



HAL
open science

Plant lecithins as alpha-linolenic acid carriers : metabolic and inflammatory impacts associated with intestinal bioavailability

Chloé Robert

► **To cite this version:**

Chloé Robert. Plant lecithins as alpha-linolenic acid carriers : metabolic and inflammatory impacts associated with intestinal bioavailability. Biochemistry, Molecular Biology. Université de Lyon, 2021. English. NNT : 2021LYSE1006 . tel-03962086

HAL Id: tel-03962086

<https://theses.hal.science/tel-03962086>

Submitted on 30 Jan 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



N° d'ordre NNT :
2021LYSE1006

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON
opérée au sein de
l'Université Claude Bernard Lyon 1
Ecole Doctorale N°205
Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences-Santé (EDISS)

Spécialité de doctorat : Sciences de la vie, biologie, santé
Discipline : Biologie moléculaire et structurale, biochimie

Soutenue publiquement le 29/01/2021, par :
Chloé ROBERT

Les lécithines végétales comme vecteurs
d'acide alpha-linolénique :
impacts métaboliques et inflammatoires
associés à la biodisponibilité intestinale

Devant le jury composé de :

Pr Noël PERETTI, PU-PH, Lyon

Président

Dr Jean-Charles MARTIN, Directeur de recherche INRAE, Marseille

Rapporteur

Dr Claire BOURLIEU-LACANAL, Chargée de recherche INRAE, Montpellier

Rapporteuse

Dr Didier MAJOU, Directeur général de l'ACTIA, Paris

Examineur

Dr Marie-Caroline MICHALSKI, Directrice de recherche INRAE, Lyon

Directrice de thèse

Dr Carole VAYSSE, Responsable Industriel, ITERG

Co-directrice de thèse

*I will not be "famous," "great." I will go on
adventuring, changing, opening my mind and my eyes, refusing to be stamped and stereotyped.*

The thing is to free one's self: to let it find its dimensions, not be impeded.

- Virginia Woolf

And so, these pages are a chapter of my adventures, not the first, not the last,

But pages in between.

A little bit of me.

Remerciements

Je ne pourrais commencer ce manuscrit de thèse, sans remercier tous les gens qui m'ont aidée tout au long de ces trois dernières années, que ce soit de près ou de loin, et sans qui ces pages n'existeraient sans doute pas aujourd'hui.

Tout d'abord, je remercie grandement Claire Bourlieu-Lacanal et Jean-Charles Martin d'avoir accepté de rapporter mes travaux de thèse. Merci également à Didier Majou d'avoir accepté d'être examinateur et de m'avoir livré de précieux conseils lors de chaque comité de l'ITERG. Je remercie aussi Noël Peretti pour son rôle de président du jury et pour ses nombreuses discussions extrêmement intéressantes, les lundis matins, lors de nos réunions d'équipe. Je tiens également à remercier tous les membres de mes comités de thèse, Frédéric Carrière, Frédéric Cappel et Béatrice Morio. Merci pour vos précieux conseils et vos critiques constructives.

Mais bien sûr cette thèse n'aurait jamais pu avoir lieu sans Hubert et Marie-Caroline. Merci énormément à vous deux de m'avoir accueillie dans le laboratoire CarMeN. A peine revenue d'Angleterre, puis arrivée à Lyon dans une ville que je ne connaissais pas, vous avez su me mettre à l'aise immédiatement. Merci Hubert d'avoir toujours trouvé le temps de discuter, de trouver des solutions et de m'aider dans les moments difficiles. Merci des nombreux conseils et des nombreuses discussions, qu'elles soient scientifiques ou qu'elles tournent autour de voyages et de pays lointains et exotiques.

Marie-Caroline, je vous dois un paragraphe entier. Vous avez été une vraie deuxième maman. I think I shall write the rest in English – to make up for that trip to Seattle we never did. Thank you ever so much for being there, for trusting me, for never doubting my abilities, even when I doubted them the most, thank you for truly believing in me and letting me do things on my own, even if that meant that sometimes I was frustrated and a little lost. It has allowed me to grow. Thank you for taking the time, even when you didn't have it. Thank you for your lovely text messages, with loads of suns and smileys. Thank you for all the scientific, but also for the life advice. I wish we had been able to enjoy more trips, more restaurants, more celebratory wine glasses, but Covid got in the way. I think we both know how challenging this thesis was, how many obstacles were in the way, but we got over every single one of them and so, this thesis is also a little bit of you and I thank you for that.

Carole, ma maman *bis* de Bordeaux. Cette thèse à distance n'aura pas été des plus faciles, mais tu as toujours été là quand j'en ai eu besoin à Canéjan. Merci pour ton accueil, pour nos moments de partage, pour nos rigolades. Merci pour ton aide dans les calculs, car j'ai beau avoir fait « S », je suis nulle en maths. Merci aussi à toute l'équipe Bordelaise, à Leslie, à Benjamin, à Ikram, à Hélène, à Laurence, merci de m'avoir si bien accueillie à chaque fois. Benjamin, merci pour ta relecture éclairée, efficace et rapide. Et toi mon Anthony, je suis bien heureuse d'avoir fait ta connaissance. Merci pour ces apéros partagés, ses Mcdo/saucisson/rosé qui ne devraient même pas être autorisés, mais que l'on partage sans problème. Je te souhaite tout plein de bonheur, peut-être même en Martinique qui sait. Merci à Maria et à Justine, pour votre aide pour les analyses du microbiote. Merci Justine pour nos appels et nos discussions, profite bien de ton petit et bientôt à toi la fin de thèse !

Mon aventure CarMeN a commencé au sein du CBS. Alors c'est tout naturellement que je vous dois un grand merci à vous, Valérie, Laure, Corinne et Adeline. Merci de m'avoir accueillie

dans votre petite équipe de filles, d'avoir su garder le sourire, malgré les machines qui ne marchaient pas. Adeline, merci pour tes cookies absolument incroyables et nos parties de badminton. Je te souhaite tout plein de bonheur dans ton nouveau poste. Cette expérience auprès de vous m'a énormément appris.

Puis la team Lyon Sud. Marwa, magnifique maman du laboratoire, Arthur, Anne-Ester, ze super couple, vous formez une équipe formidable, Agathe, reine de la pâtisserie, toujours bien habillée et dotée d'un énorme sourire, Flo, roi des sushis et des shots, Camille (et Eric), vous aussi un superbe couple complice, et François, le king des mauvaises blagues, qui deviendra mon technicien, pauvre souffre-douleur des broyages et des qPCR à gogo, un énorme merci pour ton aide et ta bonne humeur, malgré les difficultés et les situations bien compliquées parfois. La vie à Lyon Sud n'aurait pas été la même sans vous, sans vos vidéos, sans votre complicité. Merci pour tout ça et pour les nombreux verres. Même si vous n'êtes pas restés longtemps, merci aussi à vous, Benjamin, mon stagiaire et futur véto, Edelweiss, et Cédrine. Puis arrivés plus tard, Julien, Johan, Pauline, Laura, Alexandre, Clémence, Rémy, Souad, merci à vous aussi pour votre bonne humeur, nos cafés (interdits) et nos repas au RU. Enfin, merci Anaïs de nous avoir accueillie chez toi, avec Julie, et pour avoir été là et avoir rigolé pendant les cours de Gestion de R&D, qui auraient été bien longs sans vous deux.

Un énorme merci aux deux Manu, petite Manu et grande Manu, et à Sandra, pour votre aide extrêmement précieuse en qPCR. Sans vous, cette thèse n'aurait sûrement pas eu lieu. Il en va de même pour les filles de la plateforme d'histologie, un grand merci à vous deux, Stéphanie et Aurélie, pour votre travail toujours aussi rapide et impeccable. Puis, merci à toi Pascal, pour nos riches discussions, à parler de saveurs niçoises, des tourtes à la blette, mais aussi pour tes conseils scientifiques et techniques. Merci à Nathalie pour ton aide lors des nombreux broyages. Merci à nos collaborateurs, Philippe Gérard et son équipe, pour vos superbes analyses détaillées du microbiote, merci à Dominique et Lydie pour vos superbes analyses des acides biliaires et nos nombreuses discussions, à Elizabeth au CIQLE pour son aide et son travail sur les chylomicrons des lymphes.

Arrive ensuite notre équipe INSA. Armelle, je te dois un énorme merci. Merci pour nos nombreux trajets en voiture, pour nos manip dans le bâtiment désertique de l'INSA pendant le confinement, pour nos nombreux moments de partage, de rigolade, de thé partagé chez toi, de verres bus dans les bars, merci pour ton aide, pour ton soutien, pour ta relecture. Merci. Merci à toi aussi Nicolas, pour ton aide aux manip souris, pendant le confinement, alors que tu venais tout juste de devenir papa. Merci à toi Alexandre, pour ton aide à l'animalerie, pour toutes les pesées et toutes les venues à l'animalerie. Merci à toi Carole, pour les heures passées à faire des stats, dans tous les sens, pour ces fameux rats. Merci pour ta persévérance et tes nombreux conseils – que je ne voulais pas entendre parfois, mais qui ont été bien précieux. Merci à toi Fabienne, pour toutes nos discussions, pour tout le temps que tu as pris à m'écouter, pour ton aide, et ta bonne humeur. Je te souhaite tellement de bonheur, je ne doute pas que vous en aurez énormément avec le petit Antoine, qui pousse à une vitesse folle. Merci à toi Annie, pour ton aide dans les manip, pour les heures passées à essayer de faire marcher le modèle de digestion *in vitro*. Merci de m'avoir formé dans plusieurs domaines, que ce soit en culture ou pour les extractions d'ARN et les broyages. Merci aussi à Pierre pour tous ces bons moments, à midi ou au bar. Merci à Françoise, pour ton sourire et ta bonne humeur permanente. Merci à toi aussi Catherine, pour ton aide bien précieuse lors des extractions de lipides, un peu dernière minute. Merci pour ta rigueur, ton aide, ta relecture de ce manuscrit, mais également pour nos moments partagés, à parler des Anglais. Merci à toi Maxence, mon partenaire de bureau pendant quelque

temps, que ce soit dans les bureaux de l'INSA ou de Lyon Sud. Merci pour toutes nos discussions, merci pour tes biscuits et les chocolats que je te prenais souvent. A toi maintenant de soutenir ta thèse !

Puis les filles. Charline, Mélanie, Marie, Cécile. Comme disait Marie-Caroline, décidément on s'aime bien entre filles dont les prénoms commencent par un « M » ou un « C ». Je pense que je n'ai pas les mots pour décrire à quel point je suis heureuse de vous avoir rencontrées. Charline, mon équipière de choc, avec qui on a vécu tellement de manips compliquées, de galères, de retournements de situation improbables, des manips de souris (parfois un peu nauséuses), d'énormes fou-rires. Merci de toujours avoir été là, d'avoir dit les choses quand elles n'allaient pas, et surtout merci de ton calendrier des rudgymen – celui de 2019 encore là dans notre bureau, alors qu'on est fin 2020. Je te souhaite énormément dans ta nouvelle maison à Toulouse. Mélanie, ma partenaire de bureau depuis des années, ma bretonne préférée, la queen de Valobab, combien d'heures on a pu passer à parler, à rire, à pleurer même des fois, combien de fois tu as été là pour moi ? Ca ne se compte même plus. Juste merci. Merci de tes siestes improbables sur deux chaises, merci pour ton amour inconditionnel de concombre, merci pour tes nombreux craquages de chocolat, car toutes les deux, on est incapables de tenir des régimes. Merci. Puis ma Cécile, arrivée tardivement, tu t'es frayée un énorme chemin dans mon petit cœur. Ma partenaire d'apéro, ma foodie, avec qui je compte bien tester tous les restaurants de Lyon, surtout s'ils font de la truffe, merci à toi aussi, d'être là. Merci pour tes conseils, merci de m'écouter pendant des heures, merci d'avoir été là pendant l'écriture de ce manuscrit, d'avoir été là pour partager les viennoiseries pas cuites du GERLI et le luxe absolu de l'hôtel de Compiègne. Quand je pense qu'on aurait dû partir à Seattle, je n'ose même pas imaginer les fou-rires et les bons moments qu'on aurait partagé. Puis, enfin, bien sûr, ma Marie. Mon Boulet. Mon sirop d'érable. Toute ma vie à Lyon, toute ma thèse, tout ça, n'aurait jamais été pareil sans toi. Ma compagne de voyage et d'aventure, avec qui j'ai partagé des pintes (de vin) à Stuttgart, mangé des struddels à Vienne, erré dans les rues de Bratislava, mangé du homard à Gaspé, mangé des pâtes à Milan, fait des apéros à Toulouse, à Paris, à Bordeaux, sans parler de tout ce qu'on a partagé ensemble à Lyon. Merci. Merci d'avoir été là. A chaque fois. Merci d'être là. Merci pour les chansons de Céline sous la douche, merci pour les soirées Netflix and Wine, merci pour ton soutien inconditionnel.

Je termine ces remerciements par des personnes qui n'ont pas travaillé avec moi, mais qui font de moi la personne que je suis aujourd'hui. Mégane, my black and white, thanks for always being there, for never failing me, for having my back and for letting me come on your paddle board, not even helping in the slightest, just letting you do all the work. I adore you and I am so thankful to have you in my life. To all of my friends, near or far, that have made me who I am, thank you. Merci Liliane, Josette et les sœurs de m'avoir accueillie à Lyon et d'être si gentilles, si généreuses, si bienveillantes. Maman, Papa, Axel, je n'ai même pas les mots pour vous dire à quel vous m'êtes précieux. Merci pour votre soutien, votre amour, votre patience, votre confiance, votre présence, dans chaque instant, que ce soit de tristesse, de doute, mais aussi de bonheur et de réussite. Je ne serai jamais arrivée ici sans vous, je vous dois tout. A huge, massive thank you. Merci Papi Mamie, pour votre amour et votre soutien, inconditionnel, pour nos nombreux appels, pour votre présence, je vous aime. Manou. Michel. J'aurais tellement aimé que vous soyez là pour vous dire merci. Vous m'avez apporté votre amour des belles choses, des livres, de la littérature, votre soif de connaissances, je ne serai pas là où je suis sans vous, c'est certain. Enfin, Baptiste, merci, merci pour ton amour inconditionnel, merci pour ta confiance en moi, pour ton soutien, merci de partager ma vie depuis plus de 5 ans, d'avoir été mon socle pendant toutes ces années, d'avoir visité un peu du monde avec moi, de

t'être baigné avec moi dans un lac gelé en Islande, d'avoir chanté « les lacs du Connemara » aux lacs du Connemara, d'avoir vu des baleines et des orignaux au Canada, d'avoir dansé sur des tables en Allemagne, d'avoir découvert le surf avec moi (et avoir été bien meilleur que moi), fait du vélo et bu des shots dans un bar de glace à Amsterdam, avoir eu (tellement) froid avec moi au marché de Noël à Strasbourg, vu des couchers de soleil incroyables à Mykonos, puis en Sardaigne, d'avoir grimpé des montagnes, dévalé des pistes à ski, fait du bateau, du kayak et du jet-ski, remonté des cours d'eau et dormi au bord de lacs. Merci d'avoir partagé ma vie en Angleterre, puis à Paris, puis à Lyon, d'avoir même connu Figeac. Merci d'avoir grandi à mes côtés, je ne sais ce que l'avenir nous réserve, mais on aura parcouru un sacré bout de vie ensemble et cette thèse en fait partie, merci.

Enfin à toutes les personnes que je n'ai pas mentionnées ici, mais qui m'ont aidée lors de ce travail de thèse, à celles que je croise souvent, dans un couloir, ou avec qui j'ai pu discuter ou échanger,

merci.

Résumé

Au vu de l'attrait grandissant pour les produits d'origine naturelle et des données récentes concernant les effets délétères de certains émulsifiants synthétiques sur la santé métabolique et intestinale, l'utilisation d'additifs au sein des aliments fait débat. Cependant, certains émulsifiants naturels présentent un intérêt particulier. En effet, il a été montré qu'une supplémentation en lécithines végétales exerce des effets lipo-régulateurs et anti-inflammatoires, et permettrait d'améliorer l'absorption intestinale des acides gras, notamment du fait que ceux-ci sont alors portés par des phospholipides. Certaines lécithines, comme les lécithines de colza et de soja, offrent un atout supplémentaire : elles sont riches en acide α -linoléique (ALA), un oméga 3 essentiel, dont la majorité de la population française est déficiente. Mais le potentiel de ces lécithines à améliorer les apports en ALA, comparativement à une huile, est méconnu. Par ailleurs, leur impact en tant qu'ingrédient dans l'alimentation occidentale sur la santé métabolique et intestinale reste mal caractérisé.

Dans un premier temps, nous avons tenté d'évaluer la capacité des lécithines à augmenter la biodisponibilité de l'ALA, par rapport à une huile. Pour ce faire, des rats porteurs d'une dérivation du canal lymphatique ont reçu par administration intragastrique différents mélanges huileux contenant une même quantité d'ALA, mais des doses croissantes de lécithine de colza. Nous avons ainsi mis en évidence que l'administration de lécithine de colza permet d'induire une augmentation dose-dépendante de l'absorption des lipides et de l'ALA, mais que cet effet ne devient significatif qu'à des doses de supplémentation (<10%). Au-delà d'un effet quantitatif, la lécithine de colza entraîne une apparition plus précoce de l'ALA dans la lymphe. En complément, deux études chez la souris ont été menées afin de déterminer la capacité des lécithines de colza et de soja à augmenter la biodisponibilité de l'ALA en tant qu'ingrédient, à court terme (5 jours) au sein d'un régime normolipidique, ou à long terme (13 semaines) au sein d'un régime hyperlipidique de type occidental. Les résultats complètent les données obtenues en aigu chez le rat, en démontrant que des doses nutritionnelles de lécithines ne suffisent pas à augmenter la biodisponibilité de l'ALA, par rapport à une huile, que ce soit à court ou à long terme.

En parallèle, ces études ont permis d'évaluer l'impact de doses nutritionnelles de lécithines végétales sur des paramètres métaboliques et inflammatoires, ainsi que sur le microbiote intestinal. A ces doses (<10%), les lécithines végétales ne modulent pas le métabolisme postprandial des lipides, ni les concentrations de lipides circulants à jeun. Après seulement 5 jours, elles engendrent des modulations bénéfiques du microbiote intestinal, en augmentant l'abondance fécale de *Clostridium leptum*, un groupe bactérien associé à des effets anti-inflammatoires. Par ailleurs, un effet différentiel des lécithines végétales est observé à court terme sur les acides biliaires et, à long terme, sur la prise de poids et l'adiposité, en faveur de la lécithine de colza. En effet, ajoutée à des doses nutritionnelles (10% des lipides totaux), la lécithine de soja annihile les effets protecteurs de l'ALA sur la prise de poids et l'adiposité engendrées par une diète hyperlipidique délétère, tandis que ces effets sont maintenus avec la lécithine de colza.

L'ensemble de ces données précliniques offre des premiers résultats rassurants et encourageants quant à l'utilisation de lécithines végétales en tant qu'émulsifiants dans les aliments. Ainsi, même si elles ne permettent pas d'améliorer la biodisponibilité de l'ALA, elles semblent pouvoir engendrer des effets bénéfiques sur le microbiote intestinal. Enfin, au vu de ses effets spécifiques, la lécithine de colza apparaît comme un ingrédient à haut potentiel nutritionnel et substitut prometteur aux émulsifiants synthétiques.

Abstract

Recent research has demonstrated that certain synthetic emulsifiers may exert deleterious effects on gut and metabolic health. This, alongside the current rise in consumer awareness, has led to a general debate regarding the use of food additives. Nevertheless, certain natural emulsifiers are associated with beneficial nutritional properties. It has indeed been shown that the supplementation with vegetable lecithin may exert liporegulating and anti-inflammatory effects, as well as increase lipid absorption. Certain vegetable lecithins, such as soy and rapeseed lecithin, are of further particular interest: they are rich in α -linolenic acid (ALA), an essential omega-3 fatty acid, for which the majority of the French population fails to meet the recommended daily intakes. However, the capacity of these lecithins to increase ALA intakes, as well as the impact of their use within foods on gut and metabolic health remain unknown. As the market of vegetable lecithin is evermore expanding, it is crucial that these effects be unravelled.

Firstly, we assessed the capacity of ALA-rich lecithins to increase ALA bioavailability comparatively to an oil. In order to do so, rats which had undergone a derivation of their lymphatic duct were intra-gastrically administered with various oil mixtures containing the same amount of ALA, but increasing doses of rapeseed lecithin. We hereby show that the administration of rapeseed lecithin dose-dependently increases the intestinal absorption of all lipids and ALA, but that this effect only becomes significant at supplementation levels (<10%). Rapeseed lecithin not only modulates the quantity of absorbed lipids, but also increases the time of appearance of ALA within lymph. In a complementary approach, two studies in mice were performed in order to determine whether soy and rapeseed lecithin were able to increase ALA bioavailability when incorporated within a normolipidic diet in the short term (5 days), or within a high-fat diet in the long term (13 weeks). In this way, we reveal that, in mice, nutritional doses of vegetable lecithin are not sufficient to increase ALA bioavailability, comparatively to an oil, be it in the short or in the long term.

In addition, these preclinical studies in mice allowed us to assess the impact of nutritional doses of vegetable lecithin on lipid metabolism, inflammation and the gut microbiota. We hence demonstrate that, at such levels (<10% of total lipids), vegetable lecithins do not modulate postprandial lipid metabolism, nor the levels of circulating lipids in the fasted state. After only 5 days, both lecithins induce beneficial modifications of the gut microbiota, by increasing faecal levels of *Clostridium leptum*, a bacterial group associated with anti-inflammatory properties. Furthermore, our results reveal that rapeseed and soy lecithin induce differential effects on bile acid metabolism in the short term, and on weight gain and adiposity in the long term, with rapeseed lecithin inducing the most beneficial effects on such parameters. In effect, when added at 10% of total lipids, soy lecithin seems to abolish the protective effects that ALA exerts on weight gain and adiposity typically induced by a high-fat diet, while these protective effects are maintained with 10% rapeseed lecithin.

All in all, these preclinical data convey a rather encouraging message regarding the use of vegetable lecithins as food emulsifiers. Despite their inability to increase ALA bioavailability, they seem to induce beneficial effects on the gut microbiota. Interestingly, we reveal that, in light of its specific metabolic effects, rapeseed lecithin appears as an ingredient of high nutritional value and hence constitutes a promising eco-friendly alternative to synthetic emulsifiers.

Valorisation des travaux : communications, publications et prix

I. Communications

- Poster présenté lors du congrès international du **GERLI** à St Maximim-la-Sainte-Baume en octobre 2018
« Impact of the addition of lecithin in oil on the expression of genes involved in lipid absorption : a preliminary study »
Robert C, Buisson C, Meugnier E, Loizon E, Couëdelo L, Laugerette F, Vaysse C, Michalski MC
- Poster présenté lors de la journée scientifique de l'école doctorale **EDISS** à l'Université Claude Bernard de Lyon en octobre 2019
« La lécithine de colza augmente la biodisponibilité d'un omega-3, l'acide alpha-linolénique, chez le rat »
Robert C, Buisson C, Knibbe C, Meugnier E, Loizon E, Couëdelo L, Vaysse C, Michalski MC
- Poster présenté lors du congrès international du **GERLI** à Compiègne en octobre 2019
« Impact of the addition of lecithin in oil on lipid metabolism and the bioavailability of an essential fatty acid: alpha-linolenic acid »
Robert C, Buisson C, Meugnier E, Loizon E, Couëdelo L, van de Weghe J, Urdaci M, Laugerette F, Vaysse C, Michalski MC
- Poster présenté lors du congrès international des **Journées Francophones de Nutrition (JFN)** à Rennes en novembre 2019
« La lécithine de colza module le métabolisme postprandial des lipides et augmente l'absorption lymphatique de l'acide alpha-linolénique chez le rat »
Robert C, Buisson C, Knibbe C, Meugnier E, Loizon E, Couëdelo L, Vaysse C, Michalski MC
- e-Poster et présentation audio lors du congrès international de **l'American Society of Nutrition (ASN)** en Juin 2020 (par visioconférence : Covid)
« Differential metabolic impact of natural food-grade emulsifiers rich in α -linolenic acid »
Robert C, Buisson C, Knibbe C, Meugnier E, Loizon E, Couëdelo L, Vaysse C, Michalski MC
- e-Poster et présentation audio lors du congrès international des JFN en novembre 2020 (par visio : Covid)
« Impacts métaboliques à court terme de deux émulsifiants alimentaires riches en acide α -linoléique chez la souris »
Robert C, Buisson C, Meugnier E, Loizon E, Rainteau D, Vande Weghe J, Urdaci M, Couëdelo L, Vaysse C, Michalski MC

II. Publications issues des travaux de thèse

- Revue bibliographique (cf Annexe)

Robert C, Couédelo L, Vaysse C, Michalski M-C. Vegetable lecithins: A review of their compositional diversity, impact on lipid metabolism and potential in cardiometabolic disease prevention. **Biochimie**. févr 2020;169:121-32

- Article de recherche

Robert C, Couédelo L, Knibbe C, Fonseca L, Buisson C, Errazuriz-Cerda E, Meugnier E, Loizon E, Vaysse C, Michalski M-C. Rapeseed Lecithin Increases Lymphatic Lipid Output and α -Linolenic Acid Bioavailability in Rats. **Journal of Nutrition**. 16 sept 2020

- Article de recherche (actuellement « Under Review » à *Molecular Nutrition and Food Research* en novembre 2020)

Robert C, Buisson C, Laugerette F, Abrous H, Rainteau D, Meugnier E, Loizon E, Caillet F, vande Weghe J, Urdaci M, Vaysse C, Michalski M-C. Short-term consumption of a natural emulsifier modifies the bile acid pool and microbiota in mice. **Molecular Nutrition and Food Research**. (soumis nov 2020)

- Publication d'un article dans un bulletin scientifique

Robert C et Michalski MC. Les lécithines végétales : aperçu des connaissances quant à leurs impacts métaboliques. **Lipid Nutri+**. Jan 2020;42.

Cet article a été mis à l'honneur dans la Revue des Industries Agro-alimentaires (RIA) parue en novembre 2020, section « Lécithines : des bénéfiques potentiels sur le métabolisme lipidique ».

III. Autres publications

- Participation aux analyses statistiques d'une étude clinique (projet VALOBAB), qui a donné lieu à la publication d'un article de recherche soumis à *Nature Communications*

Le Barz M, Vors C, Combe E, Joumard-Cubizolles L, Lecomte M, Joffre F, Trauchessec M, Pesenti S, Loizon E, Breyton A-E, Meugnier E, Bertrand K, Draï J, **Robert C**, Durand A, Cuerq C, Gaborit P, Leconte N, Bernalier-Donadille A, Cotte E, Laville M, Lambert-Porcheron S, Ouchchane L, Vidal H, Malpuech-Brugère C, Cheillan D, Michalski M-C. Milk polar lipids induce key changes in circulating and intestinal ceramides and sphingomyelins in postmenopausal women. **Nature Communications**. (soumis déc 2020)

IV. Prix

- Obtention du prix du meilleur poster lors du congrès international du **GERLI** à Compiègne en octobre 2019 (cf Annexe)

« Impact of the addition of lecithin in oil on lipid metabolism and the bioavailability of an essential fatty acid: alpha-linolenic acid »

Figures et tableaux

I. Figures

CHAPITRE 1. Synthèse bibliographique

Figure 1. Structure d'un acide gras.

Figure 2. Représentation 3D de molécules d'acides gras insaturés.

Figure 3. Structure des acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés.

Figure 4. Structure de l'ALA, précurseur des AGPI-LC n-3.

Figure 5. Biosynthèse des acides gras polyinsaturés des séries $\omega 3$ et $\omega 6$.

Figure 6. Principales structures moléculaires et supramoléculaires des lipides alimentaires.

Figure 7. Système digestif humain.

Figure 8. Aspect histologique des différents segments du tube digestif.

Figure 9. Evolution du microbiote intestinal a) le long du TGI et b) au cours du temps.

Figure 10. Schéma simplifié du cycle entérohépatique des AB chez l'Homme et le rongeur.

Figure 11. Les différentes hydrolyses des TAG et des PL alimentaires.

Figure 12. Schéma représentant l'absorption des différents lipides alimentaires au niveau entérocytaire.

Figure 13. Les différentes voies de synthèse des TAG et des PL au sein des entérocytes.

Figure 14. Structure générale d'une lipoprotéine.

Figure 15. Phospholipides majoritaires des lécithines végétales.

Figure 16. Formes moléculaires et phases polymorphiques de plusieurs phospholipides.

Figure 17. Impacts métaboliques majeurs des lécithines végétales.

Hypothèses et objectifs

Figure 18. Les problématiques de la thèse et les différentes études menées au cours de celle-ci.

CHAPITRE 2. Impact de la lécithine de colza sur la biodisponibilité de l'ALA et la lipémie postprandiale chez le rat

Figure 1. The concentration of total fatty acids (A) and ALA (C) in the lymph of rats following the intra-gastric administration of lipid mixtures containing 0 to 30% rapeseed lecithin.

Figure 2. The relative percentage of ALA (A), oleic acid (B) and DHA (C) in total fatty acids in the lymph of rats following the intra-gastric administration of lipid mixtures containing 0% to 30% of rapeseed lecithin.

Figure 3. mRNA expression of genes involved in (A) intestinal lipid absorption, (B) chylomicron secretion and accretion, (C) phospholipid metabolism, (D) bioconversion of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) to long-chain PUFAs, and (E) lipid beta-oxidation in the duodenal mucosa of rats following administration of oil mixtures containing 0 to 30% rapeseed lecithin

Figure 4. The ApoB48 concentration (A) and the hydrodynamic diameter of chylomicrons (B) present in the lymph of rats collected at 2h, 4h and 6h post-administration of lipid formulations containing 0 to 30% rapeseed lecithin.

Figure 5. Spearman correlation between (A) duodenal *Mttp* mRNA expression, or (B) duodenal *Sar1b* mRNA expression, and the hydrodynamic diameter of chylomicrons in the lymph of rats following the intra-gastric administration of oil mixtures containing 0 to 30% rapeseed lecithin.

Figure 6. Images obtained via Transmission Electron Microscopy (TEM) of chylomicrons present in lymph fractions collected at 2h, 4h and 6h post-administration of an oil mixture containing 30% rapeseed lecithin in a lymph cannulated rats.

Supplementary Figure 1. Experimental study design and complementary intestinal lipid absorption flow diagram. Male Wistar rats undergoing mesenteric lymph duct cannulation surgery were randomly divided into 5 groups and intra-gastrically administered oil mixtures containing either 0, 1, 3, 10 or 30% rapeseed lecithin.

Supplementary Figure 2. A fitted sigmoidal curve of the relative percentage of ALA in lymph lipids for an individual rat.

CHAPITRE 3. Impact à court terme de lécithines végétales riches en ALA sur le métabolisme des lipides, le profil en acides biliaires et les bactéries intestinales chez la souris

Figure 1. The concentration of total fatty acids in (A) the TAG fraction of plasma, and their relative percentage of (B) ALA, (C) EPA and (D) DHA, as well as concentration of total fatty acids in the (E) PL fraction of plasma, and the relative percentage of (F) ALA, (G) EPA and (H) DHA within the PL fraction, in mice following the oral administration of lipid mixtures containing 0% to 10% RL or SL.

Figure 2. The relative percentage of (A) ALA, (B) EPA and (C) DHA within the TAG fraction of liver lipids, as well as the relative percentage of (D) ALA, (E) EPA and (F) DHA within the hepatic PL fraction, in mice following the oral administration of lipid mixtures containing 0% to 10% RL or SL.

Figure 3. Total bacteria abundance, ratio of *Firmicutes/Bacteroidetes* bacteria and DNA expression of *Clostridium leptum* in the feces of Swiss mice following 5 days of consumption of diets containing 0 to 10% RL or SL.

Figure 4. The concentration of (A) total primary bile acids and (B) CA-7S, (C) the ratio of primary to secondary bile acids, and (D) the hydrophobicity index of the bile acid pool

in the caecum of mice, following 5 days of consumption of diets containing 0 to 10% RL or SL.

Figure 5. The mRNA expression of genes involved in the enterohepatic bile acid metabolism in the liver of mice.

Figure 6. The mRNA expression of genes involved in the enterohepatic bile acid metabolism in the ileum.

Supplementary Figure 1. The mRNA expression of genes involved in lipid absorption in the jejunum of mice.

Supplementary Figure 2. The mRNA expression of genes involved in (A) bioconversion of ALA to n-3 long chain polyunsaturated fatty acids and (B) beta-oxidation, in the liver of mice.

Supplementary Figure 3. The DNA expression of *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Bifidobacteria*, *Coliformes*, *Akkermansia*, *Clostridium coccoides*, *Lactic acid bacteria* and *Faecalibacteria prausnitzii* in the feces of mice following 5 days of consumption of diets containing 0 to 10% RL or SL.

Supplementary Figure 4. The bile acid profile in the caecum of Swiss mice, after 5 days of consumption of diets containing 0 to 10% RL or SL.

CHAPITRE 4. Impacts métaboliques et inflammatoires de la consommation à long terme des lécithines de colza et de soja – résultats préliminaires

Figure 1. Profils en acides gras majoritaires (A) des triacylglycérols et (B) des phospholipides hépatiques après 13 semaines de régime.

Figure 2. Pourcentage relatif en ALA et en ses dérivés à longue chaîne, EPA et DHA, au niveau des TAG et des PL hépatiques après 13 semaines de régime.

Figure 3. Lipides (triacylglycérols, acides gras libres et cholestérol total) plasmatiques des souris après 13 semaines de régime.

Figure 4. (A) Suivi du gain de poids au cours des 13 semaines de régime et (B) gain de poids final après les 13 semaines de régime.

Figure 5. Poids des différents compartiments du tissu adipeux blanc des souris.

Figure 6. Surface moyenne des adipocytes du tissu adipeux épидidymal des souris.

Figure 7. Expressions de gènes impliqués dans l'inflammation au niveau du tissu adipeux épидidymal.

CHAPITRE 5. Discussion générale et perspectives

Figure 1. Principaux résultats des trois études précliniques menées lors de la thèse.

Figure 2. La lécithine de colza, un ingrédient écoresponsable au haut potentiel nutritionnel, s'intègre dans le concept actuel d'« une seule santé ».

II. Tableaux

CHAPITRE 1. Synthèse bibliographique

Tableau 1. Production mondiale annuelle en 2009-2010 et composition en acide gras des huiles végétales majeures.

Tableau 2. Apports nutritionnels conseillés (ANC) pour l'adulte (homme ou femme) consommant 2000kcal par jour et apports quotidiens moyens.

Tableau 3. Composition typique en phospholipides et en acides gras de trois lécithines végétales (lécithines de soja, de tournesol et de colza).

Hypothèses et objectifs

Tableau 4. Organisation des différentes études et techniques expérimentales effectuées au sein de la thèse.

CHAPITRE 2. Impact de la lécithine de colza sur la biodisponibilité de l'ALA et la lipémie postprandiale chez le rat

Table 1. Phospholipid and fatty acid composition of rapeseed lecithin.

Table 2. Main fatty acid and phospholipid profile and general composition of the lipid formulations.

CHAPITRE 3. Impact à court terme de lécithines végétales riches en ALA sur le métabolisme des lipides, le profil en acides biliaires et les bactéries intestinales chez la souris

Table 1. Main fatty acid profile and general composition of the lipid formulations.

Table 2. Fatty acid and phospholipid composition of both rapeseed and soybean lecithin.

CHAPITRE 4. Impacts métaboliques et inflammatoires de la consommation à long terme des lécithines de colza et de soja – résultats préliminaires

Tableau 1. Profil en acide gras et en phospholipides des différents régimes.

Tableau 2. Composition générale des différents régimes hyperlipidiques.

Table des matières

REMERCIEMENTS.....	4
RESUME.....	8
ABSTRACT	9
VALORISATION DES TRAVAUX : COMMUNICATIONS, PUBLICATIONS ET PRIX.....	10
FIGURES ET TABLEAUX	12
TABLE DES MATIERES.....	16
ABREVIATIONS.....	19
AVANT-PROPOS	21
CHAPITRE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	23
I. Les lipides alimentaires	24
1. Quelques notions d'histoire	24
2. Définition et classification des lipides.....	25
3. Acide α-linoléique : acide gras essentiel de la famille des ω-3.....	28
a. Précurseur des AGPI-LC n-3.....	28
b. Effets physiologiques de l'ALA et des AGPI ω 3.....	30
4. Sources principales de lipides alimentaires	32
5. Structure moléculaire des lipides alimentaires.....	33
6. Structure supramoléculaire des lipides dans les aliments.....	35
7. Recommandations et consommation actuelle de lipides.....	37
II. L'intestin : organe central de l'absorption des lipides et d'interaction avec le microbiote intestinal	39
1. Anatomie et physiologie de l'intestin	40
a. L'intestin grêle	40
b. Le gros intestin	40
i. Structure de la paroi intestinale	40
2. Microbiote intestinal.....	42
a. Composition du microbiote intestinal.....	42
b. Fonctions du microbiote intestinal	44
3. Le rôle important de la bile et des acides biliaires	45
III. Digestion, absorption et devenir métabolique des lipides.....	50
1. Digestion des lipides : hydrolyses successives et micellisation	50
2. Absorption intestinale des lipides	52
a. Captage des acides gras : diffusion passive et/ou facilitée ?.....	52
a. Resynthèse intracellulaire des lipides absorbés	55

i. Les MAG et AGL	55
ii. Les Lyso-PL.....	57
b. Synthèse et sécrétion des chylomicrons	57
3. Stockage des lipides sous forme de gouttelettes lipidiques.....	58
4. Devenir post-absorptif des lipides	59
5. Stockage des lipides dans le tissu adipeux et inflammation de bas-grade	61
a. Le tissu adipeux blanc : un organe complexe aux fonctions multiples.....	61
b. Organe cible de l'obésité et de l'inflammation de bas-grade.....	61
IV. Biodisponibilité des lipides : définition et modulation	63
1. Impact de la nature de l'AG.....	63
2. Impact de la position des AG au sein de leur vecteur moléculaire	64
3. Impact des propriétés thermiques des AG.....	65
4. Impact de la nature de la molécule vectrice	66
5. Impact de la structure supramoléculaire : les émulsions	68
V. Les lécithines végétales : vecteurs préférentiels d'ALA et modulateurs du métabolisme des lipides ? ...	70
1. Des ingrédients à la composition extrêmement variable	71
2. Des ingrédients aux propriétés structuro-fonctionnelles diverses	73
3. Les lécithines végétales : vecteurs efficaces d'AG d'intérêt ?.....	74
4. Les lécithines végétales modifient la digestion des lipides	75
5. Les lécithines végétales modifient l'absorption des lipides	76
6. Les lécithines végétales modulent l'homéostasie des lipides	77
7. Les lécithines végétales : vers un rôle préventif des troubles métaboliques ?	80
HYPOTHESES ET OBJECTIFS	81
CHAPITRE 2: IMPACT DE LA LECITHINE DE COLZA SUR LA BIODISPONIBILITE DE L'ALA ET LA LIPEMIE POSTPRANDIALE CHEZ LE RAT.....	85
Résumé	86
Article de recherche	89
CHAPITRE 3 : IMPACT A COURT TERME DE LECITHINES VEGETALES RICHES EN ALA SUR LE METABOLISME DES LIPIDES, LE PROFIL EN ACIDES BILIAIRES ET LES BACTERIES INTESTINALES CHEZ LA SOURIS.....	119
Résumé	120
Article de recherche	122
CHAPITRE 4: IMPACTS METABOLIQUES ET INFLAMMATOIRES DE LA CONSOMMATION A LONG TERME DES LECITHINES DE COLZA ET DE SOJA – RESULTATS PRELIMINAIRES	149
I. Introduction et objectifs.....	150
II. Résultats préliminaires	154
1. L'apport en ALA, et non sa vectorisation par les lécithines végétales, permet d'augmenter sa biodisponibilité à long terme	154
2. Des doses nutritionnelles de lécithines végétales ne modifient pas les lipides plasmatiques	156
3. Effets différentiels des lécithines de colza et de soja sur la prise de poids et l'adiposité	157

4. Des effets bénéfiques de l'ALA au sein de régime hyperlipidique sur des paramètres inflammatoires dans le tissu adipeux	160
5. Analyses complémentaires en cours	162
CHAPITRE 5 : DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES	163
I. L'alimentation occidentale actuelle.....	165
II. Les lécithines végétales : vecteurs efficaces d'ALA dans l'alimentation ?	165
1. Un effet dose-dépendant des lécithines végétales sur le métabolisme des lipides	165
2. Des doses nutritionnelles de lécithines végétales ne suffisent pas à augmenter la biodisponibilité de l'ALA.....	168
III. Des régimes occidentaux enrichis en ALA et en lécithines	169
1. Effet protecteur de l'ALA au niveau du tissu adipeux	169
2. Effet différentiel des lécithines de colza et de soja sur l'adiposité et certains paramètres métaboliques	170
3. L'ALA, les lécithines végétales et la composante inflammatoire du TA.....	171
IV. Les lécithines végétales : émulsifiants naturels aux effets prometteurs sur la santé intestinale.....	172
V. De l'animal à l'Homme	173
VI. La lécithine de colza : un ingrédient prometteur	174
REFERENCES	176
ANNEXES	201
I. Poster présenté au congrès du GERLI 2019 (prix du meilleur poster).....	202
II. Revue bibliographique publiée dans <i>Biochimie</i>	203

Abréviations

2-AG : 2-arachidonoylglycerol	DGAT : diglycérade acyltransférase
AA : acide arachidonique	DHA : acide docosahexaénoïque
AB : acide biliaire	DPA : acide docosapentaénoïque
ABCA1 : ATP-binding cassette A1	EFSA : European Food Safety Agency
ACS : acyl-CoA synthétase	E/H : eau-dans-huile
AESA : apport énergétique sans alcool	EPA : acide eicosapentaénoïque
AG : acide gras	FABP : fatty acid binding protein
AGCC : acide gras à chaîne courte	FATP4 : fatty acid transport protein 4
AGL : acide gras libre	FXR : farnesoid X receptor
AGMI : acide gras monoinsaturé	G3P : glycéro-3-phosphate
AGPI : acide gras polyinsaturé	GPAT : glycérophosphate acyltransférase
AGPI-LC : acide polyinsaturé à longue chaîne	HDL : high density lipoprotein
ALA : acide α -linoléique	H/E : huile-dans-eau
ANC : apports nutritionnels conseillés	IAA : industrie agro-alimentaire
ANOVA : analyse de variance	IL : interleukine
ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail	LA : acide linoléique
ApoB48 : apolipoprotéine B48	LDL : low density lipoprotein
ASBT : apical sodium-dependent transporter	LPCAT3 : lysophosphatidylcholine acyltransférase 3
BAAT : bile acid-CoA:amino acid <i>N</i> -acyltransférase	LPS : lipopolysaccharide
CA : acide cholique	LXR : liver X receptor
CCK : cholécystokinine	Lyso-PC : lyso-phosphatidylcholine
CDCA : acide chénodésoxycholique	Lyso-PL : lyso-phospholipide
CD36 : cluster determinant 36	MCA : muricholique acide
CEH : carboxylester hydrolase	MCV : maladies cardiovasculaires
CEL : cholestérol estérase	MCP-1 : monocyte chemo-attractant protein 1
CM : chylomicron	MGAT : monoglyceride acyltransférase
CMC : carboxyméthylcellulose	MTTP : microsomal triglyceride transfer protein
CPG : chromatographie en phase gazeuse	NFκB : nuclear factor kappa B
CYP27A1 : stérol 27-hydroxylase	OA : acide oléique
CYP7A1 : cholestérol 7 α -hydroxylase	OMS : organisation mondiale de la santé
DAG : diacylglycérol	OST : organic-solute transporters
	PAP : phosphatidate phosphohydrolase

PLA₁ : phospholipase A ₁	SAR1B : Secretion Associated Ras Related GTPase 1B
PLA₂ : phospholipase A ₂	SFC : solid fat content
PLRP2 : lipase pancréatique apparentée de type 2	SM : sphingomyéline
PPAR : peroxisome proliferator activated receptor	SREBP : sterol regulatory element binding protein
PC : phosphatidylcholine	SULT2A1 : sulfotransférase 2A1
PCTV : prechylomicron transport vesicles	TA : tissu adipeux
PE : phosphatidyléthanolamine	TAG : triacylglycérol
PL : phospholipide	TGI : tractus gastro-intestinal
PI : phosphatidylinositol	TGR5 : takeda G Protein-coupled Receptor 5
PS : phosphatidylsérine	TLR4 : récepteur de type Toll 4
PS80 : polysorbate 80	TMAO : triméthylamine-N-oxyde
PXR : pregnane X receptor	TNF-α : tumor necrosis factor alpha
RE : réticulum endoplasmique	VDR : vitamin D receptor
RCT : randomised controlled trial	VLDL : very low density lipoprotein

Avant-propos

Au cours des dernières décennies, les changements dans les modes de vie et les habitudes alimentaires, telles l'augmentation de la sédentarité et la consommation excessive d'aliments transformés, de sucres et de lipides, ont largement participé à l'explosion de l'**obésité** et de **maladies chroniques inflammatoires associées**. En effet, l'obésité est associée à une inflammation chronique de bas grade, ainsi qu'à des altérations au niveau du microbiote intestinal, qui entraînent le développement de comorbidités. Le nombre de cas d'obésité a ainsi triplé depuis 1975 et on estime aujourd'hui que les complications liées à l'obésité entraînent la mort de plus de 2,8 millions de personnes chaque année.

