 cm² flasks (Corning Inc., USA) until they reached 80-90% of confluence and were trypsinized. For individual experiments, enterocytes were seeded at a density of 1 x 10⁶ cells/well on polycarbonate 24.5-mm transwell filters with pores of a diameter of 0.4 μm (Corning Inc., USA). These transwells allowed separating apical and basolateral compartments of the Caco-2/15 cell monolayer. Differentiation occurred when enterocytes were cultured for 15 days post-100% confluence. Cells were then used for the different treatments. Monolayer integrity was also confirmed by the determination of the transepithelial resistance (24).

2.2 Lipoprotein secretion and cytosolic lipid droplet formation

All the experimental protocols are described in the Supplementary data

2.3 Acylated ghrelin and intracellular fatty acid uptake.

Differentiated Caco-2/15 cells were preincubated in serum-free EMEM medium for 2 h before being treated with AG (10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM) in phosphate-buffered saline (PBS, Wisent Inc, Canada). The intracellular FA uptake was then analyzed using a commercial kit (QBT fluorescence FA assay kit, Molecular Devices, USA). To do so, 100 μ L of BODIPY reagent (diluted in Hank's balanced salt solution at 0,2%) was added to Caco-2/15 enterocytes. The intracellular FA uptake was evaluated continuously with $\lambda_{ex} = 485\text{nm}$ and $\lambda_{em} = 515\text{nm}$ every 30 seconds for 2 hours, according to the manufacturer's instructions.

2.4 Analysis of isolated lipoproteins and intracellular lipid fractions

The experimental protocol is described in the Supplementary data

2.5 Effects of AG on lipid esterification

The experimental protocol is described in the Supplementary data

2.6 Syrian Golden Hamsters and lipid metabolism in the intestine

All animal protocols were approved by UQAM's Institutional Animal Care Committee (CIPA: #0515-R3-759-0519). Nine-week-old (100-110 g) male Syrian Golden Hamsters (Envigo, USA) were acclimatized for 1 week under controlled environmental conditions (fed *ad libitum* at 22°C with 12 h of light/dark cycles). After being acclimatized, hamsters were submitted to conventional chow (CD, Rodent Chow 5075, Charles River, Canada) or Western (WD, #D12492, Research Diet Inc. USA) diets for 8 weeks. Body weight and food intake were measured every 2 days. Six weeks after initiating WD or CD, animals were anesthetized with 3.5-4.5% isoflurane. A small intrascapular incision was performed under aseptic conditions to insert an osmotic minipump (ALZET model 2002, DURECT

Corporation, USA) containing AG (Polypeptide, France) or physiological saline (Baxter, USA), subcutaneously (sc). Acylated ghrelin was administered for 14 days at 100 nmol/kg/day; a concentration previously shown to increase food intake in rats (25). After the implantation of mini-pumps, hamsters were injected with a sc dose (5 mg/kg) of Ketoprofen (Merial, Canada).

2.7 Postprandial chylomicron secretion

The experimental protocol is described in the Supplementary data

2.8 Chylomicrons isolation by ultracentrifugation

The experimental protocol is described in the Supplementary data

2.9 Biochemical analyses in fasting plasma

Fasting TAG, HDL-cholesterol (Bio Scientific, USA), insulin (Merckodia, Sweden), total cholesterol and free cholesterol were analyzed with commercial kits (Wako Diagnostics, USA). Similarly, fasting glucose was measured with a glucometer (Contour[®] NEXT, Bayer, Germany). HOMA-IR was used as an insulin sensitivity index as previously reported (26).

2.10 CLD characterization using fluorescent markers and Confocal microscopy

Hamster jejunum tissues were incubated in paraformaldehyde (PFA) 4% 1 day and then embedded in O.C.T (Fisher Healthcare, USA). Caco-2/15 treated as previously mentioned in other sections and tissue cryosections were washed with PBS and fixed with PFA 4% for 15 minutes. Staining of cryosections were performed as described in *Section 2.2*.

2.11 Western Blot analysis

The experimental protocol is described in the Supplementary data

2.12 Statistical analysis

Results are presented as mean \pm SEM. They were evaluated by ANOVA and the differences between means were analyzed by using the *post-hoc* Turkey test. If the experiment didn't pass the Shapiro-Walk normality test, the Kruskal-Wallis test was used. Significance is considered at $P < 0.05$.

Results

3.1 Oleic acid treatment and CLD accumulation in Caco-2/15 cells

The first step was undertaken to determine the conditions promoting the most important CLD accumulations in cultured enterocytes. In Caco-2/15 incubated with OA, CLD accumulation increased from 1 h to 6 h while reaching its peak at 24 h (*Figure 1A, B*). Also, in response to OA, total CLD area was increased in a dose-response manner (*Figure 1D*) while higher average CLD size was only observed at 600 and 900 μM (*Figure 1E*). For both experiments, CLD numbers were not influenced the incubation time or OA concentrations (*Figure 1C and F*). Analyses with the fluorescent markers showed that the optimal OA concentration/incubation time enhance total CLD area by a factor of 2X when compared to control treatments. As observed using CLD characterization with fluorescent markers, OA (600 μM) for 24 h increased PLIN2 and TAG levels by a factor of 2X in Caco-2/15 enterocytes.

3.2 Inhibition of chylomicron secretion and CLD growth in Caco-2/15 cells

Lomitapide Mesylate significantly reduced CM secretion by 69 % (*Figure 1K*) while increasing total CLD area per microscopic field (*Figure 1J*). However, it did not affect average CLD size and number (*Supplementary data, Figure S1*).

3.3 Acylated ghrelin and intracellular fatty acid uptake in Caco-2/15 cells

Caco-2/15 cells were incubated with different concentrations of AG (10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM). Acylated ghrelin significantly reduced intracellular FA uptake (area under the curve and kinetics, *Figure 2A* and *B*) at all concentrations tested ($P < 0.01$ vs control treatment) but not at 10 pM. Interestingly, a plateau effect was reached in response to AG at concentrations above 100 pM.

3.4 Acylated ghrelin and lipoprotein formation in enterocytes

In response to AG (100 pM) with or without the GHSR-1a antagonist, [D-Lys³]-GHRP-6 (50 μ M) on the apical and basolateral side, no modulation of lipoproteins, TAG or cholesterol ester (CE) levels was noted in Caco-2/15 cells (*Supplementary data, figure S1*). To support these data, Caco-2/15 were treated with AG and no difference in CLD total area and number per microscopic field as well as average size was detected (*Supplementary data, figure S1*).

3.5 Acylated ghrelin and Western Diet in Syrian Golden Hamsters

Since results obtained in cultured cell lines are not always representative of physiological conditions in living organisms, a Syrian Golden Hamster model was used to test AG's effects on lipid metabolism in the intestine. As presented in *Table 1*, there was a significant difference in final body weights between WD and WD+AG hamsters. This difference is caused by an important increase in body weight gain after acylated ghrelin injection between CD and CD + AG, and WD and + WD+AG. No significant difference in caloric intake was noted between hamsters submitted to the different treatments. Nevertheless, animals submitted to WD+AG displayed significantly increased liver, small intestine and epididymal fat pad weights compared

to the other hamsters on CD. Fasting plasma TAG, total cholesterol, free cholesterol, cholesterol ester and non-HDL-cholesterol concentrations were significantly raised under WD treatment. Acylated ghrelin infusions further increased TAG and total cholesterol levels in plasma of WD animals and therefore promoted dyslipidemia under WD conditions. Interestingly, WD+AG animals displayed increased weight (*Table 1*) and alterations in the visual aspect of their livers (*Figure 3*), with no change in hepatic TAG or cholesterol concentrations (*Table 1*). On the other hand, WD animals displayed significantly heavier small intestine and lighter colon weights. These results were also supported by a decrease in colon length (*Figure 3*). Finally, insulin resistance was slightly increased by AG under CD and WD but fasting glucose and insulin levels as well as HOMA-IR² did not reach statistical significance.

3.6 AG does not increase chylomicron secretion in golden Syrian hamsters

After a 16 h fast, animals were given an olive oil gavage and CM catabolism was inhibited. Two hours later, there was no effect of AG on plasma CM (TAG and cholesterol) and apoB-48 levels (*Figure 4*) in plasma. This indicates that AG did not influence CM secretion in hamsters under the conditions tested.

3.7 Acylated ghrelin and lipid accumulation in the small intestine

Most lipids internalized by enterocytes are secreted as chylomicrons or accumulated in the cytosol as CLD (8). Since jejunum is one of the most critical site for lipid absorption in the intestine (28), we investigated how the diets and AG influence its capacity to generate CLDs. Reduced CLD total area, average size and number in the jejunum of WD hamsters (*Figure 5*). Hence, AG also decreased CLD total area and number in CD and WD animals.

3. DISCUSSION

Cytosolic lipid droplets are important organelles containing a core of TAG and cholesterol surrounded by a phospholipid monolayer (29). They are found in many tissues where they are proposed to play distinct physiological roles. For instance, CLD hypertrophy is associated with energy storage and the progression of cardiometabolic disorders in the adipose tissue and liver, leading to obesity and NAFLD, respectively (30, 31). The interest towards understanding the physiological relevance of CLDs in the intestine has grown over the recent years and it is expected that the mechanisms underlying their production and synthesis are under tight regulatory control. Once lipids are absorbed from the lumen, they are used for TAG re-esterification on the ER membrane, integrated in CLDs and transported to the cytosol or they undergo CM synthesis before being exported into the circulation (32). As reviewed, only a few gastrointestinal factors, are known to regulate CLD synthesis and accumulation in the intestine (3). One potential regulator of CLD production is acylated ghrelin (AG), a GI peptide known to increase appetite while promoting lipid storage in adipose tissues and liver (33). Surprisingly, the effect of AG on lipid metabolism in the intestine has been overlooked over the years. The first objective of the present study was to confirm the relation between CM production/secretion and CLD accumulation *in vitro* in cultured Caco-2/15 enterocytes and *in vivo* in Syrian Golden Hamsters. The second objective was to identify how AG modulates lipid metabolism in the same models. The major findings show that CLD growth is increased in response to prolonged exposure to high lipid concentrations and this effect is enhanced by CM formation in Caco-2/15 enterocytes. In WD hamsters, CLD size was reduced while postprandial CM secretion was increased. In response to WD, prolonged AG treatment promoted dyslipidemia and reduced CLD accumulation in the intestine.

The present results show that CLD production and hypertrophy is increased in response to prolonged exposure to higher concentrations of oleic acid (OA). The optimal conditions were observed when Caco-2/15 cells were incubated with 600 μM of OA for 24 h. These results were obtained using two fluorescent markers for nuclei (DAPI) and neutral lipids/CDLs (LipidTox), confocal microscopy and image analysis. This method was instrumental in characterizing the effects of OA on CLD accumulation in Caco-2/15 enterocytes. It allowed determining the outcomes of the different treatments on CLD total area per microscopy field, numbers per microscopy field and average size. Characterization of CLDs was always performed using a monolayer of differentiated Caco-2/15 enterocytes plated on transwell filters at 100% confluence. This was critical for standardizing the method. Confocal microscopy was previously proposed as one of the most efficient tool for observing and characterizing CLDs (34). Caco-2 cells, were previously shown to increase CLD production in the presence of lipid micelles and a similar microscopic method was also used to show that 600 μM of OA increases CLD content by 100% (35). This effect is potentially more important in Caco-2 enterocytes since these cells do not secrete as much lipoproteins as Caco-2/15 cells. To confirm the results obtained with confocal microscopy, perilipin 2 (PLIN-2) and intracellular TAG levels were also measured. Accordingly, these alternative methods yielded similar results than those obtained with the fluorescent markers/confocal microscopy and this reinforced the validity of the data.

Inhibition of the MTTP by Lomitapide Mesylate decreased CM production/secretion by 69% and this significantly increased total CLD area per microscopy field. Following their uptake by enterocytes of the jejunum, FA are transported to the ER by both I-FABP and liver FABP (L-FABP) (36). Once transported to the ER, FAs are re-esterified as TAG that enter the lumen where CM or CLD synthesis is achieved

(37). Chylomicron synthesis requires TAG assembly by apoB-48, which is orchestrated by MTTP (28). This suggested that MTTP inactivation or blockage could prevent CM synthesis and promote CLD production. The present results support the hypothesis that the inhibition of CM production/secretion increases CLD synthesis to prevent intracellular lipotoxicity in the intestine.

There is very limited information regarding the effects of AG on intestinal functions. It was previously reported that AG promotes enterocyte proliferation in the intestine, however, the present study was first to investigate its role in lipid transport in enterocytes (38). In the conditions tested, AG did not influence lipoprotein secretion or CLD accumulation in Caco-2/15 cells. On the other hand, AG down-regulated intracellular FA uptake in enterocytes. This effect was not initially expected since our group previously reported that AG potentiates intracellular FA uptake in differentiated 3T3-L1 cells (17). However, the present data is supported by the observation that AG reduces palmitic acid transport in undifferentiated myoblasts (39). This indicates that AG exerts tissue-specific actions on FA uptake. The present results show that AG significantly reduces FA transport without affecting lipoprotein secretion or TAG accumulation in cultured Caco-2/15 enterocytes. Treatment with 100 pM of AG showed optimal reductions in FA transport in this study, this concentration was previously used by our group since it can be considered as physiological (17). Several factors could have influenced the present results in Caco-2/15 cells. For instance, some peripheral outcomes of AG were reported to be mediated by the CNS (40). Also, it is possible that AG increased the rate of CM production/secretion but this effect was no longer observable after 24 h of incubation. Previously, Caco-2/15 cells have provided critical information on how enterocytes absorb lipids and release them as CMs. Although they were originally isolated from the colon, their capacity to metabolize lipids following full differentiation is closely

related those of enterocytes in the small intestine (41). However, they display a reduced capacity to secrete lipoproteins (approximately 15-20% of all TAG molecules) and are proposed to synthesize more CLDs than native enterocytes of the small intestine (24). Based on these factors, it was critical to validate these results *in vivo*.

Syrian Golden Hamsters are validated as one of the best rodent model to mimic human lipid metabolism. In contrast to mice and rats, these animals express cholesteryl ester transfer protein (CETP) responsible for TAG and cholesterol ester exchange between VLDL/LDL and HDL particles (42). This protein is also found in human, increasing the accumulation of LDL and reducing HDL. These hamsters were previously used by Adeli and colleagues to characterize the effects of GI peptides glucagon-like peptide 1 (GLP-1) and 2 (GLP-2) on CM secretion (11, 43). When submitted to WD, hamsters develop obesity, dyslipidemia and severe hepatic steatosis as well as reduced weight and inflammation of their colon (44). In the present study, hamsters submitted to WD did not develop obesity compared when compared to animals submitted to CD. However, dyslipidemia, increased liver (higher TAG and cholesterol) and small intestine weight as well as reduced colon weight were observed in WD animals. Although not initially expected, resistance to diet-induced obesity and the absence of insulin resistance were previously reported by others in hamsters and rats (45-49).

In hamsters submitted to CD, continuous AG treatment significantly reduced TAG concentrations in the jejunum. This was also confirmed by the decrease in CLD total area and numbers per microscopic field. However, AG did not induce any other change in the metabolic phenotype of CD hamsters. In response to WD, AG infusion significantly increased body weight, epididymal fat and liver weight. Surprisingly,

this effect was not associated to increases in caloric intakes, but AG was previously shown to promote obesity without altering the amount of calories ingested (50). Interestingly, the most striking differences observed in hamsters submitted to WD and AG infusion were associated to dyslipidemia (increases in plasma TAG and cholesterol levels). However, CM production/secretion was not affected by AG. Since AG was previously reported to promote hepatic steatosis (51), liver TAG and cholesterol levels were measured. In contrast to what was observed in the mice model, AG infusion did not increase hepatic TAG and cholesterol concentrations. This indicates that AG potentiates FA re-esterification, lipoprotein synthesis and release from the liver to the circulation. It further suggests that AG promotes VLDL secretion and LDL production in the plasma, suggesting that the hormone could play a role in the development of atherosclerosis (52). The main goal of this study was not to investigate the role of AG on lipid metabolism in the liver. However, it raises important questions regarding the mechanisms through which AG increases weight and lipoprotein secretion while altering the visual aspect of the liver. Hence, it suggests that AG effects on the liver should be clarified in the hamster model since it is recognized to be more representative of human lipid metabolism than other rodent models (53).

In WD hamsters, olive oil gavage promoted CM secretion while decreasing CLD production in the jejunum. This validates previous data showing that lipid-rich diets increase CM secretion through an adaptive mechanism intimately associated to insulin resistance (54, 55). In the present study, the higher small intestine weight observed in response to WD suggests a stimulation of enterocyte proliferation and consequently an increase in the surface of absorption of the jejunum (56). On the other hand, CD animals displayed reduced CM secretion and increased CLD production in jejunum. This indicates that CD hamsters accumulated TAG as CLD

rather than releasing them as CM and this effect is likely to potentiate the progression of atherosclerosis. In the conditions tested, AG did not influence CM secretion but it significantly reduced CLD accumulation hamsters submitted to CD and WD. These results are intriguing and indicate that in response to AG, TAG could be hydrolyzed and utilized through other mechanisms than those involved in lipoprotein production. This could suggest that CLD provide TAG to mitochondria and therefore upregulates β -oxidation (57). As observed in Caco-2/15 enterocytes, AG could also reduce lipid absorption in the intestine. This could either be mediated at the enterocyte level or explained by the negative correlation between ghrelin and the levels of certain bile acids (58). If confirmed, this indicates that AG could reduce lipid emulsification and reduce its absorption in the intestine. It is also possible that AG promptly enhances CM secretion and that this effect was no longer detectable 2 h after the gavage. Finally, AG could also influence other yet undefined mechanism regulating lipid metabolism in the intestine. It is therefore critical to conduct further investigations on the role of AG in lipid metabolism in the intestine.

In conclusion, the present results indicate that AG plays a role in fat absorption, intracellular uptake or metabolism through yet undefined mechanisms in the intestine. This report is first to show that in addition to its adipogenic effects, AG also promotes dyslipidemia via hepatic lipoprotein secretion. This suggests the critical need to use interactive approach to determine how gastrointestinal peptides regulate lipid metabolism in key metabolic organs such as the intestine and liver.

COMPETING INTERESTS/ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by the J. A. DeSève Research Chair in Nutrition. The authors thank Mrs Schohraya Spahis for her excellent technical assistance. The

funders had no role in study design, decision to publish, or preparation of the manuscript. Therefore, the authors have declared that no competing interests exist.