Ces nouvelles habitudes alimentaires sont également à l'origine de **carences**. Selon l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA), l'apport en certains acides gras essentiels, tels **l'acide alpha-linolénique (ALA)**, est largement insuffisant pour une grande majorité de la population. Outre son rôle en tant que précurseur des oméga 3 à longue chaîne, l'ALA est associé à de nombreux effets physiologiques importants et serait impliqué dans la prévention du risque de mortalité due aux maladies cardiovasculaires (MCV) et coronariennes. La mise en place de stratégies permettant d'améliorer la biodisponibilité de l'ALA est donc indispensable et représente un enjeu majeur de Santé Publique.

Les lipides alimentaires, dont l'ALA, sont majoritairement apportés sous forme de triacylglycérols (TAG), mais peuvent également exister sous forme de phospholipides (PL). Au sein de l'organisme, les PL participent à de nombreux processus physiologiques importants et sont étroitement impliqués dans l'absorption et le métabolisme des lipides. Par ailleurs, certains PL sont couramment utilisés par l'industrie agro-alimentaire (IAA) pour leurs propriétés structuro-fonctionnelles. C'est le cas des **lécithines végétales (E322)**, mélanges complexes de lipides composés majoritairement de PL, très largement utilisées comme agents émulsifiants et/ou texturants dans les aliments. En effet, en France, 17% des aliments transformés contiennent de la lécithine, ce qui en fait le troisième additif le plus consommé. Les lécithines végétales riches en ALA, comme la lécithine de soja, représentent ainsi une source non-négligeable d'ALA et l'on peut supposer que leur utilisation permettrait d'augmenter l'apport en ALA.

Actuellement, la **lécithine de soja** représente plus de 90% du marché des lécithines. Or, la lécithine de soja pose des problèmes de durabilité (déforestation liée à sa culture, pollution due à l'importation, problématique des OGM, teneur en phyto-œstrogènes, ...). Il est ainsi primordial de développer et de favoriser des sources de lécithine alternatives au soja, qui soient

écoresponsables et qui répondent aux critères du **développement durable**. Depuis quelques années, la **lécithine de colza** a ainsi fait son apparition sur le marché, et son utilisation par l'IAA ne cesse de croître. Par ailleurs, en plus d'être écoresponsable, elle présente un intérêt nutritionnel, puisqu'elle constitue, comme la lécithine de soja, une source importante d'ALA.

Néanmoins, l'augmentation de la **consommation de produits ultra-transformés** et **l'utilisation d'additifs** au cours des dernières années a suscité beaucoup d'interrogations quant à leurs effets santé. La caractérisation des additifs alimentaires et de leurs effets santé constitue ainsi l'un des principaux objectifs de santé publique publiés dans le Plan National Nutrition Santé (PNNS) de 2019-2023. Dans ce contexte, de récentes études ont démontré que certains émulsifiants synthétiques, comme le polysorbate 80, induisent des effets délétères sur la barrière intestinale et le microbiote, et entraînent ainsi la mise en place d'une inflammation de bas-grade et du syndrome métabolique. Or, à ce jour, il n'existe aucune étude concernant l'effet des émulsifiants naturels, comme les lécithines végétales, sur ces paramètres.

Dans ce contexte, mon travail de thèse a eu pour objectif de déterminer la biodisponibilité de l'ALA sous forme de lécithines végétales, ainsi que l'impact métabolique de ces lécithines, en lien avec le microbiote intestinal et l'inflammation. Ce travail a également cherché à valoriser la lécithine de colza en tant qu'ingrédient écoresponsable et vecteur d'ALA.

Cette thèse CIFRE a été réalisée dans le cadre d'une collaboration de recherche entre l'ITERG (Institut des Corps Gras) et le laboratoire CarMeN (Inserm U1060, INRAE UMR1397, Université Claude Bernard Lyon 1).

CHAPITRE 1 : Synthèse bibliographique

I. Les lipides alimentaires

1. Quelques notions d'histoire

Depuis l'Antiquité et jusqu'au XVIIIe siècle, dans le monde occidental, la notion de lipides était globalement limitée à la notion d'huiles végétales, et notamment d'huile d'olive (1). Ce n'est qu'à partir du début du XVIIIe siècle qu'apparaît, grâce aux travaux du chimiste centenaire français Michel-Eugène Chevreul, fondateur de la science des lipides en 1823, une classification des lipides en six groupes, en fonction de leurs propriétés physiques (distillation), chimique (saponification) et de la nature de leurs éléments constitutifs (2). Il établit ainsi la structure générale des corps gras, constitués globalement d'acides gras et de glycérol. Cette notion, ainsi que la classification des lipides, restent un modèle encore utilisé à ce jour. En 1849, ses recherches sont complétées par les travaux du médecin et physiologiste Claude Bernard qui démontra que le suc pancréatique avait un rôle essentiel dans la saponification et la digestion des lipides en acides gras et en glycérine. Cette découverte peut être considérée comme fondatrice de la physiologie des lipides.



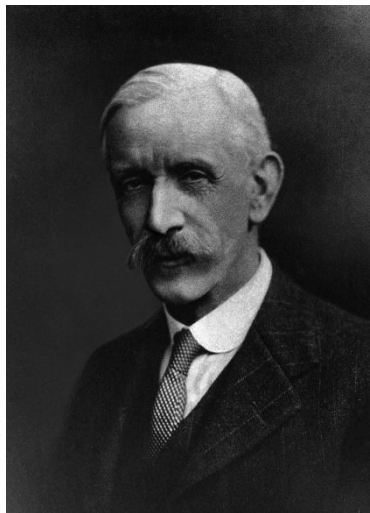
Michel-Eugène Chevreul
(1786 – 1889)



Claude Bernard
(1813 – 1878)

Si la structure et la physiologie des lipides ont d'abord été démontrées par des scientifiques français, ce fut de l'autre côté de la Manche que l'importance des lipides dans l'alimentation fut véritablement illustrée. Ainsi, en 1827, le chimiste et médecin anglais William Prout reconnut pour la première fois l'importance des lipides dans l'alimentation et proposa de classer les aliments en trois catégories : les lipides, les protéines et les glucides (3). Cette proposition lui valut la médaille Copley, la plus ancienne distinction dans le domaine des sciences décernée par la Royal Society. La fin du XVIIIe et le début du XIXe siècle furent alors

marqués par de nombreux travaux sur les propriétés biochimiques et physiologiques des lipides. Dès 1866, le chimiste anglais Edward Frankland démontra que les lipides étaient une source d'énergie deux fois plus importante que les glucides. Les graisses étaient alors vues comme des éléments majoritaires de l'alimentation, mais pas encore comme essentiels. Ceci changea en 1912, lorsque le médecin et chimiste anglais Frederick Hopkins démontra que les lipides étaient des sources de substances essentielles à la vie et à la croissance, que l'on nommerait plus tard vitamines (1). Cette découverte des vitamines lui vaudra le prix Nobel en 1929. En cette même année, les scientifiques George et Mildred Burr démontrèrent que des rats soumis à des régimes dépourvus de lipides développaient des pathologies qui n'étaient pas dues à la carence même, mais à l'absence de certains acides gras particuliers, notamment l'acide linoléique (4).



Frederick Hopkins
(1861 – 1947)

L'ensemble de ces travaux permit de prouver que les lipides alimentaires n'étaient pas de simples sources d'énergie, mais bel et bien des nutriments essentiels. La base des connaissances nutritionnelles des lipides venait alors d'être posée et ce fut le début de longues recherches alliant lipides et nutrition humaine.

2. Définition et classification des lipides

Conformément à la définition de William Prout, les lipides constituent, avec les glucides et les protéines, une des trois grandes classes de macronutriments qui contribuent à l'apport énergétique des aliments. Selon qu'ils soient liquides ou solides, les lipides (du grec *lipos*, graisse) sont alors appelés huiles ou graisses. D'un point de vue biochimique, les lipides sont des molécules organiques qui se caractérisent principalement de par leur solubilité : ils sont insolubles dans l'eau, mais solubles dans les solvants apolaires comme l'alcool ou le chloroforme. Les lipides se constituent d'éléments que l'on appelle des acides gras (AG). Ces

éléments structurels sont des acides carboxyliques non-cycliques contenant 4 à 36 atomes de carbone. Ils comportent ainsi un groupement méthyle ($-CH_3$) et un groupement carboxylique ($-COOH$) (**Figure 1**).

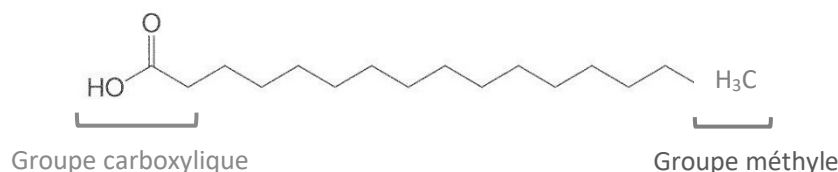


Figure 1. Structure d'un acide gras. Exemple : acide palmitique (16:0).

Les AG peuvent être classés selon différents critères biochimiques :

- **La longueur de leur chaîne carbonée** : les AG contiennent des chaînes carbonées dont la longueur est très variable. La grande majorité des AG contient entre 4 et 24 atomes de carbone, mais certains peuvent en contenir jusqu'à 36. L'on distingue les AG à **chaîne courte (AGCC)**, allant de 4 à 6 carbones, les AG à **chaîne moyenne**, de 8 à 12 carbones, ceux à **longue chaîne**, de 14 à 20, ainsi que les AG à **très longue chaîne**, avec plus de 20 atomes de carbone. Les AG contenant moins de 9 carbones sont généralement liquides à température ambiante. Par ailleurs, la lipophilie des AG augmente avec la longueur de leur chaîne carbonée. Ainsi, les AG à courte et moyenne chaîne ne forment pas de structure micellaire et ne participent pas à la formation des membranes biologiques (5).
- **Leur degré d'insaturation** qui représente le nombre de doubles liaisons carbone-carbone que comporte la molécule : les AG ne comportant aucune double liaison sont dits **saturés (AGS)**, ceux comportant une double liaison sont dits **monoinsaturés (AGMI)** et ceux en contenant deux et plus sont alors appelés AG **polyinsaturés (AGPI)**. La grande majorité des doubles liaisons des AG insaturés possède une configuration *cis*, ce qui signifie que les atomes de carbone adjacents à la double liaison sont situés du même côté. La configuration *trans*, dont les carbones adjacents à la double liaison sont situés de part et d'autre de cette dernière, est rare dans le milieu naturel et résulte la plupart du temps de procédés industriels, comme l'hydrogénation partielle. La présence d'une double liaison en configuration *cis* génère une courbure de la chaîne carbonée qui réduit sa flexibilité (**Figure 2**). Ainsi, plus un AG possède de doubles liaisons *cis*, plus il aura une structure tordue et rigide, ce qui impacte alors sa structure et fonctionnalité.

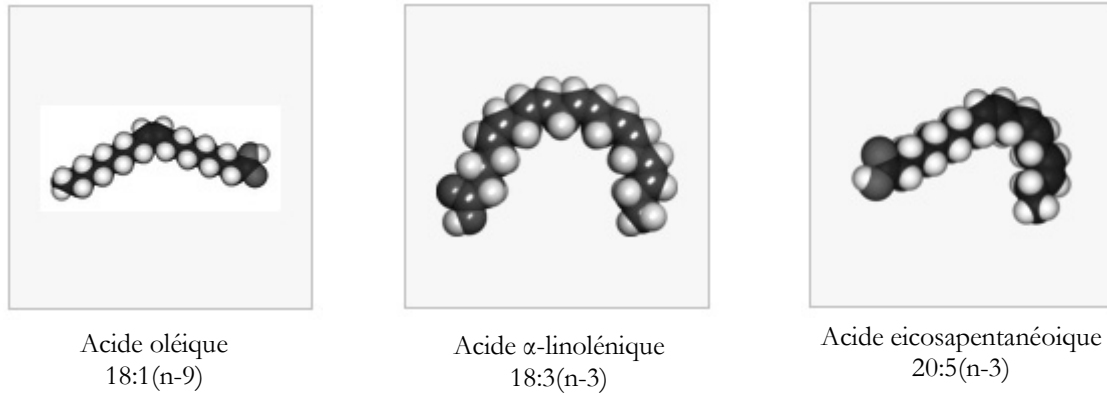


Figure 2. Représentation 3D de molécules d'acides gras insaturés.

Source : www.molview.org

- **La position des doubles liaisons, pour les AG insaturés** : selon la nomenclature biochimique la plus couramment utilisée, les AG insaturés sont catégorisés en fonction de la position de la première double liaison comptée depuis l'extrémité méthyle (CH_3) (**Figure 3**). Ainsi, les AGPI n-3 (ou ω 3) ont leur première double liaison sur le troisième carbone compté depuis le groupement méthyle, et les AGPI ω 6 sur le sixième.

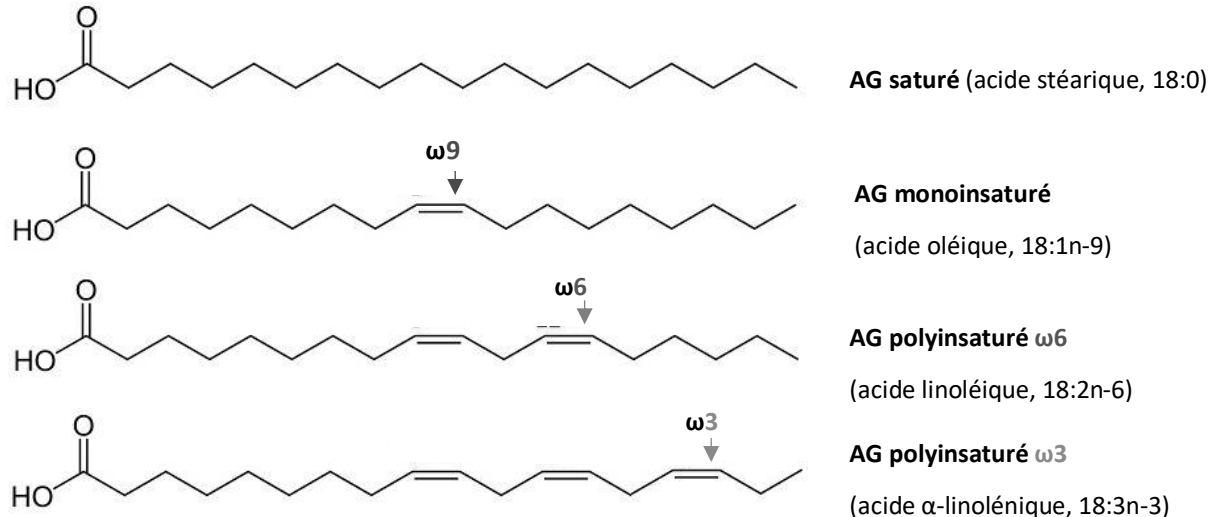


Figure 3. Structure des acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés.

Selon l'ANSES, les AG peuvent également être catégorisés selon leurs rôles physiologiques :

- Certains AG sont dits **essentiels**, car ils sont indispensables pour assurer le développement et le fonctionnement du corps humain, mais ne peuvent être synthétisés par l'organisme et doivent obligatoirement être obtenus par le biais de l'alimentation. On distingue

notamment l'**acide α -linoléique** (ALA, 18:3n-3) et l'**acide linoléique** (LA, 18:2n-6). L'acide docosahexaénoïque (DHA, 22:6n-3), un dérivé de l'ALA, est également considéré comme essentiel, car son taux de synthèse à partir de l'ALA est extrêmement bas.

- D'autres AG exercent également des rôles biologiques et physiologiques essentiels, mais peuvent être synthétisés par l'organisme à partir de leurs précurseurs naturels. On parle alors d'AG **conditionnellement indispensables**. Parmi ces AG, on distingue l'acide arachidonique (AA, 20:4n-6), dérivé principal de LA, et l'acide eicosapentaénoïque (EPA, 20:5n-3), dérivé de l'ALA.
- Enfin, certains AG n'exercent aucun rôle physiologique indispensable ou peuvent être synthétisés par l'organisme, et sont donc dits **non-essentiels**.

3. Acide α -linoléique : acide gras essentiel de la famille des ω -3

a. Précurseur des AGPI-LC n-3

Découvert en 1887 dans l'huile de chanvre, l'ALA est le **précurseur des AGPI n-3 (Figure 4)**. Comme l'acide linoléique, précurseur des AGPI n-6, il est synthétisé à partir de l'acide oléique (OA) par les Δ 12- et Δ 15-désaturases, deux enzymes existant uniquement chez les végétaux. Le corps humain étant incapable de synthétiser ces AG, leur apport ne peut se faire que par le biais de l'alimentation, ce qui leur vaut leur caractère indispensable. De ce fait, l'ALA provient majoritairement de sources végétales, comme les légumes à feuille, notamment les épinards et le pourpier, et les noix. Si certaines huiles en sont très riches, comme l'huile de lin, son apport dans l'alimentation est assuré principalement par les huiles de colza et de noix.

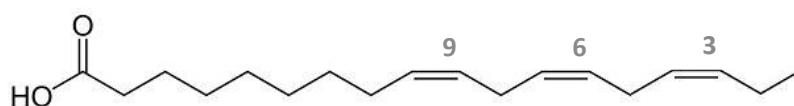


Figure 4. Structure de l'ALA, précurseur des AGPI-LC n-3.

L'ALA est converti en ses dérivés, les AGPI à longue chaîne (AGPI-LC) n-3, par le biais de plusieurs réactions successives d'élongation, de désaturation et de β -oxydation, dont l'étape limitante serait celle impliquant la Δ 6-désaturase (6) (**Figure 5**).

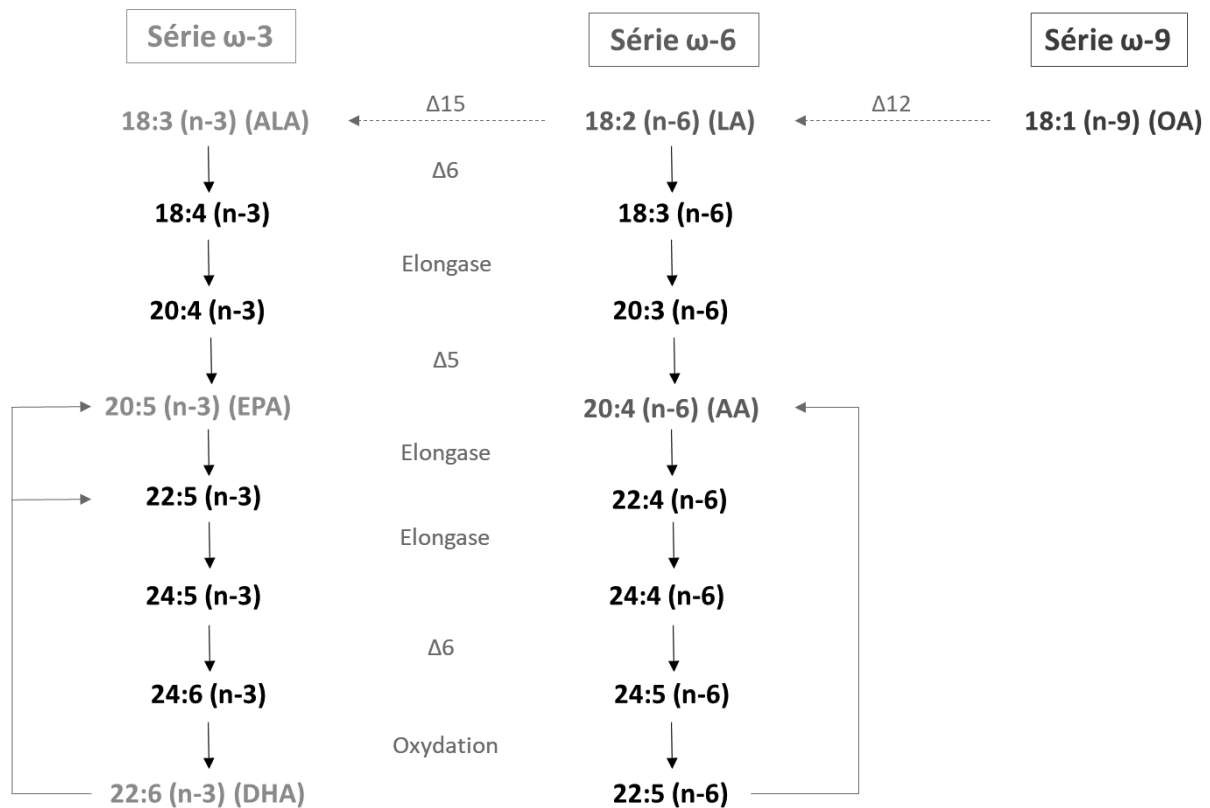


Figure 5. Biosynthèse des acides gras polyinsaturés des séries ω3 et ω6.

Le symbole Δ indique une désaturase, les flèches en pointillé \dashrightarrow des réactions qui ont lieu uniquement dans les végétaux et les flèches grises une rétro-conversion des AGPI-LC en leurs précurseurs. (Adapté de (7) et de (6)).

Le taux de conversion de l'ALA en ses dérivés est faible et varie selon de nombreux facteurs tels l'espèce, l'âge, le sexe, les statuts physiologique et physiopathologique et les habitudes alimentaires (8–11). Chez l'Homme, ce taux serait de 0,3-21% pour l'EPA et de 1-9% pour le DHA (6,8,9). Plusieurs facteurs peuvent expliquer cette faible conversion. Premièrement, il existe une compétition entre le LA et l'ALA pour les voies de synthèse, car les enzymes impliquées sont communes aux AG des deux séries n-3 et n-6. Cette compétition est extrêmement importante, puisqu'elle régule la synthèse des AGPI à longue chaîne n-3 et n-6, et a ainsi des impacts physiologiques majeurs. Par ailleurs, une rétroconversion du DHA en acide docosapentaénoïque (DPA, 22:5n-3) et en EPA a été décrite, ainsi qu'une rétro-inhibition de l'ALA par une supplémentation en EPA et en DHA. Cependant, la faible bioconversion de l'ALA en ses dérivés à longue chaîne est due principalement au fait que la voie métabolique majoritaire de l'ALA est la β -oxydation (12). Il est ainsi estimé que 15 à 35% de l'ALA alimentaire est β -oxydé en dioxyde de carbone afin de produire de l'énergie (9). Les atomes de carbone obtenus lors de la β -oxydation peuvent être recyclés sous forme de nouveaux AGS,

AGMI, de cholestérol ou de corps cétoniques (10). Chez le jeune animal, le cumul de ces deux voies métaboliques serait quantitativement 200 fois plus important que la voie de bioconversion de l'ALA en ses dérivés (13). L'ALA qui n'est pas β -oxydé ou converti en ses dérivés à longue chaîne s'accumule au niveau du tissu adipeux (14).

b. Effets physiologiques de l'ALA et des AGPI ω 3

L'importance des AG essentiels n-3 et n-6 a été mise en évidence dès 1929 par les scientifiques George et Mildred Burr qui démontrèrent qu'une carence en ces AG induisait des symptômes ou des pathologies chez des rats (15). Ces travaux furent ensuite confirmés chez l'animal par R.M. Benolken en 1973 (16), puis chez l'Homme par R.T. Holman en 1982 (17) et K.S. Bjerve en 1987 (18). Les premières études concernant les effets physiologiques des AGPI n-3 furent ensuite consacrées principalement aux AGPI-LC n-3, l'EPA et le DHA, et leur implication dans les fonctions cognitives et visuelles. Ces données furent complétées par la suite par des observations faites sur des populations d'Esquimaux Groenlandais démontrant les effets cardio-protecteurs des huiles de poisson riches en EPA et en DHA.

Depuis, les effets santé de l'EPA et du DHA ont été très largement évalués dans de nombreuses études interventionnelles et épidémiologiques (19–22). Leurs principaux rôles sont décrits ci-dessous :

- En tant que composants des membranes cellulaires, ils sont des **éléments structurels** majeurs et sont impliqués dans la signalisation cellulaire.
- De par leur implication dans la synthèse et la régulation du métabolisme des lipides et du cholestérol, ils exercent des effets **liporégulateurs**. Leur supplémentation permet notamment de réduire les TAG plasmatiques et d'augmenter le HDL-cholestérol (High Density Lipoprotein) circulant (20).
- Ils sont à l'origine de **médiateurs lipidiques**, notamment les prostanoïdes de la série n-3, des leucotriènes et certains AG hydroxylés qui sont des dérivés de l'EPA, et les docosanoïdes, protectines et marésines qui, eux, proviennent du DHA. Les endocannabinoïdes et résolvines peuvent provenir de l'EPA ou du DHA. Ces substances bioactives interviennent dans de nombreux processus physiologiques, comme la tension artérielle, l'hémostase, l'agrégation plaquettaire et certaines réactions immunitaires, ce qui leur confère des effets neuro-protecteurs et anti-inflammatoires (23).
- Ce sont également des ligands de plusieurs facteurs de transcription tels PPAR (Peroxisome proliferator activated receptor), SREBP-1c (Sterol regulatory element binding protein), FXR (Farnesoid X receptor) et NF κ B (Nuclear factor kappa B) (24). De ce fait, ils régulent de nombreux gènes impliqués dans le métabolisme des lipides et

l'inflammation. A ce jour, l'effet anti-inflammatoire des AGPI-LC n-3 est bien reconnu, comme le démontrent plusieurs méta-analyses (25,26). Li et al. ont notamment mis en évidence dans une méta-analyse regroupant 68 essais randomisés contrôlés (en anglais : randomised controlled trials, RCT) que la supplémentation en AGPI-LC n-3 induit un effet anti-inflammatoire en réduisant les concentrations plasmatiques de protéine C réactive, de IL-6 (Interleukine-6) et de TNF- α (Tumor necrosis factor), qui sont des cytokines pro-inflammatoires (25).

Cependant, bien que souvent étudiés ensemble, de récentes études semblent démontrer que l'EPA et le DHA auraient des effets différentiels, notamment en ce qui concerne le métabolisme des lipides et l'inflammation (27,28). Ainsi, une étude interventionnelle récente incluant 8179 patients, le Reduction of Cardiovascular Events with Icosapent Ethyl—Intervention Trial (REDUCE-IT), a montré que la supplémentation avec 4g d'EPA/jour pendant 4,9 ans réduisait de 30% le risque de mortalité cardiovasculaire (29).

En ce qui concerne l'ALA spécifiquement, étant présent en moindre quantité dans la plupart des membranes cellulaires des mammifères, surtout en comparaison à l'EPA et au DHA, ses effets physiologiques ont longtemps été attribués à son simple rôle de précurseur des AGPI-LC n-3 et non à des fonctions biologiques actives (11). Néanmoins, même si les effets biologiques de l'ALA sont moins connus, ils n'en demeurent pas moins intéressants. Ainsi, une méta-analyse exhaustive récente incluant 79 RCT a souligné des effets prometteurs de l'ALA quant à l'atténuation du risque de mortalité causé par les MCV et coronariennes, et l'arythmie (20). Selon différentes études chez l'Homme et l'animal, l'ALA serait en effet associé à des effets anti-arythmiques et anti-inflammatoires (30–32). De plus, il a été démontré récemment que des dérivés oxygénés directs de l'ALA, les linotrines, auraient également des effets anti-inflammatoires et anti-plaquettaires bénéfiques *in vitro* (33). Par ailleurs, même si, dans la littérature, les effets métaboliques de l'ALA demeurent contradictoires, certaines études chez l'animal démontrent que des doses relativement faibles (3,6% de l'apport énergétique total) d'ALA sont capables d'atténuer la triglycéridémie en diminuant la lipogenèse hépatique (34). L'ensemble de ces données démontre l'importance physiologique de l'ALA, non seulement en tant que précurseur des AGPI-LC n-3 mais également de par ses propres propriétés bioactives, et souligne la nécessité de mettre en place des études supplémentaires afin de mieux déterminer ses effets physiologiques, notamment dans le cadre de la prévention de maladies métaboliques, cardiovasculaires et inflammatoires.

4. Sources principales de lipides alimentaires

Depuis les temps préhistoriques, la grande majorité des lipides alimentaires proviennent des huiles végétales et des graisses animales, qui résultent respectivement de l'agriculture et de l'élevage. Si la production de graisses animales stagne depuis quelques années, celle des huiles végétales ne cesse d'augmenter (35). Cette croissance est corrélée au PNB des pays consommateurs. Ainsi, la croissance démographique des pays en voie de développement et l'élévation concomitante du niveau de vie de ces populations prédisent que l'accroissement du marché global des huiles végétales n'est pas prêt de ralentir.

Il existe plus de 2000 plantes oléagineuses sur Terre, parmi lesquelles seulement 13 font l'objet de production à grande échelle. A elles seules, ces 13 plantes représentent plus de 90% de la production mondiale (**Tableau 1**). Les huiles végétales sont généralement classées en deux groupes en fonction de leur origine : les huiles de pulpe (olive et palme) et les huiles de graines (les autres). Les huiles de palme, de soja, de colza et de tournesol sont les huiles les plus répandues mondialement.

Tableau 1. Production mondiale annuelle en 2009-2010 et composition en acide gras des huiles végétales majeures. (Adapté de (1) et de tables CIQUAL (ANSES)).

Huile végétale	Production mondiale (million de tonnes)	Composition en AG majoritaires (g/100g d'AG totaux)						
		16:0	18:1 n-9	18:2 n-6	18:3 n-3	AG saturés totaux	AGMI totaux	AGPI totaux
Palme	45,9	22-46	36-45	2-20	<1	46-49	37-45	9-20
Soja *	38,8	8-13	17-26	50-62	4-10	14-15	21-27	58-62
Colza *	22,5	3-4	9-16	11-16	7-12	6-8	56-63	25-33
Tournesol	11,6	5-7	15-25	34-70	<1	10-11	19-55	34-70
Palmiste	5,5	6-9	13-19	0,5-2	-	80-83	13-19	1-2
Coton	4,6	17-26	13-21	34-60	<1	21-26	17-21	52-60
Arachide	4,6	8-13	35-66	14-41	<0,3	11-13	27-66	55-56
Coprah	3,6	6-11	4-11	1-2	-	80-87	5-11	2-3
Olive	3,0	8-21	53-80	2-24	1-2	12-22	69-80	6-24
Maïs	2,3	8-13	24-32	55-62	<2	11-13	24-33	54-62
Sésame	0,8	8-11	37-42	39-47	<0,5	13-15	39-47	40-47
Lin *	0,7	4-10	10-20	12-24	45-70	9-10	18-20	66-70

* Les huiles marquées en gras sont des huiles riches en ALA : on parle d'huile linoléique (>5% ALA)

5. Structure moléculaire des lipides alimentaires

La quasi-totalité des lipides consommés par l'Homme (95-98%) se présente sous la forme de trois AG estérifiés à un glycérol, que l'on appelle **triacylglycérol** (TAG) ou plus couramment triglycéride. Si initialement les scientifiques considéraient que les TAG étaient composés de trois AG identiques, les travaux du chimiste allemand T.P. Hilditch apparus en 1964 démontrèrent que la plupart des TAG étaient en réalité mixtes, composés de deux ou trois AG différents (1). Les AG peuvent se situer en position externe (sn-1 ou sn-3) ou en position interne (sn-2) de la molécule de glycérol (**Figure 6**). Une huile ou graisse se caractérise non seulement par sa composition en AG, mais également par la position de ces derniers au sein du TAG. Ainsi, alors qu'un AGS occupe typiquement une position externe (sn-1 et/ou sn-3) dans les huiles végétales, c'est en position interne (sn-2) que l'on retrouve la plupart des AGS dans les graisses d'origine animale (36). De par leur structure, les TAG sont des molécules apolaires et constituent ainsi, avec les monoacylglycérols et les diacylglycérols, les **lipides neutres**. Dans l'organisme, les TAG servent essentiellement de stockage et de réserves d'énergie.

Les **lipides polaires** (phospholipides, sphingolipides, glycolipides, etc) constituent le restant des lipides alimentaires. Bien que minoritaires (2-5%), ces lipides sont dotés de propriétés biologiques et physicochimiques importantes qui dépassent leur simple valeur énergétique. Les lipides polaires sont composés d'une partie hydrophile et d'une partie hydrophobe et sont donc des molécules à caractère **amphiphile**. Cette propriété en fait d'excellents émulsifiants, qui permettent de stabiliser à la fois les phases aqueuses et les phases organiques, très couramment utilisés par l'industrie agro-alimentaire (IAA).

- Les **phospholipides** (PL) sont les lipides polaires majoritaires et existent dans les aliments sous forme de glycérophospholipides ou de sphingosylphospholipides. Composants majoritaires des membranes biologiques, ils jouent un rôle structurel extrêmement important dans l'organisme. De ce fait, on les retrouve notamment dans les aliments provenant de sources animales (viandes, œufs, poissons, etc) et végétales. Ce sont également des composants majoritaires de la bile, qui est notamment très riche (>95% des PL) en phosphatidylcholine (PC) (37). La contribution de PC endogène (10-15 g par jour) à la bile est bien supérieure à celle provenant de l'alimentation (1-2 g par jour) (37). Il est important de souligner que les AG constituent en moyenne 96% du poids d'un TAG, alors qu'ils ne représentent qu'environ 71% du poids d'un PL.

Les PL sont composés de deux AG estérifiés à un glycérol en position sn-1 et sn-2, ainsi que d'un groupement polaire situé en position sn-3 (**Figure 6**). De manière générale, un AG saturé occupe la position sn-1, et un AG insaturé la position sn-2. Cette régio-distribution

non-aléatoire résulte principalement des propriétés intrinsèques des enzymes impliquées dans la voie de synthèse des PL chez les eucaryotes (38,39). Le groupement polaire situé en position sn-3 peut être chargé positivement, comme c'est le cas notamment avec la choline et l'éthanolamine, qui donnent respectivement de la PC et la phosphatidyléthanolamine (PE). Le groupe phosphate étant négativement chargé, ces PL ont une charge globale neutre. Lorsque le groupement est neutre, comme avec l'inositol ou la sérine qui donnent respectivement du phosphatidylinositol (PI) ou de la phosphatidylsérine (PS), la charge globale du PL est négative. La nature de ces groupements modifie grandement les propriétés structurelles et fonctionnelles des PL, et donc leur rôle physiologique. Certains PL ne contiennent qu'un seul AG estérifié sur le glycérol, en position sn-1. On parle alors de **lyso-phospholipides** (lyso-PL). La PC est le PL le plus abondant dans les tissus animaux et végétaux, comprenant quasiment 50% des PL totaux.

- Les **sphingolipides** ressemblent aux glycérophospholipides, mais l'AG est estérifié à une molécule de sphingosine, et non à un glycérol (**Figure 6**). Parmi les sphingolipides, les sphingomyélines et les céramides sont les plus répandues. La sphingomyéline se trouve dans toutes les membranes cellulaires animales et est caractéristique de la membrane du globule gras du lait. De manière générale, les végétaux en sont dépourvus.
- Les **glycolipides** sont des PL ou des sphingolipides dont le groupement phosphate rattaché au glycérol ou à la sphingosine est remplacé par une chaîne glucidique attachée par une liaison glycosidique. Bien que l'on en trouve dans les aliments d'origine animale, ils sont le plus souvent obtenus de sources végétales (les galactolipides en particulier).

Enfin, parmi les lipides alimentaires, l'on retrouve également les **stéroïls**, qui appartiennent au grand groupe des stéroïdes et qui font partie de la fraction insaponifiable, laquelle représente 0,1 à 3% des lipides alimentaires. Les stéroïdes sont des dérivés du squalène, un terpène commun aux règnes animal et végétal. Le cholestérol et les phytostéroïls sont les stéroïls les plus répandus dans les aliments et peuvent provenir soit d'une synthèse endogène soit de l'alimentation. Alors que le cholestérol est apporté exclusivement par les produits d'origine animale, les phytostéroïls, eux, proviennent uniquement des végétaux.

Bien qu'en moindres quantités, d'autres composants lipidiques font partie de l'alimentation quotidienne, comme notamment les **vitamines liposolubles** (A, D, E et K). Ces composants minoritaires, ainsi que les stéroïls, ne sont pas systématiquement classés avec les lipides alimentaires. Ainsi, ils ne sont pas systématiquement inclus dans les rapports de l'ANSES et de

l'organisation mondiale de la santé (OMS) concernant les apports nutritionnels conseillés des lipides alimentaires et nous ne les prendrons pas en compte dans le reste du manuscrit.

6. Structure supramoléculaire des lipides dans les aliments

A l'état naturel, ces différents lipides sont organisés sous forme de structures supramoléculaires natives, telles que les globules gras du lait et les oléosomes des graines oléagineuses. Cependant, au sein des aliments transformés, les lipides se réorganisent en fonction des autres éléments présents et/ou des procédés utilisés. La grande majorité des lipides présents dans les aliments se trouvent sous forme d'émulsion (36) (**Figure 6**).

A l'inverse des huiles qui se composent d'une unique phase continue, les **émulsions** consistent en deux phases liquides immiscibles, dont l'une est dispersée dans l'autre sous forme de gouttelettes. Il existe deux types d'émulsions :

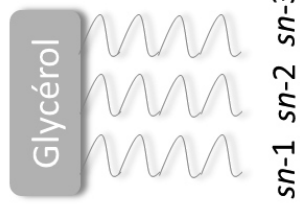
- Les **émulsions huile-dans-eau** (H/E ou en anglais, oil-in-water, O/W) où la phase lipidique est dispersée dans la phase aqueuse continue. C'est le cas du lait ou des vinaigrettes par exemple.
- Les **émulsions eau-dans-huile** (E/H ou water-in-oil, W/O, en anglais) où la phase lipidique devient la phase continue dans laquelle est dispersée la phase aqueuse, comme pour le beurre ou la margarine.

Au sein des aliments, la majorité des émulsions est une émulsion H/E. Les émulsions ne se caractérisent pas seulement par leurs phases, mais également par la taille des gouttelettes qu'elles contiennent. La taille des gouttelettes dispersées est en effet extrêmement variable dans les aliments, pouvant varier d'une dizaine à une centaine de micromètres de diamètre. Néanmoins, les émulsions sont intrinsèquement instables et finissent inévitablement par se séparer en deux phases avec le temps (36). Afin de limiter et de retarder ce procédé, l'IAA a fait recours à des agents tensioactifs qui permettent de stabiliser les émulsions en agissant à l'interface des deux phases. Ces émulsifiants peuvent être synthétiques ou d'origine naturelle, comme c'est le cas des **lécithines végétales**.

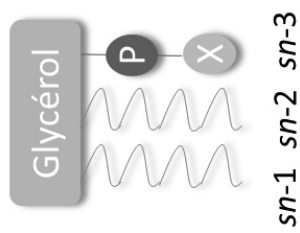
STRUCTURE MOLECULAIRE

Lipides neutres

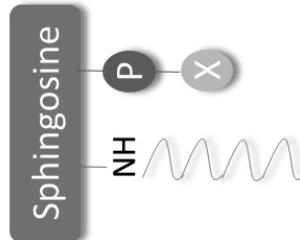
Triacylglycérols



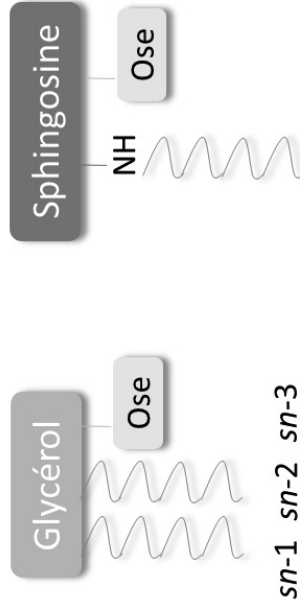
Phospholipides



Sphingolipides



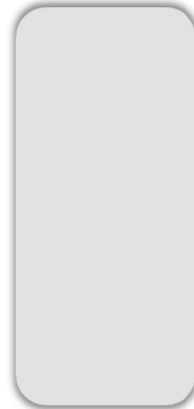
Glycérolipides



Lipides polaires

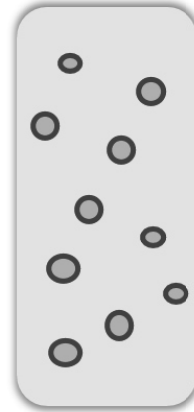
ORGANISATION DANS LES ALIMENTS

Phase continue homogène



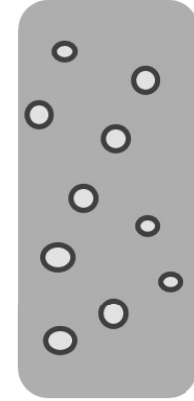
Ex: Huiles végétales

Emulsion eau-dans-huile



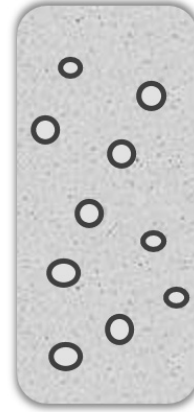
Ex: beurre, margarine

Emulsion huile-dans-eau



Ex: sauces (mayonnaise, vinaigrettes), lait, yaourts

Inclusion lipidique dans structure solide



Ex: produits élaborés (fromages, biscuits)

Figure 6. Principales structures moléculaires et supramoléculaires des lipides alimentaires.

(où P = groupement phosphate ; X = choline, éthanolamine, sérine, inositol, ... ; ose = glucide)

Adapté de Vors 2012

7. Recommandations et consommation actuelle de lipides

Les connaissances progressivement acquises depuis le siècle dernier concernant les effets bénéfiques ou délétères des lipides sur la santé ont permis d'élaborer des recommandations quant à leur consommation. En France, l'ANSES a ainsi estimé à **35-40%** la part recommandée des lipides dans l'apport énergétique sans alcool (AESA) (23). Cela représente environ 20% en masse de l'ensemble des macronutriments (lipides, glucides et protéines). Les principales organisations de santé dans le monde s'accordent sur ces chiffres (40), qui permettent à la fois de couvrir les besoins nutritionnels en AG essentiels et de prévenir certaines pathologies liées à une consommation excessive de lipides, tels le syndrome métabolique, l'obésité, le diabète et les maladies cardio-vasculaires. Ces organisations livrent souvent des conseils détaillés sur la consommation de certains lipides, tels que la proportion d'AGS et d'AG essentiels, le ratio AGPI n-6/n-3 ou les vitamines liposolubles (41) (**Tableau 2**). Il est intéressant de noter qu'aucun autre macronutriment, que ce soit les protéines ou les glucides, ne fait l'objet de recommandations aussi détaillées (1). Ceci reflète autant le rôle essentiel que jouent les lipides alimentaires sur la santé que l'importance que les scientifiques accordent aux lipides, comparativement aux autres constituants des aliments.

Tableau 2. Apports nutritionnels conseillés (ANC) pour l'adulte (homme ou femme) consommant 2000kcal par jour (ANSES 2011 (23)) et apports quotidiens moyens chez l'adulte en France (INCA 3 (42)).

Lipides		ANC (AESA%)	Apports moyens (AESA%)
Lipides totaux		35-40%	34%
AG indispensables	Acide linoléique (LA)	4%	3%
	Acide α-linoléique (ALA)	1%	0,4-0,5%
	Acide docosahexaénoïque (DHA) *	250mg	155-180mg
AG non-indispensables	Acide eicosapentaénoïque (EPA) *	250mg	108-128mg
	Acides gras saturés totaux	$\leq 12\%$	14%
	Acides laurique + myristique + palmitique	$\leq 8\%$	10%
	Acide oléique	15-20%	10%

* dans le cas de l'EPA et du DHA, les valeurs sont exprimées en milligrammes dans la mesure où les études disponibles ont utilisé cette unité.

Cependant, si la plupart de la population atteint les recommandations en lipides totaux, elle n'atteint guère les ANC en AG essentiels (41). En moyenne, les Français consomment 1g d'ALA par jour, ce qui est bien en deçà des 2,2g recommandés (42). Selon l'étude individuelle nationale de consommation alimentaire INCA 3, 98,8% de la population française serait déficiente en ALA (42). En 2010, l'ANSES a ainsi revu à la hausse les ANC en ALA de 2001 (qui étaient alors de 0,8% de l'apport énergétique total pour l'ALA) (23). Par ailleurs, l'apport moyen en LA est proche des 4% de l'AESA recommandés (43). Le rapport LA/ALA actuel est ainsi d'environ 7, ce qui est au-delà de la valeur de 4-5 recommandée par l'ANSES. Ce déséquilibre favorise la biosynthèse des AGPI-LC n-6 au détriment des AGPI-LC n-3 et donc un état pro-inflammatoire. Dans ce contexte, le Programme National de Nutrition et Santé (PNNS) a souligné l'importance d'augmenter la consommation en ALA (41). Or, augmenter l'apport en ALA, sans pour autant modifier l'apport en lipides totaux dont le niveau est suffisant, représente une réelle stratégie d'intérêt nutritionnel. Il s'agit alors d'augmenter l'efficacité avec laquelle l'ALA est absorbé et rendu disponible dans l'organisme, c'est-à-dire sa biodisponibilité.

Dans le prochain chapitre, nous verrons comment les lipides sont digérés, absorbés puis métabolisés par l'organisme et comment leur structure moléculaire ainsi que leur agencement dans les matrices alimentaires peuvent moduler cette biodisponibilité. L'anatomie du système digestif et l'importance du microbiote intestinal seront décrites en amont pour faciliter la compréhension du lecteur.

II. L'intestin : organe central de l'absorption des lipides et d'interaction avec le microbiote intestinal

Le **système digestif** humain (**Figure 7**) est constitué de nombreux organes et de glandes qui ont chacun un rôle spécifique et qui agissent en synergie afin de permettre la digestion et l'absorption des aliments. Le processus digestif commence dans la zone oro-pharyngée, sous l'action de la mastication et de sécrétions salivaires. Sont ensuite impliqués de nombreux organes, dont l'estomac, le pancréas, le foie, la vésicule biliaire, l'intestin grêle et le gros intestin. Le tube digestif s'étend ainsi sur 5 à 7 mètres de la cavité buccale à l'anus. Nous nous focaliserons ici sur **l'intestin grêle** et **le gros intestin**, l'absorption des lipides se faisant principalement au niveau de l'intestin grêle et la plus forte densité de bactéries intestinales se concentrant dans le gros intestin. Nous mentionnerons également le rôle de la bile, un liquide complexe sécrété au niveau du foie puis stocké dans la vésicule biliaire, qui joue un rôle essentiel dans la digestion des lipides.

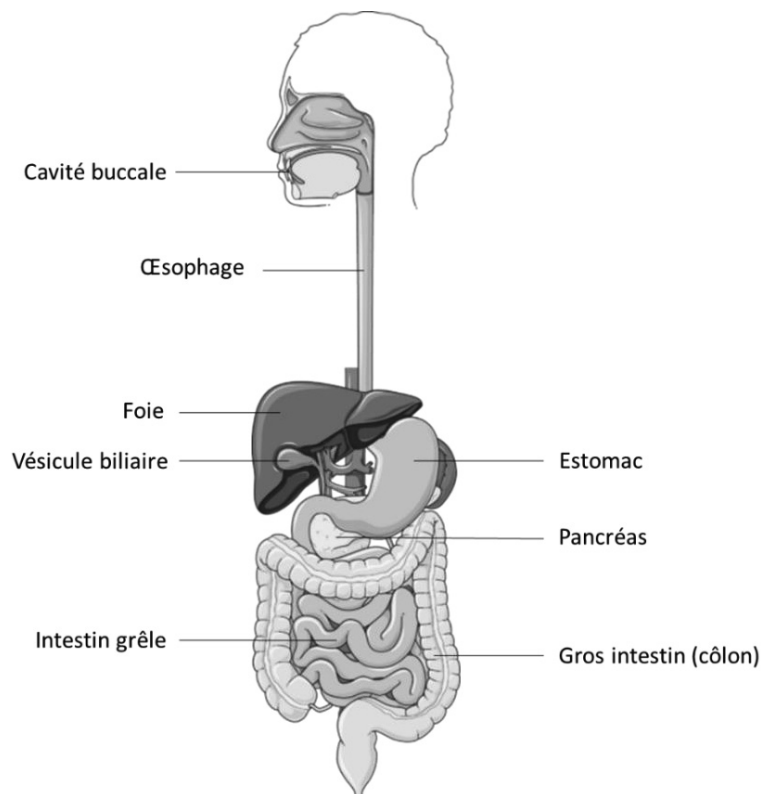


Figure 7. Système digestif humain.

(Image obtenue et adaptée de Servier Medical Art)

1. Anatomie et physiologie de l'intestin

L'intestin représente une énorme surface d'échange (d'environ 250m²) entre l'environnement extérieur et l'organisme. C'est ainsi un organe unique qui exerce deux fonctions principales : l'une concerne l'absorption des nutriments, des électrolytes et de l'eau ; l'autre, la fonction de barrière de protection entre les milieux interne et extérieur.

a. L'intestin grêle

L'intestin grêle s'étend du sphincter pylorique à la valvule iléo-caecale, et relie ainsi l'estomac au gros intestin. Chez l'Homme, il mesure entre 2 et 2,50 mètres et est divisé en trois parties successives : le duodénum, le jéjunum et l'iléon (44). Le **duodénum** est un segment court et fixe en forme de « C » où se rencontrent le chyme, la bile sécrétée par le foie et les sécrétions du pancréas. C'est au niveau du duodénum que s'effectue l'essentiel de la digestion des lipides. Il est suivi du **jéjunum**, site préférentiel de l'absorption des lipides, qui représente environ 40% de la longueur totale de l'intestin grêle. Enfin, en partie distale, l'on retrouve **l'iléon** où s'effectuent la réabsorption des acides biliaires et l'absorption de certains micronutriments et électrolytes. L'iléon est également impliqué dans l'induction de la réponse immunitaire de l'intestin (45). Au contraire du duodénum, le jéjunum et l'iléon sont suspendus par le mésentère, ce qui les rend plus souples et infère une grande mobilité à l'intestin.

b. Le gros intestin

L'iléon débouche sur le gros intestin, qui s'étend ensuite jusqu'à l'anus. Appelé aussi **côlon**, il mesure environ 1,5 mètre et regroupe le cæcum, les côlons ascendant, transverse, descendant et sigmoïde, le rectum et le canal anal. Son rôle principal réside dans l'absorption de l'eau résiduelle, des électrolytes et de certaines vitamines, ainsi que la formation des selles. A ce niveau, le chyle contenant les composants non digérés se mélange au microbiote intestinal et au mucus pour devenir de la matière fécale. Les bactéries qui y sont présentes en grande quantité se chargent de la fermentation des aliments complexes non digérés. Les métabolites ainsi formés peuvent ensuite, pour la plupart, être absorbés et utilisés par l'organisme.

i. Structure de la paroi intestinale

La paroi du tube digestif se compose de quatre couches concentriques : la séreuse, qui constitue la couche externe, la musculuse, la sous-musculaire et la muqueuse, qui est en contact direct avec la lumière intestinale (**Figure 8**). La muqueuse intestinale est elle-même constituée d'un chorion, nommé *lamina propria*, et d'un **épithélium**, qui comprend plusieurs types de cellules, aux rôles biologiques spécifiques. L'on retrouve notamment :

- Les cellules à gobelet, qui sont des cellules caliciformes responsables de la sécrétion de **mucus** (46). Le nombre de ces cellules augmente plus on avance dans le tractus gastro-intestinal (TGI).
- Les **cellules de Paneth**, qui sont présentes au fond des cryptes de l'intestin et qui sont impliquées dans l'immunité innée de l'intestin. Elles participent notamment à la sécrétion de peptides antimicrobiens (47).
- Les cellules M, ou « microfold cells », qui participent à la défense du TGI en transférant les antigènes aux follicules lymphoïdes (48).
- Les cellules entéro-endocrines, responsables de la sécrétion de multiples hormones, telles la sécrétine, la cholécystokinine (CCK) et la sérotonine (49).
- Les cellules souches progénitrices (ou « intestinal epithelial stem cells ») qui permettent le renouvellement de l'épithélium intestinal.
- Les **entérocytes**, qui sont les cellules absorbatives. Elles possèdent un pôle basal et un pôle apical avec une structure de bordure en brosse. Cette polarisation leur permet d'absorber efficacement les macro- et les micronutriments présents dans la lumière intestinale et de les acheminer vers la circulation lymphatique ou sanguine.

Toutes ces cellules sont reliées entre elles par des jonctions serrées, formant ainsi une monocouche semi-perméable qui limite le passage des nutriments et des agents infectieux.

Chaque élément du TGI présente une structure caractéristique et unique en adéquation avec ses fonctions physiologiques. La muqueuse de l'intestin grêle présente ainsi une structure particulière, faite de nombreux replis (valvules conniventes, **villosités** et **microvillosités** qui constituent une **bordure en brosse**) qui permettent une augmentation de sa surface de contact et donc de sa capacité d'absorption. La muqueuse du gros intestin ne présente pas ces villosités, mais possède des cryptes plus profondes et est plus riche en cellules à mucus. L'appareil digestif est ainsi un système complexe et hétérogène, parfaitement adapté à la digestion et à l'absorption des nutriments.

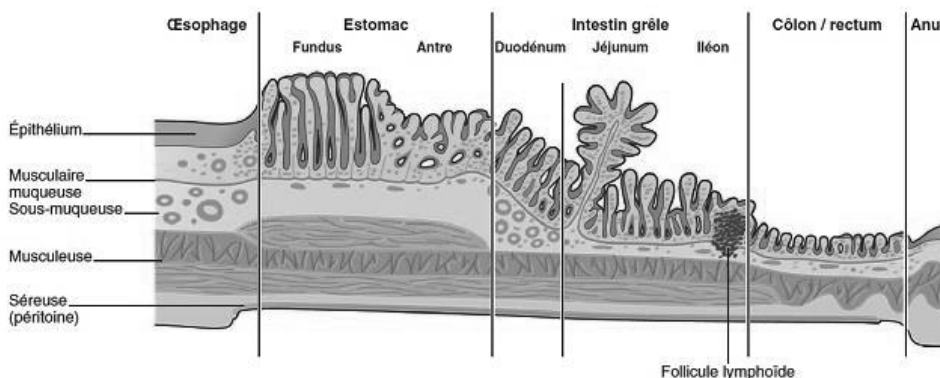


Figure 8. Aspect histologique des différents segments du tube digestif.

2. Microbiote intestinal

a. Composition du microbiote intestinal

Le TGI héberge également plus de 1000 espèces différentes de bactéries qui représentent collectivement plus de 10^{14} micro-organismes (50). Cet écosystème aussi divers que complexe se situe entre la lumière du TGI et la couche de mucus, et constitue ce que l'on appelle le **microbiote intestinal**. D'autres micro-organismes, tels que des levures, protozoaires et virus, sont également présents dans le TGI, mais leur importance en termes de populations ou de fonctions reste à ce jour mal connue. Nous nous focaliserons ainsi ici uniquement sur les bactéries.

Chez l'Homme adulte, le microbiote intestinal est composé de plus de 1000 espèces bactériennes qui appartiennent à différents grands groupes : les phyla. Il existe 2 phyla majeurs, *Firmicutes* et *Bacteroidetes*, qui regroupent plus de 90% des bactéries totales, auxquels se rajoutent d'autres phylas moins abondants, tels que les *Proteobacteria*, *Actinobacteria* et *Verrucomicrobia* (50,51). Les phyla sont sous-divisés en genre. Ainsi, les *Firmicutes* regroupent plus de 200 genres, dont font partie les *Lactobacillus*, *Ruminococcus* et les *Clostridium*. Les *Bacteroides* et *Prevotella*, quant à eux, sont les principaux genres appartenant aux *Bacteroidetes*.

Le microbiote intestinal se met en place progressivement au cours des premières années de vie (52,53). Bien qu'il existe déjà un contact avec des micro-organismes *in utero*, la colonisation du TGI ne se fait réellement qu'immédiatement après la naissance (54). Le microbiote intestinal du nouveau-né est alors constitué d'une centaine d'espèces bactériennes et va s'enrichir progressivement pour se stabiliser autour de l'âge de 2 ans, où il devient comparable à celui d'un individu adulte (**Figure 9**) (52,55). La composition du microbiote n'est pas fixe. Elle varie au cours du temps et peut être modulée par de nombreux facteurs, qu'ils soient exogènes ou endogènes à l'hôte, tels que l'âge, la génétique, l'environnement, la localisation géographique, l'état de santé, la prise de médicaments, l'activité physique et l'alimentation (51,56). Chez le nouveau-né, le mode d'accouchement, le lait et le sevrage peuvent également moduler le microbiote (53). Il existe ainsi une diversité interindividuelle énorme. Par ailleurs, au sein d'un même individu, les populations de micro-organismes qui composent le microbiote diffèrent selon leur emplacement (**Figure 9**). Ainsi, plus l'on avance le long du TGI, plus les bactéries sont nombreuses, passant d'une centaine d'individus par gramme au niveau de l'estomac, à plus de 10^{10} bactéries par gramme dans le côlon distal (57). Ce n'est pas seulement la quantité, mais également la diversité des bactéries qui varie selon les différents segments de l'intestin. Ainsi, les *Firmicutes* et les *Proteobacteria* sont les phyla majoritaires dans l'iléon, alors qu'au niveau

du côlon, ce sont les *Bacteroidetes* et les *Firmicutes* qui dominent (58,59). Cette variabilité résulte de nombreux paramètres physiologiques, tels que le niveau d'oxygène, la quantité de nutriments, le pH, le contenu en acides biliaires, le temps de transit et la présence de mucus (58).

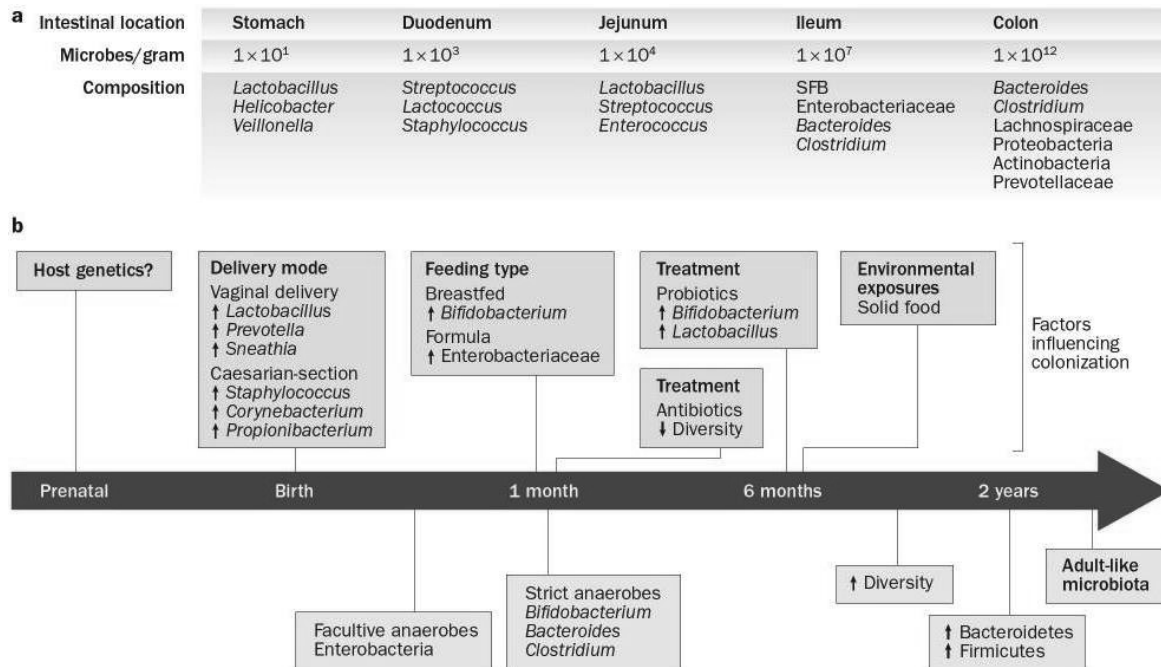


Figure 9. Evolution du microbiote intestinal a) le long du TGI et b) au cours du temps (60)

Chaque individu possède ainsi un profil bactérien qui lui est propre, tel une empreinte. Néanmoins, des travaux menés au sein du consortium européen MetaHit (Metagenomics of Human Intestinal Tract) ont récemment suggéré que la majorité de la population pouvait être classifiée selon trois profils bactériens, appelés entérotypes, caractérisés par l'abondance mais aussi les fonctions de certains genres de bactéries : entérotipe 1, profil enrichi en *Bacteroides* ; entérotipe 2, enrichi en *Prevotella* ; et entérotipe 3, riche en *Ruminococcus* (61). Ces entérotypes permettraient d'expliquer la divergence des effets de régimes alimentaires ou de médicaments observés d'une personne à une autre. Ils pourraient également servir d'élément de diagnostic ou de pronostic de certaines maladies, comme les désordres métaboliques ou maladies cardiovasculaires.

b. Fonctions du microbiote intestinal

Le microbiote possède un génome composé de plus de 5 millions de gènes (le **microbiome**), qui dépasse de loin le génome de l'hôte (62). Son potentiel génétique est tel que l'on considère aujourd'hui le microbiote comme un organe à part entière, métaboliquement actif qui exerce des fonctions complémentaires à celui de l'hôte (62). La cohabitation de ces populations bactériennes et de l'hôte est ainsi un bel exemple de mutualisme, où les deux entités coexistent en symbiose et où la présence de l'un est favorable à l'autre. Si les bactéries profitent de l'environnement favorable, riche en nutriments et à température constante du TGI de l'hôte, l'organisme hôte, lui, tire parti des fonctions du microbiote qu'il ne peut exercer lui-même (63). Le microbiote intestinal joue ainsi des rôles majeurs dans la physiologie de l'hôte, qui se regroupent sous trois fonctions principales :

- Le microbiote intestinal joue un rôle majeur dans l'**homéostasie énergétique**, ainsi que dans la **régulation du métabolisme des glucides, des protéines et des lipides** (63). Il est en effet responsable de la digestion et de la fermentation de résidus non-digestibles pour l'Homme, tels les glucides complexes ou fibres alimentaires. Cette dégradation permet d'augmenter l'extraction énergétique du bol alimentaire et donc l'adiposité (64). Elle entraîne par ailleurs la production de métabolites importants, comme les acides aminés branchés, certaines vitamines essentielles et les AGCC comme l'acétate, le propionate et le butyrate (51,63,65). Si certaines bactéries du phyla *Bacteroidetes* sont productrices d'acétate et de propionate, d'autres bactéries appartenant aux *Firmicutes* produisent principalement du butyrate, comme c'est le cas des *Clostridium*. Ces AGCC peuvent être réabsorbés par l'intestin, où ils exercent eux aussi de nombreux rôles dans le métabolisme énergétique de l'hôte (66). Ils ont notamment été décrits comme modulateurs de la néoglucogenèse intestinale (67) et de la sensibilité à l'insuline (68). De plus, le microbiote intestinal est impliqué dans la **transformation et la déconjugaison des acides biliaires** provenant du foie. Ces acides biliaires transformés, que l'on appelle acides biliaires secondaires, peuvent à leur tour moduler le métabolisme des lipides et des glucides via l'activation de FXR ou de Takeda G Protein-coupled Receptor 5 (TGR5) (51). Enfin, parmi les nombreux gènes du microbiote, certains codent pour des enzymes biosynthétiques qui élargissent la capacité métabolique de l'Homme (62).
- Le microbiote exerce une **fonction structurale** importante et participe à la **morphogénèse** de l'hôte, notamment au niveau intestinal. Il est impliqué dans la régénération et la différenciation des cellules de l'épithélium intestinal, et donc la perméabilité intestinale,

ainsi que dans l'angiogénèse et le développement des systèmes vasculaire et neuronal (65). De plus, il a été démontré *in vivo* que les AGCC, notamment le butyrate, étaient capables de stimuler la différenciation des cellules épithéliales de l'intestin (69).

- Enfin, le microbiote exerce une **fonction de protection** et une **fonction immunitaire**, qui lui permettent de lutter contre l'infiltration et la propagation de pathogènes. Les mécanismes impliqués sont nombreux, et nous n'aborderons ici que les principaux. Les bactéries commensales peuvent entrer en compétition avec les agents pathogènes au niveau des niches écologiques, empêchant ainsi leur adhérence (70). Par ailleurs, le microbiote intestinal est capable de produire des molécules antimicrobiennes, nommées bactériocines, qui inhibent la croissance de certaines bactéries non désirées (70). La fonction protectrice du microbiote se doit également à son implication dans le développement et la maturation des systèmes immunitaire et lymphoïde (65). Certaines bactéries, comme les *Clostridium*, sont capables de stimuler la production de cellules régulatrices T (Treg) au niveau du côlon et sont ainsi associées à des effets anti-inflammatoires bénéfiques (71). Il a été démontré que l'abondance fécale de *Clostridium leptum* était diminuée chez des patients souffrant de maladies métaboliques chroniques, telles la maladie de Crohn ou la colite ulcéreuse (72,73).

Néanmoins, il est important de noter que le microbiote intestinal peut également produire des molécules pro-inflammatoires. C'est notamment le cas des lipopolysaccharides (LPS) qui proviennent de la paroi des bactéries à Gram négatif et qui peuvent traverser la barrière intestinale lorsque celle-ci est altérée, engendrant une **endotoxémie** métabolique contribuant à l'inflammation chronique de bas grade, *e.g.* observée dans l'obésité (74).

Le microbiote qui colonise le TGI est ainsi responsable de multiples fonctions essentielles à la santé de l'hôte. Malgré qu'il ne soit pas une partie intrinsèque du système digestif, il en est un élément indispensable, dont la composition et la fonctionnalité sont façonnées, entre autre, par l'alimentation, comme c'est le cas des lipides alimentaires et de certains additifs, tels les émulsifiants.

3. Le rôle important de la bile et des acides biliaires

La **bile** est un liquide complexe sécrété par le foie puis stocké dans la vésicule biliaire, avant d'être déchargé dans le duodénum en réponse à un repas. Elle est composée majoritairement d'eau (≈90%), à laquelle se rajoute un mélange d'acides biliaires (70%), de PL (20%), de

cholestérol (4%) et d'autres éléments minoritaires comme des électrolytes, des minéraux et des pigments, notamment la bilirubine, qui lui infère sa couleur jaune-orange (75).

Les **acides biliaires** (AB) proviennent de deux origines différentes : ils peuvent être synthétisés au niveau du foie à partir du cholestérol, ou recyclés et récupérés de la circulation sanguine par les hépatocytes au niveau des sinusoides hépatiques.

La synthèse hépatique des AB à partir du cholestérol est un processus complexe impliquant au moins 17 enzymes provenant du RE, du cytosol, des mitochondries et des peroxysomes (76). 200 à 600 mg d'AB sont ainsi synthétisés chaque jour. (77). Deux voies majeures de biosynthèse des AB existent : la voie classique (ou neutre), et la voie alternative, aussi appelée voie acide (78). La première, la **voie classique**, est initiée par l'action de la « cholestérol 7 α -hydroxylase » (CYP7A1) qui catalyse la conversion du cholestérol en 7 α -hydroxycholestérol. Cette étape est considérée comme limitante. S'en suivent alors plusieurs réactions successives, dont la modification du noyau stéroïdien du cholestérol puis l'oxydation de sa chaîne latérale, qui donnent lieu à la production d'**acides biliaires primaires : l'acide cholique** (CA) et l'acide chénodésoxycholique (CDCA). Chez l'Homme, en conditions physiologiques normales, ces AB sont produits en proportion équivalente. Cette voie est étroitement régulée par des mécanismes de régulation négative via l'activation de plusieurs récepteurs, notamment FXR (78). La **voie alternative**, elle, débute avec la conversion du cholestérol en 27-hydroxycholestérol et en acide 3 β -hydroxy-5-cholestonique par l'action de la stérol 27-hydroxylase (CYP27A1). Plusieurs réactions s'enchaînent alors en cascade et résultent en la production de CDCA. Cette voie n'est pas aussi étroitement contrôlée que la voie classique et se fait principalement de manière active.

Le CA et le CDCA sont ensuite conjugués à une molécule de taurine ou de glycine via l'action de la « bile acid-CoA:amino acid *N*-acyltransferase » (BAAT). Certains AB peuvent également être sulfatés via l'action de sulfotransférases (la sulfotransférase 2A1 (SULT2A1) notamment) (79). Cette **sulfatation**, tout comme la conjugaison des AB avec la taurine ou la glycine, rend les AB plus hydrophiles et facilite ainsi leur transport.

Si la voie classique est responsable de la majorité de la synthèse des AB primaires chez l'Homme, elle représente seulement 25 à 50% de leur synthèse chez les rongeurs (75,80). De plus, la composition en AB est très différente selon les espèces (81). Chez la souris, la majorité des CDCA est transformée en acide α -muricholique (α -MCA) qui peut être lui-même converti en son épimère, l'acide β -muricholique (β -MCA). Ainsi, le CA et CDCA représentent les AB primaires majoritaires chez l'humain, alors que le CA, le α -MCA et β -MCA dominent chez la souris (80). Par ailleurs, alors que chez l'Homme les AB primaires sont conjugués à des

molécules de glycine et de taurine selon un ratio de 3 :1, la grande majorité des AB primaires (>95%) sont conjugués à de la taurine chez les rongeurs (80). Il est primordial de prendre en compte ces différences inter-espèces lors de l'utilisation de modèles murins dans des études *in vivo* évaluant des effets métaboliques.

Les AB primaires ainsi formés rejoignent les voies biliaires où ils s'assemblent avec des PL, du cholestérol et d'autres composants pour former la bile, qui va être stockée et concentrée dans la vésicule biliaire, puis relâchée au niveau du duodénum suite à la sécrétion pancréatique de CCK engendrée par l'ingestion d'un repas. Dans l'intestin grêle, les AB, de par leur caractère amphiphile, participent à la **solubilisation des lipides alimentaires** et **facilitent leur absorption intestinale**. Leur rôle digestif est essentiel. Ils activent également la lipase pancréatique. Il a ainsi été démontré qu'une déficience en AB entraîne une malabsorption des lipides (82). Une fois leur rôle digestif accompli, certains AB non-conjugués sont réabsorbés dans l'intestin par diffusion passive. La grande majorité des AB (>95%) est réabsorbée au niveau de l'iléon par diffusion active via un transporteur spécifique le « apical sodium-dependent transporter » (ASBT) (83). Ils traversent ensuite l'entérocyte jusqu'à la membrane basolatérale, où ils sont élués dans la circulation sanguine grâce aux « organic-solute transporters »- α (OST α) et - β (OST β) (84,85). Les AB rejoignent ainsi le foie par la veine porte, où ils sont mélangés aux AB néosynthétisés. On parle de **cycle entéro-hépatique (Figure 10)**. Ce recyclage a lieu 6 à 10 fois par jour et est extrêmement efficace, puisqu'environ 95% des AB sont ainsi réabsorbés (84).

Cependant, une petite partie des AB échappe à cette réabsorption iléale. Ces derniers atteignent alors le côlon où ils sont déconjugués puis transformés en **acides biliaires secondaires** par le microbiote intestinal, principalement via des réactions d'oxydation et de 7α -dehydroxylation (76,86). Certaines bactéries intestinales peuvent également être responsables de sulfatation des AB (87). Les réactions de déconjugaison et d'oxydation sont effectuées par un grand spectre de bactéries. Cependant, seules certaines bactéries anaérobiques, telles que les *Clostridium*, sont capables d'effectuer la 7α -dehydroxylation et ce, uniquement après leur déconjugaison (88). Les principaux AB secondaires sont l'acide désoxycholique (DCA), obtenu à partir de CA, et l'acide lithocholique (LCA) qui provient du CDCA. Ces AB secondaires, comme les AB primaires, peuvent être excrétés ou ramenés au foie via le cycle entéro-hépatique.

Certains AB ne peuvent participer à ce cycle entéro-hépatique. En effet, les AB sulfatés sont de pauvres substrats d'ASBT et leur diffusion passive au niveau de l'intestin est moins efficace, ce qui réduit leur réabsorption intestinale (89). La **sulfatation des AB** empêche également leur déconjugaison par le microbiote intestinal et ainsi leur transformation en AB secondaires (87).

Enfin, les AB sulfatés sont plus hydrophiles que les AB non-sulfatés. La sulfatation entraîne ainsi l'élimination des AB dans les urines et les fèces, et représente le principal moyen de détoxification utilisé par le foie. Ce mécanisme est essentiel, car il permet de maintenir l'homéostasie des AB et de réduire leur accumulation hépatique, qui peut être toxique, comme c'est le cas dans le cadre de pathologies hépatobiliaires ou de maladies cholestatiques (89).

Ainsi, les **acides biliaires** (AB) sont des molécules amphiphiles indispensables à la solubilisation et l'absorption intestinale des lipides. Ce n'est que récemment que l'on a découvert que l'importance des AB dans l'homéostasie des lipides n'était pas simplement due à leur implication dans la solubilisation des lipides. En effet, les AB agissent également en tant qu'hormones et sont capables d'activer plusieurs récepteurs nucléiques, comme FXR, pregnane X receptor (PXR) et vitamin D receptor (VDR) (77,80). Ces récepteurs sont impliqués dans de nombreux mécanismes physiologiques et sont ainsi d'excellents régulateurs du métabolisme des AB, des lipides, des lipoprotéines, du glucose et des xénobiotiques, ainsi que du métabolisme énergétique (80,90). En tant qu'activateurs de ces récepteurs, les AB exercent ainsi un rôle métabolique essentiel.

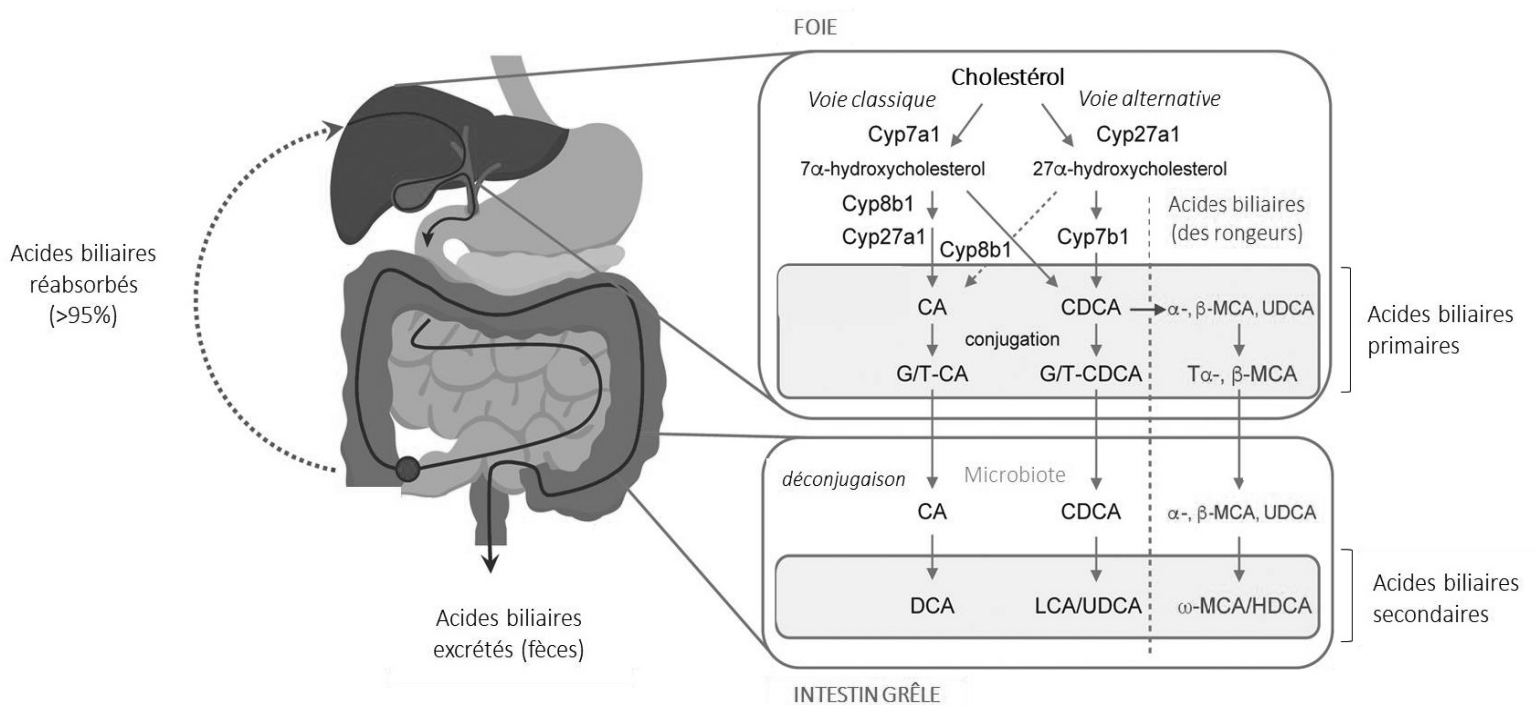


Figure 10. Schéma simplifié du cycle entérohépatique des AB chez l'Homme et le rongeur.

(Adapté de (91))

Le système digestif constitue ainsi un milieu hétérogène, complexe, composé d'une grande diversité d'organes et de glandes qui agissent en synergie afin d'absorber efficacement les nutriments. Le lecteur ayant pris connaissance du contexte physiologique dans lequel se trouvent les lipides une fois consommés, nous nous concentrerons dans la prochaine partie à la description des différents procédés de transformation qu'ils subissent tout au long du TGI, de leur digestion à leur absorption intestinale et d'utilisation par certains tissus cibles.

III. Digestion, absorption et devenir métabolique des lipides

La plupart des lipides alimentaires ne peuvent franchir directement la barrière intestinale. Ils doivent être préalablement transformés en molécules plus petites et assimilables par l'organisme, afin d'être absorbés, par la suite, au niveau de l'intestin grêle. Ces procédés de digestion et d'absorption sont des mécanismes biologiques complexes et hautement dynamiques qui peuvent être modulés par de nombreux facteurs et qui diffèrent selon la nature même des lipides. Comprendre comment sont digérés puis absorbés les lipides par l'organisme est essentiel afin de déterminer les facteurs qui modulent leur biodisponibilité.

1. Digestion des lipides : hydrolyses successives et micellisation

Chez l'Homme, la digestion des TAG débute dans l'estomac sous l'action de la **lipase gastrique**, qui génère la libération d'un AG libre (AGL) et d'un diacylglycérol (DAG) (**Figure 11**). Chez le rongeur, cette hydrolyse se fait principalement via l'action de la lipase linguale (92) et, même si cela a été longuement débattu, il est maintenant reconnu que cette dernière n'existe pas chez l'Homme (93). La lipase gastrique humaine et la lipase linguale du rongeur partagent néanmoins des propriétés communes : toutes deux ont une activité optimale à un pH acide (3-6), hydrolysent préférentiellement les AG à chaîne moyenne, présentent une régiosélectivité pour les positions externes du TAG, notamment la sn-3, et n'hydrolysent ni les PL ni les esters de cholestérol (37). La lipolyse gastrique contribue de 5 à 37% de la digestion des TAG alimentaires (94). Même si elle ne constitue pas l'étape principale de digestion des lipides, son importance est non-négligeable. En effet, les AGL et DAG générés sont des molécules tensio-actives qui vont, avec les PL et les protéines issus du bol alimentaire, faciliter l'émulsification des lipides. Cette étape est décisive puisqu'il n'existe pas d'émulsification supplémentaire au niveau de l'intestin grêle et que la taille des gouttelettes module les lipolyses gastrique et intraduodénale, et donc la biodisponibilité des lipides alimentaires (95). L'activité péristaltique de l'estomac facilite également cette émulsification et propulse le chyme gastrique vers le duodénum.

La digestion des lipides se poursuit au niveau du duodénum, où les AGL générés stimulent la sécrétion de CCK (96). Celle-ci inhibe la vidange gastrique et stimule la sécrétion de suc pancréatique et la libération de bile. Le chyme alimentaire, alors composé de gouttelettes lipidiques de diamètres inférieurs à 500 nanomètres, s'enrichit ainsi en sels biliaires, en PL, en cholestérol et en enzymes digestives. La **lipase pancréatique** est la plus importante de ces enzymes lipolytiques et contribue entre 40 à 73% de la digestion des TAG alimentaires (94). Son pH optimum se situe entre 6,5 et 9. Elle poursuit l'hydrolyse des TAG et des DAG résiduels et donne lieu aux produits finaux de digestion : les AGL et les 2-monoacylglycérols (2-MAG)

(Figure 9). Si elle produit essentiellement des 2-MAG, c'est qu'elle présente une régiosélectivité pour les positions externes du glycérol (94,97). La lipase pancréatique agit à l'interface des gouttelettes lipidiques, où elle forme un complexe stœchiométrique avec un cofacteur spécifique, la **colipase**, qui permet de contrebalancer l'effet inhibiteur des sels biliaires présents eux aussi à cette interface (93).

D'autres enzymes lipolytiques, comme la cholestérol estérase (CEL), la lipase pancréatique apparentée de type 2 (PLRP2) et la carboxylester hydrolase pancréatique (CEH) participent à l'hydrolyse des TAG, ainsi qu'à d'autres lipides alimentaires (93).

Les PL, eux, ne sont pas hydrolysés par la lipase gastrique. Leur digestion commence dans l'intestin grêle, où ils sont hydrolysés majoritairement par des **phospholipases A₂ (PLA₂)**, mais également par des phospholipases A₁ (PLA₁), qui agissent en position sn-2 et sn-1 des PL respectivement afin de libérer un lyso-PL et un AGL (98). Ils sont également hydrolysés par d'autres enzymes, telles CEH et PLRP2, dont l'activité a été décrite comme ressemblant à celle de PLA₁ (99).

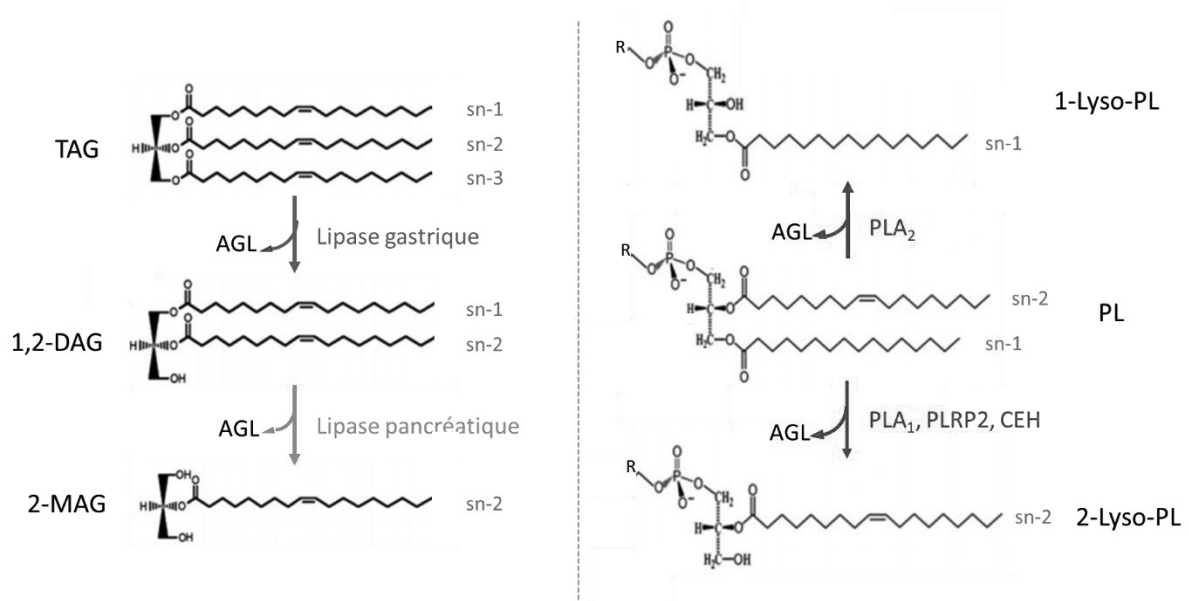


Figure 11. Les différentes hydrolyses des TAG et des PL alimentaires.

(Adapté de Carrière et al. 2013)

Les lipides digérés sont par nature insolubles dans l'environnement aqueux du TGI. Leur transport nécessite la formation de **micelles** qui augmentent leur solubilité et facilitent leur captage par les entérocytes. Ces structures micellaires sont rendues possible par la présence de

sels biliaires, de PL endogènes et exogènes et d'autres molécules amphiphiles, qui forment leur couche extérieure. La micellisation des lipides permet d'augmenter la surface nécessaire à leur hydrolyse par les enzymes digestives et facilite ainsi leur captage par les entérocytes. Cette étape est primordiale dans la digestion des AG à longue chaîne et peut être considérée comme l'étape limitante de leur absorption (95,100). Les AG à chaînes courte et moyenne sont, quant à eux, plus solubles dans le milieu aqueux du TGI et peuvent être directement absorbés par les entérocytes (101).

2. Absorption intestinale des lipides

a. Captage des acides gras : diffusion passive et/ou facilitée ?

Les lipides micellisés atteignent alors la partie apicale des cellules entérocytaires. A ce niveau, les microvillosités des entérocytes, le mucus et le glycocalix, un réseau de glycoprotéines hydrophiles, forment une fine couche d'une épaisseur ≤ 500 micromètres que l'on nomme **couche d'eau non agitée**. Ce microenvironnement particulier est caractérisé par un gradient de pH acide dû à la présence de pompes à protons localisées au niveau des membranes apicales (102). En traversant cette couche, les AG sont alors soumis à un pH de plus en plus faible. Lorsque le pH de la lumière intestinale devient inférieur au pKa des AG, ces derniers sont protonés et se dissocient des micelles. Le captage des AG par les entérocytes se fait alors par deux mécanismes qui ont longtemps été débattus au sein de la communauté scientifique. On considère aujourd'hui que, lors d'une importante charge en lipides, comme c'est le cas en période postprandiale, le captage entérocytaire des AG se fait majoritairement par **diffusion passive** (101–103). En effet, la diffusion passive, système de transport à forte capacité mais à faible affinité, est particulièrement bien adaptée à une forte charge en lipides. Cela évite que le captage des AG ne devienne un facteur limitant dans leur absorption intestinale suite à un repas. Lorsque la concentration en lipides présents dans la lumière intestinale est inférieure à celle des cellules (en situation de jeûne ou à jeun), le transport transmembranaire des AG devient saturable et se fait alors par **diffusion facilitée**, dépendante de certaines protéines membranaires à haute affinité pour les AG à longue chaîne. Certains scientifiques suggèrent que ce mécanisme permettrait de limiter la perte d'AG essentiels lorsque la concentration en lipides est faible (103). La coexistence de ces deux mécanismes de diffusion facilitée et passive, mise en évidence chez le rat par Chow et Hollander en 1979 (104), est maintenant reconnue par la plupart des scientifiques.