4. References

1. Chatrath H, Vuppalanchi R, Chalasani N. Dyslipidemia in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Seminars in liver disease*. 2012;32(1):22-9.
2. Miller M. Dyslipidemia and cardiovascular risk: the importance of early prevention. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians*. 2009;102(9):657-67.
3. Auclair N, Melbouci L, St-Pierre D, Levy E. Gastrointestinal factors regulating lipid droplet formation in the intestine. *Exp Cell Res*. 2018;363(1):1-14.
4. Beilstein F, Carriere V, Leturque A, Demignot S. Characteristics and functions of lipid droplets and associated proteins in enterocytes. *Exp Cell Res*. 2016;340(2):172-9.
5. Hashemi HF, Goodman JM. The life cycle of lipid droplets. *Curr Opin Cell Biol*. 2015;33:119-24.
6. Kraemer N, Farese RV, Jr., Walther TC. Balancing the fat: lipid droplets and human disease. *EMBO molecular medicine*. 2013;5(7):973-83.
7. Okumura T. Role of lipid droplet proteins in liver steatosis. *J Physiol Biochem*. 2011;67(4):629-36.
8. Demignot S, Beilstein F, Morel E. Triglyceride-rich lipoproteins and cytosolic lipid droplets in enterocytes: key players in intestinal physiology and metabolic disorders. *Biochimie*. 2014;96:48-55.
9. Ahlman H, Nilsson. The gut as the largest endocrine organ in the body. *Ann Oncol*. 2001;12 Suppl 2:S63-8.

10. Hsieh J, Longuet C, Baker CL, Qin B, Federico LM, Drucker DJ, et al. The glucagon-like peptide 1 receptor is essential for postprandial lipoprotein synthesis and secretion in hamsters and mice. *Diabetologia*. 2010;53(3):552-61.
11. Hsieh J, Trajcevski KE, Farr SL, Baker CL, Lake EJ, Taher J, et al. Glucagon-Like Peptide 2 (GLP-2) Stimulates Postprandial Chylomicron Production and Postabsorptive Release of Intestinal Triglyceride Storage Pools via Induction of Nitric Oxide Signaling in Male Hamsters and Mice. *Endocrinology*. 2015;156(10):3538-47.
12. Li J, Song J, Zaytseva YY, Liu Y, Rychahou P, Jiang K, et al. An obligatory role for neurotensin in high-fat-diet-induced obesity. *Nature*. 2016;533(7603):411-5.
13. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*. 1999;402(6762):656-60.
14. Zigman JM, Jones JE, Lee CE, Saper CB, Elmquist JK. Expression of ghrelin receptor mRNA in the rat and the mouse brain. *J Comp Neurol*. 2006;494(3):528-48.
15. Chen HY, Trumbauer ME, Chen AS, Weingarth DT, Adams JR, Frazier EG, et al. Orexigenic action of peripheral ghrelin is mediated by neuropeptide Y and agouti-related protein. *Endocrinology*. 2004;145(6):2607-12.
16. Rodriguez A, Gomez-Ambrosi J, Catalan V, Gil MJ, Becerril S, Sainz N, et al. Acylated and desacyl ghrelin stimulate lipid accumulation in human visceral adipocytes. *Int J Obes (Lond)*. 2009;33(5):541-52.
17. Miegueu P, St Pierre D, Broglio F, Cianflone K. Effect of desacyl ghrelin, obestatin and related peptides on triglyceride storage, metabolism and GHSR signalling in 3T3-L1 adipocytes. *Journal of cellular biochemistry*. 2011;112(2):704-14.
18. Hirayama H, Shiina T, Shima T, Kuramoto H, Takewaki T, J BF, et al. Contrasting effects of ghrelin and des-acyl ghrelin on the lumbo-sacral defecation center and regulation of colorectal motility in rats. *Neurogastroenterol Motil*.

2010;22(10):1124-31.

19. Edholm T, Levin F, Hellstrom PM, Schmidt PT. Ghrelin stimulates motility in the small intestine of rats through intrinsic cholinergic neurons. *Regul Pept*. 2004;121(1-3):25-30.

20. Charoenthongtrakul S, Giuliana D, Longo KA, Govek EK, Nolan A, Gagne S, et al. Enhanced gastrointestinal motility with orally active ghrelin receptor agonists. *J Pharmacol Exp Ther*. 2009;329(3):1178-86.

21. Nauck MA, Kemmeries G, Holst JJ, Meier JJ. Rapid tachyphylaxis of the glucagon-like peptide 1-induced deceleration of gastric emptying in humans. *Diabetes*. 2011;60(5):1561-5.

22. Sane AT, Seidman E, Peretti N, Kleme ML, Delvin E, Deslandres C, et al. Understanding Chylomicron Retention Disease Through Sar1b Gtpase Gene Disruption: Insight From Cell Culture. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2017;37(12):2243-51.

23. Harmel E, Grenier E, Bendjoudi Ouadda A, El Chebly M, Ziv E, Beaulieu JF, et al. AMPK in the small intestine in normal and pathophysiological conditions. *Endocrinology*. 2014;155(3):873-88.

24. Mehran M, Levy E, Bendayan M, Seidman E. Lipid, apolipoprotein, and lipoprotein synthesis and secretion during cellular differentiation in Caco-2 cells. *In vitro cellular & developmental biology Animal*. 1997;33(2):118-28.

25. Liu C, Huang J, Li H, Yang Z, Zeng Y, Liu J, et al. Ghrelin accelerates wound healing through GHS-R1a-mediated MAPK-NF-kappaB/GR signalling pathways in combined radiation and burn injury in rats. *Sci Rep*. 2016;6:27499.

26. Levy E, Samoilenko M, Morel S, England J, Amre D, Bertout L, et al. Cardiometabolic Risk Factors in Childhood, Adolescent and Young Adult Survivors of Acute Lymphoblastic Leukemia - A Petale Cohort. *Sci Rep*. 2017;7(1):17684.

27. Gilda JE, Gomes AV. Stain-Free total protein staining is a superior loading control to beta-actin for Western blots. *Analytical biochemistry*. 2013;440(2):186-8.

28. Abumrad NA, Davidson NO. Role of the gut in lipid homeostasis. *Physiol Rev.* 2012;92(3):1061-85.
29. Fujimoto T, Parton RG. Not just fat: the structure and function of the lipid droplet. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011;3(3).
30. Gluchowski NL, Becuwe M, Walther TC, Farese RV, Jr. Lipid droplets and liver disease: from basic biology to clinical implications. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology.* 2017;14(6):343-55.
31. Vigouroux C, Caron-Debarle M, Le Dour C, Magre J, Capeau J. Molecular mechanisms of human lipodystrophies: from adipocyte lipid droplet to oxidative stress and lipotoxicity. *Int J Biochem Cell Biol.* 2011;43(6):862-76.
32. Olofsson SO, Bostrom P, Andersson L, Rutberg M, Perman J, Boren J. Lipid droplets as dynamic organelles connecting storage and efflux of lipids. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1791(6):448-58.
33. Varela L, Vazquez MJ, Cordido F, Nogueiras R, Vidal-Puig A, Dieguez C, et al. Ghrelin and lipid metabolism: key partners in energy balance. *Journal of molecular endocrinology.* 2011;46(2):R43-63.
34. McDonough PM, Agustin RM, Ingermanson RS, Loy PA, Buehrer BM, Nicoll JB, et al. Quantification of lipid droplets and associated proteins in cellular models of obesity via high-content/high-throughput microscopy and automated image analysis. *Assay and drug development technologies.* 2009;7(5):440-60.
35. Beilstein F, Bouchoux J, Rousset M, Demignot S. Proteomic analysis of lipid droplets from Caco-2/TC7 enterocytes identifies novel modulators of lipid secretion. *PLoS One.* 2013;8(1):e53017.
36. Levy E, Menard D, Delvin E, Montoudis A, Beaulieu JF, Mailhot G, et al. Localization, function and regulation of the two intestinal fatty acid-binding protein types. *Histochemistry and cell biology.* 2009;132(3):351-67.
37. Robertson MD, Parkes M, Warren BF, Ferguson DJ, Jackson KG, Jewell DP, et al. Mobilisation of enterocyte fat stores by oral glucose in humans. *Gut.* 2003;52(6):834-9.

38. Waseem T, Duxbury M, Ashley SW, Robinson MK. Ghrelin promotes intestinal epithelial cell proliferation through PI3K/Akt pathway and EGFR transactivation both converging to ERK 1/2 phosphorylation. *Peptides*. 2014;52:113-21.
39. Han L, Li J, Chen Y, Wang W, Zhang D, Liu G. Effects of Ghrelin on Triglyceride Accumulation and Glucose Uptake in Primary Cultured Rat Myoblasts under Palmitic Acid-Induced High Fat Conditions. *International journal of endocrinology*. 2015;2015:635863.
40. Sangiao-Alvarellos S, Vazquez MJ, Varela L, Nogueiras R, Saha AK, Cordido F, et al. Central ghrelin regulates peripheral lipid metabolism in a growth hormone-independent fashion. *Endocrinology*. 2009;150(10):4562-74.
41. Angelis ID, Turco L. Caco-2 cells as a model for intestinal absorption. *Current protocols in toxicology*. 2011;Chapter 20:Unit20 6.
42. Federico LM, Naples M, Taylor D, Adeli K. Intestinal insulin resistance and aberrant production of apolipoprotein B48 lipoproteins in an animal model of insulin resistance and metabolic dyslipidemia: evidence for activation of protein tyrosine phosphatase-1B, extracellular signal-related kinase, and sterol regulatory element-binding protein-1c in the fructose-fed hamster intestine. *Diabetes*. 2006;55(5):1316-26.
43. Farr S, Taher J, Adeli K. Glucagon-like peptide-1 as a key regulator of lipid and lipoprotein metabolism in fasting and postprandial states. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 2014;14(2):126-36.
44. Costa RR, Villela NR, Souza M, Boa BC, Cyrino FZ, Silva SV, et al. High fat diet induces central obesity, insulin resistance and microvascular dysfunction in hamsters. *Microvascular research*. 2011;82(3):416-22.
45. Briand F, Thieblemont Q, Muzotte E, Sulpice T. High-fat and fructose intake induces insulin resistance, dyslipidemia, and liver steatosis and alters in vivo macrophage-to-feces reverse cholesterol transport in hamsters. *J Nutr*. 2012;142(4):704-9.
46. Popov D, Simionescu M, Shepherd PR. Saturated-fat diet induces moderate diabetes and severe glomerulosclerosis in hamsters. *Diabetologia*.

2003;46(10):1408-18.

47. Fitzgerald SM, Henegar JR, Brands MW, Henegar LK, Hall JE. Cardiovascular and renal responses to a high-fat diet in Osborne-Mendel rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001;281(2):R547-52.

48. Peiser C, McGregor GP, Lang RE. Leptin receptor expression and suppressor of cytokine signalling transcript levels in high-fat-fed rats. *Life sciences*. 2000;67(24):2971-81.

49. Leung N, Naples M, Uffelman K, Szeto L, Adeli K, Lewis GF. Rosiglitazone improves intestinal lipoprotein overproduction in the fat-fed Syrian Golden hamster, an animal model of nutritionally-induced insulin resistance. *Atherosclerosis*. 2004;174(2):235-41.

50. Perez-Tilve D, Heppner K, Kirchner H, Lockie SH, Woods SC, Smiley DL, et al. Ghrelin-induced adiposity is independent of orexigenic effects. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2011;25(8):2814-22.

51. Li Z, Xu G, Qin Y, Zhang C, Tang H, Yin Y, et al. Ghrelin promotes hepatic lipogenesis by activation of mTOR-PPARgamma signalling pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(36):13163-8.

52. Gofman JW, Lindgren F. The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis. *Science*. 1950;111(2877):166-71.

53. Dillard A, Matthan NR, Lichtenstein AH. Use of hamster as a model to study diet-induced atherosclerosis. *Nutrition & metabolism*. 2010;7:89.

54. Cartwright IJ, Higgins JA. Increased dietary triacylglycerol markedly enhances the ability of isolated rabbit enterocytes to secrete chylomicrons: an effect related to dietary fatty acid composition. *Journal of lipid research*. 1999;40(10):1858-66.

55. Annuzzi G, Giacco R, Patti L, Di Marino L, De Natale C, Costabile G, et al. Postprandial chylomicrons and adipose tissue lipoprotein lipase are altered in type 2 diabetes independently of obesity and whole-body insulin resistance. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*. 2008;18(8):531-8.

56. Mao J, Hu X, Xiao Y, Yang C, Ding Y, Hou N, et al. Overnutrition stimulates intestinal epithelium proliferation through beta-catenin signalling in obese mice. *Diabetes*. 2013;62(11):3736-46.
57. Herms A, Bosch M, Reddy BJ, Schieber NL, Fajardo A, Ruperez C, et al. AMPK activation promotes lipid droplet dispersion on deetyrosinated microtubules to increase mitochondrial fatty acid oxidation. *Nat Commun*. 2015;6:7176.
58. Roberts RE, Glicksman C, Alagband-Zadeh J, Sherwood RA, Akuji N, le Roux CW. The relationship between postprandial bile acid concentration, GLP-1, PYY and ghrelin. *Clinical endocrinology*. 2011;74(1):67-72.
59. Bartlett GR. Colorimetric assay methods for free and phosphorylated glyceric acids. *The Journal of biological chemistry*. 1959;234(3):469-71.

FIGURE LEGENDS

Figure 1 CLD characteristics in response to treatment with oleic acid (OA) in Caco-2/15 cells

A-G, Caco-2/15 cells were cultured and fasted 24 hours in FBS-free EMEM medium. After 24 h, cells were treated with BSA-conjugated OA (600 μ M) for 1h, 6h, 12h and 24 h (*A-C*). Enterocytes were also incubated with 0, 75, 150, 300, 600 or 900 μ M of BSA-conjugated OA for 24 h (*D-G*). After, cells were fixed while both their nuclei (red, DAPI) and CLDs (LipidTox, green) were stained. Confocal microscopy was used to determine CLD total area, average size and numbers. Also, Caco-2/15 cells were starved and incubated 24 h with or without BSA-conjugated OA (600 μ M). After the incubation, triglycerides (*H*) and Plin-2 (*I*) contents were measured. Caco-2/15 were also incubated 24 h with BSA-conjugated oleic acid (OA) and co-treated with or without 0.1 μ M of MTTP inhibitor (Lomitapide Mesylate, BM-201038) on the apical side. After, cells were incubated

with radiolabeled oleic acid with or without 0.1 μ M Lomitapide Mesylate for 24 h on the apical side. CLDs were analysed as said previously (*J*) and chylomicrons secretion was achieved by counting the radioactive signal in the basolateral media (*K*). All data are shown as mean \pm SEM (N= 3 individual experiments). * P < 0.05, ** P < 0.01, ****P < 0.0001 vs control treatment.

Figure 2 Intracellular fatty acid uptake induced by acylated ghrelin (AG) treatment.

Caco-2/15 cells were pre-incubated with EMEM medium without FBS for 2 h and treated with AG (10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM) diluted in starving medium. FA uptake was measured using a commercial QBT fluorescence FA assay kit every 30 seconds for 2 h (*A*) and areas under the curve (AUC) were also calculated (*B*). Results shown as mean \pm SEM (N=3 individual experiments). **P < 0.01 vs control treatment.

Figure 3 Effects of a western diet on the visual aspect of the liver and colon length.

A-D, Syrian Golden Hamsters were submitted to conventional chow (CD) or Western (WD) diets for 8 weeks. For the last 2 weeks of treatment, some CD and WD animals were continuously administered with acylated ghrelin (AG, 100 nmol/kg/day). Before sacrifice, hamsters were fasted for 16 h before receiving a 200 μ L olive oil gavage and being sacrificed through an intracardiac exsanguination. Representative visual liver aspects (*A-D*) and small intestine lengths

(*E-H*) are presented. CD = chow diet; CD+AG= CD + acylated ghrelin; WD= Western Diet; WD+AG= WD+ acylated ghrelin.

Figure 4 **Effect of acylated ghrelin on chylomicron secretion.**

Syrian Golden Hamsters were submitted to conventional chow (CD) or Western (WD) diets for for 8 weeks with or without a continuous acylated ghrelin (AG, 100 nmol/kg/day) infusion for the ultimate 2 weeks. At this time, hamsters were fasted 16 hours and given a 200 μ L olive oil gavage. Animals were peritoneally injected with 0.5 mg/kg of Pluronic F-127 to inhibit LPL-induced chylomicron catabolism. Two hours after gavage, hamsters were sacrificed by intracardiac exsanguination and blood was processed to isolate and measure chylomicron secretion. Triacylglycerol (*A*) and total cholesterol (*B*) concentrations were determined. The ApoB-48 content (*C*) was obtained by immunoblotting 1 μ l of plasma. Results are shown as mean \pm SEM (N= 4-6). * P < 0.05, ** P < 0.01, ***P < 0.001, ****P < 0.0001. CD = chow diet; CD+AG= CD + acylated ghrelin; WD= Western Diet; WD+AG= WD+ acylated ghrelin.

Figure 5 **Effect of acylated ghrelin on CLD accumulation in the jejunum.**

Syrian Golden Hamsters were submitted to conventional chow (CD) or Western (WD) diets for for 8 weeks with or without a continuous acylated ghrelin (AG, 100 nmol/kg/day) infusion for the ultimate 2 weeks. At this time, hamsters were fasted 16 hours and given a 200 μ L olive oil gavage. Animals were peritoneally injected with an inhibitor of chylomicron catabolism. Two hours after gavage, hamsters were

sacrificed by intracardiac exsanguination and sections of the jejunum were incubated in paraformaldehyde (PFA) 4% and then embedded in O.C.T. Cryosections were stained with DAPI (red, nuclei), and LipidTox (green, neutral lipids and CLD). Once mounted, cells were analyzed by confocal microscopy and CLD total area, average size and number were characterized. Results are shown as mean \pm SEM. (N= 4-6). ** P < 0.01, ****P < 0.0001. CD = chow diet; CD+AG= CD + acylated ghrelin; WD= Western Diet; WD+AG= WD+ acylated ghrelin.

Table 1 : Body weight, food intake and biochemical analysis of hamsters fed with a chow or western diet, with or without acylated ghrelin infusion .