Plusieurs protéines localisées au niveau des membranes apicales des entérocytes ont été décrites comme étant impliquées dans l'absorption des lipides. Nous ne nous n'attarderons pas ici sur une liste exhaustive de celles-ci et ne mentionnerons que les plus connues :

- **CD36** (Cluster determinant 36) est une glycoprotéine transmembranaire dont la taille varie entre 75 et 88 kDa (105). CD36 est exprimé de manière ubiquitaire, mais se trouve notamment dans les tissus caractérisés par un métabolisme lipidique intense, tels le tissu adipeux, les muscles cardiaques et l'intestin (101). Au niveau intestinal, il est majoritairement exprimé au niveau des villosités du duodénum et du jéjunum, sites majeurs de l'absorption des lipides (106). S'il joue un rôle clé dans le transport facilité des lipides dans les tissus périphériques (107), sa contribution dans l'absorption intestinale des lipides demeure plus controversée (108–110). Cependant, des études effectuées chez l'Homme (111) et chez des souris déficientes en CD36 (112) ont révélé des anomalies tant au niveau du métabolisme lipidique qu'au niveau du captage des lipides dans différents tissus, ce qui lui infère un rôle important dans l'absorption des lipides. CD36 a également été décrit comme étant impliqué dans la perception du goût du gras (113), la sécrétion des chylomicrons et la régulation de la prise alimentaire (105).
- **FATP4** (fatty acid transport protein 4) est une protéine cytosolique de 63kDa exprimée majoritairement au niveau du réticulum endoplasmique (RE) du jéjunum (114). Cette protéine a d'abord été localisée au niveau des membranes apicales des entérocytes et considérée comme indispensable dans l'absorption des lipides en tant que transporteur des AG (115,116). Il est maintenant reconnu qu'elle n'agit pas en tant que transporteur, mais qu'elle facilite la diffusion passive des AG à longue chaîne de manière indirecte via des réactions d'estérification et une activité endogène d'acyl-CoA synthétase (116,117).

Il est tout de même important de souligner que d'autres protéines membranaires impliquées dans le trafic intestinal des lipides existent, tels le scavenger receptor class B type 1 (SR-B1) et la cavéoline-1 (Cav-1) (110,118). Plus récemment, le rôle important de la lysophosphatidylcholine acyltransférase 3 (LPCAT3) dans l'absorption des lipides a également été souligné (119).

Concernant les lysoPL provenant de la lipolyse des PL biliaires et exogènes, leur captage entérocytaire ne dépend pas de ces protéines et se fait entièrement par diffusion passive (120). Par ailleurs, des études *in vitro* utilisant des cellules intestinales humaines, les Caco2, ainsi que des études chez le rat ont démontré qu'une quantité non-négligeable de PL non-hydrolysés serait directement absorbée dans l'entérocyte par diffusion passive (121,122).

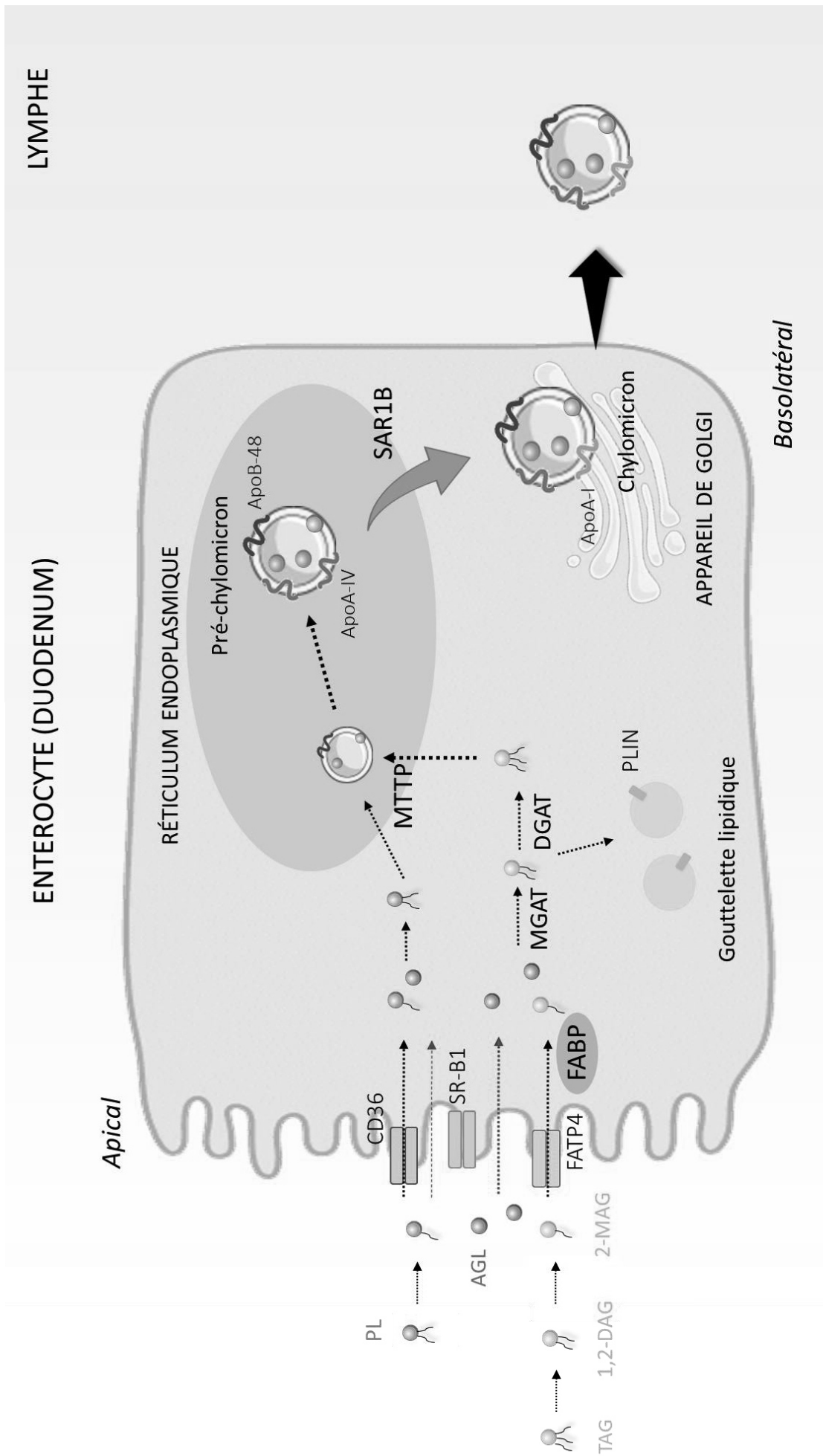


Figure 12. Schéma représentant l'absorption des différents lipides alimentaires au niveau entérocytaire.

a. Resynthèse intracellulaire des lipides absorbés

i. Les MAG et AGL

Indépendamment du procédé de leur captage, les dérivés lipidiques arrivent alors dans le cytosol des entérocytes. A ce niveau, la majorité des lipides sont pris en charge par deux transporteurs cytosoliques : l'**I-FABP** (intestinal-fatty acid binding protein, ou FABP2) et la **L-FABP** (liver-fatty acid binding protein, ou FABP1). Les AG à chaînes courte et moyenne, quant à eux, ne requièrent pas ces protéines de transport et peuvent rejoindre directement la circulation sanguine pour atteindre le foie, où ils seront oxydés ou incorporés dans des very low density lipoproteins (VLDL) (103).

Bien que semblables, ces deux protéines diffèrent de par leur structure et leur mode d'action :

- L'I-FABP ne se lie qu'à un seul AGL et requiert une interaction de collision pour transférer les AG aux organites cellulaires.
- La L-FABP, elle, peut fixer deux AG, se lie aussi bien aux AG qu'aux MAG, lyso-PL, cholestérol et sels biliaires, et agit par simple diffusion. Alors que chez le rongeur, elle est autant exprimée qu'I-FABP, elle prédomine chez l'Homme (123).

Ces deux FABP ont pour rôle de transporter les AG vers les différents organites cellulaires, où des acyl-CoA synthétases (ACS) présentes au niveau des membranes les activent en les transformant en acyl-CoA. Ainsi activés, ils peuvent suivre deux voies métaboliques différentes : l'estérification en TAG au niveau du RE ou l'oxydation au niveau des mitochondries (101).

En période postprandiale, la voie de ré-estérification des acyl-CoA dans le RE domine. Cette voie permet la synthèse des TAG et peut, elle-même, être réalisée via deux voies différentes (**Figure 13**):

- **La voie des 2-MAG** est spécifique à l'intestin grêle et prépondérante en période postprandiale, où elle est responsable de la synthèse de près de 80% des TAG (124). Elle consiste en la ré-estérification d'un 2-MAG avec un acyl-CoA, qui génère un 1,2-DAG puis un TAG via deux acylations successives par des monoglyceride acyltransférases (MGAT, surtout MGAT2 chez l'Homme) et les diglyceride acyltransférases 1 et 2 (DGAT1 et DGAT2).

- **La voie du glycéro-3-phosphate (G3P)** est minoritaire en période postprandiale, mais devient dominante en période interprandiale lorsque la concentration en 2-MAG diminue. Lors de l'utilisation de cette voie, les TAG sont synthétisés à partir d'un glycéro-3-phosphate par l'action successive de plusieurs enzymes, la glycérophosphate acyltransférase (GPAT), l'acylglycerol-phosphate-O-acyltransférase (AGPAT), la phosphatidate phosphohydrolase (PAP) et DGAT1 ou DGAT2.

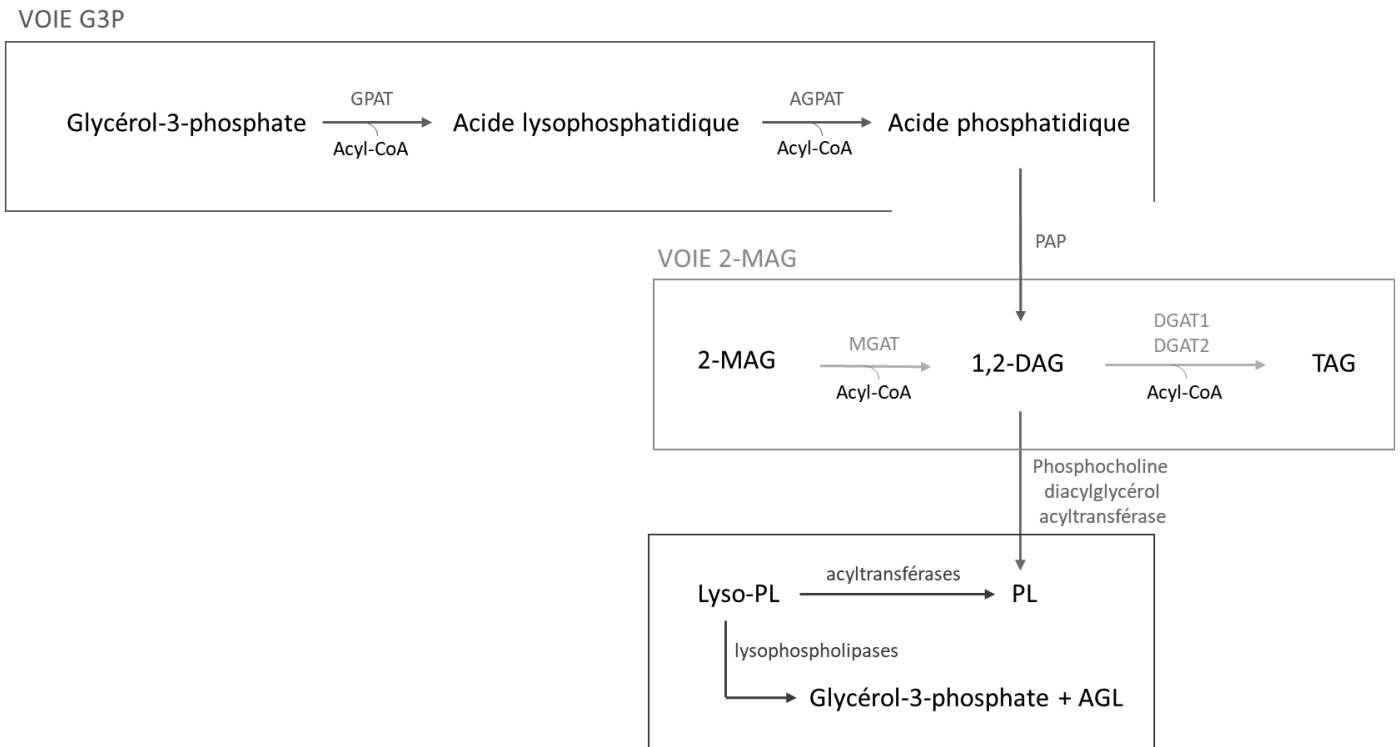


Figure 13. Les différentes voies de synthèse des TAG et des PL au sein des entérocytes.

Il est important de noter que le devenir des TAG au sein de l'entérocyte varie selon si leur synthèse a été catalysée par DGAT1 ou DGAT2. En effet, les TAG générés par DGAT1 seront incorporés dans les lipoprotéines, alors que ceux obtenus par DGAT2 seront préférentiellement stockés sous forme de gouttelettes lipidiques cytoplasmiques (118).

Dans les deux voies de synthèse (2-MAG et G3P), les DAG obtenus peuvent également être transformés en PL par l'action de la phosphocholine diacylglycérol-acyltransférase (**Figure 13**).

ii. Les Lyso-PL

Les lyso-PL résultant de l'hydrolyse des PL endogènes et exogènes sont majoritairement ré-estérifiés en PL via l'action d'acyltransférases, telle la LPCAT3 qui catalyse la réacylation de la lysoPC en PC (**Figure 13**). Cette ré-estérification des lysoPL en PL au niveau du RE a été démontrée comme étant une étape indispensable et limitante pour le transport intracellulaire des lipides (125). La lysoPC peut également être hydrolysée par une lysophospholipase afin de générer un AGL et une molécule de glycéro-3-phosphorylcholine, qui sera directement transportée au foie par la voie portale (37). L'AGL obtenu sera alors utilisé pour former un TAG via l'une des deux voies métaboliques décrites ci-dessus.

Les lipides ainsi synthétisés dans le RE sont ensuite soit incorporés dans des lipoprotéines, majoritairement les chylomicrons (CM) en phase postprandiale, soit stockés sous forme de gouttelettes lipidiques cytoplasmiques. Nous aborderons d'abord leur incorporation dans les CM, puis leur stockage au sein des gouttelettes lipidiques.

b. Synthèse et sécrétion des chylomicrons

Après un repas, environ 90% des lipides alimentaires sont absorbés puis incorporés dans des lipoprotéines sphériques riches en **apolipoprotéine B48 (apoB48)**, les CM (103). La sécrétion et l'assemblage des CM se déroulent en plusieurs phases. Tout d'abord, les TAG, PL, le cholestérol et les esters de cholestérol néosynthétisés dans l'entérocyte s'assemblent et sont transférés vers la lumière du RE rugueux à l'aide d'une enzyme hétéromère, la microsomal triglyceride transfer protein (**MTTP**). Cette protéine est non seulement responsable du transport des lipides de la membrane du RE vers l'apoB48, mais permet également le repliement et l'activation de cette dernière en se liant à son extrémité N-terminale (126,127). L'ajout de lipides à l'apoB48 permet sa libération dans la lumière du RE lisse sous forme de particules pauvres en TAG, les CM primordiaux (128). L'apoB48 est ainsi caractéristique des CM, qui ne contiennent chacun qu'une seule molécule d'apoB48. Ces derniers fusionnent ensuite avec des gouttelettes lipidiques formées indépendamment dans le RE lisse, s'enrichissant en TAG, PL et esters de cholestérol pour devenir des pré-chylomicrons. Les TAG et autres lipides hydrophobes tels que les esters de cholestérol et les vitamines liposolubles forment le cœur de ces lipoprotéines, alors que les lipides polaires tels que les PL ou le cholestérol libre constituent la couche extérieure. Cette distribution des lipides au sein des CM est importante. Les AG présents en position sn-2 des PL alimentaires qui ont été majoritairement hydrolysés par les PLA₂, puis absorbés sous forme d'AGL, peuvent aussi bien intégrer le cœur des CM sous forme

de TAG, que la couche extérieure des CM sous forme de PL. Or, les AG situés en position sn-1 des PL alimentaires ont été majoritairement absorbés sous forme de Lyso-PL et directement incorporés dans les PL et donc la couche extérieure des CM. Cette différence de distribution jouera un rôle clé dans leur devenir métabolique. A ce stade, les pré-CM peuvent se lier à d'autres apolipoprotéines, comme ApoIV. Ils sont ensuite transportés vers la partie *cis* de l'appareil de Golgi à l'aide de vésicules de transport, les prechylomicron transport vesicles (PCTV) et sous l'action de SAR1B (Secretion Associated Ras Related GTPase 1B) (128,129). A ce niveau, les pré-CM subissent des modifications supplémentaires, telles que l'ajout d'apoAI et la glycosylation de l'apoB48. Les CM fusionnent alors avec la membrane basolatérale de l'entérocyte et gagnent, par exocytose, la circulation lymphatique. Ils rejoignent ensuite la circulation sanguine via le canal thoracique, où ils acquièrent de nouvelles apolipoprotéines, telles que l'apoE, apoCI, CII et CIII, qui seront indispensables pour leur métabolisme.

Si l'absorption des TAG dépend entièrement de leur incorporation dans des CM, les PL, le cholestérol et la vitamine E peuvent également être incorporés dans des high-density lipoproteins, les **HDL** (128). Cette voie minoritaire dépend non pas de MTP, mais d'ATP-Binding Cassette A1 (ABCA1), et peut être stimulée par des agonistes du liver X receptor (LXR). 20% des PL intestinaux seraient ainsi directement incorporés dans les HDL (130). A moindre degré, l'intestin est également capable de sécréter des VLDL, mais cette sécrétion n'a réellement lieu qu'en période de jeûne (131).

3. Stockage des lipides sous forme de gouttelettes lipidiques

Lorsqu'ils ne sont pas incorporés dans des lipoprotéines, les lipides peuvent être stockés au sein des entérocytes sous forme de gouttelettes lipidiques (CLD, pour **cytosolic lipid droplets** en anglais). Ces CLD ont une structure similaire à celle des CM, mais sont généralement de plus grande taille et contiennent de nombreuses protéines au niveau de leur couche extérieure, dont les plus importantes font partie de la famille des périlipines (PLIN) (103). Les CLD se concentrent principalement dans le cytosol des entérocytes, au niveau de leur partie apicale (128). Après un repas, elles permettent de stocker transitoirement une certaine proportion de lipides alimentaires excédentaires. En effet, il a été démontré que la taille et le nombre de ces entités lipidiques augmentent suite à un repas, puis diminuent au bout d'une heure environ (132).

A ce jour, les mécanismes de biosynthèse des CLD ne sont pas encore entièrement élucidés. Cependant, on sait qu'elle a lieu au niveau de la membrane du RE, où les gouttelettes néoformées sont ensuite transportées vers le cytosol (133). En période de jeûne, les lipides

stockés au sein de ces gouttelettes sont mobilisés pour former des TAG, ce qui provoque la sécrétion de néochylomicrons et une augmentation de la lipémie. Cette mobilisation aurait également lieu suite à l'ingestion d'un second repas. En effet, l'apparition de TAG dans la circulation sanguine a été observée entre 10 et 30 minutes après un repas, ce qui précède largement le pic de lipémie postprandiale qui débute entre 2 et 3h après la prise alimentaire (134). Ces données suggèrent que les CLD exercent un rôle de stockage transitoire des lipides qui permet à la fois d'assurer un apport en lipides en période de jeûne et d'optimiser l'absorption lipidique en période postprandiale.

Par ailleurs, les CLD sont dès lors reconnus comme des organelles dynamiques dont l'importance physiologique dépasse leur simple rôle de stockage. Elles seraient ainsi impliquées dans d'autres procédés, tels le métabolisme des lipides et l'inflammation (103,135).

4. Devenir post-absorptif des lipides

Nous avons vu jusqu'ici comment les différents lipides alimentaires sont digérés, absorbés puis trafiqués au niveau des cellules entérocytaires. A ce niveau, en phase postprandiale, la majorité des lipides rejoint ensuite la circulation lymphatique sous forme de CM. Cependant, certains AG à chaînes courte et moyenne ne passent pas par cette voie et sont directement absorbés et relâchés dans la circulation sanguine par la veine porte. Or, ces différents acheminements ont des conséquences importantes sur le devenir métabolique de ces lipides. En effet, en passant par la voie lymphatique, les lipides peuvent être acheminés vers tous leurs tissus cibles pour y être absorbés avant d'être métabolisés par le foie. Ceci n'est pas le cas de la voie portale, où les lipides atteignent directement le foie sans passer en amont par les autres tissus périphériques.

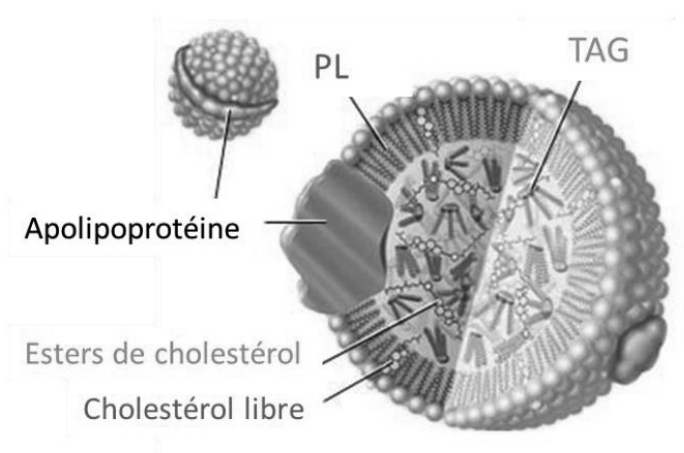


Figure 14. Structure générale d'une lipoprotéine (adapté de (136)).

Les lipides neutres (TAG, esters de cholestérol) sont indiqués en orange, les lipides polaires sont, eux, en bleu.

La lymphe et le sang représentent tous les deux des milieux aqueux. Dans ces deux compartiments, le transport des lipides, de nature hydrophobe, se fait à l'aide de structures macromoléculaires complexes, les **lipoprotéines (Figure 14)**. Comme mentionné précédemment, en phase postprandiale, les CM représentent la vaste majorité des lipoprotéines sécrétées. Les CM sont métabolisés rapidement : leur demi-vie est en effet très courte, de l'ordre de 5 minutes (137). Leur catabolisme se fait en deux étapes successives :

- Premièrement, leurs TAG sont hydrolysés par la **lipoprotéine lipase (LPL)**, ce qui engendre des remnants de CM, des particules plus petites, plus denses et dont la majorité des TAG a été perdue (137). Une partie des PL contenus dans la couche extérieure des CM-remnants est hydrolysée par des lipases endothéliales, dont l'activité ressemble à celle des PLA₁ (138).
- Une petite partie de ces remnants est ensuite captée par les tissus périphériques, tels que le cœur, les muscles et le tissu adipeux pour utilisation ; l'autre, plus importante, est rapportée au niveau du foie, après liaison de l'ApoE à des récepteurs spécifiques (139). Au niveau hépatique, ces lipides sont soit catabolisés, comme source d'énergie, ou réintégrés dans des lipoprotéines, tels que les VLDL.

Il est important de noter que la composition et la taille des CM jouent un rôle important dans la lipémie et le métabolisme postprandial des lipides (140). En effet, pour un même contenu lipidique, les CM de petite taille sont moins facilement hydrolysés par la LPL que des CM plus grands et leur clairance de la circulation est ainsi plus longue (141). Il en va de même pour la nature des AG qui composent la couche extérieure des CM. Les CM comportant des PL riches en AGPI sont plus rapidement hydrolysés et clairés de la circulation, que ceux comportant des AGS (142). Ceci se doit à un effet d'encombrement stérique qui facilite ou non l'accès des enzymes digestives à l'interface des CM.

La digestion, l'absorption des lipides, ainsi que leur incorporation dans les lipoprotéines circulantes dépendent ainsi de leur forme d'apport. Les différents lipides atteignent alors leurs tissus cibles, où ils sont, pour la plupart, soit utilisés comme source d'énergie, sous forme d'ATP, soit stockés sous forme de TAG, afin de servir de réserve lipidique. Les lipides sont en effet les macronutriments les plus énergétiques de notre alimentation, avec une enthalpie molaire de 9 kcal/g (143). Nous avons déjà vu dans la première partie les différents devenir de l'ALA : beta-oxydation, recyclage d'AG ou conversion en AGPI-LC. L'ALA, comme de nombreux lipides, peut également être stocké sous forme de TAG au niveau du tissu adipeux.

5. Stockage des lipides dans le tissu adipeux et inflammation de bas-grade

a. Le tissu adipeux blanc : un organe complexe aux fonctions multiples

Le **tissu adipeux** (TA) blanc est un tissu conjonctif lâche, constitué à plus de 90% de lipides, ce qui en fait le principal lieu de **stockage des lipides**, et par conséquent la principale réserve énergétique, de l'organisme. (144). Il existe plusieurs catégories de dépôts du TA : le **TA viscéral** (intra-abdominal), le **TA sous-cutané**, et le TA ectopique, qui se situe au niveau des tissus périphériques (145). Chaque dépôt se caractérise par une morphologie, une localisation et une fonctionnalité distinctes (146,147).

Le TA est majoritairement composé de cellules types, les **adipocytes**, qui stockent l'énergie sous forme de TAG et la restituent selon les besoins de l'organisme, sous l'action de l'insuline ou du glucagon. Le TA contient également de nombreux autres types cellulaires : pré-adipocytes, cellules souches multipotentes ou « stem cells », fibroblastes, cellules immunitaires (macrophages, lymphocytes, éosinophiles) et cellules vasculaires (148). Ainsi, longtemps considéré comme un simple organe d'entreposage d'énergie excédentaire, le TA est dès lors reconnu comme étant un organe dynamique et complexe, aux fonctions physiologiques multiples (149). Il possède notamment une **fonction endocrine** importante, de par sa capacité à sécréter de nombreuses protéines, hormones et cytokines, qui constituent collectivement les **adipokines** (149). Ces molécules bioactives peuvent agir localement ou au niveau systémique, ce qui leur infère à la fois des fonctions autocrines, paracrines et endocrines. Plus de 50 adipokines ont été identifiées à ce jour (150). Parmi les plus connues, l'on peut citer la **leptine**, qui se comporte comme une hormone de satiété (151,152), et l'adiponectine, qui joue un rôle essentiel dans la sensibilité à l'insuline (153). De par leur diversité, les adipokines influencent de nombreux processus physiologiques et physiopathologiques. Ainsi, outre son rôle de réserve énergétique, le TA est impliqué dans l'homéostasie alimentaire, la régulation métabolique, mais aussi le contrôle de la pression sanguine, l'hémostase, la régulation de la masse osseuse et la reproduction (144). Le TA joue également un rôle important dans **l'inflammation et l'immunité**. En effet, les adipocytes et les cellules immunitaires du TA, notamment les macrophages, sont capables de produire des cytokines et des chimiokines pro- et anti-inflammatoires, telles que TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-10, et Monocyte Chemo-attractant Protein-1 (MCP-1) (144,149,150).

b. Organe cible de l'obésité et de l'inflammation de bas-grade

L'OMS définit l'obésité comme une accumulation anormale ou excessive de TA représentant un danger pour la santé (154). En effet, en situation d'obésité, la morphologie et les fonctions du TA sont altérées (149). Ainsi, l'obésité est non seulement associée à une augmentation du

nombre (hyperplasie) et de la taille (hypertrophie) des adipocytes, mais également à un dysfonctionnement du TA, une infiltration de macrophages et une augmentation de la sécrétion d'adipokines, telles que la leptine, et de cytokines pro-inflammatoires, telles que TNF α , IL-6 et MCP-1, qui collectivement entraînent le développement d'une **inflammation chronique de bas-bruit** (155). De par leur action endocrine, ces adipokines atteignent la circulation systémique et engendrent des dérèglements métaboliques au niveau des tissus, contribuant ainsi à la mise en place d'une insulino-résistance et de comorbidités liées à l'obésité (156). Ces phénomènes font du TA blanc un organe central dans le développement de l'inflammation chronique de bas-grade, caractéristique de l'obésité et de maladies métaboliques.

Néanmoins, plusieurs facteurs peuvent impacter l'état inflammatoire du TA et son implication dans les désordres métaboliques. Premièrement, il existe une hétérogénéité de la répartition du TA blanc : certains individus seraient plus prédisposés à une obésité viscérale, dite « androïde » ; d'autres, à une obésité « gynoïde », liée à une accumulation de TA sous-cutané au niveau glutéofémoral, *i.e.* de la hanche et des cuisses (157). Or, le TA viscéral est plus athérogène que le TA sous-cutané : il entraîne des dérégulations du métabolisme lipidique et favorise le développement d'un profil pro-thrombotique et pro-inflammatoire (158,159). Ainsi, l'obésité viscérale est un facteur de risque des MCV trois fois plus important que l'obésité gynoïde (160). Par ailleurs, la nature des lipides alimentaires peut également moduler la composante inflammatoire du TA. Ainsi, il a été démontré chez l'animal que les AGS et les AGPI n-6 peuvent induire une inflammation au niveau du TA et ce via l'activation du récepteur de type Toll 4 (TLR4) (161–163). A *contrario*, plusieurs études chez l'animal ont observé que la supplémentation en AGPI n-3 engendre des effets anti-inflammatoires bénéfiques, en inhibant l'expression génique et la sécrétion de certaines cytokines pro-inflammatoires, comme TNF α , IL-6 et MCP-1 (164–167). Les AGPI n-3 exerceraient également des effets anti-obésogènes (168,169), *e.g.* via leur effet sur le TA viscéral (165).

De ce fait, la nature des lipides alimentaires influence non seulement la manière dont ils sont digérés, absorbés, puis incorporés dans leurs tissus cibles, mais module également les effets biologiques et inflammatoires qu'ils y exercent. Entre autres, les **effets protecteurs des AGPI n-3 vis-à-vis de l'inflammation du TA**, soulignent l'importance d'augmenter leur apport au sein des populations occidentales, à haut risque d'obésité et de maladies métaboliques et inflammatoires associées.

IV. Biodisponibilité des lipides : définition et modulation

L'ensemble des différents processus de digestion, d'absorption, de distribution et de métabolisme par les cellules utilisatrices, décrits ci-dessus, constitue la **biodisponibilité** d'un lipide. *In fine*, la biodisponibilité d'un lipide représente la fraction totale de ce nutriment qui est digérée et assimilée par l'organisme (on parle de bio-accessibilité), où il peut ainsi engendrer la réponse physiologique escomptée. Du fait des nombreuses étapes impliquées, la biodisponibilité d'un lipide peut être modulée par de multiples facteurs. Sans prétendre à l'exhaustivité, les paragraphes suivants s'attacheront à en décrire les principaux facteurs, qui sont notamment : la nature de l'AG, sa distribution au sein de la molécule vectrice, la nature et l'état physique de cette molécule, et la structure supramoléculaire dans laquelle il se trouve (36,170–173).

1. Impact de la nature de l'AG

La biodisponibilité d'un AG dépend naturellement de ses propriétés physico-chimiques. En effet, ce sont ces propriétés qui déterminent les caractéristiques de l'interface lipidique où se déroule l'hydrolyse digestive. Elles vont donc avoir un impact conséquent sur la digestion et l'absorption des lipides. Plus spécifiquement, la longueur de la chaîne carbonée et le nombre de doubles liaisons des AG peuvent engendrer des différences dans leur hydrolyse et leur bio-accessibilité. Ainsi, les AG estérifiés en positions externes des TAG dont la chaîne carbonée est courte ou moyenne sont plus rapidement hydrolysés que ceux dont la chaîne est longue (174). Ceci se doit à un effet d'encombrement stérique, qui bloque l'accès aux lipases digestives. Une fois hydrolysés par les lipases, les AG libérés dans la lumière intestinale peuvent alors être incorporés au sein de micelles pour être ensuite absorbés au niveau des entérocytes. Toutefois, certains AG peuvent également former des savons insolubles avec les cations divalents présents dans la lumière intestinale, notamment du calcium, ce qui entraîne leur élimination dans les selles. Or cette capacité à former des savons, et donc d'être excrétés au lieu d'être absorbés, dépend de la taille et du nombre de double-liaisons de leurs chaînes carbonées. Ainsi, les AG saturés à longue chaîne sont particulièrement à même de former ces savons calciques (175,176) : leur biodisponibilité serait ainsi plus faible que d'autres AG.

Par ailleurs, les AG à chaînes courte et moyenne ne sont pas micellisés dans la lumière intestinale, mais sont absorbés directement par voie passive pour rejoindre la circulation sanguine. De ce fait, ils induiraient une lipémie postprandiale plus faible que les AG à longue chaîne. Le degré de saturation des chaînes lipidiques pourrait également impacter leur biodisponibilité. Certaines études suggèrent que les AGPI et AGMI induisent des réponses postprandiales plus faibles que les AGS (177,178). Cependant, d'autres études ont observé

aucune différence entre les AGS, AGMI et les AGPI. Dans une étude postprandiale menée chez des femmes saines, la consommation d'huile riche en ALA, d'huile d'olive, riche en acide oléique, ou de beurre n'a entraîné aucune différence au niveau de la lipémie postprandiale (179).

2. Impact de la position des AG au sein de leur vecteur moléculaire

Lorsqu'un AG se présente sous forme de TAG ou de PL, la position qu'il occupe sur la molécule de glycérol est un facteur déterminant de sa bio-accessibilité. Ceci prend tout son sens lorsqu'on considère les spécificités régiosélectives des enzymes digestives chez les mammifères.

En ce qui concerne les TAG, comme nous l'avons vu dans la partie §III.1., les lipases gastriques et pancréatiques hydrolysent de manière préférentielle les positions externes (sn-1 et sn-3) des TAG par rapport à la position interne (sn-2) (180,181). Or, il a été démontré que les AG étaient plus efficacement et plus rapidement absorbés lorsqu'ils étaient véhiculés sous forme de 2-MAG que d'AGL (182,183), et qu'ils étaient majoritairement (>75%) restitués à cette position dans les TAG des CM (184). Les AG situés en position interne seraient alors mieux absorbés que ceux en positions externes, et leur configuration serait conservée au sein des lipoprotéines. C'est ainsi qu'il a été montré chez le rat que la consommation de saindoux, dont les AGS sont positionnées principalement en position interne des TAG, induisait une augmentation de l'absorption de ces AG au bout de 8 et 24 heures, par rapport à la consommation d'huile de palme ou de beurre de cacao, où ils sont situés préférentiellement en positions externes (185).

Ces observations dans les matières grasses naturelles ont donné naissance aux TAG structurés, c'est-à-dire à des TAG synthétiques, dont la nature et la position des AG ont été contrôlées par inter-estérification chimique ou enzymatique (171). Ce procédé permet de structurer des huiles, en incorporant des AG spécifiques ou en modifiant leur répartition au sein des TAG. Il est ainsi possible, par exemple, d'augmenter la part des AG estérifiés en position interne afin d'améliorer leur absorption. Chez le rat, l'utilisation de TAG structurés contenant de l'EPA et du DHA en position sn-2 a ainsi permis d'augmenter l'absorption et l'incorporation de ces AGPI n-3 dans les CM lymphatiques, aussi bien en conditions physiologiques normales (186,187) qu'en conditions pathologiques (188,189).

La structure intramoléculaire des TAG dans les lipoprotéines, et notamment les CM, influence de manière non-négligeable leur devenir métabolique (190). Tout comme les lipases gastrique et pancréatique, la LPL possède une préférence stéréosélective pour les AG en position sn-1 et sn-3. Par conséquent, un AG en position sn-2 est préférentiellement transporté vers le foie en tant que remnant de CM qu'incorporé dans les tissus périphériques. Environ 73% des TAG provenant des remnants de CM seraient ainsi incorporés dans les TAG néosynthétisés des

VLDL hépatiques (191). De plus, un AG situé en position interne serait moins disponible comme substrat de β -oxydation, et donc plus biodisponible (192). Par ailleurs, l'hydrolyse par la LPL et donc la clairance des lipoprotéines dans le plasma serait plus lente lorsqu'un AGS tel que l'acide stéarique ou l'acide palmitique se situe en position sn-2 (193,194). Ainsi, l'effet athérogène des AGS serait augmenté lorsque ceux-ci sont présents en position interne des TAG, puisqu'ils seraient à la fois mieux absorbés et engendreraient une clairance plus tardive des CM plasmatiques et donc une lipémie prolongée (195).

La conservation de la structure intramoléculaire des TAG lors de leur incorporation dans les lipoprotéines et notamment les CM n'est pas encore totalement comprise et semble dépendre de la nature de l'AG. Pour les AGS, la position sn-2 a été décrite comme étant majoritairement conservée (>85%) lors de leur absorption et incorporation dans les CM (196). En ce qui concerne les AGPI, Boulos et Combe ont montré que la position de l'ALA dans les CM lymphatiques était conservée lorsque l'ALA était réparti de façon homogène sur le TAG, mais que cette conservation était partielle lorsqu'il était majoritairement apporté en position sn-2 (50-60%), comme c'est le cas dans l'huile de colza (197). Cette distribution des AGPI au cours de la resynthèse entérocytaire implique la coexistence de plusieurs mécanismes : à la fois l'hydrolyse des 2-MAG par des lipases dans la lumière intestinale, et une isomérisation des 2-MAG au sein de l'entérocyte (100).

Cependant, si l'impact de l'estérification des AG sur le glycérol sur l'absorption et la lipémie postprandiale, a bien été démontré chez le nouveau-né et chez l'animal, les effets chez l'Homme adulte sont plus controversés (198–202).

Contrairement aux TAG, il existe peu de données concernant l'impact de la position des AG au sein des PL sur leur digestion et, par conséquent, leur absorption (171). La majorité des PL alimentaires sont hydrolysés par les PLA₂, qui lysent uniquement les AG estérifiés en position sn-2. Les AG situés en position sn-1 sont alors absorbés sous forme de lyso-PL et ceux situés en sn-2, sous forme d'AGL. Malgré que ces deux formes de lipides soient absorbées dans l'entérocyte de manière passive, l'on peut supposer qu'il existe des différences dans leur vitesse ou taux d'absorption. Par ailleurs, comme nous l'avons vu dans la partie §III.2.b.ii., leur devenir métabolique diffère, ce qui impacte de manière significative leur biodisponibilité. De futures études sont nécessaires afin d'étudier ces hypothèses.

3. Impact des propriétés thermiques des AG

La modulation de la biodisponibilité des lipides chez l'Homme adulte semble d'avantage corrélée aux propriétés thermiques des lipides, qu'à la distribution de leur AG au sein des

lipides. Plus la chaîne carbonée d'un AG est longue et saturée, plus son point de fusion (température de transition entre l'état solide et l'état liquide) est élevé, comme c'est le cas des acides palmitique et stéarique, par exemple. La proportion de matière grasse solide (souvent dénommé SFC pour « solid fat content » en anglais) d'une matière grasse dépend alors de la nature des AG qu'elle contient. Or, plus ce taux est élevé à température corporelle, à 37°C, moins les lipides contenus dans ces matières grasses sont hydrolysés par les enzymes digestives, et moins ils sont absorbés (200). Bonnaire et al. ont notamment démontré *in vitro* que les cinétiques et taux d'hydrolyse par les lipases pancréatiques sont plus faibles pour une émulsion contenant de l'acide palmitique totalement solide, que pour une émulsion similaire dont les TAG sont présents sous forme liquide (203). De même, les matières grasses contenant les acides stéarique ou palmitique ont un SFC élevé à 37°C, et sont ainsi faiblement absorbés (195,198). Ces effets se traduiraient alors par une faible lipémie postprandiale, comme cela a été démontré chez l'Homme par Sanders et al. (204). Une seconde étude mise en place par l'équipe de Sanders a démontré que les matières grasses solides contenant un acide palmitique en position sn-2 induisaient une plus faible lipémie que des huiles liquides (205). Ainsi, la proportion de matière grasse solide, ou SFC, à 37°C paraît être un élément bien plus déterminant dans la modulation de la lipémie postprandiale que la distribution des AG au sein des lipides. De plus, ces propriétés thermiques influencent la cristallisation et le polymorphisme des lipides alimentaires, qui, à leur tour, modulent l'absorption et biodisponibilité des AG qu'ils contiennent (206,207).

4. Impact de la nature de la molécule vectrice

Au-delà de la nature même des AG, il est dès lors reconnu que la nature de leur molécule vectrice est également un facteur déterminant de leur biodisponibilité. Les AG alimentaires se présentent sous diverses formes, que ce soit sous forme libre (AGL) ou portés par des TAG, des PL, des DAG, des MAG ou des esters éthyliques (EE). Depuis quelques années, de multiples travaux ont été menés afin de comparer ces différentes formes d'apport (130,208–211). Hamazaki et al. a ainsi montré chez le rat que les AGPI-LC n-3 administrés sous forme d'EE étaient mieux incorporés dans les lipides plasmatiques, que lorsqu'ils étaient apportés sous forme de TAG ou de PL (212). *A contrario*, une étude récente chez l'Homme a démontré que l'incorporation de l'EPA et du DHA dans les lipides plasmatiques était similaire qu'ils soient apportés sous forme d'AGL, d'EE ou de TAG naturels ou ré-estérifiés (201). Cependant, les auteurs concluent que l'efficacité des vecteurs lipidiques à augmenter la biodisponibilité circulante des lipides pouvait se classer dans l'ordre PC > TAG > AGL. Deux revues récentes portant sur la biodisponibilité des AGPI n-3 LC ont abouti aux mêmes conclusions (211,213).

De ce fait, depuis quelques années, les PL ont fait l'objet d'un intérêt grandissant quant à leur capacité à augmenter la biodisponibilité des AG. De nombreuses études se sont tout particulièrement intéressées aux PL d'origine marine comme vecteurs préférentiels d'EPA et de DHA (214,215). Ces études ont donné lieu à de multiples revues (130,208,210,211,213). Selon Burri et al, les PL marins seraient de meilleurs vecteurs d'EPA et de DHA, comparativement aux TAG (130). Par ailleurs, Ulven et al. a comparé les résultats de 14 études quant à la biodisponibilité de ces AGPI n-3 selon s'ils étaient portés par des TAG via des huiles de poissons, ou par des PL, via de l'huile de krill, naturellement riche en PL (210). Il en a conclu que, même si l'huile de krill semblait avoir un effet promoteur par rapport à une huile de poisson dépourvu de PL, la quantité de données était insuffisante pour confirmer cet effet de manière certaine. L'hétérogénéité de résultats obtenus dans ces différentes études se doit notamment à la difficulté de différencier entre les effets de la nature de la molécule vectrice (PL ou TAG), de la position de l'AG, de la structure supramoléculaire (liposome) et de l'état de dispersion de la matière grasse (206,216). Il semble que l'espèce étudiée, ainsi que la nature de l'AG (EPA, DHA ou AGMI par exemple) aient également un impact (217).

Si l'effet des PL sur la biodisponibilité systémique des lipides n'est pas encore totalement tranché, leur capacité à améliorer l'accrétion des AG dans les tissus cibles commence à être établi. Chez le rat, la vectorisation du DHA sous forme de PL permettrait de favoriser son incorporation en positions sn-1 et sn-3 des TAG lymphatiques, impactant son accrétion tissulaire ainsi que son métabolisme *a posteriori* (218). De même, Cansell et al. a démontré dans deux études que l'incorporation de l'EPA et du DHA dans les lipides plasmatiques et hépatiques était plus efficace lorsqu'ils étaient vectorisés par des PL agencés sous forme de liposomes, par rapport à des TAG (219,220). Ainsi, l'incorporation des AGPI n-3 dans les tissus, tels le cerveau, le foie, le tissu adipeux brun et les muscles, semble être ainsi augmentée lorsqu'il sont apportés sous forme de PL (218,221,222). Les lyso-PL permettraient eux aussi d'augmenter l'accrétion du DHA dans le cerveau (223,224), et ce de manière plus efficace que les PL (225). Si les études sur les AGPI sont majoritaires, d'autres se sont focalisées sur d'autres AG. Wijendran et al. ont démontré chez le babouin que l'acide arachidonique était deux fois mieux incorporé dans le cerveau, le foie, les poumons, le plasma et les érythrocytes, lorsqu'il était apporté sous la forme de PL plutôt que de TAG (226). Cependant, à notre connaissance, à l'heure actuelle, il n'existe aucune étude sur l'impact de la molécule vectrice d'AG essentiels, tels que l'ALA ou le LA, sur leur biodisponibilité. De futures travaux sont nécessaires afin de déterminer ces effets, qui pourraient être d'un atout remarquable dans le cadre de santé publique actuel, caractérisé par une grande déficience en ALA dans la population française.