	Control	Control + AG	Western	Western + AG
Body Weight (g)	141.6 \pm 2.63	145.3 \pm 4.19	142.07 \pm 3.61	154.8 \pm 2.71 ^{£*}
Total Body weight gain (g)	30.6 \pm 2.18	34.13 \pm 4.00	30.6 \pm 4.29	41 \pm 3.39
Body weight gain after pump implantation (g)	4.8 \pm 0.6	13.4 \pm 1.1 ^{¥*}	6.1 \pm 0.9	16.2 \pm 0.9 ^{¥£}

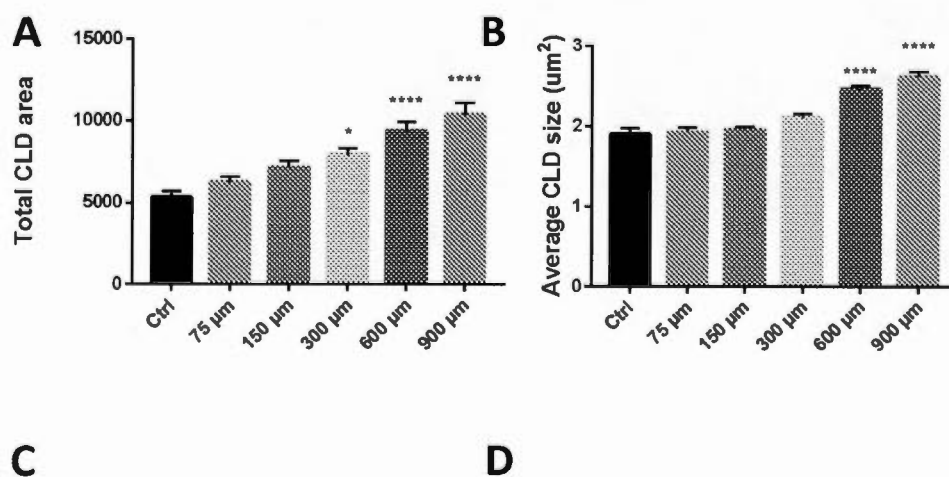
Food intake (kcal/2 days)	86.70 ± 32.02	89.7 ± 30.89	50.36 ± 11.12	61.2 ± 12.69
Liver weight (g)	3.76 ± 0.24	3.77 ± 0.08	5.75 ± 0.28 ^{¥£}	6.90 ± 0.23 ^{¥£*}
Small intestine weight (g)	1.71 ± 0.04	1.65 ± 0.06	1.95 ± 0.10 ^{¥£}	1.99 ± 0.04 ^{¥£}
Colon weight (g)	1.03 ± 0.08	1.12 ± 0.09	0.66 ± 0.02 ^{¥£}	0.74 ± 0.03 ^{¥£}
Epididimal fat (g)	1.5 ± 0.13	1.34 ± 0.14	1.24 ± 0.17	2.02 ± 0.13 ^{¥£*}
Blood glucose (mM)	4.9 ± 0.50	5.81 ± 0.63	6.28 ± 0.31	6.38 ± 0.60
Plasma insuline (pM)	60.48 ± 6.91	62.96 ± 9.46	82.88 ± 13.88	102.94 ± 14.33
HOMA-IR	2.45 ± 0.06	2.71 ± 0.58	3.53 ± 0.41	4.10 ± 0.61
Plasma TAG	94.76 ± 18.17	111.03 ± 32.47	322.4 ± 52.09 ^{¥£}	637.42 ± 48.09 [¥]

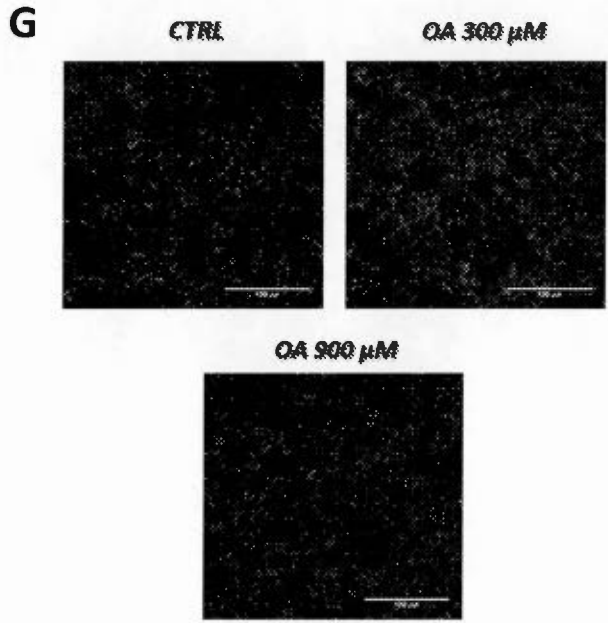
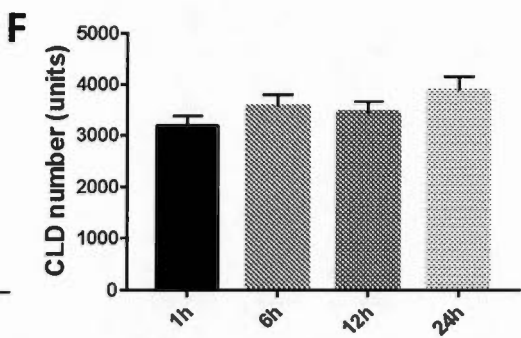
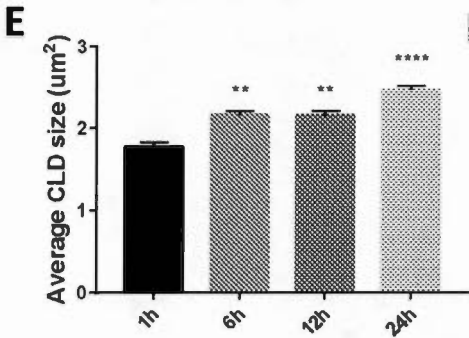
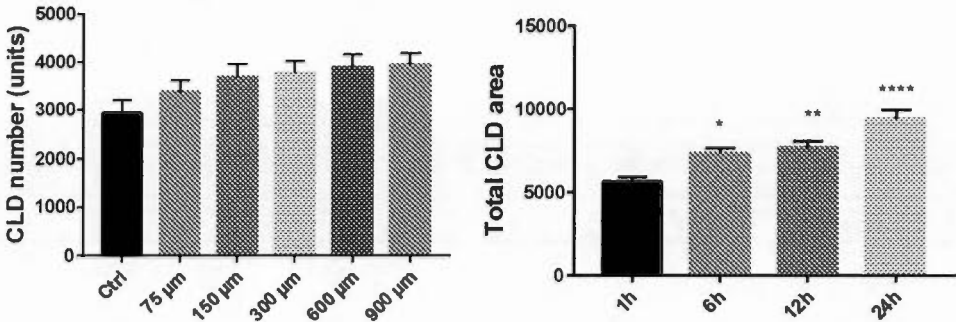
(mg/dL)				£*
Plasma total cholesterol (mg/dL)	71.93 ± 8.42	96.66 ± 4.28	212.21 ± 10.12 [¥] £	255.35 ± 13.59 [¥] £*
Plasma free cholesterol (mg/dL)	43.34 ± 6.80	43.7 ± 3.73	66.79 ± 2.81 ^{¥£}	84.37 ± 4.09 [¥] £(p=0.053)
Plasma cholesterol ester(mg/dL)	38.60 ± 7.55	55.93 ± 1.81	145.41 ± 7.53 ^{¥£}	168.52 ± 15.35 [¥] £
Plasma HDL-C (mg/dL)	26.35 ± 5.02	20.57 ± 2.43	35.31 ± 3.46	47.30 ± 4.23 ^{¥£}
Plasma non HDL-C (mg/dL)	54.37 ± 7.87	77.57 ± 3.77	176.89 ± 8.57 ^{¥£}	203.38 ± 16.99 [¥] £
Hepatic TG	0.0129 ± 0.0009	0.0129 ± 0.0013	0.0242 ± 0.0043 ^{¥£}	0.0204 ± 0.0017

(mg/g tissue)				
Hepatic cholesterol (mg /g tissue)	3.53 ± 0.16	3.90 ± 0.24	20.71 ± 4.77 ^{¥£}	18.64 ± 2.49 ^{¥£}

¹All data are show as mean ± SEM and were done with n = 6-8 animals. [¥] P < 0,05 versus control, [£] P < 0,05 versus control + AG, * P < 0,05 versus Western

Figure 1 :





H

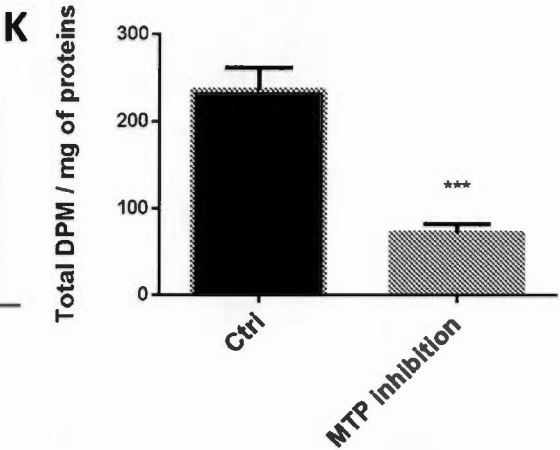
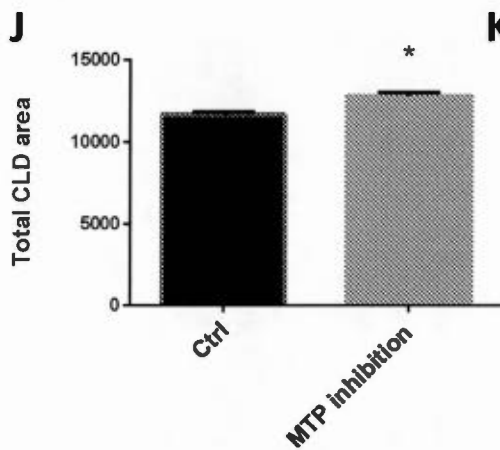
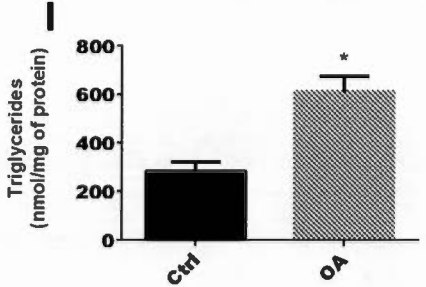
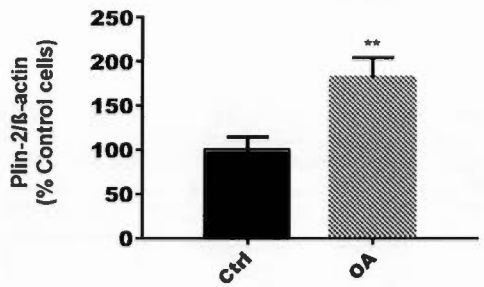
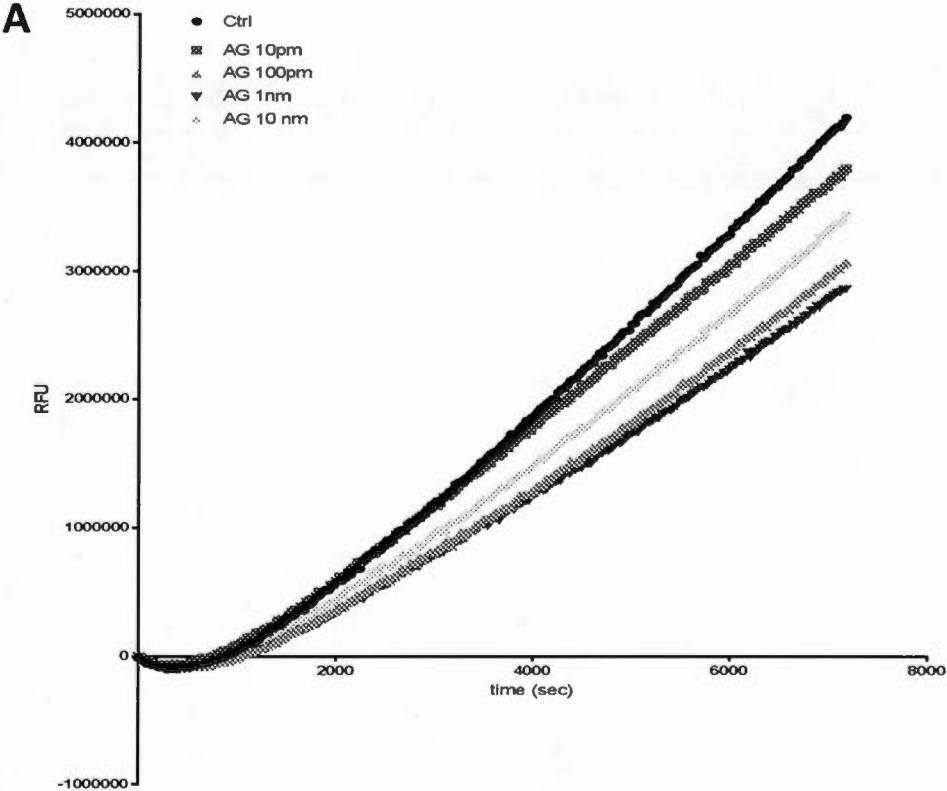


Figure 2:



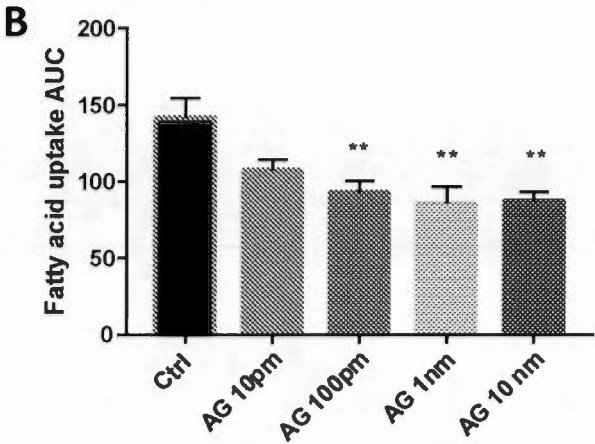


Figure 3:

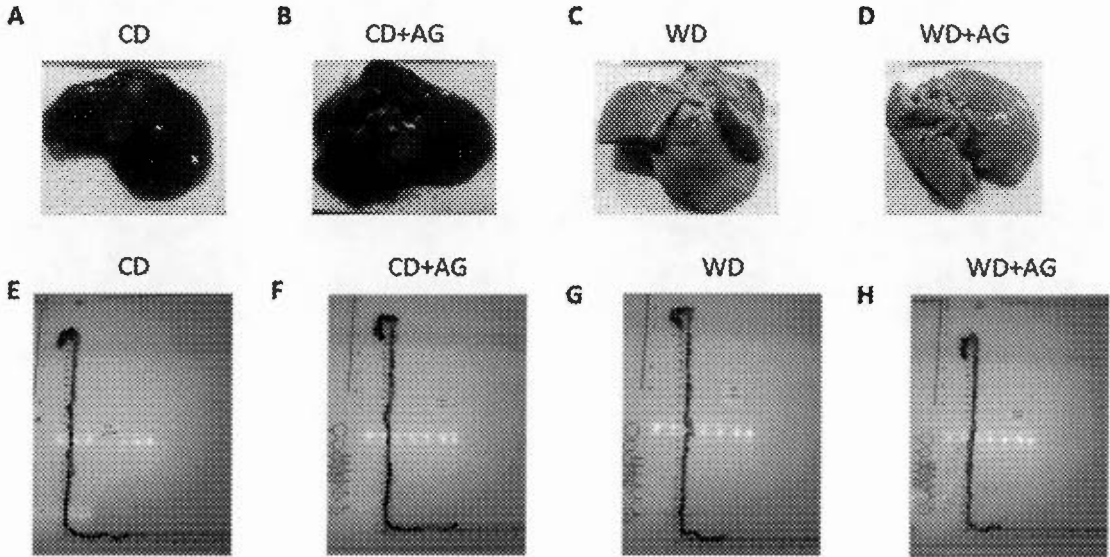


Figure 4 :

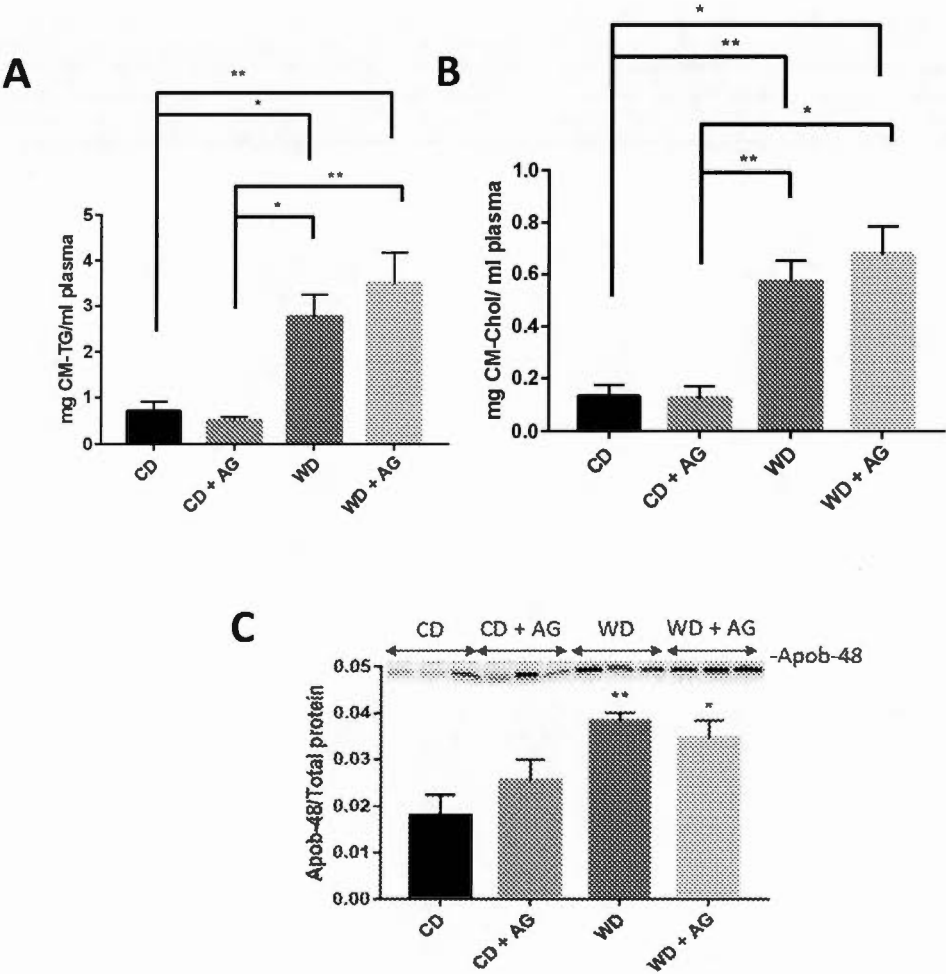
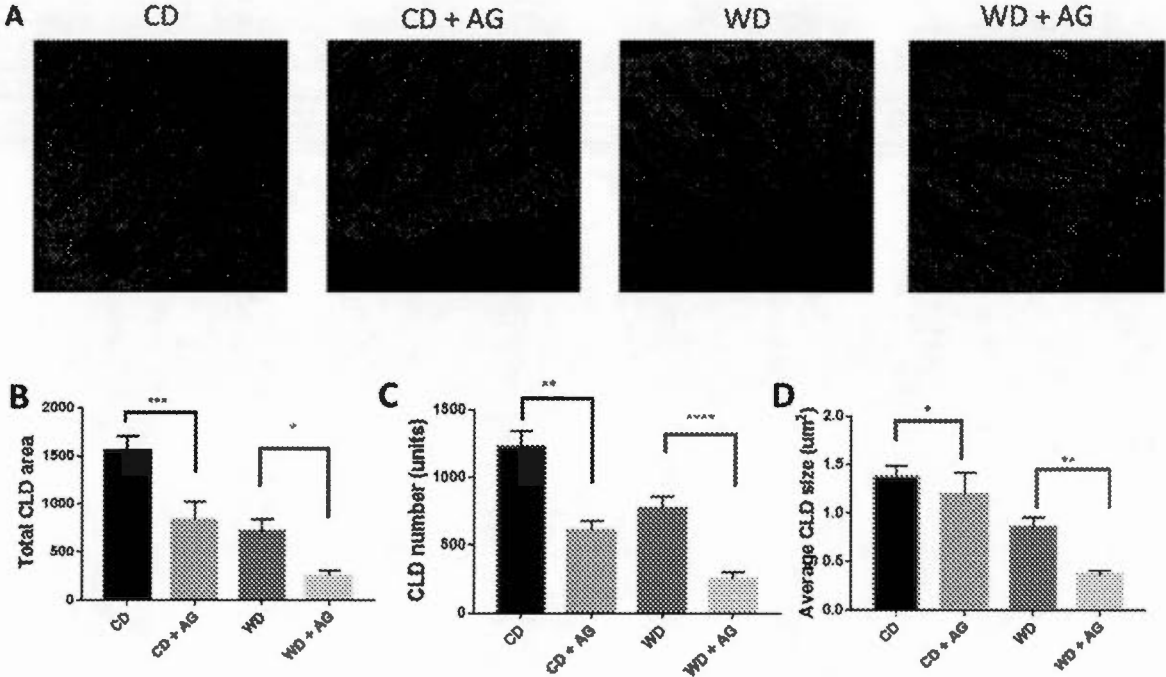


Figure 5:



SUPPLEMENTARY DATA

2.2 Lipoprotein secretion and cytosolic lipid droplet formation

Radiolabeled oleic acid [C^{14}] (Perkin Elmer, USA) was added to unlabeled oleic acid and conjugated with fatty acid-free bovine serum albumin (BSA). Oleic acid was added to the apical side of differentiated Caco-2/15 cells (600 μ M of unlabeled + 0,45 μ Ci of radiolabeled oleic acid) for 18 h. The effect of microsomal triglyceride transfer protein (MTTP) inhibition on chylomicron secretion was determined by incubating Caco-2/15 cells for 24 h with BSA-conjugated oleic acid (OA) with or without 0.1 μ M Lomitapide Mesylate (Selleck chemicals, USA) on the apical side. After, cells were incubated 24 h with radiolabeled oleic acid with or without 0.1 μ M Lomitapide Mesylate on their apical side. For investigating the role of ghrelin on lipid metabolism, enterocytes were incubated 24 h with AG (100 pM) on basolateral and apical sides with or without 50 μ M of a GHSR-1a antagonist [D-Lys³]-GHRP-6 (Tocris Bioscience, UK). Following these treatments, enterocytes were scraped in cold PBS containing 1 mM of pepstatin A, PMSF, and aprotinin. The basolateral medium was collected, lipid-rich plasma was added (4:1 ratio) and the solution was centrifuged at 25,000 rpm for 40 min to isolate TAG-rich lipoproteins. Fractions of VLDL and LDL particles were respectively obtained by ultracentrifugation at densities of 1.006 g/mL and 1.063g/mL at 100,000 rpm for 2h30 (OptimaMax Ultracentrifuge, Beckman Coulter, USA). Fractions of HDL particles were obtained by ultracentrifugation at a density of 1.21g/mL at 100,000 rpm for 6 h. Isolated fractions were added with a scintillation liquid (Ecolite, MP Biomedicals, USA) and radioactivity was measured with a β counter (Hidex 300, Finland). For CLD characterization, Caco-2/15 cells were incubated 24 h in serum-free EMEM medium using transwell filters. Cells were then incubated with BSA-conjugated OA (0, 75,

150, 300 and 600 μM) for 1-, 6-, 12- and 24 h. For CLD characterization, nuclei were stained with 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI, Molecular Probes, USA at 1.5 ng/ml in PBS for 5 minutes and washed again in PBS. Finally, their CLDs were stained with LipidTox diluted 1/1000 in PBS (ThermoFisher Scientific, Canada) for 30 minutes and mounted using 50% glycerol/PBS. Fluorescence was observed with an inverted TI microscope and imaged with a A1 confocal unit (Nikon, Japan). Cytosolic lipid droplet total area and numbers per microscopic field as well as average size were characterized with the Image J Software (NIH, USA).

2.4 Analysis of isolated lipoproteins and intracellular lipid fractions

Acylated ghrelin (100 pM) was added at the basolateral and apical sites of transwell plates for 24 h with or without 50 μM of a GHSR-1a antagonist [D-Lys³]-GHRP-6 (Tocris, bioscience, UK). After this incubation, enterocytes were scraped in cold PBS containing antiproteases (1 mM for each: pepstatin A, PMSF, and aprotinin). The basolateral medium was collected, lipid-rich plasma was added (4:1 ratio) and the solution was centrifuged at 25,000 rpm for 40 min to isolate triglyceride-rich lipoproteins. Other types of lipoprotein particles were separated after a series of ultracentrifugations (OptimaMax Ultracentrifuge, Beckman Coulter, USA). Fractions of VLDL and LDL particles were respectively obtained by ultracentrifugation at densities of 1.006 g/mL and 1.063g/mL and 100,000 rpm for 2h30. Fractions of HDL particles were obtained by ultracentrifugation at a density of 1.21g/mL at 100,000 rpm for 6 h. Isolated fractions were added with a scintillation liquid (Ecolite, MP Biomedicals, USA) and radioactivity was counted with a β counter (Hidex 300, Finland).

2.5 Effects of AG on lipid esterification

Caco-2/15 cells were incubated as described above. Cellular and basolateral medium lipids were extracted overnight in chloroform-methanol (2:1). Lipids were then separated by thin layer chromatography (TLC, Millipore Sigma, USA) and their corresponding bands were scratched off the plates and disposed in scintillation vials containing EcoLite counting fluid (MP BIOMEDICALS, LLC). Radioactivity was measured by scintillation counting (Hidex 300, Finland).

2.7 Postprandial chylomicron secretion

Two weeks after mini-pumps were inserted, hamsters were fasted for 16 h and 500 μ L of blood was collected from the tail vein under anesthesia with isoflurane/O₂. Later, animals received an oral gavage of pure olive oil (200 μ L). Twenty minutes after gavage, animals were injected with an intraperitoneal (ip) dose (0.5 mg/kg) of Pluronic F-127 (poloxamer 407; 10% in saline, Millipore Sigma, USA) to inhibit lipoprotein lipase activity and prevent chylomicron catabolism. Two hours after gavage, animals were sacrificed by cardiac exsanguination and blood was transferred into EDTA-containing tubes (Vacutainers, B&D, USA). Blood was centrifuged at 6000 rpm for 10 minutes at 4°C. Plasma and isolated tissues were flash-frozen and kept at -80°C for further analyses.

2.8 Chylomicrons isolation by ultracentrifugation

Chylomicron isolation was performed 2 h after gavage. In brief, 250 μ L of plasma was added to 4 mL of a sodium chloride buffer (density of 1.006 g/L) and centrifuged at 35,000 rpm for 70 minutes at 15°C. The upper fraction was isolated while TAG (Randox Laboratories Ltd, United Kingdom) and total cholesterol contents were analyzed using commercial kits (Wako Diagnostics, USA).

2.9 Biochemical analyses in fasting plasma

Fasting TAG, HDL-cholesterol (Bio Scientific, USA), insulin (Merckodia, Sweden), total cholesterol and free cholesterol were analyzed with commercial kits (Wako Diagnostics, USA). Similarly, fasting glucose was measured with a glucometer (Contour[®] NEXT, Bayer, Germany). HOMA-IR was used as an insulin sensitivity index as previously reported (Levy *et al.*, 2017).

2.10 CLD characterization using fluorescent markers and Confocal microscopy

Hamster jejunum tissues were incubated in paraformaldehyde (PFA) 4% 1 day and then embedded in O.C.T (Fisher Healthcare, USA). Caco-2/15 treated as previously mentioned in other sections and tissue cryosections were washed with PBS and fixed with PFA 4% for 15 minutes. Staining of cryosections were performed as described in *Section 2.2*.

2.11 Western Blot analysis

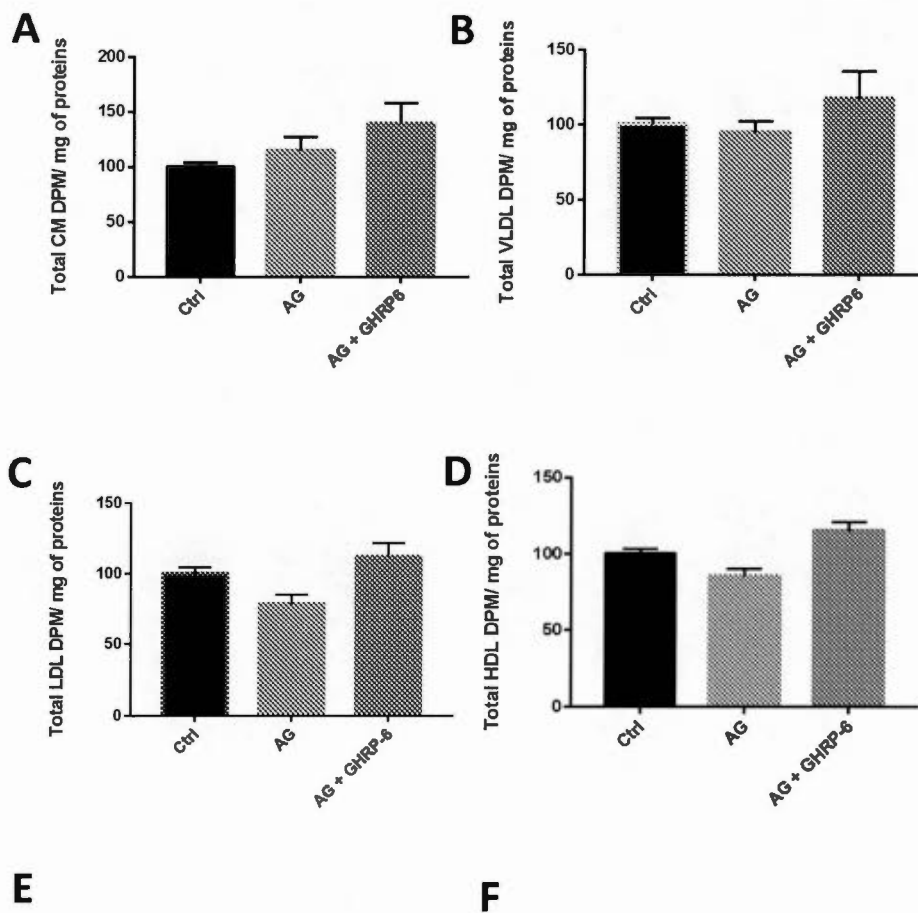
For Western Blots, 1 μ L of plasma was heated for 10 min at 80°C with a buffer containing sodium dodecyl sulfate (SDS) and dithiothreitol (DTT). Samples were loaded and migration was achieved on 6% SDS-PAGE gels while protein transfer was performed on a nitrocellulose membrane (GE Healthcare Lifescience, Canada). The membrane was then blocked for 1 h in TBS-Tween buffer containing 5% of skimmed milk and washed in TBS-Tween buffer. Incubation was then achieved overnight with a apoB-48 primary antibody at 1/1000 in milk (apoB, MAB012,

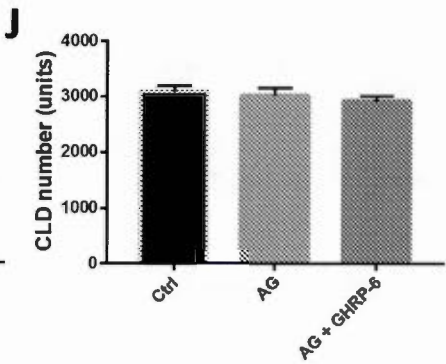
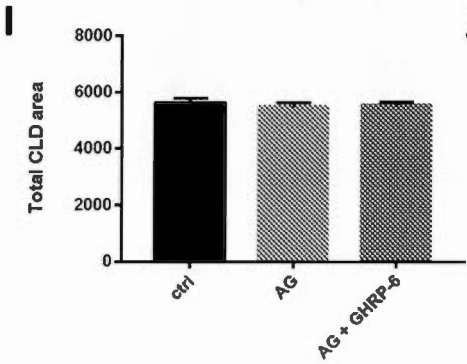
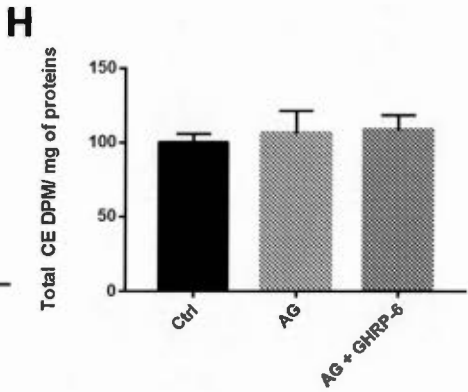
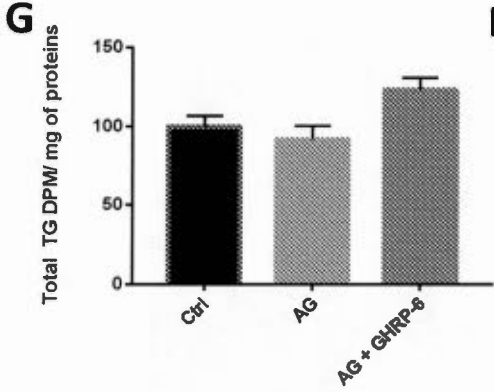
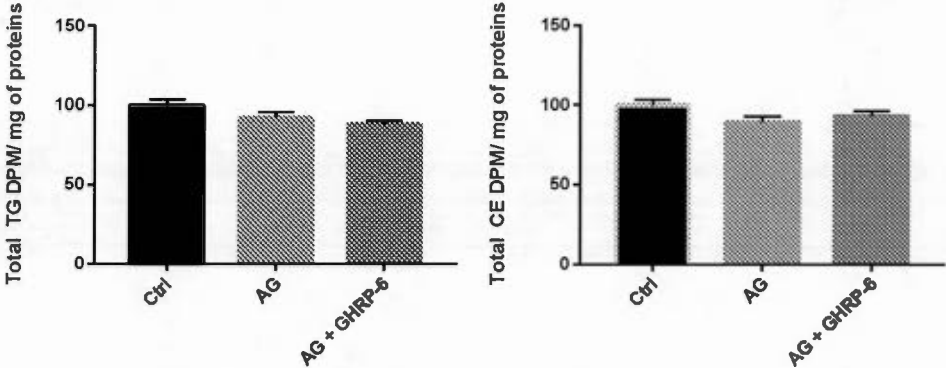
Millipore Sigma, USA). Protein bands were revealed using the Clarity substrate with a ChemiDoc imaging system (Biorad, Canada). Bands were analyzed with the ImageLab software (Biorad). Total protein content was determined using stain-free gels (Bio-Rad) and sample normalization was carried out using these values, as previously described (Gilda et Gomes, 2013).

Figure S1 Acylated ghrelin effects on lipoprotein secretion, intracellular lipid metabolism and CLD formation in caco-2/15 cells.

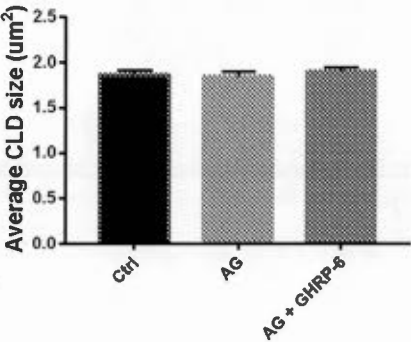
Caco-2/15 were incubated with radiolabeled [C^{14}] on the apical side. Co-treatment with AG (100 pM) was carried out both on the basolateral and apical sides for 24 h with or without a GHSR-1a antagonist, [D-Lys³]-GHRP-6 (50 μ M). Results show the relative quantification of non-VLDL/LDL/HDL (*A*), VLDL (*B*), LDL (*C*) and HDL (*D*) lipoproteins. Lipids were also extracted and separated by TLC. Levels of cell TAG (*E*) and (*F*) CE as well as basolateral levels of TAG (*G*) and (*H*) CE were measured in enterocytes. After the incubation, cells were fixed and fluorescent markers for nuclei (DAPI) and neutral lipids (LipidTox) were used for CLD characterization using confocal microscopy. CLD total area (*I*), average size (*J*) and numbers (*K*) were measured. Results are shown as mean \pm SEM (N= 3 experiments in triplicate).