5. Impact de la structure supramoléculaire : les émulsions

Comme nous l'avons vu dans le premier chapitre, les lipides alimentaires sont rarement consommés seuls. Ils sont incorporés la plupart du temps au sein d'une matrice alimentaire complexe. La structure supramoléculaire et leur agencement au sein de cette matrice influencent énormément leur biodisponibilité. Il est dès lors reconnu qu'une huile émulsifiée est mieux hydrolysée par les enzymes digestives et mieux absorbée qu'une huile brute (172,206,207,227). La taille des gouttelettes lipidiques au sein de ces émulsions impacte énormément l'hydrolyse et l'absorption des lipides. Des études *in vitro*, ainsi que des études chez l'animal et chez l'Homme sain, ont montré qu'une émulsion de granulométrie fine composée de petites gouttelettes lipidiques ($\sim 0,5 \mu\text{m}$), était plus efficacement hydrolysée qu'une émulsion de granulométrie plus grossière ($> 1,5 \mu\text{m}$) (95,228,229). La nature de l'émulsifiant qui stabilise l'interface des gouttelettes joue également un rôle déterminant (230). Dans les aliments transformés, le type d'agent émulsifiant utilisé est extrêmement variable. Il peut être synthétique, comme c'est le cas du polysorbate 80 (PS80), de la carboxyméthylcellulose (CMC), et des mono- et diglycérides d'AG, ou peut provenir de sources naturelles d'origine protéique ou lipidique, comme c'est le cas des lécithines végétales par exemple. Des études *in vitro* ont ainsi observé que l'agent émulsifiant utilisé peut moduler la résistance à la lipolyse des gouttelettes lipidiques : celles stabilisées par des surfactants non-ioniques (Tween 20) seraient plus résistantes que celles formulées avec des PL (lécithines), qui seraient à leur tour plus résistantes que celles stabilisées par des protéines (caséinate et protéines de lactosérum) (231). En effet, les émulsions stabilisées par des protéines seraient moins stables que celles formulées avec des PL, compte tenu de l'action des protéases gastriques présentes au niveau de l'estomac (232–234). Ceci impacterait par la suite les vidanges gastrique et biliaire, la lipémie et la satiété postprandiales, et donc également la biodisponibilité des lipides (235). De nombreux travaux ont été consacrés à l'impact de la nature de l'agent émulsifiant et plus globalement de la structure supramoléculaire des lipides sur leur biodisponibilité (170–172,206,207). Nous reviendrons sur l'impact spécifique d'un émulsifiant naturel, les lécithines végétales, sur la biodisponibilité des lipides dans le prochain chapitre. Cependant, indépendamment de la nature des émulsifiants, il a été montré chez l'Homme que la consommation de matière grasse émulsionnée induit un pic de triglycéridémie plus rapide et plus élevé par rapport à son équivalent non-émulsionné, ce qui démontre une absorption facilitée, et donc une meilleure biodisponibilité des lipides (236).

L'ensemble de ces données nous ont ainsi mené à nous intéresser aux lécithines végétales. En effet, ces lipides alimentaires naturels sont à la fois une source riche en PL et en ALA, et sont dotées d'excellentes propriétés émulsifiantes. Le prochain et dernier chapitre sera dédié à la description des lécithines végétales et à leur capacité potentielle à augmenter la biodisponibilité de l'ALA, AG essentiel dont la majorité de la population française est déficiente.

V. Les lécithines végétales : vecteurs préférentiels d'ALA et modulateurs du métabolisme des lipides ?

Conformément à la définition officielle du *Codex Alimentarius* de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et de l'EFSA, les **lécithines** sont des mélanges complexes de lipides d'origine naturelle, composés à plus de 50% de PL (237). Le terme « lécithine » employé tout au long de cette thèse fait référence à cette définition officielle, et non à la seule molécule de PC, comme c'est le cas dans de nombreuses études, notamment celles issues du secteur médical (238).

De par leur teneur en PL, les **lécithines** sont d'excellents émulsifiants, largement utilisés par l'IAA sous le sigle « **E322** ». Elles peuvent également être utilisées comme agent épaississant, dans la préparation de crèmes par exemple (239). En 2016, leur marché mondial représentait USD 849.8 millions et on estime qu'il devrait atteindre USD 1.11 milliards en 2020, avec un taux de croissance annuelle de 5.9% (240,241). En France, selon un récent rapport de l'Oqali, 17% des aliments transformés comportent de la lécithine, ce qui en fait le troisième additif le plus utilisé (242). Les lécithines font ainsi partie des lipides présents dans la formulation de nombre d'aliments que nous consommons au quotidien.

En Europe, leur utilisation au sein de la plupart des aliments est autorisée selon le principe de *quantum satis* (237). Ceci signifie que les lécithines peuvent être ajoutées sans restriction de dose, et implique qu'elles ne présentent pas de danger particulier pour le consommateur. Néanmoins, leur utilisation dans certains aliments est réglementée : elles ne peuvent être ajoutées à plus de 1% dans les préparations pour nourrissons et à 3% dans les huiles et les matières grasses (237). De plus, pour des raisons techniques et de palatabilité, le contenu en lécithines des aliments n'excède que très rarement 10%. C'est le cas des aliments diététiques conçus pour la perte de poids, dont le plus haut contenu en lécithines rapporté est de 10%.

Les lécithines peuvent provenir de sources diverses, qu'elles soient d'origine animale, tels que le jaune d'œuf, ou de sources végétales, notamment des plantes oléagineuses, comme le soja (243). Face aux problématiques environnementales actuelles et à la nécessité de réduire les apports en produits d'origine animale, le marché des lécithines végétales est en plein essor.

Actuellement, avec environ 200 000 tonnes métriques vendues par an, la lécithine de soja représente plus de 90% du marché des lécithines végétales (244). Cependant, cette lécithine pose des problèmes de durabilité : déforestation liée à sa culture, importation par l'Europe depuis des destinations lointaines, utilisation d'organismes génétiquement modifiés (OGM), ... (245) Par ailleurs, les lécithines de soja contiennent des phyto-œstrogènes et des polluants, dont les effets sur la santé demeurent inconnus (246,247). Face aux enjeux socio-économiques et

environnementaux, il est dès lors nécessaire de développer des sources écoresponsables de lécithines, qui soient alternatives au soja (248). Ceci a entraîné, notamment au niveau européen, l'augmentation de la production de lécithines de tournesol et de colza (249). L'apparition sur le marché de ces nouvelles sources de lécithines végétales nécessite d'explorer leur impact sur la santé métabolique, qui demeure aujourd'hui inconnu (250).

1. Des ingrédients à la composition extrêmement variable

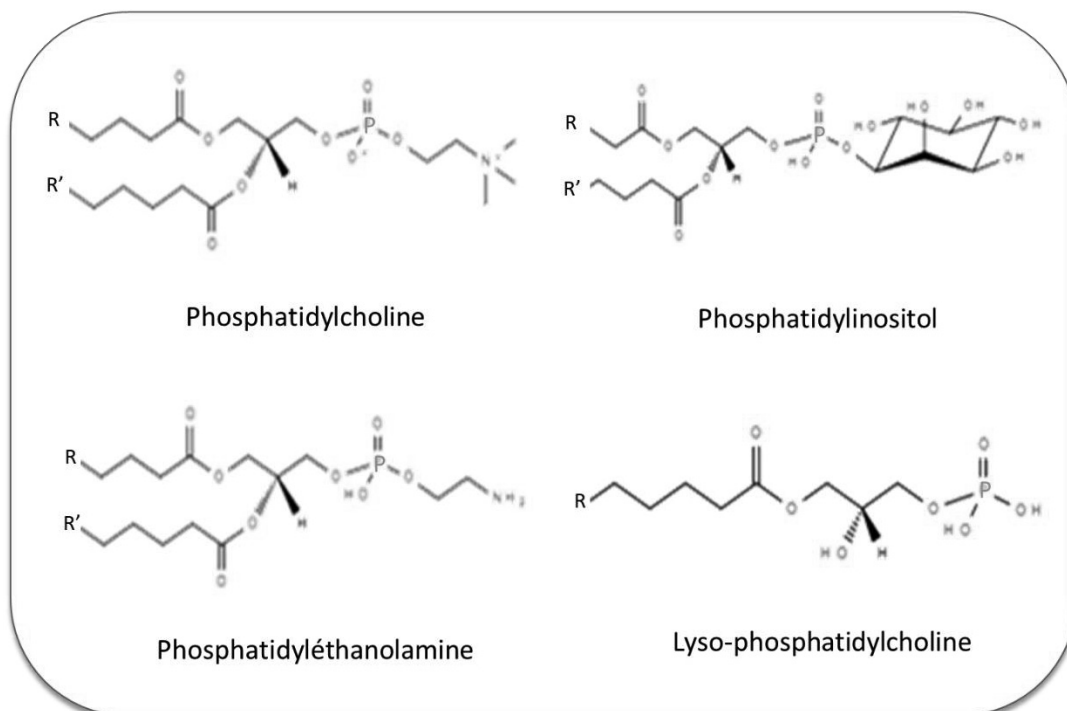


Figure 15. Phospholipides majoritaires des lécithines végétales.

La composition lipidique des membranes végétales est extrêmement variable d'un tissu ou d'un organisme à un autre. Ceci se reflète ainsi dans la composition lipidique des lécithines végétales. De manière générale, la PC, la PE, le PI et certains lyso-PL sont les principaux PL que l'on retrouve dans les lécithines végétales (**Figure 15**). Les membranes végétales ne contenant pas de SM, les lécithines en sont également dépourvues. Les lécithines végétales contiennent également d'autres lipides tels que des TAG, des glycolipides ou des stérols, ainsi que des vitamines liposolubles, même si ces éléments se trouvent en quantité négligeable comparativement aux PL. La composition en AG des lécithines reflète généralement celle de la plante ou de la graine dont elles sont issues (251). Ainsi, la lécithine de colza, tout comme l'huile de colza, est riche en AGMI, et notamment en acide oléique, alors que la lécithine de soja est, elle, riche en AGPI n-6, et majoritairement en LA (249). Les compositions en AG et en PL typiques des lécithines végétales les plus couramment utilisées (les lécithines de soja, de

tournesol et de colza) sont représentées dans le **Tableau 3**. Selon une étude de Wang, les différentes classes de PL (PC, PE, PI) ont un profil en AG similaire (252).

Tableau 3. Composition typique en phospholipides et en acides gras de trois lécithines végétales (lécithines de soja, de tournesol et de colza).

	Lécithine de soja	Lécithine de tournesol	Lécithine de colza
Profil en phospholipides (%) (237)			
Phosphatidylcholine	12,69 – 16,7	14,34 – 17,23	16,74 – 18,18
Phosphatidylinositol	6,47 – 11,84	12,30 – 14,92	10,45 – 12,30
Phosphatidyléthanolamine	6,45 – 13,57	4,85 – 6,82	6,46 – 8,03
Acide phosphatidique	2,28 – 5,96	1,32 – 3,21	2,44 – 3,59
Profil en acide gras (%) (249)			
16:0	16	11	7
18:0	4	4	1
18:1n-9	17	18	56
18:2n-6	55	63	25
18:3n-3	7	0	6
Autres	1	4	5

Le profil en PL et en AG des lécithines dépend également des facteurs génétiques des graines d'origine, ainsi que des conditions agronomiques et environnementales dans lesquelles elles ont été cultivées (251). Il a ainsi été démontré que les conditions de stockage et d'extraction des lécithines influencent de manière non-négligeable leur composition (249). Les lécithines végétales sont des co-produits issus du raffinage des huiles. Elles peuvent être obtenues via plusieurs méthodes d'extraction, comme le dégommeage physique ou enzymatique (253). Xie et al ont observé qu'une lécithine de colza obtenue par dégommeage enzymatique possédait une meilleure capacité de stabiliser des émulsions qu'une lécithine de colza obtenue par dégommeage physique, et que cette différence était principalement due à leur composition en PL (254). Les lécithines d'une même source végétale semblent ainsi avoir des compositions

lipidiques plus variables entre elles, que des lécithines provenant de sources différentes (249). Cependant, Nguyen et al. ont démontré, via l'utilisation d'analyses en composante principale, qu'il est possible de différencier et de regrouper les lécithines végétales selon leur origine, et ce malgré leur hétérogénéité (251). Il a ainsi observé que, parmi les lécithines de soja, de colza et de tournesol, la lécithine de soja apparaît comme la plus différente des trois. Ceci se doit notamment à sa forte teneur en PC. La lécithine de tournesol, quant à elle, est à la fois la plus riche en PE et la plus pauvre en PI (251,252,255).

2. Des ingrédients aux propriétés structuro-fonctionnelles diverses

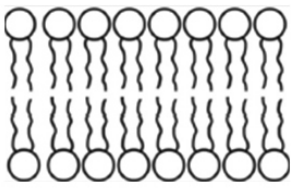

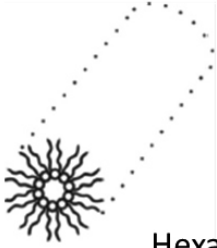



Phospholipide	Phase	Forme moléculaire
PC PI PS SM	 Lamellaire	 Cylindre
PE PS (pH<3)	 Hexagonal inversé H _{II}	 Cône
Lyso-PL	 Hexagonal H _I	 Cône inversé

Figure 16. Formes moléculaires et phases polymorphiques de plusieurs phospholipides.

(Adapté de (238))

Cette variabilité de composition des lécithines leur infère une large diversité de propriétés physico-chimiques, ce qui impacte leurs caractéristiques fonctionnelles. En effet, les capacités émulsifiantes des lécithines dépendent de leur composition et de la matrice dans laquelle elles se trouvent. La PC, qui forme des couches lamellaires à l'interface eau/huile, et la lyso-PC, qui génère un réseau bidimensionnel hexagonal, stabilisent de préférence les émulsions H/E. A l'inverse, la PE, qui forme un réseau hexagonal inversé, est utilisée préférentiellement pour

stabiliser les émulsions E/H (256) (**Figure 16**). La teneur en lipides neutres, comme les TAG et les stérols, des lécithines peut également moduler leurs capacités émulsifiantes. Ainsi, les lécithines qui ont été déshuilées et qui contiennent moins de lipides neutres, possèdent de meilleures capacités à stabiliser les émulsions H/E que des lécithines non-déshuilées (257).

Ceci s'applique également aux propriétés antioxydantes des lécithines (258). Les PL possèdent naturellement des propriétés antioxydantes. Ce sont des agents chélateurs puissants qui permettent de neutraliser l'effet pro-oxydant des métaux. Ils peuvent également former des produits antioxydants via des réactions de Maillard et régénérer des agents antioxydants primaires. Ces différents mécanismes sont décrits en détail par Cui et Decker (259). Brièvement, la charge négative du groupement phosphate des PL peut se lier aux métaux pro-oxydants et donc inhiber l'oxydation des lipides. La fonction amine de certains PL, ainsi que les groupes hydroxyles des chaînes carbonées, auraient un effet similaire (260). Cependant, la capacité antioxydante des lécithines ne dépend pas seulement des propriétés intrinsèques des PL qui les composent. Tout comme leurs propriétés émulsifiantes, leurs capacités antioxydantes peuvent être modulées par les différents procédés d'extraction. Ainsi, il a été montré *in vitro* que la lécithine de colza possède des capacités antioxydantes plus importantes que la lécithine de soja, qu'elle soit obtenue par dégompage physique ou enzymatique (260). D'autres études ont montré que la présence de certains phénols, comme l'acide sinapique ou le canolol, dans les lécithines augmente leur capacité antioxydante, du fait d'un effet synergique entre les phénols et les PL (245,261). Le procédé de déshuilage des lécithines entraîne une forte diminution des phénols dans les lécithines, ce qui diminue également leur capacité antioxydante (258). Enfin, la composition en AG des lécithines peut avoir un énorme impact sur leurs propriétés antioxydantes. L'EPA et le DHA, par exemple, possèdent une activité antioxydante, contrairement aux AGS.

Cette diversité de composition et de propriétés structuro-fonctionnelles fait des lécithines des ingrédients extrêmement versatiles, très prisés par les différentes industries des secteurs agro-alimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

3. Les lécithines végétales : vecteurs efficaces d'AG d'intérêt ?

Les lécithines végétales représentent des sources importantes de PL aux profils en AG et en PL spécifiques et divers. Comme nous l'avons décrit dans le chapitre précédent, les PL font l'objet d'un intérêt grandissant de par leur capacité à augmenter la biodisponibilité et l'incorporation des AG dans certains tissus cibles. Ceci serait en partie dû à leur digestion, puisqu'au cours de celle-ci, les PL vont être digérés, absorbés de manière passive ou active au sein des entérocytes, puis, en grande partie, incorporés dans la couche extérieure de lipoprotéines circulantes (CM,

VLDL, HDL). Les lécithines peuvent ainsi affecter la composition de la surface de ces lipoprotéines et par conséquent moduler leur fonctionnalité ainsi que le transport des lipides qu'elles transportent vers leurs tissus cibles.

Par ailleurs, comme nous l'avons mentionné précédemment, les PL seraient de meilleurs vecteurs d'EPA et de DHA vers certains tissus cibles, que leurs TAG respectifs. Cependant, les données collectées à ce jour concernent principalement les PL d'origine marine (130). A notre connaissance, ce type de données n'existe pas actuellement pour les PL d'origine végétale (262,263). Il est alors primordial de vérifier si ces résultats peuvent être transposés aux lécithines végétales en tant que vecteurs d'AG végétaux d'intérêt, tels l'acide oléique ou l'ALA. L'acide oléique représente en effet un des éléments phares du régime Méditerranéen, reconnu comme l'un des régimes alimentaires les plus bénéfiques pour la santé (264,265). La lécithine de colza, comme son huile, est riche en ALA. Il est alors important de déterminer si la lécithine de colza permet d'augmenter la biodisponibilité de l'ALA par rapport à une huile, entièrement composée d'ALA sous forme de TAG.

Il a été démontré que les lécithines végétales peuvent moduler le métabolisme des lipides par d'autres moyens que par simple vectorisation d'AG. Elles exerceraient notamment des effets anti-dyslipidémiques bénéfiques, en agissant à la fois sur la digestion, l'absorption et le métabolisme des lipides (**Figure 17**, p. 79).

4. Les lécithines végétales modifient la digestion des lipides

Malgré le manque de données concernant la vectorisation d'AG spécifiques, il a été démontré que les lécithines végétales sont capables de moduler le métabolisme des lipides et ce dès les premières étapes de la digestion. La bile contient naturellement d'importantes quantités de PL, dont 95% de PC. De par leur nature amphiphile, les PL alimentaires et biliaires facilitent l'agencement des lipides en micelles dans la lumière intestinale. De plus, ils contribuent à stabiliser et augmenter la surface de ces micelles, permettant ainsi une hydrolyse plus importante des lipides par les enzymes digestives. La dispersion des gouttelettes lipidiques qui en résultent représente l'étape limitante de la lipolyse (100). Ainsi, comme décrit dans le chapitre précédent, la pré-émulsification d'une huile augmente considérablement la digestion et la biodisponibilité des lipides qu'elle contient et ce dépendamment de la nature des émulsifiants (97,172,207,232). Il a été démontré, via l'utilisation d'un modèle de digestion *in vitro*, que des émulsions stabilisées par de la lécithine de soja engendrent une lipolyse plus rapide et plus importante que celles stabilisées par des caséinates de sodium ou du Tween 80 (266). Des résultats similaires ont été observés par Vors et al. (267). Cependant, Lecomte et al.

ont observé que l'hydrolyse des lipides était plus importante lorsqu'ils étaient émulsionnés par des lipides polaires laitiers, que par de la lécithine de soja (268). Ceci pourrait être dû à la présence de SM, sphingolipide caractéristique des lipides polaires laitiers et absente des lécithines végétales. En effet, la nature physico-chimique des émulsifiants peut moduler de manière significative l'activité des lipases digestives (269–271). De cette manière, le type de PL des lécithines influence l'activité de ces lipases et leur interaction avec la surface des lipoprotéines (272,273). La PC et la PI induisent une activité plus importante de la lipase gastrique, et donc une lipolyse plus efficace, comparativement à la PE ou la SM (271). La LysoPC, quant à elle, inhibe l'activité de la lipase pancréatique (274). Les lécithines végétales sont ainsi capables de moduler l'activité des lipases digestives, et ce dépendamment de leur composition en PL. Il a ainsi été montré que la lécithine de soja, de par sa teneur en PC, était capable d'augmenter l'activité de la lipase gastrique, entraînant une meilleure digestion des lipides (181).

Néanmoins, l'effet du simple ajout de PL végétaux à une huile, sans pré-émulsification, demeure controversé. Lin et al. a ainsi montré que le taux d'hydrolyse et la libération de DHA d'une huile d'algue étaient similaires qu'elle soit non-émulsionnée en présence ou non de lécithine de soja, ou émulsionnée avec de la lécithine de soja (275).

En tant qu'émulsifiant, la lécithine de soja permet de moduler le métabolisme des lipides et ce dès leur micellisation et hydrolyse par les enzymes digestives. Cependant, si le rôle de la lécithine de soja sur la digestion des lipides est bien établi, celui d'autres lécithines végétales est beaucoup moins connu. De futures études sont nécessaires afin de déterminer l'impact de lécithines végétales alternatives au soja sur ces paramètres.

5. Les lécithines végétales modifient l'absorption des lipides

Les premières recherches menées sur l'impact des PL sur l'absorption des lipides ont été mises en place entre 1970 et 1990, et concernaient surtout sur les PL endogènes (262). C'est ainsi que le rôle essentiel de la PC de la bile dans l'absorption des lipides et la sécrétion de CM fut démontré (276,277). Par ailleurs, des études chez des rats génétiquement modifiés ont montré qu'un défaut dans la sécrétion de PL biliaires avait des conséquences graves et engendrait une malabsorption des lipides, ainsi qu'une différence de taille des lipoprotéines (142,278,279).

Mais si les effets promoteurs des PL endogènes sur l'absorption des lipides sont connus, ceux des PL alimentaires, et donc des lécithines végétales demeurent controversés. Garaoiva et al. ont démontré chez l'Homme que l'émulsification d'une huile avec de la lécithine de soja

induisait un pic plus précoce et plus important de la concentration plasmatique en AGPI n-3 et en ALA qu'une huile seule (280). Chez le rat, l'administration d'une huile de lin (riche en ALA) émulsionnée avec de la lécithine de soja entraîne une absorption intestinale et une sécrétion lymphatique d'ALA augmentées par rapport à l'huile seule ou émulsionnée avec du caséinate de sodium (issu de protéines laitières) (266). L'émulsification d'une huile avec des lécithines végétales permet donc d'augmenter l'absorption des lipides qu'elle contient. Néanmoins, les effets des lécithines végétales sans pré-émulsification sur l'absorption des lipides sont moins concluants. Nakano et al. ont démontré chez le rat que la supplémentation en lécithine de soja promeut l'apparition des TG dans la lymphe (281). Ces résultats ont été répliqués chez la carpe, où la supplémentation en PC induit une augmentation de la concentration en TAG plasmatiques (282). Sadouki et Bouchoucha n'ont, *a contrario*, observé aucune différence dans l'absorption des lipides chez le rat lorsque 30% des lipides alimentaires sont remplacés par des lécithines, comparativement à un groupe contrôle (283). Cette absence d'effet des lécithines sur l'absorption des lipides a été observée dans d'autres études animales (284–287). Les études utilisant de faibles concentrations de lécithine, semblables à des doses nutritionnelles, sont ainsi peu concluantes. Cependant, Nishimukai et al. ont démontré que la supplémentation d'une grande quantité de lécithine de soja (ratio PL/TG de 1/3) permet d'engendrer une augmentation de l'absorption intestinale et de la concentration lymphatique des TG chez le rat (287). Cet effet serait potentiellement dû à l'impact des lécithines sur la sécrétion des CM. Une augmentation de la concentration lymphatique en ApoB48 et de l'expression des gènes impliqués dans la synthèse et l'exocytose des CM a en effet été observée dans le duodénum de rats gavés avec de l'huile de lin émulsionnée par des lécithines comparativement à une huile seule (266).

Ces résultats précliniques semblent alors démontrer un « effet dose » des lécithines végétales sur l'absorption des lipides, qui mérite d'être testé dans de futures études. Par ailleurs, les PL qui composent les lécithines auraient des effets différentiels. Nakano et al. ont montré que la lyso-PC, et non la PC, permet d'augmenter la sécrétion lymphatique des lipides chez le rat (281). Ces résultats doivent, dès lors, être vérifiés chez l'Homme.

6. Les lécithines végétales modulent l'homéostasie des lipides

A l'issue de leur digestion et de leur absorption, les lipides d'origine alimentaire rejoignent la circulation systémique où ils sont dilués avec ceux d'origine endogène puis métabolisés. Le profil lipidique plasmatique est ainsi le reflet, non pas des seuls lipides absorbés, mais d'une homéostasie globale résultant du métabolisme des tissus individuels. Administrées comme complément alimentaire, les lécithines végétales exercent des effets protecteurs au niveau du

métabolisme lipidique et permettraient de rétablir en partie cette homéostasie, altérée dans le cadre de maladies métaboliques (**Figure 17**, p. 79).

Au niveau systémique, les PL exercent un effet **hypocholestérolémiant**. Ainsi, chez des patients souffrants d'hypercholestérolémie, la supplémentation avec de la lécithine de soja réduit significativement le taux de cholestérol plasmatique (288–290). Ceci a été confirmé dans différentes études animales (291). Chez le hamster et le singe hypercholestérolémiques, la supplémentation en PC de soja permet également d'augmenter le taux de cholestérol HDL et donc de réduire le ratio low density lipoprotein (LDL)/HDL, qui est un facteur de risque connu de maladies métaboliques (292). Ces effets seraient dus au fait que les PL sont capables de diminuer l'activité de la HMG-CoA réductase microsomale (enzyme impliquée dans la voie de biosynthèse du cholestérol) et l'absorption entérocytaire du cholestérol (293–295). Ils augmentent également l'excrétion du cholestérol biliaire, la β -oxydation des lipides et la concentration plasmatique en ApoA1 (286,293,296). Il est important de noter que ces effets sont observés dans le cadre de dyslipidémies et leur transposition en conditions saines ou à risque métabolique reste à valider (262,290,297). Dans son rapport de 2010, l'EFSA a ainsi souligné qu'il n'y avait pas suffisamment de données à l'heure actuelle pour établir une réelle relation cause-à-effet entre la consommation de PC et le maintien d'un taux de cholestérol considéré comme sain chez l'Homme (298). Or, cette affirmation, datant de 2010, concerne la PC uniquement et certaines études ont révélé que la PI et la PE exercent des effets hypolipidémiant prometteurs (299–301). Par ailleurs, l'effet hypocholestérolémiant des lécithines dépend de la nature des acides gras qu'elles contiennent. En effet, plus la longueur et le degré de saturation de la chaîne carbonée des AG sont élevés, plus l'accès des lipases aux micelles est limité, ce qui induit une diminution de l'absorption entérocytaire du cholestérol (295,302). Ces effets doivent dès lors être vérifiés chez l'Homme en utilisant des lécithines végétales diverses, autres que la lécithine de soja. Il en va de même pour l'effet **hypotriglycéridémiant** des lécithines végétales décrit dans certaines études (282,284), mais dont la relation causale n'a pas encore été démontrée.

Le foie possède un rôle central dans le métabolisme et l'homéostasie des lipides. Plusieurs études précliniques ont démontré que le remplacement d'une fraction des TG alimentaires par des lécithines végétales était associé à une amélioration du profil lipidique dans le foie avec une réduction des TG hépatiques (303–306). Cet effet hypolipémiant des lécithines serait dû à leur capacité à inhiber la synthèse *de novo* des AG et à augmenter la β -oxydation mitochondriale, la voie métabolique de dégradation des AG (303,307). Les lécithines végétales sont également associées à une diminution du taux de cholestérol dans le foie et les VLDL (294,306). Par

ailleurs, le ratio PC/PE des hépatocytes est étroitement lié au métabolisme de l'énergie et de l'insuline (308–310). Les lécithines végétales, sources majeures de PC et de PE, permettraient d'équilibrer le ratio et de moduler de manière bénéfique le métabolisme énergétique du foie.

Dans le cadre du métabolisme lipidique, il est primordial de considérer le tissu adipeux, puisqu'il joue un rôle majeur de stockage des lipides. Certaines études ont démontré que la supplémentation avec de la PC de soja était associée à une diminution de la taille des adipocytes chez des souris ayant consommé un régime riche en graisses (311), tandis qu'une autre étude a montré une hypertrophie des adipocytes des souris lorsqu'une partie de l'huile de palme était substituée par de la lécithine de soja (312). Les effets des lécithines végétales comme ingrédients dans l'alimentation déséquilibrée occidentale sont donc à élucider chez l'Homme.

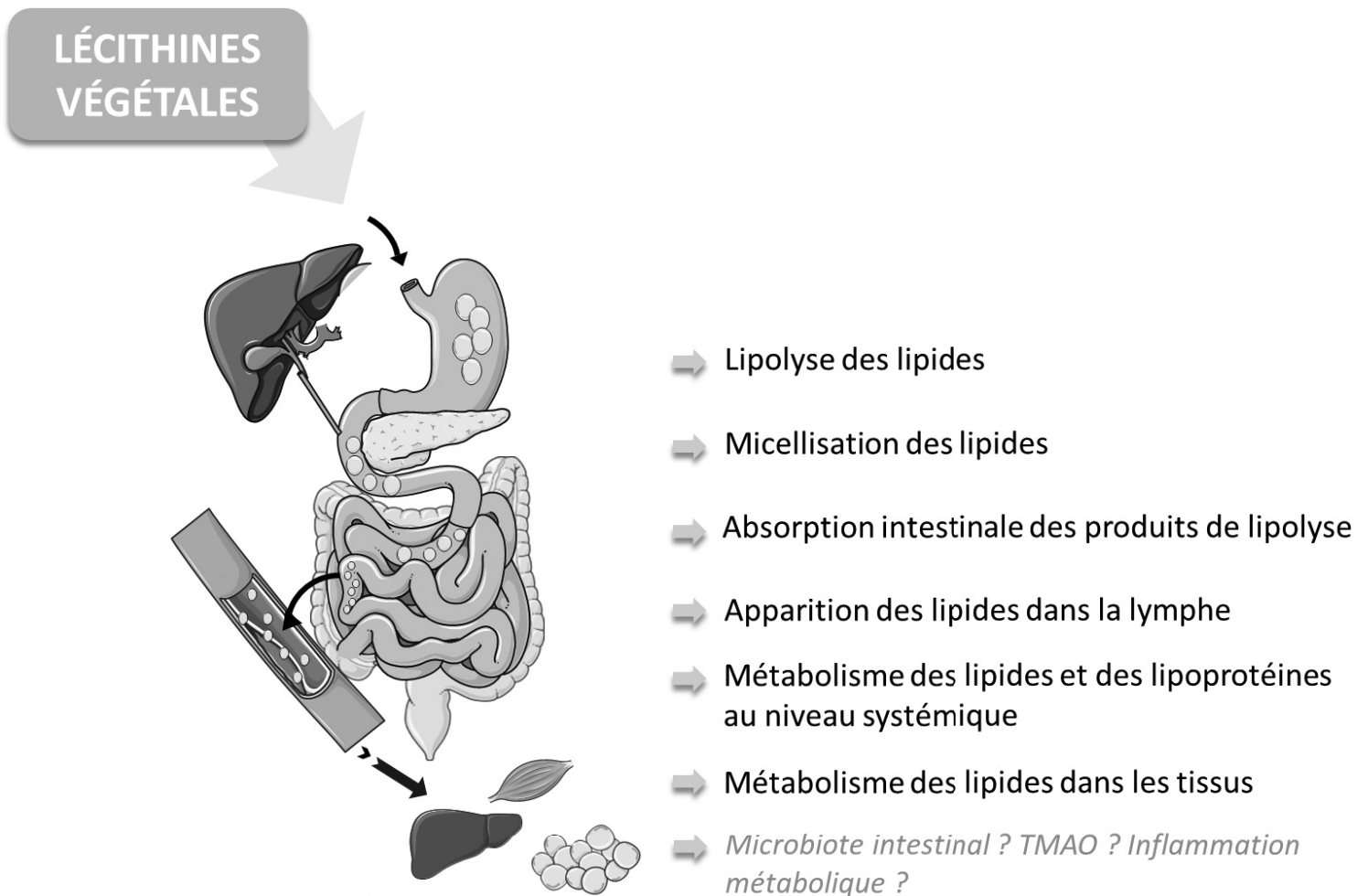


Figure 17. Impacts métaboliques majeurs des lécithines végétales.

7. Les lécithines végétales : vers un rôle préventif des troubles métaboliques ?

De par leur apport en PL, les lécithines peuvent ainsi moduler le métabolisme des lipides et exercer des effets liporégulateurs. A ce titre, elles pourraient jouer un rôle préventif dans les désordres métaboliques et cardiovasculaires. Des données précliniques chez des souris soumises à un régime hyperlipidique montrent que la supplémentation en PC permet de limiter les complications métaboliques liées à l'obésité, en diminuant à la fois les TAG, le cholestérol total, le ratio LDL/HDL, et la leptine plasmatiques (311). Une autre étude chez le rat a montré que la supplémentation en lécithine de soja engendrait une augmentation de la sécrétion de CCK, qui permettait ainsi de réduire la prise alimentaire et la vidange gastrique (313). Leur potentiel rôle préventif sur ces maladies repose également sur leurs propriétés anti-thrombotiques, anti-athérogéniques et anti-inflammatoires (314). Comme nous l'avons abordé précédemment, les maladies métaboliques sont associées à une inflammation de bas-grade. Les effets anti-inflammatoires des PL sont bien décrits et sont résumés dans deux revues de Treede et al. (315) et Küllenberg et al. (297). L'administration de lécithine en tant que supplément dans le cadre de maladies inflammatoires chroniques, telles la colite ulcéreuse, engendre des effets anti-inflammatoires bénéfiques (316). Cependant, leur rôle en tant qu'ingrédient dans l'alimentation occidentale n'est pas aussi bien défini. Chez des souris soumises à un régime hyperlipidique pauvre en fibre, l'incorporation de lécithine de soja exacerbe l'inflammation du TA blanc (317). Ceci souligne l'importance de faire la distinction entre l'effet des lécithines végétales en tant que supplément nutraceutique ou ingrédient dans les aliments transformés.

Enfin, les lécithines végétales, de par leur apport en PC, auraient un impact sur le microbiote intestinal. La PC est dégradée par certaines bactéries intestinales en triméthylamine, qui est ensuite métabolisée en triméthylamine-N-oxyde (TMAO) (318). Or, de fortes teneurs plasmatiques en TMAO sont associées à un risque accru de maladies métaboliques et inflammatoires (319,320). Par ailleurs, il a été démontré que certains émulsifiants synthétiques, tels que le PS80 et la CMC, engendrent des modifications au niveau du microbiote intestinal, qui seraient à l'origine du syndrome métabolique et d'une inflammation chronique de l'intestin chez l'hôte (321–323). Il est alors primordial d'évaluer l'impact des émulsifiants naturels, comme les lécithines végétales, sur le microbiote intestinal.

Hypothèses et Objectifs

Ce travail bibliographique met en évidence l'importance de la nature et de la structuration des lipides sur leur assimilation par l'organisme, *i.e.* leur biodisponibilité, et sur leurs effets métaboliques et inflammatoires. En particulier, il souligne l'intérêt nutritionnel des **lécithines végétales**, ces émulsifiants naturels composés majoritairement de PL, que l'on retrouve dans nombre de nos aliments. Selon les résultats d'études précliniques, la supplémentation en lécithines végétales améliore l'absorption intestinale des lipides. Elle serait également associée à des effets liporégulateurs, anti-inflammatoires et antioxydants. A ce titre, les lécithines végétales pourraient exercer un rôle préventif dans les désordres métaboliques et cardiovasculaires. De plus, au vu des données sur les PL marins, les PL permettraient d'augmenter la biodisponibilité des acides gras qu'ils contiennent, comparativement à leurs huiles respectives. Dans le contexte actuel, à la fois d'obésité pandémique et de carence en ALA, les lécithines végétales riches en ALA apparaissent alors comme des ingrédients à haut potentiel nutritionnel.

Néanmoins, il est nécessaire de faire la distinction entre le rôle des lécithines végétales en tant que supplément nutraceutique et en tant qu'ingrédient dans les aliments transformés. Or, les études concernant les effets métaboliques et inflammatoires de doses nutritionnelles de lécithines végétales restent parcellaires. Par ailleurs, si la grande majorité des lécithines végétales provient du soja, face aux enjeux environnementaux actuels, de nouvelles sources écoresponsables de lécithine ont fait leur apparition sur le marché. Ces lécithines possèdent des effets santé peu connus qui nécessitent d'être caractérisés. Parmi celles-ci, la **lécithine de colza** présente un intérêt nutritionnel particulier : comme la lécithine de soja, elle est riche en ALA.

Mon travail de thèse a ainsi pour premier objectif de **déterminer l'intérêt des lécithines végétales riches en ALA, la lécithine de soja et la lécithine de colza, sur l'absorption intestinale de l'ALA et sa biodisponibilité** dans l'organisme. Le second objectif de ce travail est de **déterminer l'impact de la consommation, aussi bien à court terme qu'à long terme, de doses nutritionnelles de ces lécithines au sein d'un régime hyperlipidique représentatif du régime occidental actuel, sur le métabolisme lipidique et l'inflammation en lien avec le microbiote intestinal.**

Nous émettons l'hypothèse que les lécithines végétales riches en ALA permettent d'augmenter la biodisponibilité de l'ALA, par rapport à une huile apportant de l'ALA sous forme de TAG. A long terme, nous supposons que la présence de ces lécithines au sein d'un régime

hyperlipidique permettrait d'améliorer, voire de prévenir, certains effets délétères induits par ce genre de diète pro-inflammatoire.

Afin de tester ces hypothèses, nous avons mis en place plusieurs études précliniques utilisant deux espèces murines, *i.e.* le rat et la souris, et trois temporalités différentes (**Figure 18**). En premier lieu, une étude en aigu a été réalisée afin d'étudier l'effet de la lécithine de colza sur la lipémie postprandiale et la biodisponibilité de l'ALA. Pour ce faire, nous avons utilisé des rats dont le canal lymphatique a été dérivé, ce qui représente l'un des modèles les mieux adaptés pour étudier l'absorption des lipides *in vivo*. Dans un second temps, les effets à court terme de doses nutritionnelles de lécithines, à la fois de colza et de soja, sur le métabolisme postprandial des lipides et la biodisponibilité de l'ALA ont été évalués chez la souris. Cette étude a également permis de déterminer l'effet à court terme des lécithines sur les acides biliaires et le microbiote intestinal. Enfin, une étude de régime de 13 semaines a été réalisée chez la souris afin d'évaluer les effets de la consommation à long terme de ces lécithines en tant qu'ingrédients dans des régimes hyperlipidiques, sur la biodisponibilité de l'ALA, mais aussi sur des paramètres métaboliques et inflammatoires, ainsi que sur le microbiote intestinal. L'organisation de ces différentes études est présentée dans le **Tableau 4**.

Les prochains chapitres présenteront les résultats de ces différentes études. Ceux-ci seront discutés plus en détail dans la partie « Discussion générale » du manuscrit.

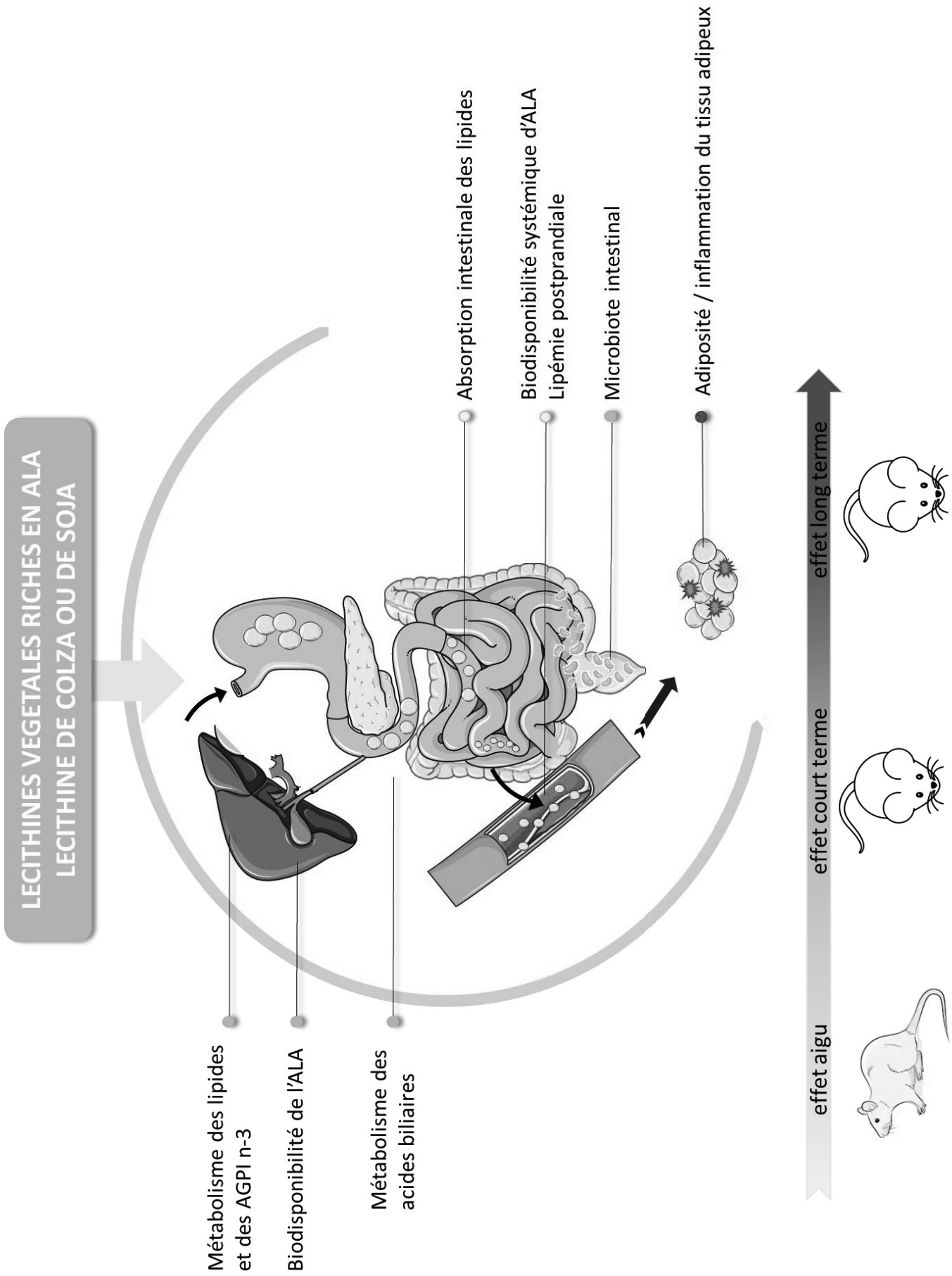


Figure 18. Les problématiques de la thèse et les différentes études menées au cours de celle-ci.

Tableau 4. Organisation des différentes études et techniques expérimentales effectuées au sein de la thèse (thèse effectuée sous contrat CIFRE, entre l'ITERG et le laboratoire CarMeN)

Technique	Maitrisée et effectuée moi-même	Maitrisée mais effectuée par un collaborateur interne/externe	Non-maitrisée et réalisée par un collaborateur interne/externe
Chirurgie de l'animal			X
Gavage			X
Pesée/prélèvement	X		
Préparation formules lipidiques	X	X	
Préparation régime (étude de régime de 13 semaines)			X (Safe)
Extraction lipidique + transméthylation	X	X	
Injection/passage GC ¹	X	X	
Dosage lipidique du plasma automatisé			X (HCL CBS, Lyon ²)
Analyses du microbiote			X (IBPH, Bordeaux ³ & MICALIS, Paris ⁴)
Analyses des acides biliaires par LC-MS/MS ⁵			X (Centre de Recherche St Antoine, Paris)
Dosage immuno-enzymatique (ELISA)		X	
Analyses granulométriques	X		
Analyses génomiques (extraction ARN + qPCR)	X	X	
Analyses par microscopie électronique à transmission			X (CIQLE, Lyon ⁶)
Analyses histologiques			X
Analyses statistiques	X	X (collab. interne (C. Knibbe) pour étude rat)	
Traitement de données	X		

¹ GC = chromatographie en phase gazeuse² CBS = Centre de Biochimie Sud des Hospices Civils de Lyon³ IBPH = Equipe « Interactions Bactéries Probiotiques – Hôtes » Bordeaux Sciences Agro⁴ MICALIS = UMR Microbiologie de l'Alimentation au service de la Santé, Paris Saclay⁵ LC/MS-MS = chromatographie en phase liquide couplée à l'analyse de masse en tandem)⁶ CIQLE = Centre d'Imagerie Quantitative Lyon-Est

CHAPITRE 2: Impact de la lécithine de colza sur la biodisponibilité de l'ALA et la lipémie postprandiale chez le rat

Résumé

Présentes dans 17% des aliments transformés en France (242), les lécithines végétales constituent le principal émulsifiant naturel utilisé par l'industrie agro-alimentaire. L'apparition de la lécithine de colza sur le marché, en réponse au besoin croissant de s'affranchir du soja, apparaît comme extrêmement prometteuse, aussi bien d'un point de vue environnemental que nutritionnel. En effet, en plus d'être écoresponsable par sa production locale, la lécithine de colza est dotée d'excellentes propriétés émulsifiantes, et constitue une source importante de PL et d'ALA.