Figure S1 :





K



CHAPITRE IV

DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION

L'intestin est un organe remarquable qui joue un rôle primordial dans la santé métabolique, incluant le transport des lipides dans la circulation. Le contrôle régulateur exercé par l'intestin est conséquemment très important, car, par exemple, la sécrétion exagérée des graisses alimentaires en état postprandial augmenterait énormément les chances de développer de l'athérosclérose ainsi que les maladies cardiovasculaires (Nordestgaard *et al.*, 2007). Pour confronter les objectifs de ce projet de recherche, nous avons en premier lieu effectué une revue de littérature critique et exhaustive afin de jauger et situer la question de recherche par rapport aux données disponibles (Auclair *et al.*, 2018). Dans cet article, l'importance de la formation des GLCs dans le contrôle de la sécrétion des CMs a été bien mise en valeur. Il a été observé que les GLCs sont régulées par différents facteurs et qu'elles possèdent de nombreux rôles autres que de constituer un réservoir d'énergie tel que formulé par plusieurs groupes d'investigateurs. Cependant, la fonction la plus attrayante est certainement leur capacité de fournir des acides gras au RE grâce à un mécanisme d'hydrolyse/réestérification. En effet, dans des conditions postprandiales, les TAGs seraient plutôt accumulés dans les GLCs au niveau du cytosol de la cellule et non sécrétés dans la circulation. À la fin du processus, les GLCs redistribuent les acides

gras au RE, ralentissant/réduisant ainsi fortement le développement de maladies cardiovasculaires. Par conséquent, la découverte de régulateurs de ce mécanisme est essentielle, car elle permettra des interventions ciblées pour prévenir et traiter les dyslipidémies postprandiales. Dans ce contexte, les peptides gastro-intestinaux semblent un choix judicieux en vue de leurs multiples fonctions et de leur potentiel dans la modulation de l'assemblage et sécrétion des CMs en interaction avec les GLCs.

Nous avons choisi de tester la ghréline comme peptide gastro-intestinal qui, à part son effet orexigénique, affiche une capacité à réguler le métabolisme des lipides de certains organes, principalement le foie et les tissus adipeux (Kitazawa *et al.*, 2011 ; Kojima *et al.*, 1999 ; Zigman *et al.*, 2006). La forme active de ce peptide augmente la lipogénèse *de novo* et diminue la lipolyse des GLCs, causant une grande accumulation lipidique dans les tissus de ces organes. (Barazzoni *et al.*, 2005 ; Miegueu *et al.*, 2011 ; Rodriguez *et al.*, 2009). Il était donc rationnel d'observer son impact sur le transport des graisses par le petit intestin.

La lignée Caco-2/15 a été le premier modèle à être utilisé dans ce projet pour tester l'effet direct de la GA sur l'intestin. Ce sont des cellules épithéliales largement utilisées par la communauté scientifique pour examiner le transport des nutriments, des électrolytes, des médicaments et autres composantes (Angelis et Turco, 2011). Nous avons pu d'abord démontrer que le nombre de GLCs augmente en fonction de différentes concentrations d'acide oléique. Par ailleurs, nous avons pu mettre en évidence qu'une inhibition de la sécrétion des CMs engendre une plus grande accumulation de GLCs, ce qui montre bien leur interaction. Cependant, même si cette inhibition allait jusqu'à 70%, les différences dans la libération des CMs en fonction des concentrations d'acides gras sont minimales à cause de la capacité des

cellules Caco-2/15 à sécréter des lipides sous forme de CM (Mehran *et al.*, 1997). Pour raffiner la méthodologie, nous avons incubé les cellules Caco-2/15 avec de l'acide oléique radioactif en présence de 100 pM de GA durant 18 heures, permettant ainsi d'examiner l'effet de ce peptide sur la sécrétion des CMs et l'accumulation des GLCs. Les résultats obtenus permettent de conclure que la GA n'intervient pas dans la sécrétion des différentes lipoprotéines (CMs, VLDLs, LDLs, HDLs), la lipogenèse *de novo* et l'accumulation des GLCs. Parmi les raisons potentielles, nous pouvons évoquer que la GA agit indirectement sur les cellules intestinales dans des modèles *in vivo*, qu'une dégradation trop rapide de ce peptide survient dans le milieu cellulaire, ou encore que cette hormone ne possède aucun effet sur l'intestin (Tong *et al.*, 2013).

Même si la GA peut agir en périphérie en se liant avec le GHSR1 *in vivo*, le processus a été étudié surtout au niveau du cerveau, marquant le besoin d'examiner le côté intestinal dans un modèle animal approprié (Kojima *et al.*, 1999 ; Zigman *et al.*, 2006). Par ailleurs, il est aussi bien possible que la GA agit via différents mécanismes *in vivo* tels que la résistance à l'insuline qui a été souvent corrélée avec les concentrations élevées de GA dans le sang, ce qui peut engendrer un impact sur la sécrétion des CMs (Annuzzi *et al.*, 2008 ; Pacifico *et al.*, 2009). Nous avons donc dans une deuxième étape examiné la relation GLCs –CM en employant les hamsters syriens dorés. Cet animal est un modèle plus pertinent que le rat ou la souris puisqu'il exhibe un métabolisme lipidique beaucoup plus similaire à l'humain, en ne mentionnant que la protéine de transfert de cholestérol ester (CETP), la présence des LDL avec leur puissante induction d'athérosclérose, et le métabolisme des HDL (Federico *et al.*, 2006 ; Shen, Cai et Angel, 1998). Le hamster syrien est également considéré comme un bon modèle de résistance à l'insuline (Lewis *et al.*, 2005).

Ces animaux ont été nourris pendant 6 semaines sous une diète témoin ou riche en gras et en lipides, suivie par l'implantation d'une mini-pompe osmotique injectant de façon continue de la saline ou de la GA (100nmol/kg/jour) pendant leurs deux dernières semaines d'expérimentation. Fait remarquable, et similairement à certaines études rapportées dans la littérature, ces animaux sous le régime alimentaire occidental n'ont pas développé d'obésité (Briand *et al.*, 2012 ; Popov, Simionescu et Shepherd, 2003). Par contre, ils montraient une sévère dyslipidémie reflétée par une augmentation de concentrations de TAGs et de CHOL dans la circulation, une stéatose hépatique avancée, et une inflammation du côlon soulignée par le raccourcissement marqué de la longueur. Étrangement, cette diète n'a pas induit la résistance à l'insuline attendue, ce qui a d'ailleurs été observé dans d'autres études (Popov, Simionescu et Shepherd, 2003)(Leung *et al.*, 2004). Il semblerait que c'est surtout l'alimentation riche en fructose qui provoque la résistance à l'insuline chez ces animaux(Briand *et al.*, 2012; Haidari *et al.*, 2002).

L'administration de GA a causé un grand gain de poids corporel, principalement les animaux sous une diète riche en gras et en lipides. Cette observation est causée par une augmentation marquée des tissus adipeux épидидymaux. Une amplification de la lipogenèse de novo ainsi qu'une diminution de la lipolyse, grandement observée dans différentes études, serait les principales causes de ce résultat. (Miegueu *et al.*, 2011 ; Rodriguez *et al.*, 2009 ; Sangiao-Alvarellos *et al.*, 2009).

Ces animaux qui reçoivent de la GA sous une diète riche en gras et en lipides, affichent une dyslipidémie plus sévère avec une grande augmentation de TAGs et de CHOL dans le sang. Ces résultats ont de nombreuses chances d'être causés par une plus grande sécrétion de lipoprotéines hépatiques. En effet, Li *et al* ont constaté que la GA stimule la lipogenèse *de novo* dans le foie par une augmentation des enzymes

ACC et FAS (Li *et al.*, 2014). Puisqu'aucune différence dans les TAGs et le CHOL du foie n'a été observée, il n'est alors pas impossible que la voie lipogénique soit également opérationnelle dans nos animaux. Une autre propriété de la GA pourrait être son effet activateur sur la formation et sécrétion des VLDL hépatiques via l'induction de MTTP et/ou la synthèse d'ApoB-100. Ce peptide aurait un effet contraire au GLP-1 qui diminue la synthèse d'ApoB-100 et la lipogenèse *de novo* chez les hamsters syriens dorés (Taher *et al.*, 2014). Cette lipogenèse est réduite à cause de l'abaissement de la transcription de différents gènes comme LxR, FxR et TNF- α . Une autre possibilité serait que l'augmentation du HOMA-IR², apportant à une plus grande résistance à l'insuline, causerait cette sécrétion (Taghibiglou *et al.*, 2000). Chez ces animaux, cette résistance apporte conséquemment à une surproduction de VLDL, causé par une beaucoup plus grande synthèse de MTTP ainsi qu'une bonne diminution dans la dégradation d'ApoB-100.

Comme il a été dit précédemment, plusieurs études ont observé que la GA augmente la résistance à l'insuline, ce qui concorde avec nos résultats obtenus (Barazzoni *et al.*, 2007; Pacifico *et al.*, 2009; Vestergaard *et al.*, 2017). Le mécanisme par lequel il aurait cet effet est encore inconnu, mais il n'est pas causé par son effet sur la sécrétion d'hormones de croissance et la présence d'acides gras libres dans le plasma (Vestergaard *et al.*, 2017).

Dans le présent travail, nous avons adopté la stratégie de vérifier la contribution intestinale des lipides en isolant les CM après un repas gras (huile d'olive), mais en prenant le soin d'injecter aux animaux le Pluronic F-127 pour bloquer l'effet dégradatif de la lipoprotéine lipase (LPL). Dans ces conditions, nous avons remarqué que les animaux sous la diète riche en gras et en lipides sécrètent beaucoup plus de CMs comparativement à ceux sous la diète témoin. Cette sécrétion a diminué

considérablement la présence de GLCs dans les cellules épithéliales du petit intestin, comparativement aux animaux témoins. Une association entre le stockage des lipides dans les GLCs et la sécrétion de CMs avec l'emploi de ce modèle animal a donc bien été démontrée. Quant aux animaux témoins, sous le régime lipidique limité, ils n'exhibaient pas la tendance à conserver les lipides dans les GLCs, dans le petit intestin, sous des conditions postprandiales, diminuant fortement la production des CM, et par là, le développement subséquent des maladies cardiovasculaires.

Un HOMA-IR² plus grand, indiquant une résistance à l'insuline supérieure, peut provoquer la sécrétion de CMs grâce à une synthèse d'ApoB-48, de FABP, ainsi qu'une activité de MTTP plus élevées (Annuzzi *et al.*, 2008 ; Cartwright et Higgins, 1999). Aussi, le petit intestin s'adapte à cette diète obésogène et augmente grandement la synthèse d'ApoB-48 et donc, la sécrétion de CMs. Néanmoins, l'absence totale de gouttelettes lipidiques a été observée, et il serait intéressant dans de futures études d'utiliser plusieurs types de diètes lipidiques à différentes concentrations.

La GA, quant à elle, n'a eu aucun effet sur la sécrétion des CMs, pourtant elle diminua considérablement l'accumulation des GLCs, que ce soit sous une diète témoin ou riche en lipides. Cette relation GLCs-CMs n'a donc pas été observée en présence de GA. Deux hypothèses peuvent être émises : premièrement, il se pourrait qu'il y ait une accentuation de la β -oxydation mitochondriale comme rapportée auparavant (Herms *et al.*, 2015), ce qui abaisserait l'accumulation des lipides dans les GLCs. Cette suggestion est appuyée par les données sur le muscle squelettique où la ghréline augmenta l'activité mitochondriale en agissant sur certaines protéines comme COX et UCP2, entraînant un plus petit stockage de TAGs (Barazzoni *et al.*, 2005 ; Barazzoni *et al.*, 2017). La deuxième hypothèse serait que la ghréline agit sur

la captation des acides gras au niveau de la membrane plasmique pour produire un abaissement de l'entrée des acides gras dans la cellule et diminuerait la formation des GLCs, sans pour autant avoir un impact considérable sur la sécrétion des CMs. La réduction de la captation des acides gras a été rapportée dans les myoblastes (Davies *et al.*, 2009 ; Han *et al.*, 2015). Chez les adipocytes, une diminution de l'expression de CD36 a été observée, indiquant que les résultats pourraient être causés par une diminution de ce transporteur (Han *et al.*, 2015). Des études supplémentaires sont donc nécessaires pour confirmer ou infirmer ces hypothèses.

Pour conclure, l'importance des GLCs dans l'intestin et leur relation avec les GLCs en présence de ghréline n'avait nullement été rapportée. L'article de revue a mené à la conclusion que les GLCs jouent des rôles importants dans l'intestin, mais la relation entre la sécrétion des CMs et l'accumulation des GLCs est peu étudiée et a besoin d'être confirmée. De ce fait, nous avons démontré cette relation dans les cellules Caco-2/15 ainsi que chez le hamster. En plus, nous avons compris qu'une diète riche en gras et en lipides empêche, lors d'un état postprandial, l'accumulation de GLCs dans l'intestin. En vue de l'importance de ce mécanisme, il est primordial d'en trouver des régulateurs. La GA, ayant un impact non discutable dans l'accumulation des GLCs retrouvées dans le foie et les tissus adipeux, en plus d'engendrer un grand gain de poids sans nécessairement augmenter la prise alimentaire, est subséquemment une cible de choix. Nos résultats concluent que la GA, comme indiqué dans la littérature, engendre un gain de poids considérable, mais conduit aussi à une dyslipidémie plus sévère, ce qui n'avait jamais été observé auparavant. Par contre, cette augmentation ne fut pas accompagnée d'une plus grande sécrétion de CMs, que ce soit chez l'animal ou les cellules. Pourtant, une diminution de l'accumulation des CLDs a été observée chez les hamsters, indiquant que la relation CMs-GLCs n'est pas observée ici. Ceci aurait la possibilité d'être causé par

une augmentation de la β -oxydation et/ou une diminution de l'entrée des lipides dans la cellule. Notre étude apporte donc une contribution importante à la littérature ce qui stimulerait des recherches ultérieures se concentrant sur les GLCs et/ou la GA. En plus, nous avons démontré que la GA pourrait être une cible thérapeutique potentielle contre les dyslipidémies. Cependant, il demeure nécessaire de déterminer les mécanismes qui causent la diminution de l'accumulation des GLCs dans l'intestin dans de futures études. Il serait aussi intéressant d'investiguer en profondeur les mécanismes qui causent l'augmentation de la sécrétion des lipoprotéines par le foie des hamsters. Puisqu'une résistance à l'insuline ne semble pas avoir été obtenue chez ces animaux, il faudrait valider nos travaux avec avec des animaux soumis à une diète riche en fructose, qui a la capacité d'induire la résistance à l'insuline. Il serait aussi pertinent d'établir une courbe temporelle de la sécrétion des CMs pour déterminer avec précision le temps optimal de leur sécrétion. Finalement, il est impératif d'établir la comparaison du hamster avec le modèle de souris (C57BL/6), ce qui confirmerait les tendances de nos résultats.

BIBLIOGRAPHIE

- Abumrad, N. A., et N. O. Davidson. 2012. «Role of the gut in lipid homoeostasis». *Physiol Rev*, vol. 92, no 3, p. 1061-1085. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22811425>>.
- Adiels, M., N. Matikainen, J. Westerbacka, S. Soderlund, T. Larsson, S. O. Olofsson, J. Boren et M. R. Taskinen. 2012. «Postprandial accumulation of chylomicrons and chylomicron remnants is determined by the clearance capacity». *Atherosclerosis*, vol. 222, no 1, p. 222-228. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22365426>>.
- Adrian, T. E., A. P. Savage, G. R. Sagor, J. M. Allen, A. J. Bacarese-Hamilton, K. Tatemoto, J. M. Polak et S. R. Bloom. 1985. «Effect of peptide YY on gastric, pancreatic, and biliary function in humans». *Gastroenterology*, vol. 89, no 3, p. 494-499. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3839479>>.
- Ahlman, H., et Nilsson. 2001. «The gut as the largest endocrine organ in the body». *Ann Oncol*, vol. 12 Suppl 2, p. S63-68. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11762354>>.
- Allen, J. M., M. L. Fitzpatrick, J. C. Yeats, K. Darcy, T. E. Adrian et S. R. Bloom. 1984. «Effects of peptide YY and neuropeptide Y on gastric emptying in man». *Digestion*, vol. 30, no 4, p. 255-262. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6548978>>.

- Alpers, D. H., N. M. Bass, M. J. Engle et K. DeSchryver-Kecsckemeti. 2000. «Intestinal fatty acid binding protein may favor differential apical fatty acid binding in the intestine». *Biochim Biophys Acta*, vol. 1483, no 3, p. 352-362. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10666570>>.
- Andrews, Z. B. 2011. «The extra-hypothalamic actions of ghrelin on neuronal function». *Trends Neurosci*, vol. 34, no 1, p. 31-40. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21035199>>.
- Angelis, I. D., et L. Turco. 2011. «Caco-2 cells as a model for intestinal absorption». *Curr Protoc Toxicol*, vol. Chapter 20, p. Unit20 26. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21400683>>.
- Annuzzi, G., R. Giacco, L. Patti, L. Di Marino, C. De Natale, G. Costabile, M. Marra, C. Santangelo, R. Masella et A. A. Rivellese. 2008. «Postprandial chylomicrons and adipose tissue lipoprotein lipase are altered in type 2 diabetes independently of obesity and whole-body insulin resistance». *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, vol. 18, no 8, p. 531-538. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18321693>>.
- Asakawa, A., A. Inui, M. Fujimiya, R. Sakamaki, N. Shinfuku, Y. Ueta, M. M. Meguid et M. Kasuga. 2005. «Stomach regulates energy balance via acylated ghrelin and desacyl ghrelin». *Gut*, vol. 54, no 1, p. 18-24. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15591499>>.
- Athenstaedt, K., et G. Daum. 2006. «The life cycle of neutral lipids: synthesis, storage and degradation». *Cell Mol Life Sci*, vol. 63, no 12, p. 1355-1369. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16649142>>.
- Auclair, N., L. Melbouci, D. St-Pierre et E. Levy. 2018. «Gastrointestinal factors regulating lipid droplet formation in the intestine». *Exp Cell Res*. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29305172>>.

- Bado, A., S. Levasseur, S. Attoub, S. Kermorgant, J. P. Laigneau, M. N. Bortoluzzi, L. Moizo, T. Lehy, M. Guerre-Millo, Y. Le Marchand-Brustel et M. J. Lewin. 1998. «The stomach is a source of leptin». *Nature*, vol. 394, no 6695, p. 790-793. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9723619>>.
- Baggio, L. L., et D. J. Drucker. 2007. «Biology of incretins: GLP-1 and GIP». *Gastroenterology*, vol. 132, no 6, p. 2131-2157. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17498508>>.
- Banks, W. A., M. Tschop, S. M. Robinson et M. L. Heiman. 2002. «Extent and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure». *J Pharmacol Exp Ther*, vol. 302, no 2, p. 822-827. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12130749>>.
- Barazzoni, R., A. Bosutti, M. Stebel, M. R. Cattin, E. Roder, L. Visintin, L. Cattin, G. Biolo, M. Zanetti et G. Guarnieri. 2005. «Ghrelin regulates mitochondrial lipid metabolism gene expression and tissue fat distribution in liver and skeletal muscle». *Am J Physiol Endocrinol Metab*, vol. 288, no 1, p. E228-235. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15328073>>.
- Barazzoni, R., G. Gortan Cappellari, S. Palus, P. Vinci, G. Ruozi, M. Zanetti, A. Semolic, N. Ebner, S. von Haehling, G. Sinagra, M. Giacca et J. Springer. 2017. «Acylated ghrelin treatment normalizes skeletal muscle mitochondrial oxidative capacity and AKT phosphorylation in rat chronic heart failure». *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, vol. 8, no 6, p. 991-998. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29098797>>.
- Bass, N. M. 1985. «Function and regulation of hepatic and intestinal fatty acid binding proteins». *Chem Phys Lipids*, vol. 38, no 1-2, p. 95-114. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4064226>>.