Les PL jouent un rôle essentiel dans la digestion et l'absorption des lipides. Ainsi, la lécithine de soja, de par sa teneur en PL et ses capacités émulsifiantes, permet de moduler le métabolisme des lipides et ce dès leur micellisation et hydrolyse par les enzymes digestives. Des résultats précliniques semblent également démontrer un « effet dose » des lécithines végétales sur l'absorption des lipides : dans la littérature, l'effet stimulant des lécithines sur l'absorption lipidique n'apparaît que lorsque celles-ci sont administrées à des fortes doses de supplémentation. C'est pourquoi il apparaît primordial de tester cet effet-dose des lécithines, en particulier celui de la lécithine de colza, dont les effets sur l'absorption intestinale et le métabolisme postprandiale des lipides demeurent inconnus, et dont l'utilisation comme additif ne cesse de croître.

Par ailleurs, comme nous l'avons vu précédemment, les PL alimentaires font l'objet d'un intérêt grandissant en tant que vecteurs préférentiels de certains acides gras d'intérêt. Néanmoins, aucune donnée n'existe concernant la capacité des PL végétaux, et donc des lécithines végétales, à augmenter la biodisponibilité des acides gras qu'ils contiennent par rapport à des huiles végétales. Au vu des apports insuffisants en ALA de la population française, il est ainsi essentiel d'explorer ces effets, en portant un intérêt particulier à la lécithine de colza en tant que vecteur d'ALA.

Dans ce contexte, nous avons mis en place une étude postprandiale chez des rats porteurs d'une dérivation du canal lymphatique afin d'évaluer l'impact de la lécithine de colza sur la biodisponibilité de l'ALA. Différents paramètres en rapport avec l'absorption et le métabolisme postprandial des lipides ont également été évalués. Lors de cette étude, les rats ont reçu par administration intra-gastrique différents mélanges huileux, conçus de manière à ce que seule la vectorisation de l'ALA sous forme de PL ou de TAG varie. Les mélanges huileux avaient ainsi une composition en AG similaire, incluant 4% d'ALA. Cependant, plus la dose de lécithine

était importante, plus l'ALA était porté par des PL, comparativement aux TAG. De cette manière, nous avons comparé différentes doses de lécithine de colza : 1%, qui correspond à la dose maximale autorisée dans les préparations pour nourrissons, 3%, qui est la dose maximale autorisée dans les huiles et matières grasses, 10%, qui représente la plus forte teneur en lécithine rapporté dans les aliments, et 30%, qui correspond à une dose de supplémentation. Ce design expérimental nous a ainsi permis de tester un effet-dose de la lécithine de colza sur les différents paramètres choisis.

Nos résultats démontrent que la lécithine de colza entraîne une augmentation dose-dépendante de l'apparition des lipides totaux et de l'ALA dans la lymphe, augmentation qui ne devient significative qu'à des doses de supplémentation (30%). Au-delà des aspects quantitatifs, la lécithine de colza permet également de moduler des paramètres cinétiques de l'apparition de l'ALA dans la lymphe : plus la dose de lécithine est élevée, plus l'enrichissement en ALA des lipides lymphatiques est précoce. Compte tenu de l'impact de la lécithine de colza sur ces paramètres, nous avons également cherché à évaluer son impact sur le métabolisme global des lipides dans l'intestin grêle, de la structure des chylomicrons sécrétés au devenir métabolique de l'ALA (β -oxydation, conversion en ses dérivés à longue chaîne). Nous avons ainsi observé que l'administration de 30% de lécithine de colza augmente de manière significative le diamètre, mais non le nombre, des chylomicrons lymphatiques au bout de 4h et 6h post-administration. En accord avec ces observations, l'expression des gènes impliqués dans la sécrétion des chylomicrons au niveau du duodénum est augmentée dans ce groupe. Par ailleurs, les gènes de la beta-oxydation sont également plus fortement exprimés en présence de 30% de lécithine de colza.

L'ensemble de ces éléments suggèrent que, chez le rat, l'ajout de lécithine de colza à une huile permet d'augmenter de manière dose-dépendante l'absorption intestinale des lipides, en modulant aussi bien des paramètres quantitatifs que cinétiques. La lécithine de colza permettrait également d'améliorer la biodisponibilité de l'ALA par rapport à une huile. Néanmoins, ces effets ne deviennent significatifs que lorsque la lécithine de colza est apportée à des doses de supplémentation (30%). De ce fait, nos résultats complètent les données de la littérature et valident pour la première fois un effet dose des lécithines végétales sur le métabolisme postprandial des lipides. Ils soulignent également l'importance de bien faire la distinction entre le rôle des lécithines en tant que supplément nutraceutique et en tant qu'ingrédient dans les aliments transformés.

Si nos données concernant l'exposition aigue de la lécithine de colza suggèrent peu d'effets à des doses nutritionnelles, les effets, à court et à long terme, de la consommation quotidienne de ces émulsifiants naturels sur le métabolisme des lipides et le microbiote restent à élucider.

Cette étude a donné lieu en septembre 2020 à la publication d'un article de recherche dans le *Journal of Nutrition* présenté ci-joint.

Article de recherche**Rapeseed lecithin increases lymphatic lipid output and α -linolenic acid bioavailability in rats**

Chloé Robert ^{a,b}, Leslie Couëdelo^b, Carole Knibbe^{a,c}, Laurence Fonseca^b, Charline Buisson^a, Elisabeth Errazuriz-Cerda^d, Emmanuelle Meugnier^a, Emmanuelle Loizon^a, Carole Vaysse^b and Marie-Caroline Michalski^{a,#}

^a Univ-Lyon, CarMeN laboratory, INRAE, UMR1397, INSERM, U1060, INSA-Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Pierre-Bénite, FR-69310, France.

^b ITERG, Equipe Nutrition, Santé et Biochimie des Lipides, Canéjan, FR-33610, France.

^c Inria "Beagle" team, Antenne Lyon la Doua, F-69603, Villeurbanne, France.

^d CIQLE, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France.

[#] Corresponding author: Marie-Caroline Michalski, CarMeN laboratory, CENS-ELI Building 2D, Hôpital Lyon Sud secteur 2, 165 Chemin du Grand Revoyet, 69310 Pierre Bénite, France, Tel: (+33) 4 26 23 61 71.

E-mail addresses: chloe.robert@univ-lyon1.fr ; marie-caroline.michalski@inrae.fr

Short title: Rapeseed lecithin increases ALA bioavailability

Conflict-of-interest/financial disclosure statement: C.R., L.C., L.F. and C.V. are employees of ITERG. M.-C. M. is an external academic expert member of the Scientific Committee of ITERG. C.R. acknowledges a CIFRE PhD grant from ANRT. M.-C.M. received other research fundings on other topics from Sodial-Candia R&D, the Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière (CNIEL, French Dairy Interbranch Organization) and Nutricia Research and has consultancy activities for food & dairy companies. These activities had no link with the present article. All authors are members of UMT ACTIA BALI (BioAvailability of Lipids and Intestine). Other authors have no conflict of interest to declare.

Abbreviations: α -linolenic acid (ALA), cardiovascular diseases (CVD), chylomicron (CM), docosahexaenoic acid (DHA), eicosapentaenoic acid (EPA), European Food Safety Agency (EFSA), False discovery rate (FDR), fatty acid (FA), Food and Agriculture Organization (FAO), oleic acid (OA), phospholipid (PL), polyunsaturated fatty acid (PUFA), rapeseed lecithin (RL), transmission electron microscopy (TEM), triacylglycerol (TAG).

Abstract

Background: Soybean lecithin, a plant-based emulsifier widely used in food, is capable of modulating postprandial lipid metabolism. With arising concerns of sustainability, alternative sources of vegetal lecithin are urgently needed, and their metabolic effects must be characterized.

Objective: We evaluated the impact of increasing doses of rapeseed lecithin (RL), rich in essential α -linolenic acid (ALA), on postprandial lipid metabolism and ALA bioavailability in lymph-cannulated rats.

Methods: Male Wistar rats (8-weeks-old) undergoing a mesenteric lymph duct cannulation were intra-gastrically administrated 1g of an oil mixture containing 4% ALA and 0, 1, 3, 10 or 30% RL (5 groups). Lymph fractions were collected for 6h. Lymph lipids and chylomicrons were characterized. The expression of genes implicated in intestinal lipid metabolism was determined in the duodenum at 6h. Data was analysed using sigmoidal models, linear mixed-effects models or one-way ANOVA where appropriate.

Results: RL dose-dependently increased the lymphatic recovery (AUC) of total lipids (1100 μ g/mL·h per additional RL%, $P=0.010$) and ALA (50 μ g/mL·h per additional RL%, $P=0.0076$). RL induced a faster appearance of ALA in lymph, as evidenced by the exponential decrease of the rate of appearance of ALA with RL ($R^2=0.26$, $P=0.0064$). Although the number of chylomicrons was unaffected by RL, chylomicron diameter was increased by 86% in the 30%-RL group compared to control (0%-RL) at 3-4h ($P=0.065$) and by 81% at 4-6h ($P=0.0002$) post-administration. This increase was positively correlated with the duodenal mRNA expression of *Mttp* ($\rho=0.63$, $P=0.0052$). The expression of *Mttp* and *Sar1b* (chylomicron secretion), *Cpt1a* and *Acox1* (beta-oxidation), and *Fads2* (bioconversion of ALA into long-chain n-3 PUFAs) were, respectively, 49%, 29%, 74%, 48% and 55% higher in the 30%-RL group vs control ($P<0.05$).

Conclusion: In rats, RL enhanced lymphatic lipid output, as well as the rate of appearance of ALA, which may promote its subsequent bioavailability and metabolic fate.

Key words for publication: nutrition, lecithin, emulsifier, lipid metabolism, α -linolenic acid, food.

1. Introduction

Consumers are increasingly aware of the health and environmental impact of the foods they eat. There is hence a growing demand for sustainable food products with both environmentally friendly characteristics and positive health effects (1). Recent data concerning the suspected deleterious health effects of synthetic emulsifiers provides a further incentive to develop natural, eco-friendly alternatives (2,3). Concomitantly, the desire to restrain from animal-derived products has engendered a rise in the development of plant-based foods. The market of vegetal food-grade emulsifiers has consequently expanded in recent years, largely represented by vegetable lecithin. According to the official definition reported by the Food and Agriculture Organization (FAO) and the European Food Safety Agency (EFSA), vegetable lecithin are a mixture of naturally-occurring lipids containing more than 50% of phospholipids (PLs) (4), frequently used in foods for their emulsifying and stabilising properties.

Both endogenous and food-derived PLs exert numerous important physiological effects (5,6). The oral supplementation with vegetal PLs has been associated with beneficial effects on lipid and lipoprotein metabolism, notably in hyperlipidemic conditions (7,8). This is of particular interest, as postprandial hyperlipemia is associated with metabolic syndrome and type 2 diabetes, and represents an independent risk factor for atherosclerosis and cardiovascular diseases (CVD) (9,10).

However, the impact of nutritional doses of lecithin remains inconclusive (11), and the differential effect of their consumption as food ingredients or as oral supplements must be explored.

Furthermore, the majority of the aforementioned studies have been carried out using soy lecithin. Soybean lecithin represents more than 90% of the global lecithin market (253,000 metric tons in 2015) (12). Yet, as highlighted in a recent report by EFSA (13), in mice, the addition of soy lecithin to high-fat diets has been associated with higher markers of low-grade inflammation in the adipose tissue (14,15). Furthermore, as concerns about sustainability and genetically modified organisms are rising, there is an expanding demand for the development of alternative sources of vegetable lecithin. In Europe and North America, the markets of locally-produced sunflower and rapeseed lecithin are increasing.

Rapeseed lecithin (RL) is of particular nutritional interest, as it is rich in an essential n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA), α -linolenic acid (ALA). ALA is implicated in numerous physiological processes and may play a preventive role in certain diseases, notably CVD and stroke (16). ALA is termed essential, as it may not be synthesised in humans and must consequently be obtained through the diet. Yet, the majority of the European population fails

to meet the required daily intakes of ALA, i.e. 1% of energy (17,18). There is thus a need to develop strategies for food ingredients that would contribute to improve ALA status.

In this respect, there is a recently growing interest in PLs regarding their potential to increase the bioavailability of the fatty acids they contain (19–21). Therefore, the potential of RL, rich in ALA-containing PLs, to improve ALA bioavailability deserves to be elucidated. This is all the more important, as RL represents an increasingly used food additive which remains poorly studied (11).

The use of food additives is strictly regulated. In Europe, according to EFSA, lecithin may be freely added to most food products, according to the principle of quantum satis (no maximum level declared). Nonetheless, its use is regulated in certain foods, such as infant food formulas (maximum level allowed = 1%) or oils (3%). Furthermore, in practice, due to its thickening and emulsifying properties, lecithin may not be added to foods at high doses: the highest level reported is of 10% w/w in diet-management foods (13).

To our knowledge, no study has compared the differential impact of these various doses of lecithin on postprandial lipid metabolism.

On the basis of the above research gaps, the objective of the present study was to compare the impact of different doses of RL, ranging from low nutritional doses (<10%) to a higher level achievable only via supplementation (30%) on intestinal lipid absorption and ALA bioavailability. In order to do so, this study was performed using the mesenteric lymph cannulated rat model, recognized as the gold-standard method to assess, *in vivo*, intestinal lipid absorption and native chylomicron secretion (22).

2. Methods

2.1. Preparation and characterization of the lipid formulations

RL was provided by Novastell (Etrepagny, France). Commercial rapeseed, refined palm and grapeseed oils were purchased by ITERG (Canéjan, France). The lipid formulations were prepared by mixing varying volumes of the aforementioned vegetable oils with increasing doses of RL under magnetic agitation, so as to obtain similar fatty acid (FA) compositions for all formulations. Thereby, the lipid formulations differed in the proportion of ALA carried either by lecithin (predominantly PLs) or oil [triacylglycerols (TAGs)].

The FA compositions of RL and the lipid formulations (Tables 1 and 2) were determined using a gas chromatograph (GC) equipped with a flame ionization detector (FID), as described in section 2.4. The proportion and characterization of PLs in the lipid formulas was verified by high-performance thin layer chromatography (HPTLC). Migration was performed using chloroform, methanol, acetic acid and distilled water (50:37.5:3.5:2, respectively). The spots

corresponding to the TAG and PL fractions were then visualized under UV-light after vaporization of 2,7-DCF in ethanol solution (0.2%, w/v). Their relative proportions were determined using the area of the spots.

2.2. Animals

In accordance with the European Community Council Directives (861609/EEC), all experiments and procedures were approved by the French ministry. The protocol was registered under the n°2017031014448864. Experiments were performed using male Wistar rats (Elevage Janvier), 8-weeks-old and weighing 300–350g. During the 7 days prior to the experiment, the rats were housed 4 per cage and kept in a temperature- and humidity-controlled environment, with a 12-hour light-dark cycle and free access to water and food.

2.3. Experimental procedure

Twenty-four hours prior to surgery, the rats were fed a fat-free diet (SAFE) with free access to water. The rats were then anesthetized via an intra-peritoneal injection of a ketamine/xylazine mixture (100/10mg/kg respectively; Axience). A polyethylene catheter (0.95mm x 15cm, Biotrol) was inserted into the main mesenteric lymph duct as described by Bollman et al. (23) and Couëdelo et al. (24). Immediately after surgery, the rats were randomly assigned to one of the 5 experimental groups (6 rats/group). For each lipid formulation, a volume corresponding to 1g of total fatty acids (1.0-1.1mL) was administrated via intra-gastric gavage. Each rat was then placed in an individual restraining cage, in a warm environment with free access to water. Lymph was collected per 1h time slots between 0h-4h, and for a 2h time slot between 4-6h in Eppendorf tubes maintained in ice for 6h post-intubation. The rats were then euthanized by an intra-peritoneal injection of sodium pentobarbital (Axience) and lidocaine (Ceva). To prevent pain, rats received an intra-peritoneal injection of buprenorphine (0.02mg/kg; Axience) 1h before and 2h after surgery. The duodenum was immediately collected and the lumen washed with phosphate-buffered saline (PBS) to remove the intestinal content. Duodenal biopsies and lymph samples were stored at -80°C until analysis. The study design is presented in Supplementary Figure 1.

2.4. Lymph lipid analysis

Lymph samples were thawed to room temperature and submitted to direct (trans)methylation according to the one-step methylation technique described by Lepage & Roy (25). Triheptadecanoin was added as an internal standard for FA quantification. Subsequent fatty acid methyl esters were analyzed using GC-FID (TRACE GC, Thermo Fisher Scientific. A

fused-silica capillary column (BPX 70, 60m×0.25mm i.d., 0.25µm film; SGE, France) was used with hydrogen as a carrier gas (inlet pressure: 120kPa). The column temperature was increased from 160°C to 180°C (1.3°C/min) and maintained for 65minutes before being increased to 230°C (25°C/min). Injector and detector temperatures were maintained at 250°C and 280°C, respectively. GC peaks were integrated using the Chromquest software (Thermofinnigan). FA from Sigma France (St Louis Mo, USA) of known composition were used as standards for column calibration. The variation in peak area between injections was <2%.

2.5. Real-time quantitative RT-PCR analysis

Total RNA was extracted from the duodenal mucosa using the TRI Reagent (Ambion/Applied Biosystems). RNA quality and concentration were measured using the Multiskan GO microplate spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, MA, USA). Reverse transcription was performed using 1µg of RNA and the PrimeScript RT reagent kit (Ozyme, Saint Quentin-en-Yvellines, France). Real-time PCR assays were then performed using a Rotor-Gene Q (Qiagen, Hilden, Germany) and SYBR qPCR Premix Ex Taq (Tli RNaseH Plus) reagents. The conditions of quantitative PCR conditions are available upon request (emmanuelle.meugnier@univ-lyon1.fr). The results were normalized using the expression of the TBP (TATA box-binding protein) gene as a reference.

2.6. Characterisation of lymph chylomicrons

The quantification of the number of CM particles was obtained by measuring lymph ApoB48 using an ApoB48 ELISA-kit (Cusabio, Aachen, Germany), as this apolipoprotein is specific to CM particles and one unit is present per CM. The hydrodynamic diameter of lymph CM was measured at 2h, 4h and 6h post-intubation by dynamic light scattering at 25°C using a ZetaSizer NanoS (Malvern Instruments) with 1.0658cP and 1.33 as viscosity and refractive index of the aqueous phase, respectively (as previously described in (26)).

2.7. Chylomicron imaging by transmission electron microscopy

The lymph samples collected at 2h, 4h and 6h post-intubation were diluted in PBS (1/10 dilution). The suspensions were adsorbed on 200 Mesh Nickel grids coated with formvar-C for 2 minutes at room temperature. The grids containing suspensions were then colored with 2% phosphotungstic acid for 2 minutes and observed through a transmission electron microscope (TEM; Jeol 1400 JEM, Tokyo, Japan) equipped with a Gatan camera (Orius 600) and Digital Micrograph Software.

2.8. Statistical analysis

2.8.1 Statistical analysis of the main kinetics outcomes

The statistical analyses of the kinetics of lymph lipid composition were performed using R (version 3.5.1) and R studio (version 1.1.463). The impacts of RL on lymphatic output kinetics were investigated for the following five main responses: total FA concentration, ALA concentration (Figure 1), relative percentage of ALA, relative percentage of oleic acid (OA), and relative percentage of docosahexaenoic acid (DHA) (Figure 2). For each response, we fitted sigmoidal curves to the obtained datasets for individual rats and for each group, using the following equation:

$$y(t) = y_{\min} + \frac{\delta}{1 + e^{\frac{t_{\text{infl}} - t}{s}}}$$

where $y(t)$ is the fitted response, y_{\min} the minimum of the sigmoid, δ the difference between its maximum and its minimum, t_{infl} the abscissa of its inflection point, and s the steepness of the curve (supplementary Figure 2). y_{\min} was identified as the minimal observed value, while δ , t_{infl} and s were adjusted using the NL2SOL algorithm, a non-linear least squares optimization method. For total lipid and ALA concentrations, we also computed the area under the curve (AUC) for each individual fitted curve (Figure 1), using the 'auc' function of the MESS package. The curves fitted to the group means were used for graphical illustration, while the curves fitted to individual kinetics were used for statistical analysis. Specifically, we quantified the impact of lecithin dose by analysing its effect on the individual values of δ , $\log(t_{\text{infl}})$, s and on the AUC, using a linear model (t_{infl} did not respond linearly, hence the logarithmic transformation). The raw P-values of these linear regressions are displayed on the figures. However, given that we performed a total of 17 linear regressions for this analysis, the raw P-values obtained were corrected using the False Discovery Rate (FDR) method, as implemented in the 'p.adjust' function. The FDR-corrected values are reported as \tilde{P} in the figures and text. For this analysis, \tilde{P} values lower than 0.05 were considered statistically significant, in order to ensure robust conclusions on the main outcomes.

2.8.2 Statistical analysis of mechanistic explorations

The statistical analyses of the mechanistic explorations were performed using either the GraphPad Prism software version 7 (gene expression) or R version 3.5.1 (CM number and size). Means of gene expression (Figure 3) were compared across groups using one-way ANOVA, followed by Dunnett's post hoc test, using 0%-RL as the control. As with the lipid analysis, the raw P-values are presented on the figures, and the FDR-corrected P-values in the figure legend. The concentration of apoB48, as well as the size of lymph CM (Figure 4), were analyzed using

linear mixed-effects models and Type I (sequential) sum of squares, where time, lecithin dose and the interaction of both were the factors with fixed levels, and rat number, the factor with random levels. This linear mixed-effect model is equivalent to a two-way ANOVA with repeated measures, but is more robust to missing data. When the analysis revealed a significant effect for the lecithin dose, Dunnett's post hoc test (using 0%-RL as control) was used to identify the doses contributing most to the effect. In addition, Spearman correlations were performed to evaluate possible relationships among the various outcomes (Figure 5). For these mechanistic explorations, raw P-values lower than 0.05 were considered statistically significant, in order to avoid missing potential candidates for further exploration.

3. Results

3.1. Rapeseed lecithin and lipid formulation composition

RL was mainly composed of OA (48g/100g), linoleic acid (LA; 30g/100g), palmitic acid (PA; 11g/100g) and ALA (5g/100g) (Table 1). As such, its FA composition resembled that of its oil-bearing seed, as reported in the literature (27). In terms of polar lipid composition, RL was mainly constituted of phosphatidylcholine (PC) (41g/100g) and phosphatidylethanolamine (PE) (34g/100g), alongside other minor PLs such as phosphatidylinositol (PI), phosphatidylserine (PS), lysoPC and lysoPE. Of note, RL did not contain any sphingomyelin, as this PL is characteristic of dairy polar lipids and is absent in plants.

The lipid formulations presented similar FA profiles, mainly composed of mono-unsaturated FA (mainly OA, ~44%) and PUFAs: LA (~32%), as well as similar ALA content (~4.5%) (Table 2). Consistently with our study design, while FA concentrations were alike amongst groups, their vectorization form differed. In this way, the higher the lecithin dose present in the oil mixture, the higher the amount of ALA vectorized by polar lipids rather than TAG.

3.2. Rapeseed lecithin increased lipid recovery in lymph

For all groups, the concentration of lipids in lymph increased during the 6h following the administration of the oil mixtures. The lymphatic recovery of total lipids, as well as individual lipids, such as ALA and OA, followed sigmoidal kinetics during the observed time period. The consumption of RL significantly and dose-dependently increased the AUC of total lipid concentration ($R^2=0.24$, $P=0.010$, $\tilde{P}=0.026$), so that the AUC of the 30%-RL group was 2.2 times greater than that of the control group (0%-RL) (Figure 1).

In addition, RL dose induced an increase in the AUC of lymphatic ALA concentration with time ($R^2=0.25$, $P=0.0076$, $\tilde{P}=0.021$) (Figure 1). In this way, the AUC of ALA concentration was enhanced 1.8-fold in the 30%-RL group compared to the control group, despite the fact

that all lipid mixtures contained the same ALA amount. The relative percentage of ALA in lymph lipids was not found to differ amongst groups during the first (0-1h) and last (4-6h) time intervals following intubation. However, one kinetic parameter was modified by RL: the inflection point of the curve representing the percentage of ALA in lymph lipids with time significantly decreased with increasing RL dose ($R^2=0.26$, $P=0.0064$, $\tilde{P}=0.021$) (Figure 2). This implies that the increasing proportion of RL within the lipid mixture induced a faster appearance of ALA in lymph.

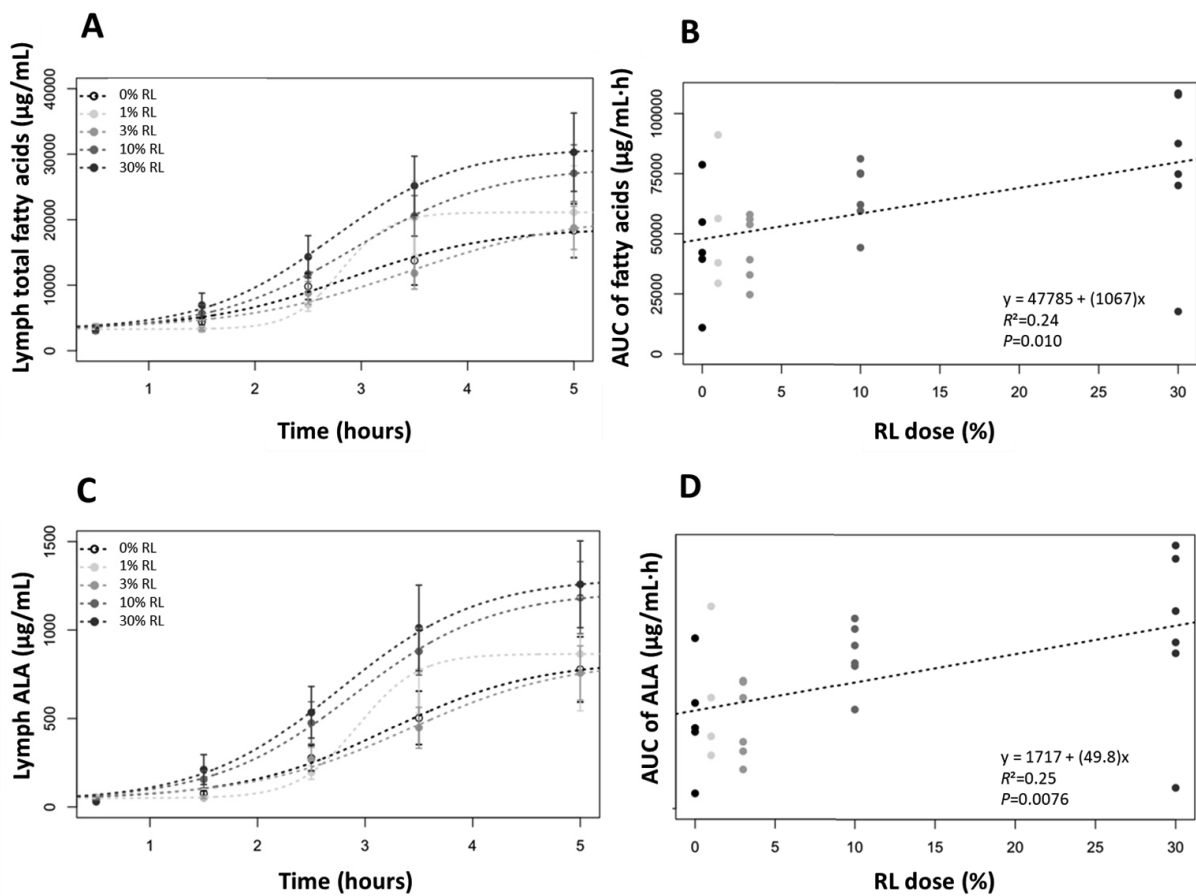


Figure 1. The concentration of total fatty acids (A) and ALA (C) in the lymph of rats following the intra-gastric administration of lipid mixtures containing 0 to 30% rapeseed lecithin. The curves represent the fitted curves of the sigmoidal model for each group. Plot of the area under the curve of the fitted curve for total fatty acids (B) and ALA (D) for each individual rat according to rapeseed lecithin dose. Values represent mean \pm SEM, $n=4-6$. ALA = α -linolenic acid; AUC = area under the curve.

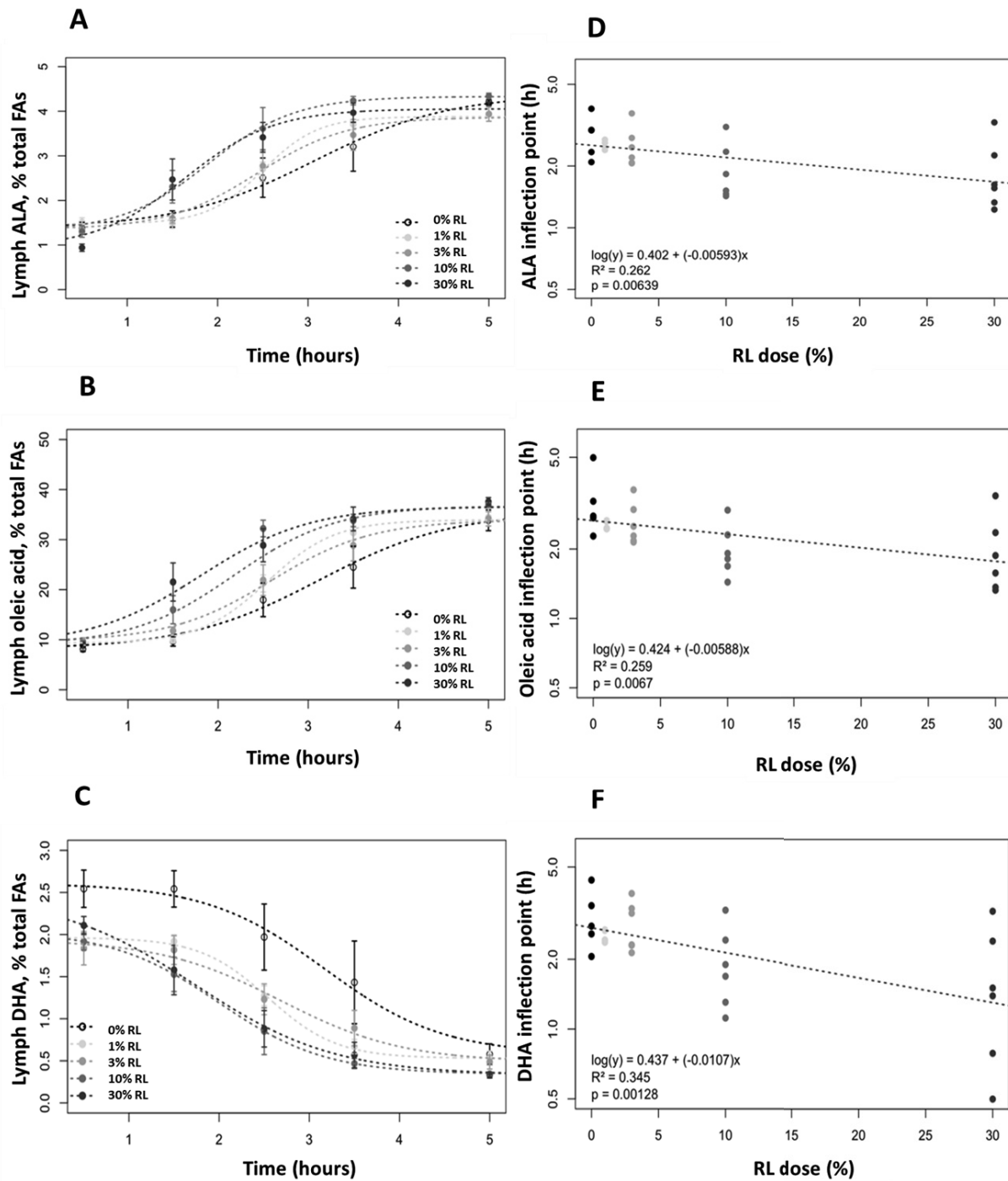


Figure 2. The relative percentage of ALA (A), oleic acid (B) and DHA (C) in total fatty acids in the lymph of rats following the intra-gastric administration of lipid mixtures containing 0% to 30% of rapeseed lecithin. Each curve represents the fitted line of the sigmoidal model. (D), (E) and (F) represent the log-transformed inflection point of the corresponding fitted curve for each rat according to rapeseed lecithin dose. Values represent mean \pm SEM, n=4-6. ALA = α -linolenic acid; DHA= docosahexaenoic acid; FA = fatty acid.

OA, one of the main FA found in RL, presented similar trends of lymph recovery (Figure 2). In effect, similarly to ALA, the inflection point of the curve representing the recovery of OA in lymph lipids with time was significantly reduced with increased RL amount ($R^2=0.26$, $P=0.00067$, $P^{\sim}=0.021$), yet no difference was observed in its initial and final recoveries in lymph lipids. On the contrary, DHA, which was absent in the oil mixtures, presented inverse kinetics to ALA and OA: the percentage of DHA in lymph lipids decreased with time and its inflection point decreased with increasing RL dose ($R^2=0.35$, $P=0.0013$, $P^{\sim}=0.012$) (Figure 2).

3.3. RL increased CM size without altering CM number

As RL was found to modulate the output of lipids into lymph, we further investigated its impact on CM properties, by measuring both their number and size (Figure 4).

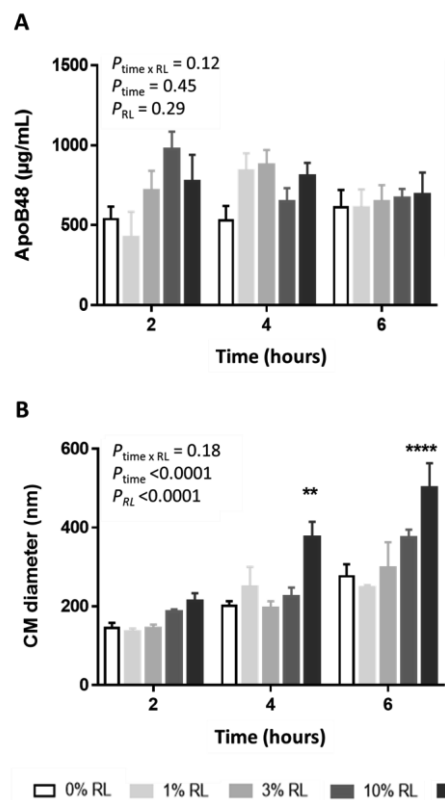


Figure 4. The ApoB48 concentration (A) and the hydrodynamic diameter of chylomicrons (B) present in the lymph of rats collected at 2h, 4h and 6h post-administration of lipid formulations containing 0 to 30% rapeseed lecithin. Bars represent mean \pm SEM, $n = 4-6$. To test the impact of rapeseed lecithin dose on these parameters, all groups were analyzed using a linear mixed-effects model and sequential sum of squares, followed by Dunnett's post hoc test versus 0%-RL. Means statistically different from 0%RL are presented as **: $P < 0.01$; ****: $P < 0.001$. CM = chylomicron; RL = rapeseed lecithin.

Indeed, absorbed dietary lipids are, for the most part, secreted into lymph via CM particles. No significant difference was observed between groups regarding the concentration of ApoB48 in the lymph fractions collected between 1-2h, 3-4h and 4-6h post-intubation, suggesting no impact of RL on CM number. Lymph CM diameter, however, significantly rose with time for 6h post-intubation ($P<0.0001$) and was found to be significantly greater in the lymph fractions collected over the 3-4h and 4-6h intervals in the 30% RL-group compared to control ($P=0.0065$ and $P=0.0002$ respectively). The images obtained via TEM corroborated these results (Figure 6).

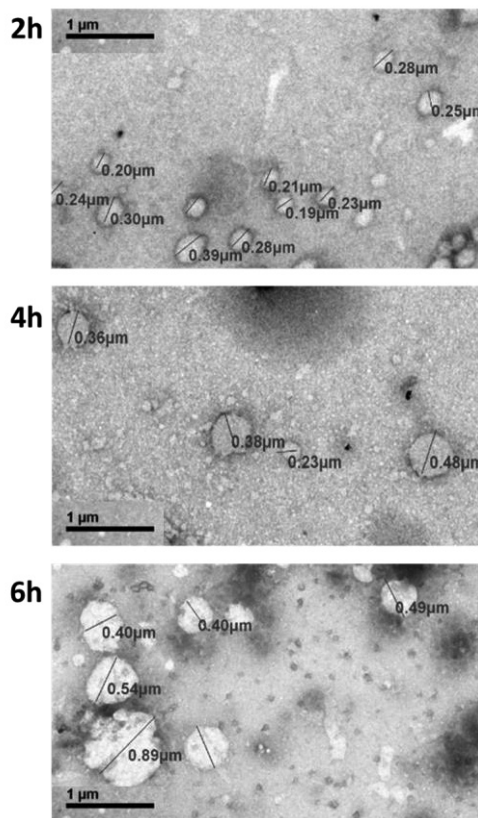


Figure 6. Images obtained via Transmission Electron Microscopy (TEM) of chylomicrons present in lymph fractions collected at 2h, 4h and 6h post-administration of an oil mixture containing 30% rapeseed lecithin in a lymph cannulated rat. Size indications are provided to guide the eye.

3.3. Duodenal gene expression of lipid metabolism–related proteins

In order to explain the results above, we assessed, in the duodenal mucosa, the mRNA expression of key genes involved in intestinal lipid absorption and metabolism, notably those implicated in CM secretion (Figure 3).

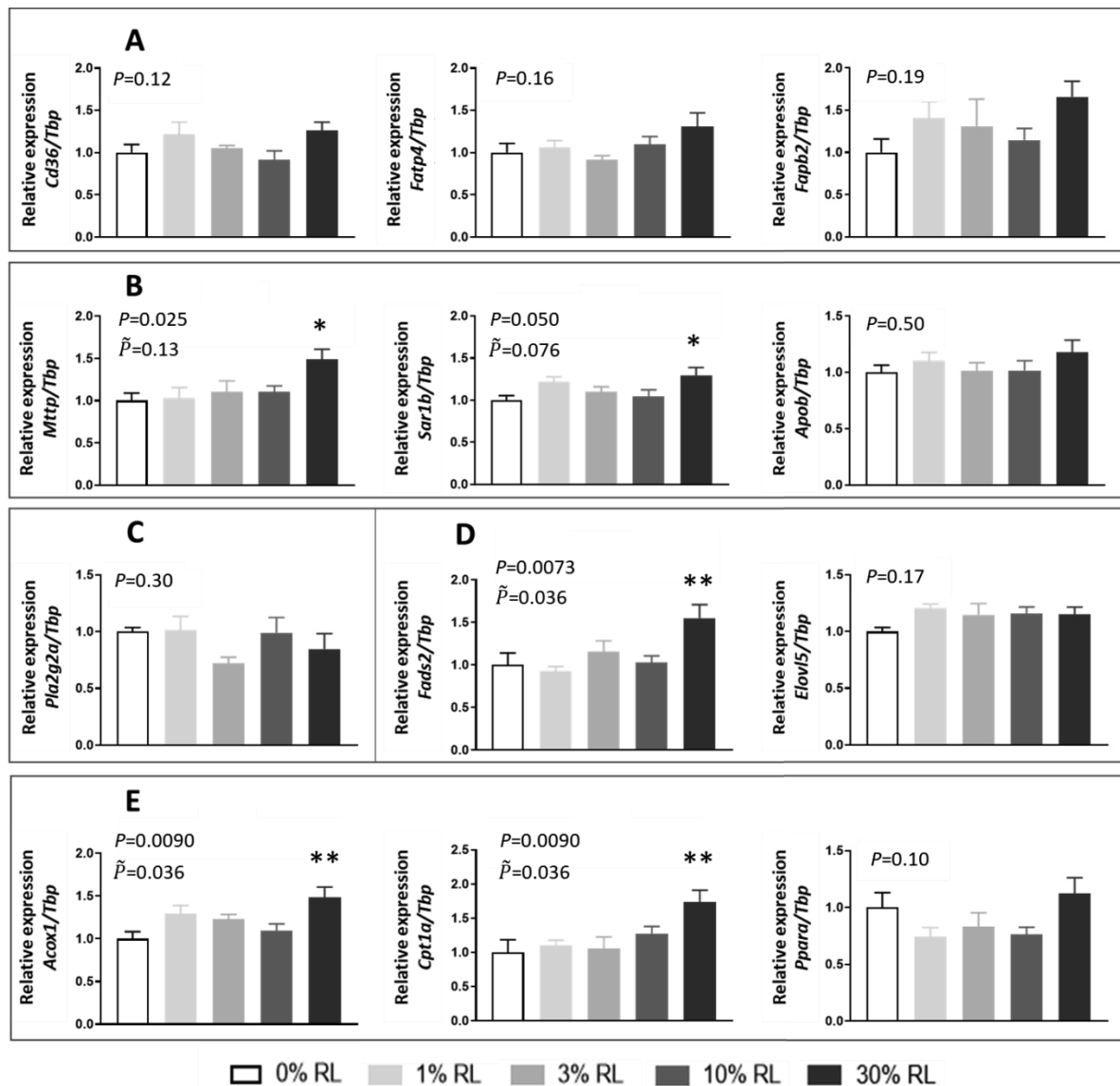


Figure 3. mRNA expression of genes involved in (A) intestinal lipid absorption, (B) chylomicron secretion and accretion, (C) phospholipid metabolism, (D) bioconversion of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) to long-chain PUFAs, and (E) lipid beta-oxidation in the duodenal mucosa of rats following administration of oil mixtures containing 0 to 30% rapeseed lecithin. Values are normalized to the levels of the mRNA of *Tbp* and expressed as relative amount compared with control rats, i.e. rats which consumed 0% RL. Gene expression was quantified by RT-qPCR. Bars represent mean \pm SEM, n = 5-6. To test the impact of RL on gene expression, all groups were analyzed by one-way ANOVA, followed by Dunnett’s post hoc test vs 0%-RL. ANOVA *P*-values are shown and post-hoc *P*-values vs 0%-RL: * = *P*<0.05; ** = *P*<0.01. When the latter are significant, FDR-corrected *p*-values (\tilde{P}) are also shown on the graphs. RL= rapeseed lecithin.

In this way, the expression of Secretion-associated, Ras-related GTPase 1 gene homolog B (*Sar1b*), implicated in pre-chylomicron formation and maturation, was higher in the 30%-RL

group compared to control ($P=0.032$). That of Microsomal TG transfer protein (*Mttp*), involved in the accumulation of TAG in CM, was also higher in the 30%-RL group compared to control ($P=0.013$). Furthermore, CM diameter was positively and significantly correlated with the mRNA expression of *Mttp* ($\rho=0.63$, $P=0.0052$), but not *Sar1b* (Figure 5). The addition of RL did not, however, alter the gene expression of *Apob*. No significant difference was observed either with regards to the gene expression of lipid transporters (*Cd36*, *Fatp2* and *Fabp4*). As lecithin is rich in PLs, we assessed the impact of RL on the expression of *Pla2g2a*, a gene coding for group II phospholipase A2 (PLA₂), a protein involved in the regulation of PL metabolism in biomembranes. We found that the consumption of RL did not significantly modify the expression of this gene in the duodenum.

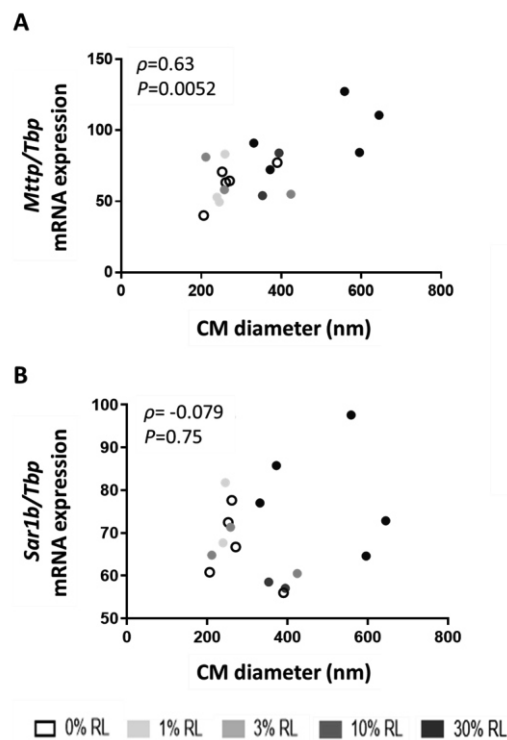


Figure 5. Spearman correlation between (A) duodenal *Mttp* mRNA expression, or (B) duodenal *Sar1b* mRNA expression, and the hydrodynamic diameter of chylomicrons in the lymph of rats following the intra-gastric administration of oil mixtures containing 0 to 30% rapeseed lecithin. CM= chylomicron; RL= rapeseed lecithin.

In addition, we evaluated the impact of RL on the expression of genes implicated in the bioconversion of n-3 PUFAs to LC PUFAs and lipid beta-oxidation, as they represent the major metabolic pathways for n-3 PUFAs, and hence of ALA, not only in the liver but also in the small intestine. The addition of 30% RL induced a significantly greater expression of

Peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1 (*Acox1*, $P=0.0031$) and Carnitine palmitoyltransferase IA (*Cpt1a*, $P=0.0046$), but not of Peroxisome proliferator-activated receptor- α (*Ppara*), compared to the control group. Regarding the bioconversion of n-3 PUFA, whereas the expression of Fatty acid desaturase 2 (*Fads2*) was higher in the duodenum of the 30%-RL group ($P=0.0094$), that of the Elongation of very long chain fatty acids protein 5 (*Elovl5*) gene was not modified by RL.

4. Discussion

This is, to our knowledge, the first study to evaluate and compare different doses of RL, ranging from low nutritional doses ($\leq 10\%$) to a high level of 30% w/w achievable only via supplementation, on intestinal lipid absorption and ALA bioavailability (11). For optimal analysis, both quantitative and kinetic aspects of lymphatic output were assessed.

We hereby demonstrate that, in rats, the addition of RL in oils induces a dose-dependent increase in the lymphatic output of lipids. The maximum concentration of lipids in lymph was nearly doubled in the group which had consumed the highest dose of RL (30%) compared to oil only. This may not solely be attributed to an increase in intestinal lipid uptake, as RL did not alter the expression of genes involved in the uptake and intra-cellular transport of lipids in the duodenum. We show that this effect may be due, in part, to a stimulatory effect of RL on CM secretion and assembly, as *Mttp* and *Sar1b* were overexpressed in the presence of 30% RL compared to oil. Likewise, lymphatic CM size increased with RL dose, and significantly differed from control with 30% RL. As CM size and not number was increased with RL, it can be extrapolated that RL stimulates lipid output into lymph by facilitating the accretion of TAG in pre-chylomicrons, thus generating large, TAG-rich CM. This complies with the positive correlation observed between CM diameter and the expression of *Mttp*.

This effect on lipoprotein size may have important repercussions on postprandial lipid metabolism (28). For a constant number of CM, large CM offer a greater binding surface for lipoprotein lipases than small CM particles. They may therefore be more effectively cleared from plasma, which can lead to beneficial impacts on metabolic and cardiovascular health (29). The observed effect of RL on CM size may be explained by the fact that RL, by providing amphiphilic PL, supplies the constituents of the surface of lipoproteins and increases their stability. The surfactant nature of the PL molecule depends, however, on its specific structural and interfacial properties. PC, which is cylindrical in shape, offers little curvature to the lipid droplet it stabilizes, whereas PE, via its conical shape, promotes a negative curvature and favors large droplets (30). This observed increase in CM size may hence be potentially explained by the increased intake of PE via RL. Nonetheless, it is important to note that this effect on CM

was only significant when RL was added at levels attainable through supplementation, greater than those found in foods.

The dose-dependent effects of RL on intestinal lipid absorption described here corroborate previous findings in the literature using soy lecithin and other dietary PL sources. Nishimukai et al. reported that, in lymph-cannulated rats, the supplementation with soybean PC at a high TAG:PL ratio of 3:1 induced an increase in lymphatic lipid output which was due, not to a rise in lipid absorption, but to an increase in CM secretion (31). In several studies carried out in lymph-cannulated rats, when dietary PL were added at low levels resembling that of levels in foods, no difference in intestinal lipid absorption was observed compared to control (32,33). Similarly, Couëdelo et al. denoted no difference in the duodenal expression of *Mttp*, *Apob* and *Sar1b* in rats fed 250mg flaxseed oil emulsified with 80mg soy lecithin (i.e. 8% w/w of the emulsion) compared to rats fed flaxseed oil only (34). The data generated in this study hence explains the discrepancies reported in the literature. Most importantly, we highlight the importance of taking into consideration the dose of a food ingredient when evaluating its impact on metabolic and physiological processes.

The absorption of lipids is a complex process, which involves numerous steps (35). Thereby, the stimulatory effect of RL on lipid lymphatic output may not be solely ascribed to its impact on CM metabolism, but may also occur during the prior stages of lipid digestion, notably their micellization in the lumen and lipolysis by digestive enzymes. This has not been investigated within this study, but such effects cannot be disregarded when considering postprandial lipid absorption. It would then be relevant to investigate in a future study the composition of residual lipids in the small intestinal lumen according to lecithin content and source. In effect, the gastro-intestinal digestion of lipids can be considered as a limiting step of their bioavailability, as dietary lipids first have to be hydrolyzed by digestive enzymes in the gastro-intestinal tract before being absorbed by the enterocyte. It is now recognized that PLs, and notably soy lecithin, are capable of increasing the rate and extent of the lipolysis of lipid micelles in the lumen (34,36). PL also have the ability to modulate the activity of certain digestive enzymes. In this way, Gargouri et al. reported that vegetable lecithin, due to its rich phosphatidylcholine content, upregulates the activity of gastric lipase and may therefore enhance lipolysis efficiency (37). The specific contribution of RL to digestive lipolysis deserves further investigation.

Moreover, PL have been recognized for their ability to increase the bioavailability of the FA they carry (11). As such, this study additionally aimed to determine the impact of the vectorization of ALA as RL on its bioavailability, compared to that in oil. The lipid

formulations were hence designed to provide a similar amount of ALA, originating either from the oil compartment, as TAG, or from the lecithin, as polar lipids such as PL.

The study revealed the capacity of RL to modulate, not only quantitative, but also certain kinetic parameters of ALA absorption and recovery in lymph. The quantity of ALA, as described by its AUC, as well as the rate of appearance of ALA in lymph were dose-dependently increased with RL. In order to confirm that these effects were a result of the vectorisation of ALA as RL, we verified that OA, one the main FA found in RL, presented similar trends of lymph recovery. As reflected by its AUC and inflection point, the quantity and rate of appearance of OA also increased with RL dose. It may then be concluded that the vectorization form of these FA in RL, as polar lipids, ameliorates their bioavailability, comparatively to TAG.

It may then be interesting to evaluate, in future studies, whether the seemingly previously described pro-inflammatory effects of soybean lecithin (14,15), rich in n-6 PUFA-containing PLs, may be attributed to an increase in n-6 PUFA bioavailability.

The present results corroborate and complete preliminary results obtained by Couëdelo et al which showed that the lymphatic recovery of ALA was higher in rats fed linseed oil emulsified with soy lecithin vs. those receiving linseed oil only (24). Sugasini et al. also observed no statistical difference in lymphatic TAG or PL concentrations in rats fed non-emulsified or PL-emulsified linseed oil, but reported higher ALA concentrations in the PL-emulsified group (32).

However, these studies focused on the bioavailability of ALA in its emulsified vs non-emulsified form. It is now widely recognized that the pre-emulsification of an oil enhances its intestinal absorption (38–40). The size and composition of emulsion droplets vary immensely in foods, which in turn impact the rate and extent of their postprandial metabolism (41). In foods, the structural and compositional diversity of lecithin-stabilized emulsions is immense. The novelty of the present study was therefore to determine the impact of the mere presence of lecithin in oil on the bioavailability of ALA, independently of its emulsifying effect. It is the first, to our knowledge, to directly assess the capacity of rapeseed lecithin to increase ALA bioavailability, without pre-emulsification. Several studies concerning marine PL have suggested a higher bioavailability of marine LC n-3 PUFAs, such as EPA and DHA, when they were incorporated in PLs comparatively to TAGs (21,42). Nonetheless, this is far from unequivocal. A study by Sehl et al. also carried out in rats with mesenteric duct cannulation, demonstrated that the vectorization of DHA as PL did not alter its total concentration in lymph compared with TAG, but modified its distribution on the glyceride of TAGs, which may further impact its metabolic fate and tissue accretion (43). Another study in rats also denoted an increase in the incorporation of DHA in CM PL when DHA was provided as PL compared to

TAG (44). This was not observed for EPA however (43), which suggests a differential metabolic process depending on the FA species. The distribution of ALA in the lipid fractions of lymph CM vectorized as PL vs TAG hence deserves to be assessed. Future research must be undertaken to determine the underlying mechanisms of such lipid remodeling. In effect, the distribution of FA in lymph lipoproteins may affect their subsequent metabolic fate and, consequently, their systemic bioavailability.

Moreover, in this study, the recovery of ALA in lymph was faster when incorporated in lecithin compared to TAG, rendering it more readily available for uptake by receiving tissues or subsequent metabolic processes. This is consistent with the observed increase with 30% RL of the expression of genes involved in the β -oxidation of FA (*Acox1* and *Cpt1a*) and the conversion to LC n-3 PUFAs (*Fads2*), compared to control. However, the mRNA expression of *Ppara*, a transcription factor implicated in the regulation of genes of FA oxidation, was not modulated by RL. Nevertheless, Morise et al. demonstrated in mice that the regulation of *Ppara* expression by dietary factors, such as ALA, is gender-dependent and occurs mostly in females (45). Besides its preponderant oxidation, dietary ALA may be converted to LC n-3 PUFAs (16,46). In fact, rat intestinal villi and crypt cells contain $\Delta 6$ and $\Delta 5$ desaturases that are capable of converting ALA to LC n-3 PUFAs (47). However, these desaturases only metabolize small amounts of dietary ALA, so that only 0.05% to 4% of ALA is enzymatically converted to DHA (48). In this study, the mRNA expression of *Fads2*, which codes for the $\Delta 6$ desaturase, but not that of the fatty acid elongase 5, *Elovl5*, was modulated by RL. In order to explore in more depth the effect of the vectorization of ALA by RL on its conversion to LC n-3 PUFAs, future studies must be undertaken to assess its metabolic fate not only in the small intestine, but also in hepatocytes, where bioconversion occurs primarily (32).

Of note, this increase of gene expression occurred only when RL was added at supplementation levels, which suggests that RL as an additive in foods may not significantly modulate postprandial lipid metabolism after acute consumption. Nevertheless, long term effects following repeated exposures remain unknown and must be assessed in future studies.

In addition, the limitations associated with the use of pre-clinical *in vivo* models must be taken into consideration in this study. While rats share many aspects of human metabolism, researchers must be aware of differences between the species (49), such as digestive enzymes (50), as well as the absence of gallbladder and the subsequent continuous flow of bile fluids in rats, which opposes the non-continuous flow of bile fluids stored in the gallbladder in humans (51).

Nonetheless, the mesenteric lymph cannulated rat model remains to this day the most appropriate and powerful tool to assess, *in vivo*, the concentration and the transit rate of dietary

lipids that pass directly from the intestine to the lymphatic system (22). The obtained data is then a direct reflection of the absorption of lipids, prior to hepatic metabolism and dilution within the endogenous plasma pool, and hence of their bioavailability.

Altogether, we show that, in rats, the addition of rapeseed lecithin in oil modulates postprandial lipid absorption both qualitatively and quantitatively. As such, RL not only increases lymphatic lipid output, but also acts as a more potent vector of ALA comparatively to TAG, as reflected by its ability to increase ALA bioavailability. Such increase in bioavailability may then potentially affect its metabolic fate. These effects do not appear to be significant when RL is added at levels realistically achievable in foods ($\leq 10\%$) and only become significant at levels representative of supplementation (30%). Care must hence be taken when concluding on the effects of rapeseed lecithin when provided as food-grade ingredients or as supplementation.

It is now widely acknowledged that postprandial lipemia, low-grade inflammation and gut microbiota are co-dependent factors of metabolic disorders. Faced with the dramatic rise of obesity prevalence and the trending growth of the rapeseed lecithin market, it is crucial that the long-term effects of rapeseed lecithin be explored. This is all the more important as recent research has outlined the deleterious effects of certain synthetic emulsifiers (such as carboxymethyl cellulose and polysorbate 80) on these aspects (2,3), which consequently also raises questions regarding more natural additives, such as lecithin. Clinical trials are currently being developed to assess the long term impact of soy lecithin on intestinal integrity, inflammation and microbiota (52). Similar studies focusing on rapeseed lecithin, which offers alternative, sustainable and nutritional benefits, must also be undertaken.

6. Acknowledgments

The authors would like to thank Pascal Colosetti and Armelle Penhoat for helpful advice on experimental procedures and useful discussion of the results. We also thank Didier Majou (ACTIA) for useful discussion. CR thanks ANRT (Association Nationale de la Recherche et le Technologie) for PhD funding.

The graphical abstract and Supplementary Figure 1 contain pieces of artwork that are art derivatives kindly provided by the Servier Medical art database under the Creative Commons Attribution 3.0 Unported License.

CR, LC, CV and M-CM designed the research; CR, LC, LF, CB, EE-C, EM, EL, AP, CV and M-CM conducted the research; CR, CK, CB, EE-C, EM, AP and M-CM analyzed the data; CR, LC, CK, EE-C, CV and M-CM wrote the paper; CR, CV and M-CM had primary responsibility for final content. All authors read and approved the final manuscript.

7. References

1. Grunert KG, Hieke S, Wills J. Sustainability labels on food products: Consumer motivation, understanding and use. *Food Policy*. 1 févr 2014;44:177-89.
2. Chassaing B, Koren O, Goodrich JK, Poole AC, Srinivasan S, Ley RE, Gewirtz AT. Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome. *Nature*. 05 2015;519(7541):92-6.
3. Chassaing B, Van de Wiele T, De Bodt J, Marzorati M, Gewirtz AT. Dietary emulsifiers directly alter human microbiota composition and gene expression ex vivo potentiating intestinal inflammation. *Gut*. 2017;66(8):1414-27.
4. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal*. 2010;8(3):1461.
5. Lordan R, Tsoupras A, Zabetakis I. Phospholipids of Animal and Marine Origin: Structure, Function, and Anti-Inflammatory Properties. *Molecules*. 14 nov 2017;22(11).
6. Küllenberg D, Taylor LA, Schneider M, Massing U. Health effects of dietary phospholipids. *Lipids Health Dis*. 5 janv 2012;11:3.
7. Lee HS, Nam Y, Chung YH, Kim HR, Park ES, Chung SJ, Kim JH, Sohn UD, Kim HC, Oh KW, et al. Beneficial effects of phosphatidylcholine on high-fat diet-induced obesity, hyperlipidemia and fatty liver in mice. *Life Sciences*. 18 nov 2014;118(1):7-14.
8. Mastellone I, Polichetti E, Grès S, de la Maisonneuve C, Domingo N, Marin V, Lorec AM, Farnarier C, Portugal H, Kaplanski G et al. Dietary soybean phosphatidylcholines lower lipidemia: mechanisms at the levels of intestine, endothelial cell, and hepato-biliary axis. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 1 sept 2000;11(9):461-6.
9. Klop B, Elte JWF, Cabezas MC. Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients*. 12 avr 2013;5(4):1218-40.
10. Nakamura K, Miyoshi T, Yunoki K, Ito H. Postprandial hyperlipidemia as a potential residual risk factor. *J Cardiol*. avr 2016;67(4):335-9.
11. Robert C, Couëdelo L, Vaysse C, Michalski M-C. Vegetable lecithins: A review of their compositional diversity, impact on lipid metabolism and potential in cardiometabolic disease prevention. *Biochimie*. févr 2020;169:121-32.
12. Food Emulsifiers Market Report 2019-2025. Global Market Insights Inc.; 2019 p. 31-2.
13. Mortensen A, Aguilar F, Crebelli R, Domenico AD, Frutos MJ, Galtier P, Gott D, Gundert-Remy U, Lambré C, Leblanc JC, et al. Re-evaluation of lecithins (E 322) as a food additive. *EFSA Journal*. 2017;15(4):e04742.
14. Lecomte M, Couëdelo L, Meugnier E, Loizon E, Plaisancié P, Durand A, Géoën A, Joffre F, Vaysse C, Michalski MC, et al. Soybean polar lipids differently impact adipose tissue inflammation and the endotoxin transporters LBP and sCD14 in flaxseed vs. palm oil-rich diets. *J Nutr Biochem*. mai 2017;43:116-24.

15. Lecomte M, Couëdelo L, Meugnier E, Plaisancié P, Létisse M, Benoit B, Gabert L, Penhoat A, Durand A, Pineau G, et al. Dietary emulsifiers from milk and soybean differently impact adiposity and inflammation in association with modulation of colonic goblet cells in high-fat fed mice. *Mol Nutr Food Res.* mars 2016;60(3):609-20.
16. Morise A, Combe N, Boué C, Legrand P, Catheline D, Delplanque B, Fénart E, Weill P, Hermier D. Dose effect of α -linolenic acid on PUFA conversion, bioavailability, and storage in the hamster. *Lipids.* 1 avr 2004;39(4):325.
17. ANSES (2011). Actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras. 2011 mai. Report No.: 2006-SA-0359.
18. FAO/WHO. Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation. *FAO Food Nutr Pap.* 2010;91:1-166.
19. Ramírez M, Amate L, Gil A. Absorption and distribution of dietary fatty acids from different sources. *Early Hum Dev.* nov 2001;65 Suppl:S95-101.
20. Destailats F, Oliveira M, Bastic Schmid V, Masserey-Elmelegy I, Giuffrida F, Thakkar SK, Dupuis L, Gosoniu ML, Cruz-Hernandez C. Comparison of the Incorporation of DHA in Circulatory and Neural Tissue When Provided as Triacylglycerol (TAG), Monoacylglycerol (MAG) or Phospholipids (PL) Provides New Insight into Fatty Acid Bioavailability. *Nutrients.* 15 mai 2018;10(5).
21. Ulven SM, Holven KB. Comparison of bioavailability of krill oil versus fish oil and health effect. *Vasc Health Risk Manag.* 28 août 2015;11:511-24.
22. Trevaskis NL, Hu L, Caliph SM, Han S, Porter CJH. The Mesenteric Lymph Duct Cannulated Rat Model: Application to the Assessment of Intestinal Lymphatic Drug Transport. *J Vis Exp [Internet].* 6 mars 2015 [cité 5 févr 2020];(97). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4401200/>
23. Bollman JL, Cain JC, Grindlay JH. Techniques for the collection of lymph from the liver, small intestine, or thoracic duct of the rat. *J Lab Clin Med.* oct 1948;33(10):1349-52.
24. Couëdelo L, Boué-Vaysse C, Fonseca L, Montesinos E, Djoukitch S, Combe N, Cansell M. Lymphatic absorption of α -linolenic acid in rats fed flaxseed oil-based emulsion. *Br J Nutr.* avr 2011;105(7):1026-35.
25. Lepage G, Roy CC. Specific methylation of plasma nonesterified fatty acids in a one-step reaction. *J Lipid Res.* févr 1988;29(2):227-35.
26. Lecomte M, Bourlieu C, Meugnier E, Penhoat A, Cheillan D, Pineau G, Loizon E, Trauchessec M, Claude M, Ménard O, Géloën A, et al. Milk Polar Lipids Affect In Vitro Digestive Lipolysis and Postprandial Lipid Metabolism in Mice. *J Nutr.* août 2015;145(8):1770-7.
27. Nguyen MT, Van de Walle D, Petit C, Beheydt B, Depypere F, Dewettinck K. Mapping the Chemical Variability of Vegetable Lecithins. *J Am Oil Chem Soc.* juill 2014;91(7):1093-101.
28. Dash S, Xiao C, Morgantini C, Lewis GF. New Insights into the Regulation of Chylomicron Production. *Annu Rev Nutr.* 2015;35:265-94.
29. Martins IJ, Mortimer BC, Miller J, Redgrave TG. Effects of particle size and number on the plasma clearance of chylomicrons and remnants. *J Lipid Res.* déc 1996;37(12):2696-705.

30. Thiam AR, Farese RV, Walther TC. The Biophysics and Cell Biology of Lipid Droplets. *Nat Rev Mol Cell Biol.* déc 2013;14(12):775-86.
31. Nishimukai M, Hara H, Aoyama Y. Enteral administration of soybean lecithin enhanced lymphatic absorption of triacylglycerol in rats. *Br J Nutr.* sept 2003;90(3):565-71.
32. Sugasini D, Devaraj VC, Ramesh M, Lokesh BR. Lymphatic transport of α -linolenic acid and its conversion to long chain n-3 fatty acids in rats fed microemulsions of linseed oil. *Lipids.* mars 2014;49(3):225-33.
33. Jiang Y, Noh SK, Koo SI. Egg phosphatidylcholine decreases the lymphatic absorption of cholesterol in rats. *J Nutr.* sept 2001;131(9):2358-63.
34. Couëdelo L, Amara S, Lecomte M, Meugnier E, Monteil J, Fonseca L, Pineau G, Cansell M, Carrière F, Michalski MC, et al. Impact of various emulsifiers on ALA bioavailability and chylomicron synthesis through changes in gastrointestinal lipolysis. *Food Funct.* mai 2015;6(5):1726-35.
35. Michalski M-C, Vors C, Lecomte M. Impact métabolique des matières grasses alimentaires : vers le concept des lipides rapides/lipides lents et l'effet matrice. *Lipid Nutri+* [Internet]. 2018 [cité 13 mai 2019];39. Disponible sur: <http://www.terresunivia.fr/decouvrir-terres-univia/actualites/lipid-nutri-ndeg39-novembredecembre-2018-287>
36. Vors C, Capolino P, Guérin C, Meugnier E, Pesenti S, Chauvin M-A, Monteil J, Peretti N, Cansell M, Carrière F, et al. Coupling in vitro gastrointestinal lipolysis and Caco-2 cell cultures for testing the absorption of different food emulsions. *Food Funct.* mai 2012;3(5):537-46.
37. Gargouri Y, Pieroni G, Rivière C, Lowe PA, Saunière JF, Sarda L, Verger R. Importance of human gastric lipase for intestinal lipolysis: an in vitro study. *Biochim Biophys Acta.* 5 déc 1986;879(3):419-23.
38. Golding M, Wooster T. The influence of emulsion structure and stability on lipid digestion. *Current Opinion in Colloid & Interface Science - CURR OPIN COLLOID INTERFACE S.* 1 avr 2010;15:90-101.
39. Armand M, Pasquier B, André M, Borel P, Senft M, Peyrot J, Salducci J, Portugal H, Jaussan V, Lairon D. Digestion and absorption of 2 fat emulsions with different droplet sizes in the human digestive tract. *Am J Clin Nutr.* déc 1999;70(6):1096-106.
40. Raynal-Ljutovac K, Bouvier J, Gayet C, Simon N, Joffre F, Fine F, Vendeuvre JL, Lopez C, Chardigny JM, Michalski MC, et al. Organisation structurale et moléculaire des lipides dans les aliments : impacts possibles sur leur digestion et leur assimilation par l'Homme. *OCL.* 1 nov 2011;18(6):324-51.
41. Michalski MC, Genot C, Gayet C, Lopez C, Fine F, Joffre F, Vendeuvre JL, Bouvier J, Chardigny JM, Raynal-Ljutovac, et al. Multiscale structures of lipids in foods as parameters affecting fatty acid bioavailability and lipid metabolism. *Prog Lipid Res.* oct 2013;52(4):354-73.
42. Burri L, Hoem N, Banni S, Berge K. Marine omega-3 phospholipids: metabolism and biological activities. *Int J Mol Sci.* 21 nov 2012;13(11):15401-19.

43. Sehl A, Couëdelo L, Chamekh-Coelho I, Vaysse C, Cansell M. In vitro lipolysis and lymphatic absorption of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in the rat: influence of the molecular lipid species as carrier. *Br J Nutr.* 24 juin 2019;1-21.
44. Cansell M, Nacka F, Combe N. Marine lipid-based liposomes increase in vivo FA bioavailability. *Lipids.* mai 2003;38(5):551-9.
45. Morise A, Thomas C, Landrier J-F, Besnard P, Hermier D. Hepatic lipid metabolism response to dietary fatty acids is differently modulated by PPARalpha in male and female mice. *Eur J Nutr.* déc 2009;48(8):465-73.
46. Burdge GC. Metabolism of α -linolenic acid in humans. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.* 1 sept 2006;75(3):161-8.
47. Chen Q, Nilsson A. Interconversion of alpha-linolenic acid in rat intestinal mucosa: studies in vivo and in isolated villus and crypt cells. *J Lipid Res.* avr 1994;35(4):601-9.
48. Burdge GC, Wootton SA. Conversion of alpha-linolenic acid to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in young women. *Br J Nutr.* oct 2002;88(4):411-20.
49. Kleinert M, Clemmensen C, Hofmann SM, Moore MC, Renner S, Woods SC, Huypens P, Beckers J, de Angelis MH, Schürmann A, et al. Animal models of obesity and diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14(3):140-62.
50. DeNigris SJ, Hamosh M, Kasbekar DK, Lee TC, Hamosh P. Lingual and gastric lipases: species differences in the origin of prepancreatic digestive lipases and in the localization of gastric lipase. *Biochim Biophys Acta.* 4 mars 1988;959(1):38-45.
51. Kararli TT. Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. *Biopharm Drug Dispos.* juill 1995;16(5):351-80.
52. Partridge D, Lloyd KA, Rhodes JM, Walker AW, Johnstone AM, Campbell BJ. Food additives: Assessing the impact of exposure to permitted emulsifiers on bowel and metabolic health - introducing the FADiets study. *Nutr Bull.* déc 2019;44(4):329-49.

9. Tables

Table 1. Phospholipid and fatty acid composition of rapeseed lecithin.

Phospholipid, g/100g total^{1,3}	
PC	34.0
PE	40.6
PI + PS	15.0
Lyso-PC	3.7
Lyso-PE	2.7
Others	4.0

Fatty acid composition^{1,2,3}	
16:0	
g/100g total FA	11.5
mol/100mol total FA	45.0
18:1(n-9)	
g/100g total FA	47.7
mol/100mol total FA	169
18:2(n-6)	
g/100g total FA	29.8
mol/100mol total FA	106
18:3(n-3)	
g/100g total FA	4.8
mol/100mol total FA	17.2
20:5(n-3)	
g/100g total FA	0.0
mol/100mol total FA	0.0
22:6(n-3)	
g/100g total FA	0.0
mol/100mol total FA	0.0
Σ (SFA)	
g/100g total FA	13.3

mol/100mol total FA	50.3
Σ (MUFA)	
g/100g total FA	51.3
mol/100mol total FA	183
Σ (PUFA)	
g/100g total FA	34.9
mol/100mol total FA	124
Σ (n-6 PUFA)	
g/100g total FA	29.9
mol/100mol total FA	107
Σ (n-3 PUFA)	
g/100g total FA	4.8
mol/100mol total FA	17.2
Σ (TFA)	
g/100g total FA	0.6
mol/100mol total FA	2.0

1. Data was obtained by high-performance thin layer chromatography (HPTLC) and gas chromatography coupled to a flame ionization detector (GC-FID), respectively.

2. Of note, rapeseed lecithin was devoid of LC n-3 PUFAs.

3. FA = fatty acid; MUFA = mono-unsaturated fatty acids; PC = phosphatidylcholine; PE = phosphatidylethanolamine; PI = phosphatidylinositol; PS = phosphatidylserine; PUFA = poly-unsaturated fatty acids; SFA = saturated fatty acids; TFA = trans-fatty acids.

Table 2. Main fatty acid and phospholipid profile and general composition of the lipid formulations.

	Lipid mixtures				
	0% RL	1% RL	3% RL	10% RL	30% RL
Fatty acid, g/100g total FA^{1,2}					
12:0	0.070	0.070	0.070	0.069	0.060
14:0	0.25	0.26	0.26	0.26	0.24
15:0	0.032	0.028	0.032	0.034	0.046
16:0	13.7	13.8	14.0	14.0	13.8
18:0	2.9	2.9	2.9	2.8	2.6
18:1(n-9)	42.7	42.8	42.9	43.1	43.6
18:1(n-7)	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9
18:2(n-6)	31.8	32.0	31.5	31.5	31.2
18:3(n-3)	4.5	4.5	4.4	4.4	4.3
20:0	0.41	0.41	0.41	0.39	0.35
20:5(n-3)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
22:0	0.18	0.17	0.18	0.17	0.16
22:6(n-3)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
24:0	0.082	0.081	0.085	0.086	0.084
Σ(SFA)	17.8	17.9	18.1	18.0	17.3
Σ(MUFA)	45.6	45.4	45.6	45.8	46.6
Σ(PUFA)	36.4	36.6	36.1	36.0	35.7
Σ(n-6 PUFA)	31.9	32.1	31.6	31.5	31.3
Σ(n-3 PUFA)	4.5	4.5	4.4	4.4	4.3
n-6/n-3	7.1	7.2	7.2	7.1	7.2
Σ(TFA)³	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4
Total phospholipids, g/100g mixture⁴	0.0	1.0	2.9	10	21
Rapeseed oil, g/100g mixture	51	50	49	45	34
Palm oil, g/100g mixture	22	22	22	21	17
Grapeseed oil, g/100g mixture	27	27	26	24	19
Rapeseed lecithin, g/100g mixture	0	1	3	10	30

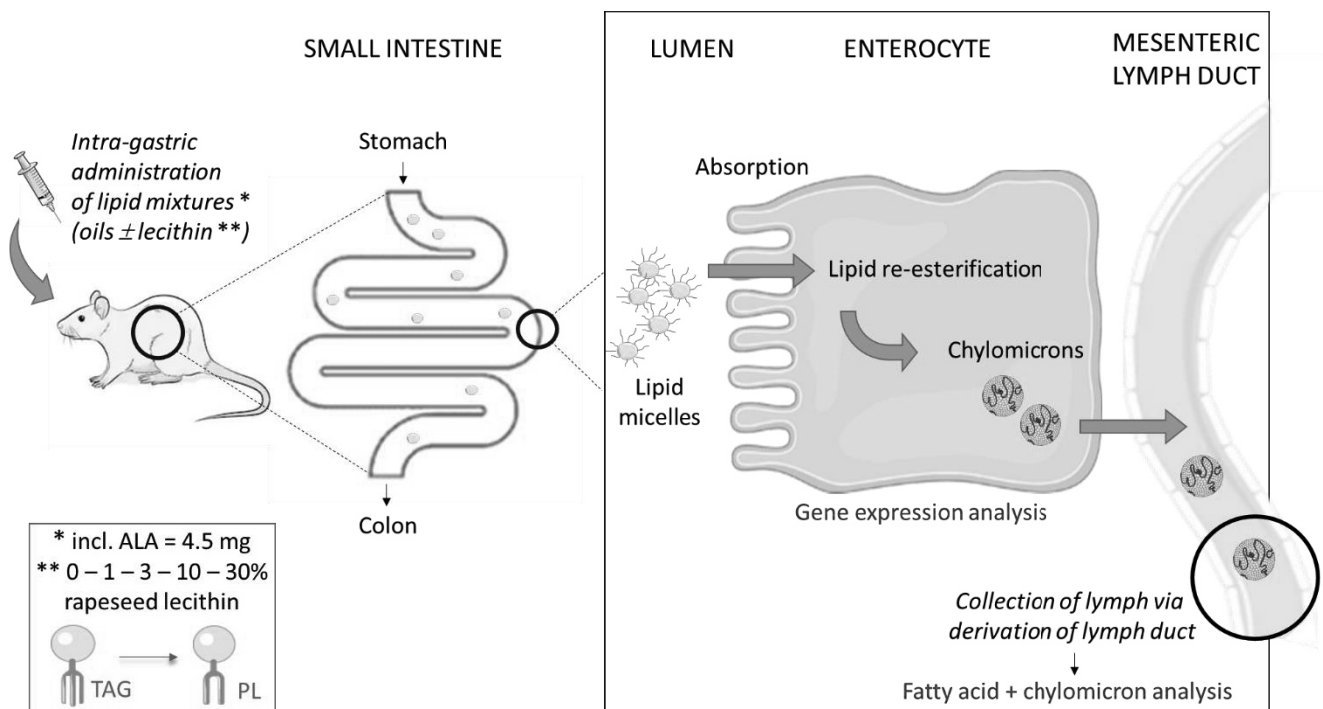
1. Fatty acid values were obtained by gas chromatography coupled to a flame ionization detector (GC-FID).

2. Of note, the lipid formulations were devoid of LC n-3 PUFAs.

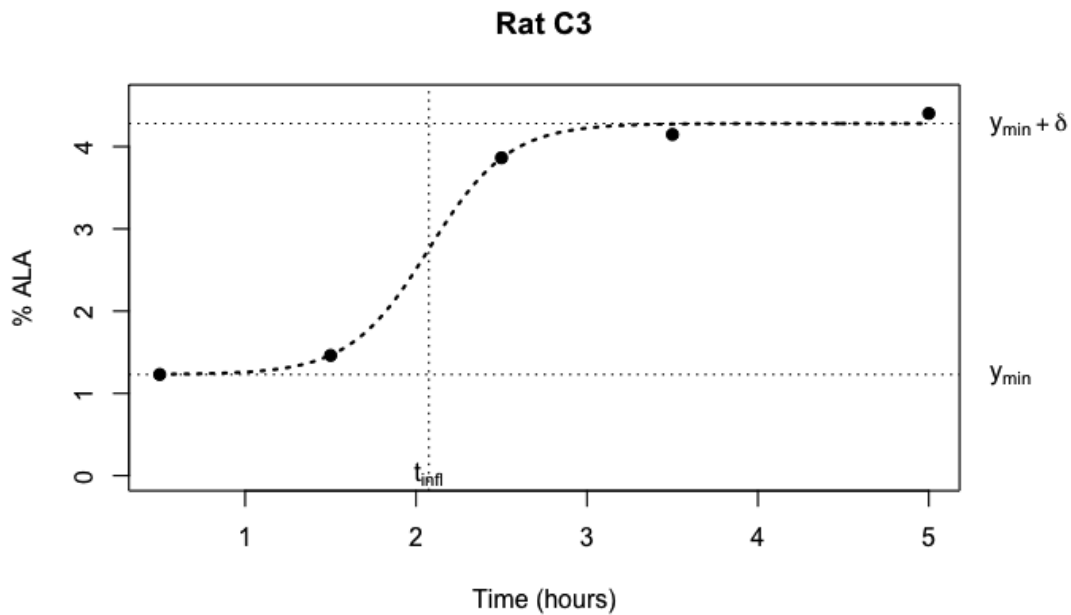
3. FA = fatty acid; MUFA = mono-unsaturated fatty acids; PL = phospholipid; PUFA = poly-unsaturated fatty acids; SFA = saturated fatty acids; TFA = trans-fatty acids.

4. The values were estimated by HPTLC analysis.

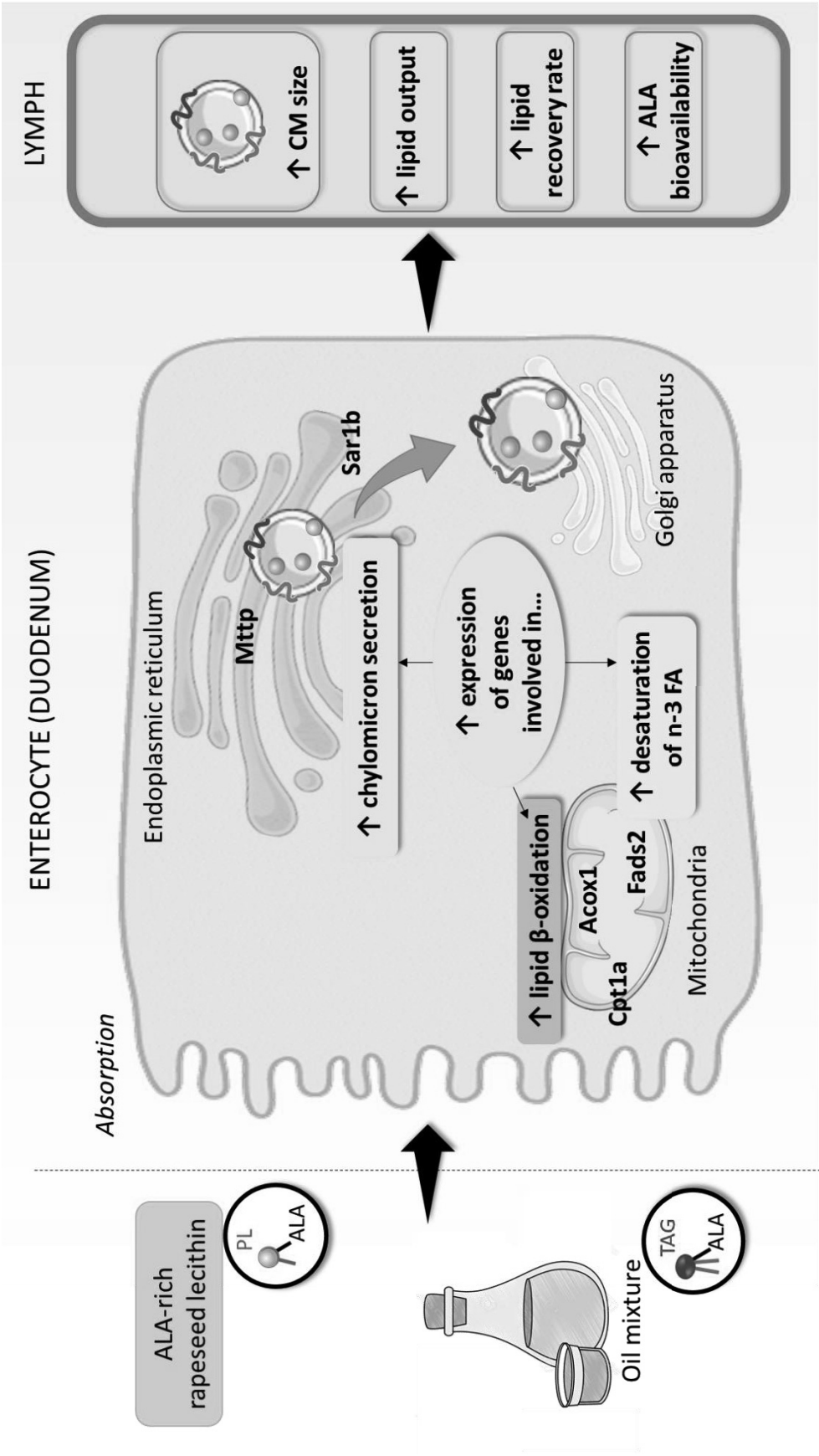
Supplementary Material



Supplementary Figure 1. Experimental study design and complementary intestinal lipid absorption flow diagram. Male Wistar rats undergoing mesenteric lymph duct cannulation surgery were randomly divided into 5 groups and intra-gastrically administered oil mixtures containing either 0, 1, 3, 10 or 30% rapeseed lecithin. The lipid formulations contained identical amounts of α -linolenic acid (ALA), so that, as rapeseed lecithin dose increased, so did the amount of ALA vectorised by phospholipids. Lymph was collected for 6 hours post-administration for fatty acid and chylomicron analysis. After 6 hours, the rats were euthanised and the duodenal mucosa was collected for the analysis of the expression of genes implicated in lipid metabolism. ALA= α -linolenic acid; PL=phospholipid; TAG=triacylglycerol.



Supplementary Figure 2. A fitted sigmoidal curve of the relative percentage of ALA in lymph lipids for an individual rat, obtained using the following equation: $y(t) = y_{\min} + \frac{\delta}{1 + e^{\frac{t_{\text{infl}} - t}{s}}}$, where $y(t)$ is the fitted response, y_{\min} the minimum of the sigmoid, δ the difference between its maximum and its minimum, t_{infl} the abscissa of its inflection point, and s the steepness of the curve. The inflection point, t_{infl} , represents the time at which the curve changes from being convex to being concave: it is a useful indicator of the timing of ALA appearance within lymph. ALA = α -linolenic acid.



Supplementary Material. Graphical abstract

CHAPITRE 3 : Impact à court terme de lécithines végétales riches en ALA sur le métabolisme des lipides, le profil en acides biliaires et les bactéries intestinales chez la souris

Résumé

Dans le chapitre précédent, nous avons mis en évidence que l'administration de lécithine de colza chez le rat est capable de moduler le métabolisme postprandial des lipides, en augmentant de manière dose-dépendante l'apparition des lipides et de l'ALA dans la lymphe. Il est désormais essentiel de déterminer l'effet de la consommation à court et à long terme de la lécithine de colza sur ces mêmes paramètres. Ceci est d'autant plus important que le marché des lécithines végétales est en plein essor, porté notamment par la nécessité et l'attrait grandissants de favoriser les produits d'origine naturelle.

Dans le contexte actuel de la pandémie d'obésité et de maladies métaboliques associées, l'étude des effets santé de ces ingrédients ne peut désormais se faire sans prendre en compte leur impact sur le microbiote intestinal, qui, de par son implication dans la régulation de nombreux processus métaboliques et inflammatoires, contribue largement au développement de ces maladies. Le microbiote intestinal est extrêmement sensible à son environnement nutritif et répond rapidement à des changements alimentaires. Chez l'Homme, 2 à 4 jours d'exposition à un aliment suffisent pour engendrer des modifications du microbiote (324). Ces effets seraient en partie dus à des changements dans le métabolisme des acides biliaires, qui peuvent avoir lieu dès 24h (325). En effet, les acides biliaires jouent un rôle important dans la régulation du métabolisme des lipides et du microbiote, et constituent un élément clé de la santé métabolique.

A l'heure actuelle, aucune donnée n'existe concernant l'impact des lécithines végétales sur le microbiote et/ou les acides biliaires. Par ailleurs, la grande majorité des études portant sur les effets métaboliques des lécithines végétales utilisent la lécithine de soja, celle-ci étant majoritaire sur le marché, et à des doses de supplémentation. Il est dès lors primordial de déterminer l'impact la consommation de doses nutritionnelles de lécithine de colza et de soja sur le métabolisme postprandial des lipides, le microbiote et les acides biliaires.

Dans ce contexte, nous avons mis en place une étude chez la souris, afin de mettre en évidence d'éventuelles modifications au niveau du métabolisme des lipides, des acides biliaires et du microbiote que pourraient engendrer la consommation de lécithines de colza et de soja au bout de quelques jours seulement. La capacité de ces lécithines à augmenter la biodisponibilité de l'ALA a également été évaluée. Pour ce faire, des souris Swiss mâles ont consommé pendant 5 jours des régimes normolipidiques contenant une même quantité d'ALA et 0, 1, 3 ou 10% de lécithine de colza ou 10% de lécithine de soja. Ces doses correspondent à des doses nutritionnelles listées par l'EFSA et sont les mêmes que celles testées dans l'étude précédente chez le rat, à l'exception de la haute dose de supplémentation de 30%. De la même manière que

dans l'étude précédente, seule la vectorisation de l'ALA était modifiée entre les groupes : plus la dose de lécithine était importante, plus l'ALA était porté par les PL, comparativement aux TAG. Au bout des 5 jours de régime et après une mise à jeun de 12h, les souris ont été gavées avec les mêmes mix huileux qu'elles avaient consommé préalablement et euthanasiées 90 minutes plus tard. Le plasma, le foie, des fèces et différents segments d'intestin ont été prélevés pour analyse.

Nos résultats démontrent qu'en cinq jours, des doses nutritionnelles de lécithine de colza et de soja ($\leq 10\%$ des lipides totaux) peuvent induire des modifications bénéfiques au niveau du microbiote intestinal chez la souris, en augmentant l'abondance fécale de *Clostridium leptum*, un groupe bactérien décrit comme étant anti-inflammatoire et dont l'abondance est diminuée dans des maladies inflammatoires intestinales (72). La lécithine de colza aurait par ailleurs un effet bénéfique et spécifique sur les acides biliaires : la consommation de 10% de lécithine de colza, mais pas de soja, augmente la sulfatation hépatique des acides biliaires et la diminution de leur hydrophobie au niveau du caecum. Ces deux mécanismes favorisent l'élimination des acides biliaires, dont l'accumulation peut être toxique, et peuvent ainsi être considérés comme favorable. Aucun effet des lécithines n'est observé sur la biodisponibilité de l'ALA ni sur les lipides totaux, tant au niveau hépatique que plasmatique.