- Berriot-Varoqueaux, N., L. P. Aggerbeck, M. Samson-Bouma et J. R. Wetterau. 2000. «The role of the microsomal triglyceride transfer protein in abetalipoproteinemia». *Annu Rev Nutr*, vol. 20, p. 663-697. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10940349>>.
- Bewick, G. A. 2012. «Bowels control brain: gut hormones and obesity». *Biochem Med (Zagreb)*, vol. 22, no 3, p. 283-297. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23092061>>.
- Bouma, M. E., I. Beucler, L. P. Aggerbeck, R. Infante et J. Schmitz. 1986. «Hypobetalipoproteinemia with accumulation of an apoprotein B-like protein in intestinal cells. Immunoenzymatic and biochemical characterization of seven cases of Anderson's disease». *J Clin Invest*, vol. 78, no 2, p. 398-410. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2426307>>.
- Brandsma, E., T. Houben, J. Fu, R. Shiri-Sverdlov et M. H. Hofker. 2015. «The immunity-diet-microbiota axis in the development of metabolic syndrome». *Curr Opin Lipidol*, vol. 26, no 2, p. 73-81. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25692344>>.
- Briand, F., Q. Thieblemont, E. Muzotte et T. Sulpice. 2012. «High-fat and fructose intake induces insulin resistance, dyslipidemia, and liver steatosis and alters in vivo macrophage-to-feces reverse cholesterol transport in hamsters». *J Nutr*, vol. 142, no 4, p. 704-709. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22357742>>.
- Briscoe, C. P., M. Tadayyon, J. L. Andrews, W. G. Benson, J. K. Chambers, M. M. Eilert, C. Ellis, N. A. Elshourbagy, A. S. Goetz, D. T. Minnick, P. R. Murdock, H. R. Sauls, Jr., U. Shabon, L. D. Spinage, J. C. Strum, P. G. Szekeres, K. B. Tan, J. M. Way, D. M. Ignar, S. Wilson et A. I. Muir. 2003. «The orphan G protein-coupled receptor GPR40 is activated by medium and long chain fatty acids». *J Biol Chem*, vol. 278, no 13, p. 11303-11311. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12496284>>.

- Brunet, A., L. B. Sweeney, J. F. Sturgill, K. F. Chua, P. L. Greer, Y. Lin, H. Tran, S. E. Ross, R. Mostoslavsky, H. Y. Cohen, L. S. Hu, H. L. Cheng, M. P. Jedrychowski, S. P. Gygi, D. A. Sinclair, F. W. Alt et M. E. Greenberg. 2004. «Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase». *Science*, vol. 303, no 5666, p. 2011-2015. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14976264>>.
- Buhman, K. K., L. C. Wang, Y. Tang, E. A. Swietlicki, S. Kennedy, Y. Xie, Z. Y. Liu, L. C. Burkly, M. S. Levin, D. C. Rubin et N. O. Davidson. 2004. «Inhibition of Hedgehog signalling protects adult mice from diet-induced weight gain». *J Nutr*, vol. 134, no 11, p. 2979-2984. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15514262>>.
- Carriere, V., R. Vidal, K. Lazou, M. Lacasa, F. Delers, A. Ribeiro, M. Rousset, J. Chambaz et J. M. Lacorte. 2005. «HNF-4-dependent induction of apolipoprotein A-IV gene transcription by an apical supply of lipid micelles in intestinal cells». *J Biol Chem*, vol. 280, no 7, p. 5406-5413. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15583007>>.
- Cartwright, I. J., et J. A. Higgins. 1999. «Increased dietary triacylglycerol markedly enhances the ability of isolated rabbit enterocytes to secrete chylomicrons: an effect related to dietary fatty acid composition». *J Lipid Res*, vol. 40, no 10, p. 1858-1866. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10508205>>.
- Carulli, A. J., L. C. Samuelson et S. Schnell. 2014. «Unraveling intestinal stem cell behavior with models of crypt dynamics». *Integr Biol (Camb)*, vol. 6, no 3, p. 243-257. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24480852>>.
- Charoenthongtrakul, S., D. Giuliana, K. A. Longo, E. K. Govek, A. Nolan, S. Gagne, K. Morgan, J. Hixon, N. Flynn, B. J. Murphy, A. S. Hernandez, J. Li, J. A. Tino, D. A. Gordon, P. S. DiStefano et B. J. Geddes. 2009. «Enhanced gastrointestinal motility with orally active ghrelin receptor agonists». *J Pharmacol Exp Ther*, vol. 329, no 3, p. 1178-1186. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19252061>>.

- Chavez-Jauregui, R. N., R. D. Mattes et E. J. Parks. 2010. «Dynamics of fat absorption and effect of sham feeding on postprandial lipema». *Gastroenterology*, vol. 139, no 5, p. 1538-1548. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20493191>>.
- Chen, H. Y., M. E. Trumbauer, A. S. Chen, D. T. Weingarth, J. R. Adams, E. G. Frazier, Z. Shen, D. J. Marsh, S. D. Feighner, X. M. Guan, Z. Ye, R. P. Nargund, R. G. Smith, L. H. Van der Ploeg, A. D. Howard, D. J. MacNeil et S. Qian. 2004. «Orexigenic action of peripheral ghrelin is mediated by neuropeptide Y and agouti-related protein». *Endocrinology*, vol. 145, no 6, p. 2607-2612. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14962995>>.
- Cheng, D., T. C. Nelson, J. Chen, S. G. Walker, J. Wardwell-Swanson, R. Meegalla, R. Taub, J. T. Billheimer, M. Ramaker et J. N. Feder. 2003. «Identification of acyl coenzyme A:monoacylglycerol acyltransferase 3, an intestinal specific enzyme implicated in dietary fat absorption». *J Biol Chem*, vol. 278, no 16, p. 13611-13614. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12618427>>.
- Cheng, J., L. Zhang, W. Dai, Y. Mao, S. Li, J. Wang, H. Li, C. Guo et X. Fan. 2015. «Ghrelin ameliorates intestinal barrier dysfunction in experimental colitis by inhibiting the activation of nuclear factor-kappa B». *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 458, no 1, p. 140-147. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25634696>>.
- Cheung, W., M. Gill, A. Esposito, C. F. Kaminski, N. Courousse, S. Chwetzoff, G. Trugnan, N. Keshavan, A. Lever et U. Desselberger. 2010. «Rotaviruses associate with cellular lipid droplet components to replicate in viroplasm, and compounds disrupting or blocking lipid droplets inhibit viroplasm formation and viral replication». *J Virol*, vol. 84, no 13, p. 6782-6798. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20335253>>.
- Cohn, J. S., C. Marcoux et J. Davignon. 1999. «Detection, quantification, and characterization of potentially atherogenic triglyceride-rich remnant lipoproteins». *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, vol. 19, no 10, p. 2474-2486. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10521378>>.

- Colliden, G., M. H. Tschop et T. D. Muller. 2017. «Therapeutic Potential of Targeting the Ghrelin Pathway». *Int J Mol Sci*, vol. 18, no 4. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28398233>>.
- Cruz-Garcia, L., et A. Schlegel. 2014. «Lxr-driven enterocyte lipid droplet formation delays transport of ingested lipids». *J Lipid Res*, vol. 55, no 9, p. 1944-1958. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25030662>>.
- Cummings, D. E., J. Q. Purnell, R. S. Frayo, K. Schmidova, B. E. Wisse et D. S. Weigle. 2001. «A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans». *Diabetes*, vol. 50, no 8, p. 1714-1719. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11473029>>.
- D'Aquila, T., D. Sirohi, J. M. Grabowski, V. E. Hedrick, L. N. Paul, A. S. Greenberg, R. J. Kuhn et K. K. Buhman. 2015. «Characterization of the proteome of cytoplasmic lipid droplets in mouse enterocytes after a dietary fat challenge». *PLoS One*, vol. 10, no 5, p. e0126823. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25992653>>.
- Dash, S., C. Xiao, C. Morgantini, P. W. Connelly, B. W. Patterson et G. F. Lewis. 2014. «Glucagon-like peptide-2 regulates release of chylomicrons from the intestine». *Gastroenterology*, vol. 147, no 6, p. 1275-1284 e1274. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25173752>>.
- Dash, S., C. Xiao, C. Morgantini et G. F. Lewis. 2015. «New Insights into the Regulation of Chylomicron Production». *Annu Rev Nutr*, vol. 35, p. 265-294. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25974693>>.
- Davies, J. S., P. Kotokorpi, S. R. Eccles, S. K. Barnes, P. F. Tokarczuk, S. K. Allen, H. S. Whitworth, I. A. Guschina, B. A. Evans, A. Mode, J. M. Zigman et T. Wells. 2009. «Ghrelin induces abdominal obesity via GHS-R-dependent lipid

- retention». *Mol Endocrinol*, vol. 23, no 6, p. 914-924. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19299444>>.
- Demignot, S., F. Beilstein et E. Morel. 2014. «Triglyceride-rich lipoproteins and cytosolic lipid droplets in enterocytes: key players in intestinal physiology and metabolic disorders». *Biochimie*, vol. 96, p. 48-55. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23871915>>.
- Dockray, G. J. 1987. «Peptides of the gut and brain: the cholecystokinins». *Proc Nutr Soc*, vol. 46, no 1, p. 119-124. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3575318>>.
- Doi, T., M. Liu, R. J. Seeley, S. C. Woods et P. Tso. 2001. «Effect of leptin on intestinal apolipoprotein AIV in response to lipid feeding». *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, vol. 281, no 3, p. R753-759. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11506989>>.
- Douglass, J. D., N. Malik, S. H. Chon, K. Wells, Y. X. Zhou, A. S. Choi, L. B. Joseph et J. Storch. 2012. «Intestinal mucosal triacylglycerol accumulation secondary to decreased lipid secretion in obese and high fat fed mice». *Front Physiol*, vol. 3, p. 25. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22375121>>.
- Douris, N., S. Kojima, X. Pan, A. F. Lerch-Gaggl, S. Q. Duong, M. M. Hussain et C. B. Green. 2011. «Nocturnin regulates circadian trafficking of dietary lipid in intestinal enterocytes». *Curr Biol*, vol. 21, no 16, p. 1347-1355. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21820310>>.
- Drover, V. A., M. Ajmal, F. Nassir, N. O. Davidson, A. M. Nauli, D. Sahoo, P. Tso et N. A. Abumrad. 2005. «CD36 deficiency impairs intestinal lipid secretion and clearance of chylomicrons from the blood». *J Clin Invest*, vol. 115, no 5, p. 1290-1297. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15841205>>.

- Edholm, T., F. Levin, P. M. Hellstrom et P. T. Schmidt. 2004. «Ghrelin stimulates motility in the small intestine of rats through intrinsic cholinergic neurons». *Regul Pept*, vol. 121, no 1-3, p. 25-30. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15256270>>.
- Ellis, J. M., J. L. Frahm, L. O. Li et R. A. Coleman. 2010. «Acyl-coenzyme A synthetases in metabolic control». *Curr Opin Lipidol*, vol. 21, no 3, p. 212-217. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20480548>>.
- Errico, A., A. Ballabio et E. I. Rugarli. 2002. «Spastin, the protein mutated in autosomal dominant hereditary spastic paraplegia, is involved in microtubule dynamics». *Hum Mol Genet*, vol. 11, no 2, p. 153-163. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11809724>>.
- Evans, K. J., E. R. Gomes, S. M. Reisenweber, G. G. Gundersen et B. P. Lauring. 2005. «Linking axonal degeneration to microtubule remodeling by Spastin-mediated microtubule severing». *J Cell Biol*, vol. 168, no 4, p. 599-606. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15716377>>.
- Farese, R. V., Jr., et T. C. Walther. 2009. «Lipid droplets finally get a little R-E-S-P-E-C-T». *Cell*, vol. 139, no 5, p. 855-860. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19945371>>.
- Fazolini, N. P., A. L. Cruz, M. B. Werneck, J. P. Viola, C. M. Maya-Monteiro et P. T. Bozza. 2015. «Leptin activation of mTOR pathway in intestinal epithelial cell triggers lipid droplet formation, cytokine production and increased cell proliferation». *Cell Cycle*, vol. 14, no 16, p. 2667-2676. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26017929>>.
- Federico, L. M., M. Naples, D. Taylor et K. Adeli. 2006. «Intestinal insulin resistance and aberrant production of apolipoprotein B48 lipoproteins in an animal model of insulin resistance and metabolic dyslipidemia: evidence for activation of protein tyrosine phosphatase-1B, extracellular signal-related kinase, and sterol regulatory element-binding protein-1c in the fructose-fed

- hamster intestine». *Diabetes*, vol. 55, no 5, p. 1316-1326. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16644688>>.
- Fridovich, I. 1995. «Superoxide radical and superoxide dismutases». *Annu Rev Biochem*, vol. 64, p. 97-112. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7574505>>.
- Frochot, V., M. Alqub, A. L. Cattin, V. Carriere, A. Houllier, F. Baraille, L. Barbot, S. Saint-Just, A. Ribeiro, M. Lacasa, P. Cardot, J. Chambaz, M. Rousset et J. M. Lacorte. 2012. «The transcription factor HNF-4alpha: a key factor of the intestinal uptake of fatty acids in mouse». *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, vol. 302, no 11, p. G1253-1263. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22461026>>.
- Gibbons, G. F., K. Islam et R. J. Pease. 2000. «Mobilisation of triacylglycerol stores». *Biochim Biophys Acta*, vol. 1483, no 1, p. 37-57. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10601694>>.
- Granneman, J. G., H. P. Moore, R. L. Granneman, A. S. Greenberg, M. S. Obin et Z. Zhu. 2007. «Analysis of lipolytic protein trafficking and interactions in adipocytes». *J Biol Chem*, vol. 282, no 8, p. 5726-5735. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17189257>>.
- Grenier, E., C. Garofalo, E. Delvin et E. Levy. 2012. «Modulatory role of PYY in transport and metabolism of cholesterol in intestinal epithelial cells». *PLoS One*, vol. 7, no 7, p. e40992. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22844422>>.
- Gribble, F. M. 2012. «The gut endocrine system as a coordinator of postprandial nutrient homeostasis». *Proc Nutr Soc*, vol. 71, no 4, p. 456-462. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22906726>>.

- Grygiel-Gorniak, B. 2014. «Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications--a review». *Nutr J*, vol. 13, p. 17. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24524207>>.
- Haidari, M., N. Leung, F. Mahbub, K. D. Uffelman, R. Kohen-Avramoglu, G. F. Lewis et K. Adeli. 2002. «Fasting and postprandial overproduction of intestinally derived lipoproteins in an animal model of insulin resistance. Evidence that chronic fructose feeding in the hamster is accompanied by enhanced intestinal de novo lipogenesis and ApoB48-containing lipoprotein overproduction». *J Biol Chem*, vol. 277, no 35, p. 31646-31655. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12070142>>.
- Han, L., J. Li, Y. Chen, W. Wang, D. Zhang et G. Liu. 2015. «Effects of Ghrelin on Triglyceride Accumulation and Glucose Uptake in Primary Cultured Rat Myoblasts under Palmitic Acid-Induced High Fat Conditions». *Int J Endocrinol*, vol. 2015, p. 635863. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26713091>>.
- Harmel, E., E. Grenier, A. Bendjoudi Ouadda, M. El Chebly, E. Ziv, J. F. Beaulieu, A. Sane, S. Spahis, M. Laville et E. Levy. 2014. «AMPK in the small intestine in normal and pathophysiological conditions». *Endocrinology*, vol. 155, no 3, p. 873-888. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24424053>>.
- Hashemi, H. F., et J. M. Goodman. 2015. «The life cycle of lipid droplets». *Curr Opin Cell Biol*, vol. 33, p. 119-124. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25703629>>.
- Hassing, H. C., R. P. Surendran, H. L. Mooij, E. S. Stroes, M. Nieuwdorp et G. M. Dallinga-Thie. 2012. «Pathophysiology of hypertriglyceridemia». *Biochim Biophys Acta*, vol. 1821, no 5, p. 826-832. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22179026>>.
- Herms, A., M. Bosch, N. Ariotti, B. J. Reddy, A. Fajardo, A. Fernandez-Vidal, A. Alvarez-Guaita, M. A. Fernandez-Rojo, C. Rentero, F. Tebar, C. Enrich, M. I.

- Geli, R. G. Parton, S. P. Gross et A. Pol. 2013. «Cell-to-cell heterogeneity in lipid droplets suggests a mechanism to reduce lipotoxicity». *Curr Biol*, vol. 23, no 15, p. 1489-1496. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23871243>>.
- Hermes, A., M. Bosch, B. J. Reddy, N. L. Schieber, A. Fajardo, C. Ruperez, A. Fernandez-Vidal, C. Ferguson, C. Rentero, F. Tebar, C. Enrich, R. G. Parton, S. P. Gross et A. Pol. 2015. «AMPK activation promotes lipid droplet dispersion on deetyrosinated microtubules to increase mitochondrial fatty acid oxidation». *Nat Commun*, vol. 6, p. 7176. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26013497>>.
- Hesse, D., A. Jaschke, B. Chung et A. Schurmann. 2013. «Trans-Golgi proteins participate in the control of lipid droplet and chylomicron formation». *Biosci Rep*, vol. 33, no 1, p. 1-9. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23033902>>.
- Hirasawa, A., K. Tsumaya, T. Awaji, S. Katsuma, T. Adachi, M. Yamada, Y. Sugimoto, S. Miyazaki et G. Tsujimoto. 2005. «Free fatty acids regulate gut incretin glucagon-like peptide-1 secretion through GPR120». *Nat Med*, vol. 11, no 1, p. 90-94. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15619630>>.
- Hirayama, H., T. Shiina, T. Shima, H. Kuramoto, T. Takewaki, B. Furness J et Y. Shimizu. 2010. «Contrasting effects of ghrelin and des-acyl ghrelin on the lumbo-sacral defecation center and regulation of colorectal motility in rats». *Neurogastroenterol Motil*, vol. 22, no 10, p. 1124-1131. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20584261>>.
- Hofmann, A. F., et B. Borgstrom. 1963. «Hydrolysis of long-chain monoglycerides in micellar solution by pancreatic lipase». *Biochim Biophys Acta*, vol. 70, p. 317-331. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13963970>>.

- Hosoda, H., M. Kojima, H. Matsuo et K. Kangawa. 2000. «Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue». *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 279, no 3, p. 909-913. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11162448>>.
- Hsieh, J., C. Longuet, C. L. Baker, B. Qin, L. M. Federico, D. J. Drucker et K. Adeli. 2010. «The glucagon-like peptide 1 receptor is essential for postprandial lipoprotein synthesis and secretion in hamsters and mice». *Diabetologia*, vol. 53, no 3, p. 552-561. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19957161>>.
- Hsieh, J., C. Longuet, A. Maida, J. Bahrami, E. Xu, C. L. Baker, P. L. Brubaker, D. J. Drucker et K. Adeli. 2009. «Glucagon-like peptide-2 increases intestinal lipid absorption and chylomicron production via CD36». *Gastroenterology*, vol. 137, no 3, p. 997-1005, 1005 e1001-1004. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19482026>>.
- Hsieh, J., K. E. Trajcevski, S. L. Farr, C. L. Baker, E. J. Lake, J. Taher, J. Iqbal, M. M. Hussain et K. Adeli. 2015. «Glucagon-Like Peptide 2 (GLP-2) Stimulates Postprandial Chylomicron Production and Postabsorptive Release of Intestinal Triglyceride Storage Pools via Induction of Nitric Oxide Signaling in Male Hamsters and Mice». *Endocrinology*, vol. 156, no 10, p. 3538-3547. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26132919>>.
- Huang, Y. N., J. H. Qi, L. Xiang et Y. Z. Wang. 2012. «Construction of adiponectin-encoding plasmid DNA and overexpression in mice in vivo». *Gene*, vol. 502, no 2, p. 87-93. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22561699>>.
- Iqbal, J., X. Li, B. H. Chang, L. Chan, G. J. Schwartz, S. C. Chua, Jr. et M. M. Hussain. 2010. «An intrinsic gut leptin-melanocortin pathway modulates intestinal microsomal triglyceride transfer protein and lipid absorption». *J Lipid Res*, vol. 51, no 7, p. 1929-1942. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20164094>>.

- Kassan, A., A. Herms, A. Fernandez-Vidal, M. Bosch, N. L. Schieber, B. J. Reddy, A. Fajardo, M. Gelabert-Baldrich, F. Tebar, C. Enrich, S. P. Gross, R. G. Parton et A. Pol. 2013. «Acyl-CoA synthetase 3 promotes lipid droplet biogenesis in ER microdomains». *J Cell Biol*, vol. 203, no 6, p. 985-1001. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24368806>>.
- Kemp, B. A., N. L. Howell, J. T. Gray, S. R. Keller, R. M. Nass et S. H. Padia. 2011. «Intrarenal ghrelin infusion stimulates distal nephron-dependent sodium reabsorption in normal rats». *Hypertension*, vol. 57, no 3, p. 633-639. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21220707>>.
- Khaldoun, S. A., M. A. Emond-Boisjoly, D. Chateau, V. Carriere, M. Lacasa, M. Rousset, S. Demignot et E. Morel. 2014. «Autophagosomes contribute to intracellular lipid distribution in enterocytes». *Mol Biol Cell*, vol. 25, no 1, p. 118-132. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24173715>>.
- Khalifeh-Soltani, A., D. Gupta, A. Ha, J. Iqbal, M. Hussain, M. J. Podolsky et K. Atabai. 2016. «Mfge8 regulates enterocyte lipid storage by promoting enterocyte triglyceride hydrolase activity». *JCI Insight*, vol. 1, no 18, p. e87418. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27812539>>.
- Kimura, R., N. Takahashi, S. Lin, T. Goto, K. Murota, R. Nakata, H. Inoue et T. Kawada. 2013. «DHA attenuates postprandial hyperlipidemia via activating PPARalpha in intestinal epithelial cells». *J Lipid Res*, vol. 54, no 12, p. 3258-3268. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24133194>>.
- Kitabgi, P., R. Carraway et S. E. Leeman. 1976. «Isolation of a tridecapeptide from bovine intestinal tissue and its partial characterization as neurotensin». *J Biol Chem*, vol. 251, no 22, p. 7053-7058. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/993204>>.
- Kitazawa, T., T. Nakamura, A. Saeki, H. Teraoka, T. Hiraga et H. Kaiya. 2011. «Molecular identification of ghrelin receptor (GHS-R1a) and its functional

- role in the gastrointestinal tract of the guinea-pig». *Peptides*, vol. 32, no 9, p. 1876-1886. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21843569>>.
- Klionsky, D. J. 2007. «Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade». *Nat Rev Mol Cell Biol*, vol. 8, no 11, p. 931-937. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17712358>>.
- Klippert, P., P. Borm et J. Noordhoek. 1982. «Prediction of intestinal first-pass effect of phenacetin in the rat from enzyme kinetic data--correlation with in vivo data using mucosal blood flow». *Biochem Pharmacol*, vol. 31, no 15, p. 2545-2548. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7126267>>.
- Kojima, M., H. Hosoda, Y. Date, M. Nakazato, H. Matsuo et K. Kangawa. 1999. «Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach». *Nature*, vol. 402, no 6762, p. 656-660. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10604470>>.
- Konturek, P. C., T. Brzozowski, M. Engel, G. Burnat, P. Gaca, S. Kwiecien, R. Pajdo et S. J. Konturek. 2009. «Ghrelin ameliorates colonic inflammation. Role of nitric oxide and sensory nerves». *J Physiol Pharmacol*, vol. 60, no 2, p. 41-47. NLM.
- Krahmer, N., Y. Guo, F. Wilfling, M. Hilger, S. Lingrell, K. Heger, H. W. Newman, M. Schmidt-Supprian, D. E. Vance, M. Mann, R. V. Farese, Jr. et T. C. Walther. 2011. «Phosphatidylcholine synthesis for lipid droplet expansion is mediated by localized activation of CTP:phosphocholine cytidyltransferase». *Cell Metab*, vol. 14, no 4, p. 504-515. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21982710>>.
- Kuerschner, L., C. Moessinger et C. Thiele. 2008. «Imaging of lipid biosynthesis: how a neutral lipid enters lipid droplets». *Traffic*, vol. 9, no 3, p. 338-352. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18088320>>.

- Kurahashi, T., T. Konno, N. Otsuki, M. Kwon, S. Tsunoda, J. Ito et J. Fujii. 2012. «A malfunction in triglyceride transfer from the intracellular lipid pool to apoB in enterocytes of SOD1-deficient mice». *FEBS Lett*, vol. 586, no 24, p. 4289-4295. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23098755>>.
- Lambert, J. E., et E. J. Parks. 2012. «Postprandial metabolism of meal triglyceride in humans». *Biochim Biophys Acta*, vol. 1821, no 5, p. 721-726. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22281699>>.
- Lass, A., R. Zimmermann, M. Oberer et R. Zechner. 2011. «Lipolysis - a highly regulated multi-enzyme complex mediates the catabolism of cellular fat stores». *Prog Lipid Res*, vol. 50, no 1, p. 14-27. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21087632>>.
- Lee, B., J. Zhu, N. E. Wolins, J. X. Cheng et K. K. Buhman. 2009. «Differential association of adipophilin and TIP47 proteins with cytoplasmic lipid droplets in mouse enterocytes during dietary fat absorption». *Biochim Biophys Acta*, vol. 1791, no 12, p. 1173-1180. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19698802>>.
- Lee, J. H., J. Kong, J. Y. Jang, J. S. Han, Y. Ji, J. Lee et J. B. Kim. 2014. «Lipid droplet protein LID-1 mediates ATGL-1-dependent lipolysis during fasting in *Caenorhabditis elegans*». *Mol Cell Biol*, vol. 34, no 22, p. 4165-4176. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25202121>>.
- Lehner, R., J. Lian et A. D. Quiroga. 2012. «Luminal lipid metabolism: implications for lipoprotein assembly». *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, vol. 32, no 5, p. 1087-1093. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22517367>>.
- Levine, B., et D. J. Klionsky. 2004. «Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy». *Dev Cell*, vol. 6, no 4, p. 463-477. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15068787>>.

- Lewis, G. F., K. Uffelman, M. Naples, L. Szeto, M. Haidari et K. Adeli. 2005. «Intestinal lipoprotein overproduction, a newly recognized component of insulin resistance, is ameliorated by the insulin sensitizer rosiglitazone: studies in the fructose-fed Syrian golden hamster». *Endocrinology*, vol. 146, no 1, p. 247-255. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15486228>>.
- Li, J., J. Song, Y. Y. Zaytseva, Y. Liu, P. Rychahou, K. Jiang, M. E. Starr, J. T. Kim, J. W. Harris, F. B. Yiannikouris, W. S. Katz, P. M. Nilsson, M. Orholm-Melander, J. Chen, H. Zhu, T. Fahrenholz, R. M. Higashi, T. Gao, A. J. Morris, L. A. Cassis, T. W. Fan, H. L. Weiss, P. R. Dobner, O. Melander, J. Jia et B. M. Evers. 2016. «An obligatory role for neurotensin in high-fat-diet-induced obesity». *Nature*, vol. 533, no 7603, p. 411-415. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27193687>>.
- Li, Z., G. Xu, Y. Qin, C. Zhang, H. Tang, Y. Yin, X. Xiang, Y. Li, J. Zhao, M. Mulholland et W. Zhang. 2014. «Ghrelin promotes hepatic lipogenesis by activation of mTOR-PPARgamma signalling pathway». *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 111, no 36, p. 13163-13168. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25157160>>.
- Liu, A., et al. (2016). "Lentivirus-mediated shRNA interference of ghrelin receptor blocks proliferation in the colorectal cancer cells." *Cancer Med* 5(9): 2417-2426.
- Mansbach, C. M., et S. A. Siddiqi. 2010. «The biogenesis of chylomicrons». *Annu Rev Physiol*, vol. 72, p. 315-333. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20148678>>.
- Matuszyk, A., D. Ceranowicz, Z. Warzecha, P. Ceranowicz, K. Fyderek, K. Galazka, J. Cieszkowski, J. Bonior, J. Jaworek, M. Pihut et A. Dembinski. 2015. «The Influence of Ghrelin on the Development of Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis in Rats». *Biomed Res Int*, vol. 2015, p. 718314. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26713317>>.

- Maxfield, F. R., et I. Tabas. 2005. «Role of cholesterol and lipid organization in disease». *Nature*, vol. 438, no 7068, p. 612-621. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16319881>>.
- Mehran, M., E. Levy, M. Bendayan et E. Seidman. 1997. «Lipid, apolipoprotein, and lipoprotein synthesis and secretion during cellular differentiation in Caco-2 cells». *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, vol. 33, no 2, p. 118-128. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9081219>>.
- Meier, J. J., M. A. Nauck, A. Pott, K. Heinze, O. Goetze, K. Bulut, W. E. Schmidt, B. Gallwitz et J. J. Holst. 2006. «Glucagon-like peptide 2 stimulates glucagon secretion, enhances lipid absorption, and inhibits gastric acid secretion in humans». *Gastroenterology*, vol. 130, no 1, p. 44-54. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16401467>>.
- Miegueu, P., D. St Pierre, F. Broglio et K. Cianflone. 2011. «Effect of desacyl ghrelin, obestatin and related peptides on triglyceride storage, metabolism and GHSR signalling in 3T3-L1 adipocytes». *J Cell Biochem*, vol. 112, no 2, p. 704-714. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21268092>>.
- Miyanari, Y., K. Atsuzawa, N. Usuda, K. Watashi, T. Hishiki, M. Zayas, R. Bartenschlager, T. Wakita, M. Hijikata et K. Shimotohno. 2007. «The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production». *Nat Cell Biol*, vol. 9, no 9, p. 1089-1097. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17721513>>.
- Moessinger, C., K. Klizaite, A. Steinhagen, J. Philippou-Massier, A. Shevchenko, M. Hoch, C. S. Ejsing et C. Thiele. 2014. «Two different pathways of phosphatidylcholine synthesis, the Kennedy Pathway and the Lands Cycle, differentially regulate cellular triacylglycerol storage». *BMC Cell Biol*, vol. 15, p. 43. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25491198>>.
- Monnikes, H., G. Lauer, C. Bauer, J. Tebbe, T. T. Zittel et R. Arnold. 1997. «Pathways of Fos expression in locus ceruleus, dorsal vagal complex, and

- PVN in response to intestinal lipid». *Am J Physiol*, vol. 273, no 6 Pt 2, p. R2059-2071. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9435662>>.
- Moran, T. H. 2000. «Cholecystokinin and satiety: current perspectives». *Nutrition*, vol. 16, no 10, p. 858-865. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11054590>>.
- Moreau, H., R. Laugier, Y. Gargouri, F. Ferrato et R. Verger. 1988. «Human preduodenal lipase is entirely of gastric fundic origin». *Gastroenterology*, vol. 95, no 5, p. 1221-1226. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3169491>>.
- Moschetta, A. 2015. «Nuclear receptors and cholesterol metabolism in the intestine». *Atheroscler Suppl*, vol. 17, p. 9-11. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25659870>>.
- Murota, K., et J. Storch. 2005. «Uptake of micellar long-chain fatty acid and sn-2-monoacylglycerol into human intestinal Caco-2 cells exhibits characteristics of protein-mediated transport». *J Nutr*, vol. 135, no 7, p. 1626-1630. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15987840>>.
- Murphy, K. G., et S. R. Bloom. 2006. «Gut hormones and the regulation of energy homoeostasis». *Nature*, vol. 444, no 7121, p. 854-859. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17167473>>.
- Nauck, M. A., G. Kemmeries, J. J. Holst et J. J. Meier. 2011. «Rapid tachyphylaxis of the glucagon-like peptide 1-induced deceleration of gastric emptying in humans». *Diabetes*, vol. 60, no 5, p. 1561-1565. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21430088>>.
- Niot, I., H. Poirier, T. T. Tran et P. Besnard. 2009. «Intestinal absorption of long-chain fatty acids: evidence and uncertainties». *Prog Lipid Res*, vol. 48, no 2, p. 101-115. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19280719>>.

- Nonaka, N., S. Shioda, M. L. Niehoff et W. A. Banks. 2003. «Characterization of blood-brain barrier permeability to PYY3-36 in the mouse». *J Pharmacol Exp Ther*, vol. 306, no 3, p. 948-953. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12750431>>.
- Nordestgaard, B. G., M. Benn, P. Schnohr et A. Tybjaerg-Hansen. 2007. «Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women». *JAMA*, vol. 298, no 3, p. 299-308. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17635890>>.
- Obrowsky, S., P. G. Chandak, J. V. Patankar, S. Povoden, S. Schlager, E. E. Kershaw, J. G. Bogner-Strauss, G. Hoefler, S. Levak-Frank et D. Kratky. 2013. «Adipose triglyceride lipase is a TG hydrolase of the small intestine and regulates intestinal PPARalpha signalling». *J Lipid Res*, vol. 54, no 2, p. 425-435. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23220585>>.
- Ohsaki, Y., J. Cheng, M. Suzuki, Y. Shinohara, A. Fujita et T. Fujimoto. 2009. «Biogenesis of cytoplasmic lipid droplets: from the lipid ester globule in the membrane to the visible structure». *Biochim Biophys Acta*, vol. 1791, no 6, p. 399-407. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18996222>>.
- Okada, T., M. Miyashita, J. Fukuhara, M. Sugitani, T. Ueno, M. E. Samson-Bouma et L. P. Aggerbeck. 2011. «Anderson's disease/chylomicron retention disease in a Japanese patient with uniparental disomy 7 and a normal SAR1B gene protein coding sequence». *Orphanet J Rare Dis*, vol. 6, p. 78. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22104167>>.
- Pacifico, L., E. Poggiogalle, F. Costantino, C. Anania, F. Ferraro, F. Chiarelli et C. Chiesa. 2009. «Acylated and nonacylated ghrelin levels and their associations with insulin resistance in obese and normal weight children with metabolic syndrome». *Eur J Endocrinol*, vol. 161, no 6, p. 861-870. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19773372>>.

- Pan, X., et M. M. Hussain. 2012. «Gut triglyceride production». *Biochim Biophys Acta*, vol. 1821, no 5, p. 727-735. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21989069>>.
- Papadopoulos, C., G. Orso, G. Mancuso, M. Herholz, S. Gumeni, N. Tadepalle, C. Jungst, A. Tzschichholz, A. Schauss, S. Honing, A. Trifunovic, A. Daga et E. I. Rugarli. 2015. «Spastin binds to lipid droplets and affects lipid metabolism». *PLoS Genet*, vol. 11, no 4, p. e1005149. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25875445>>.
- Patsch, J. R., G. Miesenbock, T. Hopferwieser, V. Muhlberger, E. Knapp, J. K. Dunn, A. M. Gotto, Jr. et W. Patsch. 1992. «Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. Studies in the postprandial state». *Arterioscler Thromb*, vol. 12, no 11, p. 1336-1345. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1420093>>.
- Piatek, J., H. Witmanowski, J. Paluszak, H. Krauss et J. Krawczyk. 2005. «The effects of neurotensin on selected parameters of lipid metabolism in rats». *Peptides*, vol. 26, no 5, p. 837-843. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15808914>>.
- Pinkney, J. 2014. «The role of ghrelin in metabolic regulation». *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, vol. 17, no 6, p. 497-502. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25111866>>.
- Popov, D., M. Simionescu et P. R. Shepherd. 2003. «Saturated-fat diet induces moderate diabetes and severe glomerulosclerosis in hamsters». *Diabetologia*, vol. 46, no 10, p. 1408-1418. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12898005>>.
- Qi, W., P. S. Fitchev, M. L. Cornwell, J. Greenberg, M. Cabe, C. R. Weber, H. K. Roy, S. E. Crawford et S. D. Savkovic. 2013. «FOXO3 growth inhibition of colonic cells is dependent on intraepithelial lipid droplet density». *J Biol*

Chem, vol. 288, no 23, p. 16274-16281. En ligne.
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23603907>>.

Robenek, M. J., N. J. Severs, K. Schlattmann, G. Plenz, K. P. Zimmer, D. Troyer et H. Robenek. 2004. «Lipids partition caveolin-1 from ER membranes into lipid droplets: updating the model of lipid droplet biogenesis». *FASEB J*, vol. 18, no 7, p. 866-868. En ligne.
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15001554>>.

Robertson, M. D., M. Parkes, B. F. Warren, D. J. Ferguson, K. G. Jackson, D. P. Jewell et K. N. Frayn. 2003. «Mobilisation of enterocyte fat stores by oral glucose in humans». *Gut*, vol. 52, no 6, p. 834-839. En ligne.
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12740339>>.

Rodriguez, A., J. Gomez-Ambrosi, V. Catalan, M. J. Gil, S. Becerril, N. Sainz, C. Silva, J. Salvador, I. Colina et G. Fruhbeck. 2009. «Acylated and desacyl ghrelin stimulate lipid accumulation in human visceral adipocytes». *Int J Obes (Lond)*, vol. 33, no 5, p. 541-552. En ligne.
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19238155>>.

Roll-Mecak, A., et R. D. Vale. 2005. «The Drosophila homologue of the hereditary spastic paraplegia protein, spastin, severs and disassembles microtubules». *Curr Biol*, vol. 15, no 7, p. 650-655. En ligne.
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15823537>>.

Romijn, J. A., E. P. Corssmit, L. M. Havekes et H. Pijl. 2008. «Gut-brain axis». *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, vol. 11, no 4, p. 518-521. En ligne.
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18542016>>.

Sahu-Osen, A., G. Montero-Moran, M. Schittmayer, K. Fritz, A. Dinh, Y. F. Chang, D. McMahon, A. Boeszoermyeni, I. Cornaciu, D. Russell, M. Oberer, G. M. Carman, R. Birner-Gruenberger et D. L. Brasaemle. 2015. «CGI-58/ABHD5 is phosphorylated on Ser239 by protein kinase A: control of subcellular

- localization». *J Lipid Res*, vol. 56, no 1, p. 109-121. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25421061>>.
- Sakata, I., et T. Sakai. 2010. «Ghrelin cells in the gastrointestinal tract». *Int J Pept*, vol. 2010. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20798855>>.
- Salehi, E., et M. Khazaei. 2012. «Fenofibrate, a peroxisome proliferator-activated receptor alpha, improves myocardial capillary density in diabetic rats». *J Pak Med Assoc*, vol. 62, no 3 Suppl 2, p. S9-12. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22768449>>.
- Salo, V. T., I. Belevich, S. Li, L. Karhinen, H. Vihinen, C. Vigouroux, J. Magre, C. Thiele, M. Holtta-Vuori, E. Jokitalo et E. Ikonen. 2016. «Seipin regulates ER-lipid droplet contacts and cargo delivery». *EMBO J*, vol. 35, no 24, p. 2699-2716. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27879284>>.
- Samsa, M. M., J. A. Mondotte, N. G. Iglesias, I. Assuncao-Miranda, G. Barbosa-Lima, A. T. Da Poian, P. T. Bozza et A. V. Gamarnik. 2009. «Dengue virus capsid protein usurps lipid droplets for viral particle formation». *PLoS Pathog*, vol. 5, no 10, p. e1000632. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19851456>>.
- Sangiao-Alvarellos, S., M. J. Vazquez, L. Varela, R. Nogueiras, A. K. Saha, F. Cordido, M. Lopez et C. Dieguez. 2009. «Central ghrelin regulates peripheral lipid metabolism in a growth hormone-independent fashion». *Endocrinology*, vol. 150, no 10, p. 4562-4574. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19608647>>.
- Schwartz, M. W., S. C. Woods, D. Porte, Jr., R. J. Seeley et D. G. Baskin. 2000. «Central nervous system control of food intake». *Nature*, vol. 404, no 6778, p. 661-671. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10766253>>.

- Seim, I., P. L. Jeffery, L. de Amorim, C. M. Walpole, J. Fung, E. J. Whiteside, R. Lourie, A. C. Herington et L. K. Chopin. 2013. «Ghrelin O-acyltransferase (GOAT) is expressed in prostate cancer tissues and cell lines and expression is differentially regulated in vitro by ghrelin». *Reprod Biol Endocrinol*, vol. 11, p. 70. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23879975>>.
- Semova, I., J. D. Carten, J. Stombaugh, L. C. Mackey, R. Knight, S. A. Farber et J. F. Rawls. 2012. «Microbiota regulate intestinal absorption and metabolism of fatty acids in the zebrafish». *Cell Host Microbe*, vol. 12, no 3, p. 277-288. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22980325>>.
- Seyer, A., M. Cantiello, J. Bertrand-Michel, V. Roques, M. Nauze, V. Bezirard, X. Collet, D. Touboul, A. Brunelle et C. Comera. 2013. «Lipidomic and spatio-temporal imaging of fat by mass spectrometry in mice duodenum during lipid digestion». *PLoS One*, vol. 8, no 4, p. e58224. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23560035>>.
- Shah, K. G., R. Wu, A. Jacob, S. A. Blau, Y. Ji, W. Dong, C. P. Marini, T. S. Ravikumar, G. F. Coppa et P. Wang. 2009. «Human ghrelin ameliorates organ injury and improves survival after radiation injury combined with severe sepsis». *Mol Med*, vol. 15, no 11-12, p. 407-414. NLM.
- Shahid, Mohammad, et Ayesha Nunhuck. 2007. *Crash course physiology* Trad. de: *English*. Edinburgh: Mosby, 141 p.
- Shaw, C. S., D. A. Jones et A. J. Wagenmakers. 2008. «Network distribution of mitochondria and lipid droplets in human muscle fibres». *Histochem Cell Biol*, vol. 129, no 1, p. 65-72. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17938948>>.
- Shen, G. X., W. Cai et A. Angel. 1998. «Increased secretion of cholesteryl ester transfer protein from hamster adipose tissue: stimulation by beta-adrenergic agents». *Atherosclerosis*, vol. 140, no 1, p. 113-120. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9733222>>.

- Shibata, M., K. Yoshimura, N. Furuya, M. Koike, T. Ueno, M. Komatsu, H. Arai, K. Tanaka, E. Kominami et Y. Uchiyama. 2009. «The MAP1-LC3 conjugation system is involved in lipid droplet formation». *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 382, no 2, p. 419-423. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19285958>>.
- Siddiqi, S., et C. M. Mansbach, 2nd. 2012. «Phosphorylation of Sar1b protein releases liver fatty acid-binding protein from multiprotein complex in intestinal cytosol enabling it to bind to endoplasmic reticulum (ER) and bud the pre-chylomicron transport vesicle». *J Biol Chem*, vol. 287, no 13, p. 10178-10188. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22303004>>.
- Stahl, A., D. J. Hirsch, R. E. Gimeno, S. Punreddy, P. Ge, N. Watson, S. Patel, M. Kotler, A. Raimondi, L. A. Tartaglia et H. F. Lodish. 1999. «Identification of the major intestinal fatty acid transport protein». *Mol Cell*, vol. 4, no 3, p. 299-308. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10518211>>.
- Stan, S., E. Levy, M. Bendayan, M. Zoltowska, M. Lambert, J. Michaud, C. Asselin et E. E. Delvin. 2001. «Effect of human recombinant leptin on lipid handling by fully differentiated Caco-2 cells». *FEBS Lett*, vol. 508, no 1, p. 80-84. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11707272>>.
- Storch, J., Y. X. Zhou et W. S. Lagakos. 2008. «Metabolism of apical versus basolateral sn-2-monoacylglycerol and fatty acids in rodent small intestine». *J Lipid Res*, vol. 49, no 8, p. 1762-1769. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18421071>>.
- Sztalryd, C., et A. R. Kimmel. 2014. «Perilipins: lipid droplet coat proteins adapted for tissue-specific energy storage and utilization, and lipid cytoprotection». *Biochimie*, vol. 96, p. 96-101. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24036367>>.

- Teixeira, T. F., M. C. Collado, C. L. Ferreira, J. Bressan et C. Peluzio Mdo. 2012. «Potential mechanisms for the emerging link between obesity and increased intestinal permeability». *Nutr Res*, vol. 32, no 9, p. 637-647. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23084636>>.
- Theander-Carrillo, C., P. Wiedmer, P. Cettour-Rose, R. Nogueiras, D. Perez-Tilve, P. Pfluger, T. R. Castaneda, P. Muzzin, A. Schurmann, I. Szanto, M. H. Tschop et F. Rohner-Jeanrenaud. 2006. «Ghrelin action in the brain controls adipocyte metabolism». *J Clin Invest*, vol. 116, no 7, p. 1983-1993. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16767221>>.
- Tirinato, L., C. Liberale, S. Di Franco, P. Candeloro, A. Benfante, R. La Rocca, L. Potze, R. Marotta, R. Ruffilli, V. P. Rajamanickam, M. Malerba, F. De Angelis, A. Falqui, E. Carbone, M. Todaro, J. P. Medema, G. Stassi et E. Di Fabrizio. 2015. «Lipid droplets: a new player in colorectal cancer stem cells unveiled by spectroscopic imaging». *Stem Cells*, vol. 33, no 1, p. 35-44. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25186497>>.
- Tomkin, G. H., et D. Owens. 2001. «Abnormalities in apo B-containing lipoproteins in diabetes and atherosclerosis». *Diabetes Metab Res Rev*, vol. 17, no 1, p. 27-43. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11241889>>.
- Tong, J., N. Dave, G. M. Mugundu, H. W. Davis, B. D. Gaylinn, M. O. Thorner, M. H. Tschop, D. D'Alessio et P. B. Desai. 2013. «The pharmacokinetics of acyl, des-acyl, and total ghrelin in healthy human subjects». *Eur J Endocrinol*, vol. 168, no 6, p. 821-828. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23482590>>.
- Tortora, Gerard J., et Bryan H. Derrickson. 2014. «Principles of Anatomy and Physiology, 14th Edition». p. 967-1013. In /z-wcorg/. <http://worldcat.org>. En ligne. <<http://public.ebib.com/choice/PublicFullRecord.aspx?p=4806598>>.
- Tschop, M., C. Weyer, P. A. Tataranni, V. Devanarayan, E. Ravussin et M. L. Heiman. 2001. «Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity».

- Diabetes*, vol. 50, no 4, p. 707-709. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11289032>>.
- Varela, L., M. J. Vazquez, F. Cordido, R. Nogueiras, A. Vidal-Puig, C. Dieguez et M. Lopez. 2011. «Ghrelin and lipid metabolism: key partners in energy balance». *J Mol Endocrinol*, vol. 46, no 2, p. R43-63. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21169422>>.
- Veerkamp, J. H., T. H. van Kuppevelt, R. G. Maatman et C. F. Prinsen. 1993. «Structural and functional aspects of cytosolic fatty acid-binding proteins». *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, vol. 49, no 6, p. 887-906. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8140117>>.
- Walther, T. C., et R. V. Farese, Jr. 2012. «Lipid droplets and cellular lipid metabolism». *Annu Rev Biochem*, vol. 81, p. 687-714. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22524315>>.
- Wan, S. X., B. Shi, X. L. Lou, J. Q. Liu, G. G. Ma, D. Y. Liang et S. Ma. 2016. «Ghrelin protects small intestinal epithelium against sepsis-induced injury by enhancing the autophagy of intestinal epithelial cells». *Biomed Pharmacother*, vol. 83, p. 1315-1320. NLM.
- Wang, H., U. Sreenivasan, H. Hu, A. Saladino, B. M. Polster, L. M. Lund, D. W. Gong, W. C. Stanley et C. Sztalryd. 2011. «Perilipin 5, a lipid droplet-associated protein, provides physical and metabolic linkage to mitochondria». *J Lipid Res*, vol. 52, no 12, p. 2159-2168. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21885430>>.
- Wang, L. C., F. Nassir, Z. Y. Liu, L. Ling, F. Kuo, T. Crowell, D. Olson, N. O. Davidson et L. C. Burkly. 2002. «Disruption of hedgehog signalling reveals a novel role in intestinal morphogenesis and intestinal-specific lipid metabolism in mice». *Gastroenterology*, vol. 122, no 2, p. 469-482. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11832461>>.

- Wang, Z., W. L. Yang, A. Jacob, M. Aziz et P. Wang. 2015. «Human ghrelin mitigates intestinal injury and mortality after whole body irradiation in rats». *PLoS One*, vol. 10, no 2, p. e0118213. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25671547>>.
- Waseem, T., M. Duxbury, S. W. Ashley et M. K. Robinson. 2014. «Ghrelin promotes intestinal epithelial cell proliferation through PI3K/Akt pathway and EGFR trans-activation both converging to ERK 1/2 phosphorylation». *Peptides*, vol. 52, p. 113-121. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24365237>>.
- Waterson, M. J., et T. L. Horvath. 2015. «Neuronal Regulation of Energy Homeostasis: Beyond the Hypothalamus and Feeding». *Cell Metab*, vol. 22, no 6, p. 962-970. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26603190>>.
- Welte, M. A. 2015. «Expanding roles for lipid droplets». *Curr Biol*, vol. 25, no 11, p. R470-481. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26035793>>.
- Wiggins, D., et G. F. Gibbons. 1992. «The lipolysis/esterification cycle of hepatic triacylglycerol. Its role in the secretion of very-low-density lipoprotein and its response to hormones and sulphonylureas». *Biochem J*, vol. 284 (Pt 2), p. 457-462. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1599431>>.
- Wilson, M. D., et L. L. Rudel. 1994. «Review of cholesterol absorption with emphasis on dietary and biliary cholesterol». *J Lipid Res*, vol. 35, no 6, p. 943-955. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8077852>>.
- Windmueller, H. G., et A. E. Spaeth. 1978. «Identification of ketone bodies and glutamine as the major respiratory fuels in vivo for postabsorptive rat small intestine». *J Biol Chem*, vol. 253, no 1, p. 69-76. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/618869>>.

- Wright, David B. 2000. *Human physiology and health* Trad. de: *English*. Oxford: Heinemann.
- Wu, R., W. Dong, M. Zhou, X. Cui, H. Hank Simms et P. Wang. 2005. «Ghrelin improves tissue perfusion in severe sepsis via downregulation of endothelin-1». *Cardiovasc Res*, vol. 68, no 2, p. 318-326. NLM.
- Xiao, C., S. Dash, C. Morgantini, K. Adeli et G. F. Lewis. 2015. «Gut Peptides Are Novel Regulators of Intestinal Lipoprotein Secretion: Experimental and Pharmacological Manipulation of Lipoprotein Metabolism». *Diabetes*, vol. 64, no 7, p. 2310-2318. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26106188>>.
- Xiao, C., S. Dash, C. Morgantini, B. W. Patterson et G. F. Lewis. 2014. «Sitagliptin, a DPP-4 inhibitor, acutely inhibits intestinal lipoprotein particle secretion in healthy humans». *Diabetes*, vol. 63, no 7, p. 2394-2401. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24584549>>.
- Xiao, C., J. Hsieh, K. Adeli et G. F. Lewis. 2011. «Gut-liver interaction in triglyceride-rich lipoprotein metabolism». *Am J Physiol Endocrinol Metab*, vol. 301, no 3, p. E429-446. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21693689>>.
- Xie, P., F. Guo, Y. Ma, H. Zhu, F. Wang, B. Xue, H. Shi, J. Yang et L. Yu. 2014. «Intestinal Cgi-58 deficiency reduces postprandial lipid absorption». *PLoS One*, vol. 9, no 3, p. e91652. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24618586>>.
- Xu, L., L. Zhou et P. Li. 2012. «CIDE proteins and lipid metabolism». *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, vol. 32, no 5, p. 1094-1098. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22517368>>.

- Xue, Y., H. Wang, M. Du et M. J. Zhu. 2014. «Maternal obesity induces gut inflammation and impairs gut epithelial barrier function in nonobese diabetic mice». *J Nutr Biochem*, vol. 25, no 7, p. 758-764. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24775094>>.
- Yamaguchi, T., et T. Osumi. 2009. «Chanarin-Dorfman syndrome: deficiency in CGI-58, a lipid droplet-bound coactivator of lipase». *Biochim Biophys Acta*, vol. 1791, no 6, p. 519-523. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19061969>>.
- Yang, J., T. J. Zhao, J. L. Goldstein et M. S. Brown. 2008. «Inhibition of ghrelin O-acyltransferase (GOAT) by octanoylated pentapeptides». *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 105, no 31, p. 10750-10755. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18669668>>.
- Yu, H., G. Xu et X. Fan. 2013. «The effect of ghrelin on cell proliferation in small intestinal IEC-6 cells». *Biomed Pharmacother*, vol. 67, no 3, p. 235-239. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23481295>>.
- Yu, K. C., et A. D. Cooper. 2001. «Postprandial lipoproteins and atherosclerosis». *Front Biosci*, vol. 6, p. D332-354. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11229885>>.
- Zhang, H., Z. Cui, G. Luo, J. Zhang, T. Ma, N. Hu et T. Cui. 2013. «Ghrelin attenuates intestinal ischemia/reperfusion injury in mice by activating the mTOR signalling pathway». *Int J Mol Med*, vol. 32, no 4, p. 851-859. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23877278>>.
- Zhang, K., L. Li, Y. Qi, X. Zhu, B. Gan, R. A. DePinho, T. Averitt et S. Guo. 2012. «Hepatic suppression of Foxo1 and Foxo3 causes hypoglycemia and hyperlipidemia in mice». *Endocrinology*, vol. 153, no 2, p. 631-646. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22147007>>.

- Zhu, J., B. Lee, K. K. Buhman et J. X. Cheng. 2009. «A dynamic, cytoplasmic triacylglycerol pool in enterocytes revealed by ex vivo and in vivo coherent anti-Stokes Raman scattering imaging». *J Lipid Res*, vol. 50, no 6, p. 1080-1089. En ligne. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19218555>>.
- Zigman, J. M., J. E. Jones, C. E. Lee, C. B. Saper et J. K. Elmquist. 2006. «Expression of ghrelin receptor mRNA in the rat and the mouse brain». *J Comp Neurol*, vol. 494, no 3, p. 528-548. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16320257>>.
- Zoltowska, M., E. Ziv, E. Delvin, D. Sinnett, R. Kalman, C. Garofalo, E. Seidman et E. Levy. 2003. «Cellular aspects of intestinal lipoprotein assembly in Psammomys obesus: a model of insulin resistance and type 2 diabetes». *Diabetes*, vol. 52, no 10, p. 2539-2545. En ligne. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14514638>>.