Ainsi, si ces données démontrent que l'utilisation de lécithines végétales en tant qu'ingrédient ne permet pas d'augmenter la biodisponibilité de l'ALA à court terme, elles illustrent néanmoins le potentiel des lécithines végétales, et notamment de la lécithine de colza, comme alternative intéressante aux émulsifiants synthétiques. En effet, leurs effets à court terme sur le métabolisme des lipides, le microbiote et les acides biliaires semblent bénéfiques. Il est dès lors essentiel d'étudier les effets de leur consommation à plus long terme, notamment au sein d'un régime hyperlipidique de type occidental.

Cette deuxième étude a également donné lieu à un article de recherche, qui a été soumis au journal *Molecular Nutrition and Food Research* en novembre 2020 et est actuellement « Under Review ».

Article de recherche

Impact of rapeseed and soy lecithin on postprandial lipid metabolism, bile acid profile and gut bacteria in mice

Chloé Robert^{a,b}, Charline Buisson^a, Fabienne Laugerette^a, Hélène Abrous^b,
Dominique Rainteau^c, Lydie Humbert^c, Justine Vande Weghe^d, Emmanuelle Meugnier^a,
Emmanuelle Loizon^a, François Caillet^a, Benjamin Van Dorsselaer^a, Maria Urdaci^d,
Carole Vaysse^b and Marie-Caroline Michalski^{a,#}

^a CarMeN laboratory, INRAE, UMR1397, INSERM, U1060, INSA-Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Pierre-Bénite, FR-69310, France.

^b ITERG, Equipe Nutrition, Santé et Biochimie des Lipides, Canéjan, FR-33610, France.

^c Sorbonne Universités, UPMC Univ. Paris 6, ENS, PSL Research University, CNRS, INSERM, APHP, Laboratory of BioMolecules (LBM), FR-75005, France.

^d UMR5248, Laboratory of Microbiology and Applied Biochemistry, Bordeaux Sciences Agro, Gradignan, FR-33170, France.

Corresponding author: Marie-Caroline Michalski, CarMeN laboratory, CENS-ELI Building 2D, Hôpital Lyon Sud secteur 2, 165 Chemin du Grand Revoyet, 69310 Pierre Bénite, France, Tel: (+33) 4 26 23 61 71.

E-mail addresses: marie-caroline.michalski@inrae.fr ; chloe.robert@univ-lyon1.fr

Conflict-of-interest/financial disclosure statement: C.R., L.C., H.A. and C.V. are employees of ITERG. M.-C. M. is an external academic expert member of the Scientific Committee of ITERG. C.R. acknowledges a CIFRE PhD grant from ANRT. M.-C.M. received other research fundings on other topics from Sodiaal-Candia R&D, the Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière (CNIEL, French Dairy Interbranch Organization) and Nutricia Research and has consultancy activities for food & dairy companies. These activities had no link with the present article. All authors are members of UMT ACTIA BALI (BioAvailability of Lipids and Intestine). Other authors have no conflict of interest to declare.

Abstract

Scope: Synthetic emulsifiers have recently been shown to promote metabolic syndrome and considerably alter gut microbiota. Yet, data is lacking regarding the effects of natural emulsifiers, such as plant lecithins rich in essential α -linolenic acid (ALA), on gut and metabolic health.

Methods and results: For 5 days, male Swiss mice were fed diets containing similar amounts of ALA and 0, 1, 3 or 10% rapeseed lecithin (RL) or 10% soy lecithin (SL). Following an overnight fast, they were force-fed the same oil mixture and euthanised after 90min. The consumption of lecithin significantly increased faecal levels of *Clostridium leptum* ($p=0.0004$), regardless of origin or dose, without altering hepatic or intestinal expression of genes of lipid metabolism. 10%-RL increased ALA abundance in plasma triacylglycerols at 90min, reduced caecal bile acid hydrophobicity and increased their sulfatation, as demonstrated by the increased hepatic ARN expression of *Sult2a1* ($p=0.037$) and caecal CA-7S concentration ($p=0.05$) vs. 0%-lecithin.

Conclusion: After only 5 days, nutritional doses of RL and SL modified gut bacteria in mice, by increasing *Clostridium leptum*. RL also increased postprandial ALA abundance and induced beneficial modifications of the bile acid profile. ALA-rich lecithins, especially RL, may then appear as promising alternatives to synthetic emulsifiers.

Keywords: nutrition, food additive, phospholipid, intestine, absorption

Abbreviations: α -linolenic acid (ALA), bile acid (BA), cholic acid (CA), chylomicron (CM), deoxycholic acid (DCA), docosahexaenoic acid (DHA), eicosapentaenoic acid (EPA), European Food Safety Agency (EFSA), fatty acid (FA), linoleic acid (LA), oleic acid (OA), palmitic acid (PA), phosphatidylcholine (PC), phosphatidylethanolamine (PE), phosphatidylinositol (PI), phospholipid (PL), polyunsaturated fatty acid (PUFA), rapeseed lecithin (RL), soy lecithin (SL), triacylglycerol (TAG).

1. Introduction

Over the last decade, the prevalence of chronic metabolic disorders and the concomitant increase in the use of food additives have led to a growing interest and need to understand the impact of such ingredients on metabolic health [1–3]. In this regard, it has been shown that certain synthetic emulsifiers, such as polysorbate 80, may exert deleterious effects, including alterations of the gut microbiota, associated with low-grade inflammation and metabolic syndrome [4,5]. Yet, data is lacking when it comes to natural emulsifiers.

Lecithins, complex lipids mixtures predominantly composed of phospholipids (PL)[6], are the predominant natural emulsifiers used by the food industry. The vast majority of lecithin is obtained from plant sources, most particularly soy, which represents more than 90% of the global market [7]. Recently, other alternative sustainable sources of lecithin have emerged, such as rapeseed and sunflower [8,9]. Similarly to their respective oils, soy lecithin (SL) and rapeseed lecithin (RL) are rich in an essential n-3 polyunsaturated fatty acid (n-3 PUFA), α -linolenic acid (ALA)[10]. ALA is involved in numerous biological functions and may play a preventive role in cardiovascular diseases and in stroke [11,12]. Furthermore, as an essential fatty acid (FA), it is not synthesized endogenously and must be obtained through the diet. Yet, it is estimated that the majority of the European population fails to meet the recommended daily intakes of ALA, i.e. 1% of total energy [13]. Since recent data suggests that PL are capable of increasing the bioavailability of the FA they contain compared to triacylglycerols (TAG) [14–17], RL and SL may then appear as more potent vectors of ALA than their respective oils, and may thus help increase ALA intakes.

Moreover, in both preclinical and clinical studies, the supplementation with vegetal PL has been associated with both increased lipid absorption[18,19] and beneficial effects on lipid and lipoprotein metabolism [20–22], which highlights the importance of PL in intestinal lipid absorption and in the regulation of postprandial lipid metabolism [23–25].

Dietary PL not only impact lipid absorption and metabolism, but also strongly modulate the gut microbiota, which in turn regulates a plethora of metabolic and inflammatory processes, implicated in the development of chronic metabolic diseases [26–28]. Indeed, the intestinal microbiota interacts with the host via a number of pathways, notably via the transformation of bile acids (BA)[29]. BA are increasingly recognized as important regulators of intestinal function and gut microbiota properties [30]. In order to fully comprehend the impact of vegetable lecithins on host metabolism and gut health, it is therefore essential that their effects on the BA pool and the gut microbiota be characterized.

However, the metabolic impact of low nutritional doses of vegetable lecithins remains controversial [31,32]. Indeed, in Europe, although lecithin may be added at quantum salis in most foods (no maximum authorized level declared), its use is restricted in certain food products, namely in infant formulas (maximum level authorized of 1% w/w) and in oils (3% w/w) [33]. Furthermore, for feasibility and palatable reasons, lecithin may not be added at high levels, so that its highest reported use is of 10% in diet management foods.

The present study hence aimed to assess, in mice, the potential modifications of host metabolism and gut microbiota that occur after several days of consumption of two ALA-rich lecithins, soy and rapeseed lecithin, at various nutritional doses and with a particular focus on ALA bioavailability, postprandial lipemia, the BA pool and gut microbiota composition.

2. Experimental Section

2.1. Preparation and characterization of the lipid formulations and diets

Soybean and rapeseed lecithin (SL and RL) were kindly provided by Novastell (Etrepagny, France). Grapeseed, rapeseed and palm oils were provided by ITERG (Canéjan). The lipid formulations were prepared by mixing the aforementioned vegetable oils with varying doses of RL or SL under magnetic agitation, so as to obtain blends of similar FA profiles (~4% ALA). The lipid blends were then either stored under N₂ for future administration or incorporated into delipidated powdered diets (n°U8958 version 0244, SAFE, Augy) to obtain diet pellets containing 5% lipids. The obtained diet pellets were nutritionally balanced with equal macronutrient repartition and caloric input.

The FA compositions of the two lecithins and lipid formulations were determined using a gas chromatographer (GC) equipped with a flame ionization detector (FID), as described in section 2.5 (Tables 1 and 2). The quantification of the lipid fractions of the two lecithins was evaluated by high-performance thin layer chromatography (HPTLC) (Supplementary Experimental Section).

2.2. Animals and experimental procedure

All experiments and procedures were performed in accordance with the EU Council Directive for the Care and Use of Laboratory Animals (n° 2010/63/EU). The protocol was approved by the Animal Ethics Committee of National Institute of Applied Sciences of Lyon and registered under the number CETIL 012014. Experiments were performed using male Swiss mice

(Elevage Janvier), obtained at 4 weeks old and weighing 30-40 g. The mice were acclimatized for 7 days prior to the experiment, during which they were housed 6 per cage and kept in a temperature- controlled environment (temperature $24\pm 1^{\circ}\text{C}$; 12h light – 12h dark cycle) with free access to water and food.

After acclimatization, the mice were randomly assigned to one of the five experimental groups (n=12 mice/group) and, during 5 days, were fed diets in which the oil blend contained no lecithin, 1%, 3% or 10% RL, or 10% SL. Body weight was recorded daily. Animals were placed back on an ad libidum diet and then food-deprived for 12h before the intervention, upon which they received, via oral intubation, 150 μL of the same respective oil mixture they had consumed during pre-impregnation. The mice were euthanized 90 minutes after intubation by inhalation of isoflurane. Death was induced by subsequent cardiac puncture. Blood was collected directly in heparin-containing tubes and placed immediately in ice. Plasma was obtained by centrifugation (4600rpm at 4°C for 5 minutes). The small intestine was segmented into three parts with length ratios of 1:3:2 corresponding to the duodenum:jejunum:ileum. The plasma, the liver, the intestinal segments and caecum were weighed, frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C until analysis.

2.3. Dosage information/dosage regimen

On average, the mice weighed 37g and consumed 8.8g of diet per day. According to the FDA's Human Equivalent Dose calculation, the daily doses of lecithin consumed by the mice are equivalent to 10 mg.kg⁻¹ body weight in humans for the 1% lecithin group, 29 mg.kg⁻¹ for the 3% lecithin group and 97 mg.kg⁻¹ for both 10% lecithin groups [34]. Concerning the gavage, the mice received a 150 μL bolus of oil mixtures containing 0, 1, 3 or 10% lecithin. In humans, these doses are equivalent to 0, 3, 10 or 33 mg.kg⁻¹ body weight, respectively. According to the EFSA Panel on Food Additives, the estimated average exposure to lecithins as food additives ranges from 32 to 177 mg.kg⁻¹ body weight per day in adolescents, and 70 to 118 mg.kg⁻¹ body weight per day in adults [33]. The doses used in this study are hence representative of the daily intakes of the population.

2.4. Plasma and hepatic lipid analysis

Plasma and liver samples were thawed to room temperature. Free FA were extracted according to the technique described by Bligh et Dyer [35]. PL and TAG were separated by thin layer chromatography (TLC), derived into FAME by transmethylation,[36,37] which were analyzed by GC-FID (Supplementary Experimental Section).

2.5. Real-time quantitative RT-PCR analysis

Total RNA was extracted from the jejunum, ileum and liver using the TRI Reagent (Ambion/Applied Biosystems). RNA quality and concentration were measured using the Multiskan GO microplate spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Reverse transcription was performed using 1µg of RNA and the PrimeScript RT reagent kit (Ozyme, Saint Quentin-en-Yvelines, France). Real-time PCR assays were then performed using a Rotor-Gene Q (Qiagen, Hilden, Germany) and SYBR qPCR Premix Ex Taq (Tli RNaseH Plus) reagents. The conditions of quantitative PCR conditions are available upon request (emmanuelle.meugnier@pop.univ-lyon1.fr). The results were normalized using the expression of the Tbp (TATA-box-binding protein) gene as a reference.

2.6. Fecal microbiota analysis

Feces were collected after the 5-day pre-impregnation. The analysis of fecal microbiota populations was performed, as previously described [38,39]. Briefly, feces were subjected to a lysozyme treatment (100mg of feces in 500µL of a TE solution containing 30mg/mL of lysozyme) with an incubation of 30 minutes at 37°C. DNA was then extracted using 200µL of the obtained solution and the NucleoSpin Soil Genomic DNA isolation kit (Macherey-Nagel, France). The evaluated populations were: total Bacteroidetes, total Firmicutes, Bifidobacteria, Coliformes, Akkermansia muciniphila, Clostridium coccooides, Clostridium leptum, Lactic acid bacteria and Faecalibacteria prausnitzii. The quantification of these populations was performed using primers synthesized by Biomers (France). PCR reactions were carried out on a CFX96 System (Bio-Rad) using iTaq SYBR Green Universal Supermix (BioRad, France). The resulting data were collected and analyzed in CFX Maestro (BioRad), using standard curves obtained from pure cultures.

2.7. Caecal bile acid analysis

Caecal BA molecular species concentrations were measured by HPLC coupled to tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) using a 5500Q-trap (Sciex), as previously described [40]. The hydrophobicity index reflects BA hydrophobicity, taking into account the concentration and the retention time of different BA on a C18 column with a gradient of methanol; lithocholic acid has the highest retention time, and tauroursodeoxycholic acid-3S the lowest.

2.8. Statistical analysis

All statistical analyses were performed using the GraphPad Prism software (version 7). Data normality and homogeneity of variance were verified using a Shapiro-Wilk test and Bartlett test respectively. Means of lipid and BA concentration and relative abundance, mRNA gene expression and bacterial count were compared across groups using one-way ANOVA. For non-normal data, a Kruskal-Wallis test was performed instead. When the analysis revealed a significant effect, a Dunnett's post hoc test (using 0% lecithin as control) was used to identify the dose of lecithin contributing most to the effect. To evaluate possible relationships among the various outcomes, Spearman correlations were performed. Conventional values of $p < 0.05$ were considered statistically significant. Data in tables and figures is presented as mean \pm SEM.

3. Results

3.1. Lecithin and diet composition

As revealed by GC-FID analysis, the two plant-derived lecithins differed in their FA composition (Table 2). Although both were predominantly composed of oleic acid (OA), linolenic acid (LA) and palmitic acid (PA), RL contained higher amounts of OA, while SL was characterized by its high LA content. Both lecithins contained similar amounts of ALA (~4g/100g). As such, the FA composition of the lecithin resembled that of its oil-bearing seed, as reported in the literature [6]. The polar lipid compositions of SL and RL were equally similar, both mainly constituted of phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE). SL contained twice the amount of lyso-PE and half that of lyso-PE found in RL.

In accordance to the study design, all formulations presented similar FA profiles, mainly composed of OA (~45 g/100g), LA (~28 g/100g), PA (~14 g/100g) and ALA (~4.3 g/100g), which differed only in their vectorization form (Table 1). In this way, the higher the lecithin dose present in the oil mixture, the higher the amount of ALA vectorized by polar lipids.

Of note, both the lecithins and the lipid mixtures were obtained from plant sources and were consequently devoid of the long-chain (LC) n-3 PUFAs, eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA).

3.2. The impact of lecithin on postprandial lipemia

In order to assess the impact of ALA-rich lecithin on postprandial lipemia and ALA bioavailability, the FA composition of both the TAG and the PL fractions in plasma were

evaluated at 90 minutes after gavage (Figure 1). Whereas the concentration of total PL in plasma was not found to differ between groups, that of total TAG was increased 1.6 fold in the 10%-RL group compared to control, i.e. those who had not consumed any lecithin, although this effect was not found to be statistically significant.

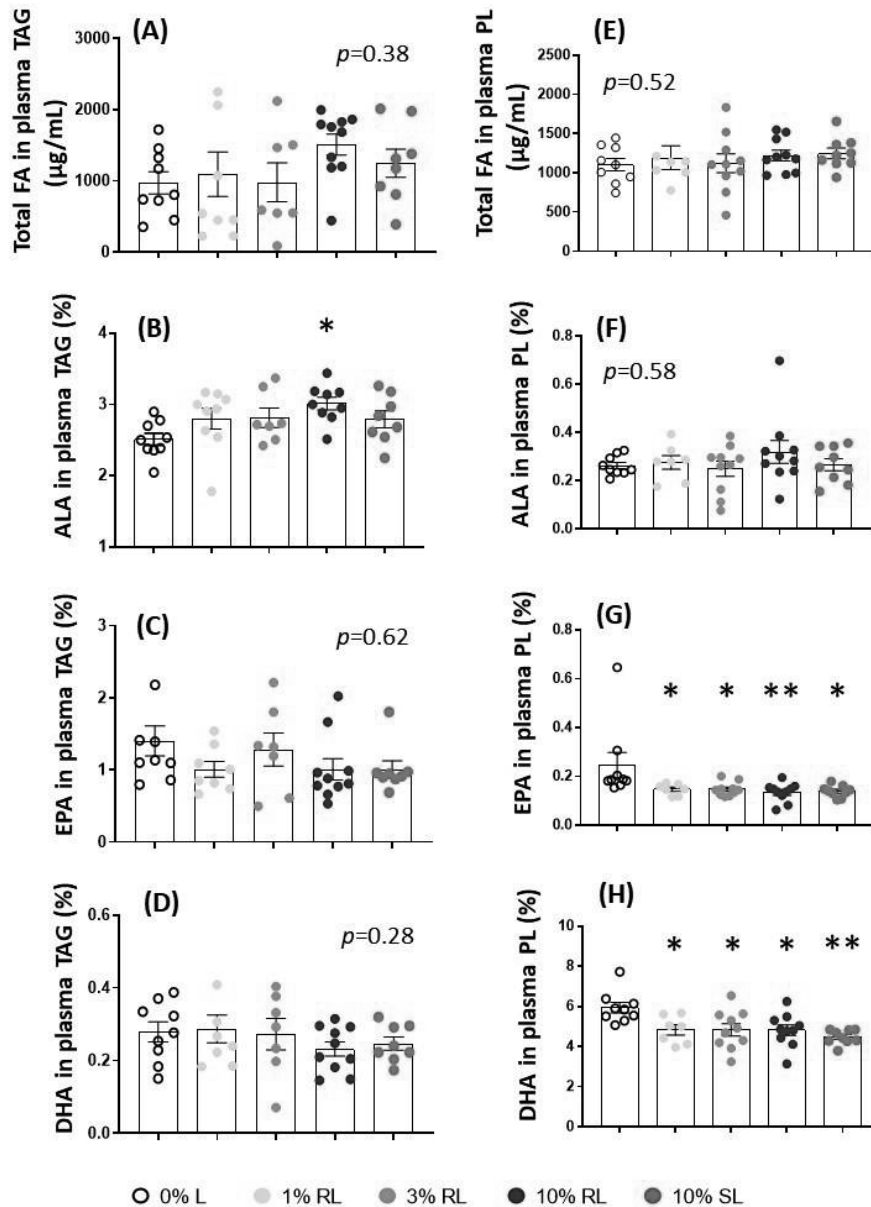


Figure 1. The concentration of total fatty acids in (A) the TAG fraction of plasma, and their relative percentage of (B) ALA, (C) EPA and (D) DHA, as well as concentration of total fatty acids in the (E) PL fraction of plasma, and the relative percentage of (F) ALA, (G) EPA and (H) DHA within the PL fraction, in mice following the oral administration of lipid mixtures containing 0% to 10% RL or SL. Values represent mean \pm SEM, n=7-11. To test the impact of lecithin on these plasmatic lipids, all groups were analyzed by one-way ANOVA, followed by Dunnett's post-hoc test versus 0% lecithin (control). Means statistically different from control are presented as *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$. ALA= α -linolenic acid; DHA=docosahexaenoic acid; EPA=eicosapentaenoic acid; PL=phospholipid; RL=rapeseed lecithin; SL=soybean lecithin; TAG=triacylglycerol.

Regarding ALA specifically, the consumption of 10% RL induced a significant increase in the relative percentage of ALA in plasma TAG, compared to control ($p=0.011$). Interestingly, this increase was not observed in the 10%-SL group, suggesting a specific effect of RL. The relative percentage of ALA in plasma PL was not found to differ.

Interestingly, the percentage of EPA and DHA in plasma PL was significantly decreased in all groups of mice which had consumed lecithin vs control ($p=0.024$ and $p=0.0032$ respectively), regardless of lecithin dose or origin.

In order to evaluate whether the observed decrease in the relative abundance of EPA and DHA in plasma at 90 minutes was the result of their dilution amongst the FA pool, the lipid composition of both the TAG and PL fractions in the liver of these mice was also determined (Figure 2). No difference in FA composition, be it ALA, EPA or DHA, was observed in either lipid fractions in the liver.

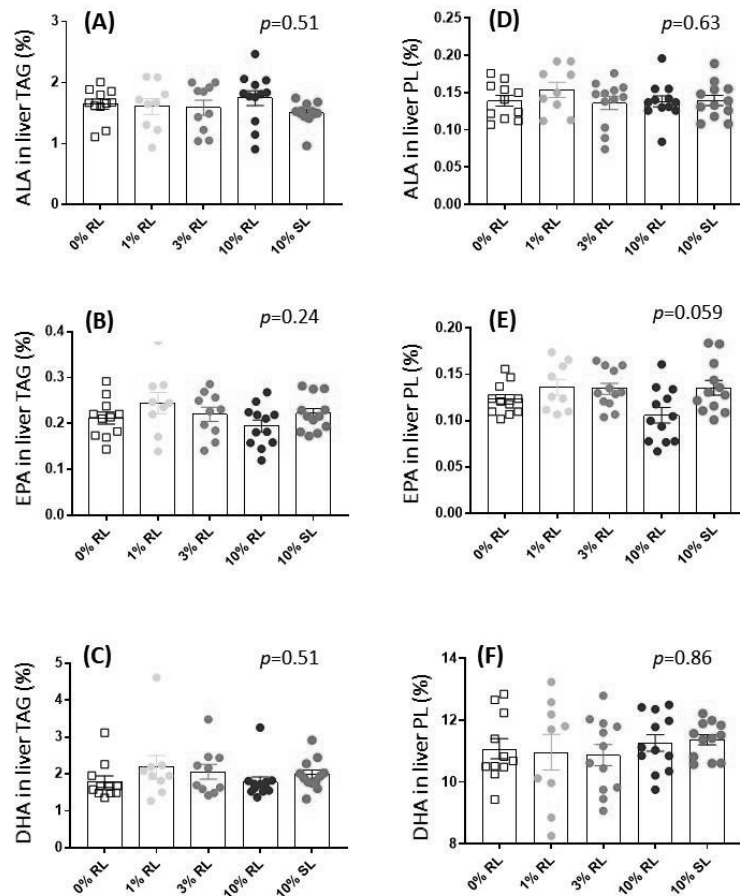


Figure 2. The relative percentage of (A) ALA, (B) EPA and (C) DHA within the TAG fraction of liver lipids, as well as the relative percentage of (D) ALA, (E) EPA and (F) DHA within the hepatic PL fraction, in mice following the oral administration of lipid mixtures containing 0% to 10% RL or SL. Values represent mean \pm SEM, $n=9-12$. To test the impact of lecithin on these hepatic lipids, all groups were analyzed by one-way ANOVA. ALA= α -linolenic acid; DHA=docosahexaenoic acid; EPA=eicosapentaenoic acid; PL=phospholipid; RL=rapeseed lecithin; SL=soybean lecithin; TAG=triacylglycerol.

As RL increased the abundance of ALA in plasma TAG at 90 minutes, we evaluated the impact of RL on 1) the expression of genes implicated in lipid absorption in the jejunum (Figure S1, Supporting Information) and on 2) the intestinal and hepatic expression of genes involved in n-3 PUFA metabolic pathways, such as beta-oxidation and bioconversion to n-3 LC-PUFAs (Figure S2, Supporting Information). No difference was observed.

3.4. Impact on gut bacteria

As both dietary lipids and synthetic emulsifiers have been shown to alter the gut microbiota, we assessed the impact of both lecithins. Total bacterial count was evaluated, as well as the prevalence of certain bacteria of known interesting metabolic effects (described in the methods section) (Figure S3, Supporting Information). The total bacterial count, as well as the Firmicutes/Bacteroidetes ratio did not differ between groups (Figure 3). Of all bacterial populations tested, only one was found to be significantly modified by lecithin consumption. *Clostridium leptum* count was increased in all groups which had consumed lecithin, regardless of dose or origin ($p=0.0004$, Figure 3).

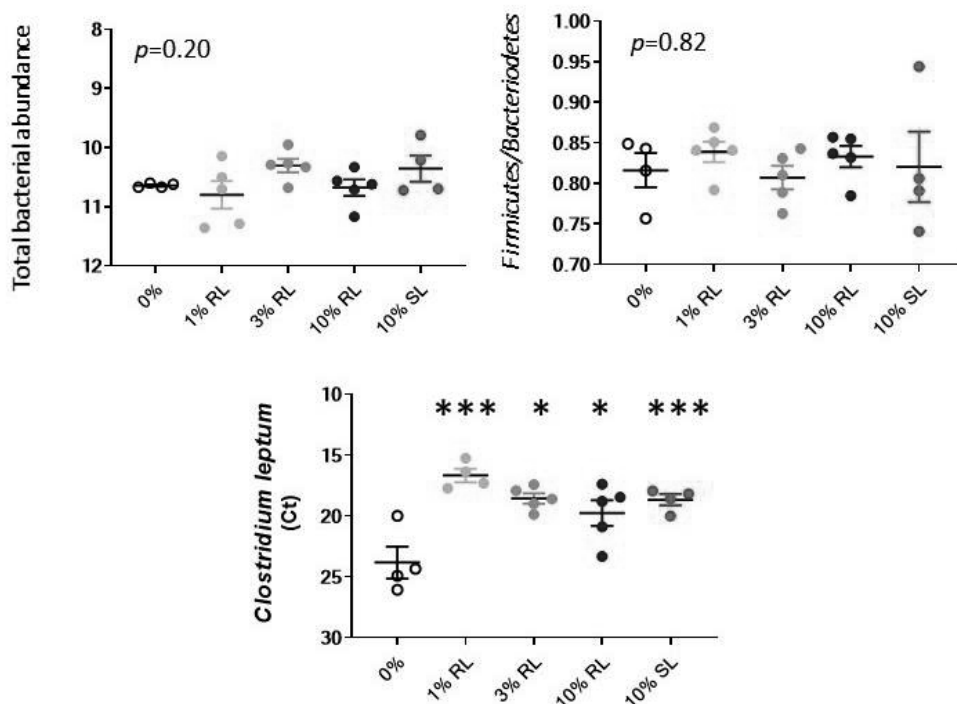


Figure 3. Total bacteria abundance, ratio of *Firmicutes/Bacteroidetes* bacteria and DNA expression of *Clostridium leptum* in the feces of Swiss mice following 5 days of consumption of diets containing 0 to 10% RL or SL. Bars represent mean±SEM, n=4-5. To test the impact of lecithin on these parameters, all groups were analyzed by one-way ANOVA, followed by Dunnett's post hoc test vs 0% lecithin. *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$. Ct=number of cycles; RL=rapeseed lecithin. SL=soybean lecithin.

3.5. Rapeseed lecithin modified bile acid composition in the caecum

As the gut microbiota and BA are known to be strongly intertwined, we further investigated the impact of SL and RL on the BA pool in the caecum (Figure 4).

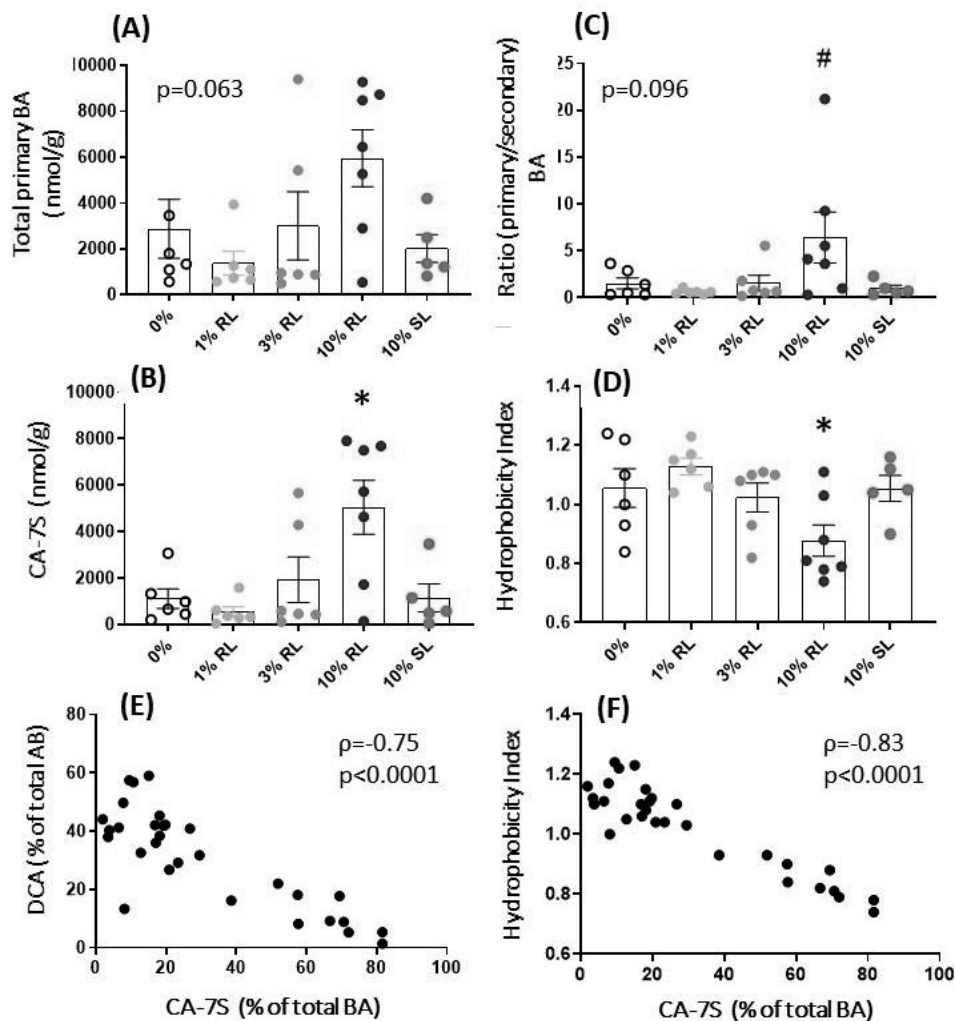


Figure 4. The concentration of (A) total primary bile acids and (B) CA-7S, (C) the ratio of primary to secondary bile acids, and (D) the hydrophobicity index of the bile acid pool in the caecum of mice, following 5 days of consumption of diets containing 0 to 10% RL or SL. (E) represents the Spearman correlation between the relative percentage of CA-7S and DCA; (F) the Spearman correlation between the relative percentage of CA-7S and the bile acid pool hydrophobicity index. Bars represent mean \pm SEM, n=5-7. To test the impact of lecithin on the bile acid pool, all groups were analyzed by one-way ANOVA, followed by Dunnett's post-hoc test versus control. Means statistically different from control are presented as #: $0.1 < p < 0.05$; *: $p < 0.05$. BA=bile acid; CA-7S=cholic acid-7sulfate; DCA=deoxycholic acid; RL=rapeseed lecithin; SL=soybean lecithin.

Herein, no statistically significant differential effect between groups was observed regarding the weight of the caecum or the amount of total caecal BA (caecal BA profiles are presented in Figure S4, Supporting Information). However, the amount of total primary BA was doubled in the 10%-RL group compared to control, leading to a higher ratio of primary to secondary BA

($p=0.096$) in the 10%-RL group vs control. This may be primarily attributed to a significant increase in the concentration of sulfated cholic acid (CA-7S) in the 10%-RL group ($p=0.05$) vs. control, as this sulfated BA represented more than 80% on average in the 10%-RL group. The increase in sulfated BA was associated with a decrease in the hydrophobic index of the caecal BA pool ($p=0.05$) in the 10%-RL group vs control, as evidenced by the inverse correlation between the two parameters ($\rho=-0.83$, $p<0.0001$). The increase in CA-7S was also inversely correlated with the relative abundance of the secondary BA, deoxycholic acid (DCA) ($\rho=-0.75$, $p<0.0001$). Again, these changes were not observed in the 10%-SL group, suggesting a specific effect of RL.

3.6. Gene expression of entero-hepatic bile acid metabolism and inflammation

In order to explore potential mechanisms for the sulfation of BA, we assessed, in both the liver and the ileum (Figures 5 and 6), the mRNA expression of genes involved in enterohepatic BA metabolism. In the liver, *Sult2a1* was overexpressed in the 10%-RL compared to control ($p=0.037$). In the ileum, the mRNA expression of none of the main genes involved in the the main metabolic pathways of BA was modified.

4. Discussion

The present study aimed to evaluate the impact of the short-term consumption of nutritional doses of two ALA-rich vegetable lecithins on postprandial lipemia and ALA bioavailability, as well as other regulators of lipid homeostasis and intestinal health, such as BA and gut microbiota.

Dietary PL have been previously reported to increase postprandial lipid absorption [18,31,41]. Nonetheless, their stimulatory effect seems to be dose-dependent, and the effects of low nutritional doses of lecithin remain controversial [32]. In this way, we have recently demonstrated that the gastric administration of RL in lymph-cannulated rats dose-dependently increased the output of lipids in lymph, but that this stimulatory effect only became significant at high supplementation doses (30%) [42]. This has been confirmed in other studies in which the administration of dietary PL at low PL/TAG ratios (1/16 – 1/7) did not generate an increase in lipid lymphatic output [43,44].

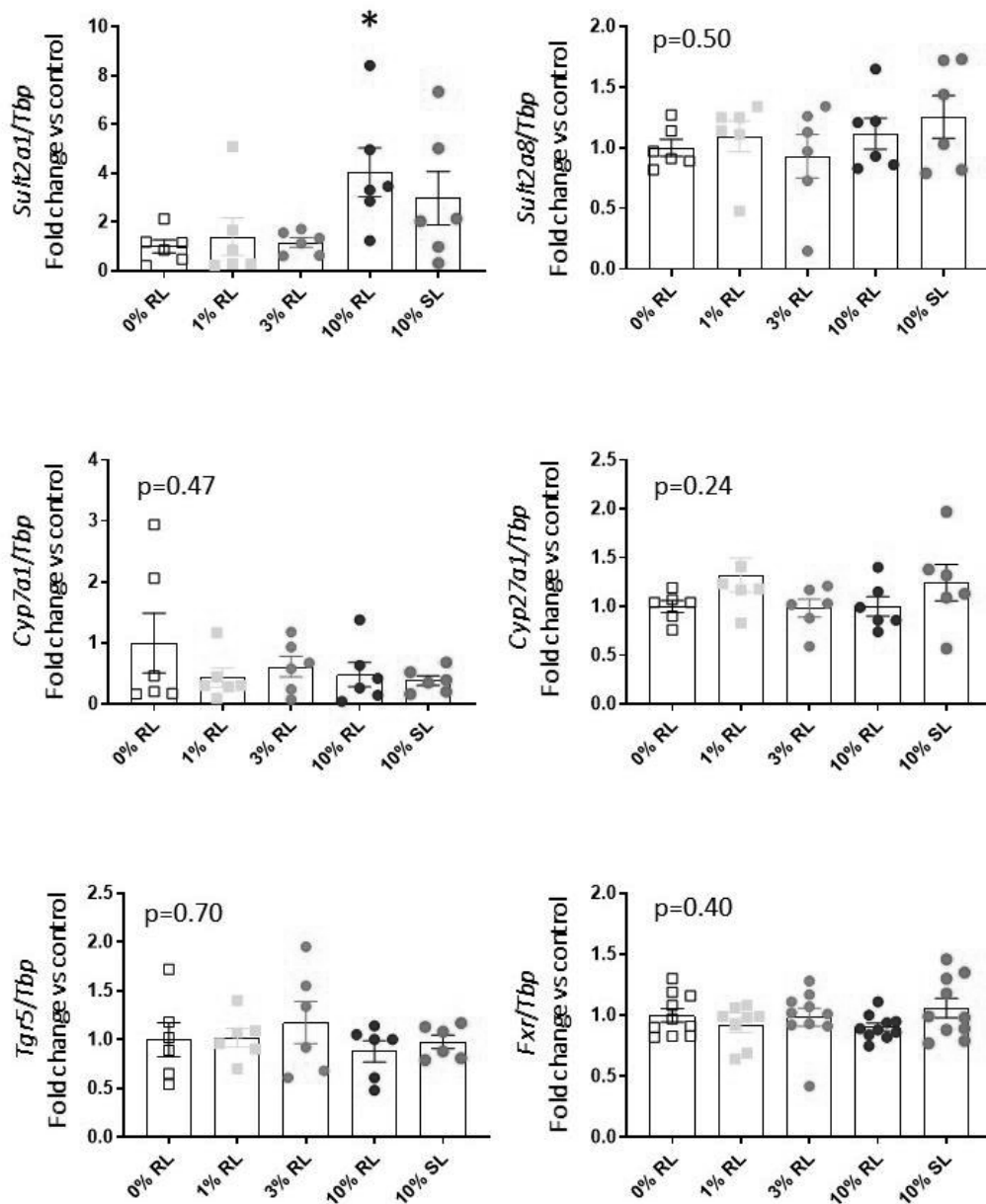


Figure 5. The mRNA expression of genes involved in the enterohepatic bile acid metabolism in the liver of mice. Values are normalized to the levels of the mRNA expression of *Tbp* and expressed as relative amount compared with control (0% lecithin). Bars represent mean \pm SEM, n=8-9. To test the impact of lecithin on the expression of these genes, all groups were analyzed by one-way ANOVA, followed by Dunnett's post-hoc test versus control. Means statistically different from control are presented as *: $p < 0.05$. *Cyp27a1*=sterol 27-hydroxylase; *Cyp7a1*=cholesterol 7-alpha hydroxylase; *Fxr*=farnesoid X receptor; RL=rapeseed lecithin; *Sult2a1*=sulfotransferase 2A1; *Sult2a8*=sulfotransferase 2A8; SL=soybean lecithin; *Tbp*=TATA box binding protein; *Tgr5*=Takeda G Protein-coupled Receptor 5.

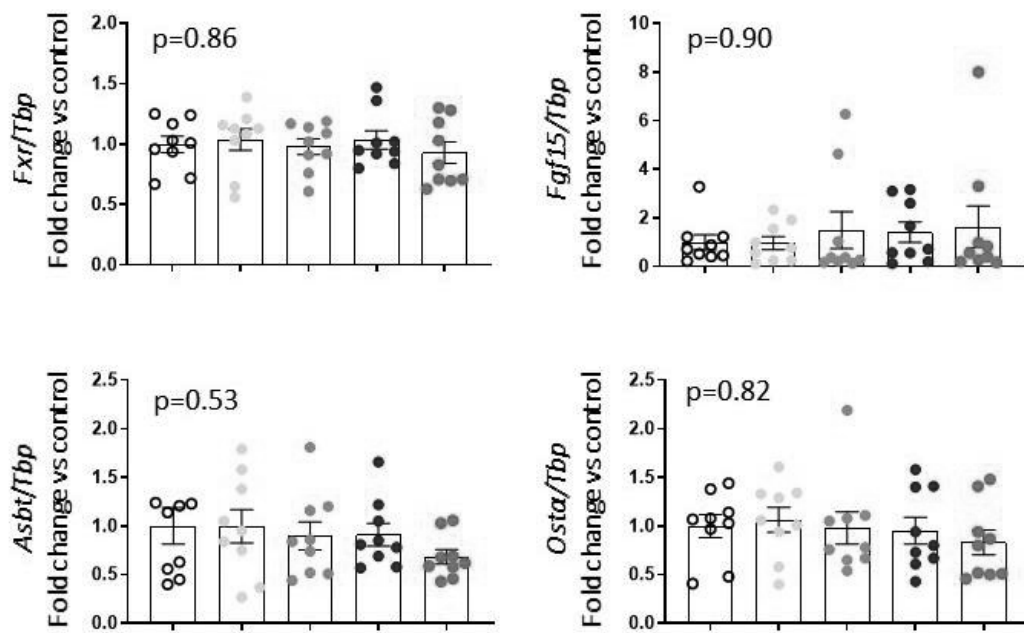


Figure 6. The mRNA expression of genes involved in the enterohepatic bile acid metabolism in the ileum. Values are normalized to the levels of the mRNA of *Tbp* and expressed as relative amount compared with control (0% lecithin). Bars represent mean \pm SEM, n=8-9. To test the impact of lecithin on the expression of these genes, all groups were analyzed by one-way ANOVA. *Asbt*=apical sodium–bile acid transporter; *Fgf15*=fibroblast growth factor 15; *Fxr*=farnesoid X receptor; *Osta*=organic solute transporter alpha; RL=rapeseed lecithin; SL=soybean lecithin; *Tbp*=TATA box binding protein.

The results obtained in this study complete these previous findings, as we show that, after 5 days, nutritional doses ($\leq 10\%$) of RL and SL do not significantly increase the postprandial absorption of lipids. This is reflected by the absence of a significant effect of either lecithin on both the amount of plasmatic lipids and the expression of lipid absorption-related genes in the small intestine. Altogether, these results highlight the differential metabolic impacts of vegetable lecithins consumed either as food ingredients or as supplements. In the current context of obesity and related hyperlipidemia, the fact that nutritional doses of vegetable lecithins do not increase lipemia conveys a rather reassuring message regarding their use as emulsifiers, which deserves to be confirmed in humans.

Moreover, the present study is the first, to our knowledge, to compare two plant sources of a similar type of natural emulsifier. We demonstrate that the addition of 10% RL, but not SL, induced an increase in the abundance of ALA in plasma TAG at 90 minutes. As both lecithins have a similar PL content, this stimulatory effect of RL on ALA plasmatic abundance may not be solely attributed to its vectorisation as PL. Indeed, although recent data has described PL as

potential preferential vectors of FA compared to TAG, notably concerning marine n-3 LC-PUFAs [14–17], their capacity to increase systemic FA bioavailability remains controversial [37,45]. In this way, using a similar study design to the one employed here, but in piglets, Amate et al. concluded that the systemic bioavailability of n-3 LC PUFAs in lymph was decreased when provided as egg PL comparatively to marine TAG [46].

Nevertheless, the observed difference in plasma ALA abundance may result from differences in lipolysis rates and postprandial kinetics between RL and SL. Indeed, lipolysis rates during the digestion process are strongly impacted by the nature of the emulsifying agent. In this way, Couédelo et al. reported that soy lecithin-stabilised emulsions displayed higher lipolysis rates in an *in vitro* digestion model than those stabilised by either sodium caseinate or Tween 80 [47]. Similar results were obtained when comparing sodium caseinate-stabilised and soy lecithin-stabilised emulsions [48]. Alternatively, the observed difference between the two lecithins may be due to a synergistic effect of ALA with other FA. Indeed, the FA composition of vegetable oils, as well the distribution of the FA within TAG molecules, has been shown to modulate their digestion rates and extent [49,50]. As such, in a combination of *in vitro* and *in vivo* studies, the digestion rate of rapeseed oil, rich in oleic acid and ALA, was greater than that of sunflower oil, rich in n-6 PUFA (27). It may then be of interest to compare, in future studies, the lipolysis rates and *in vitro* digestion of RL and SL.

Contrarily to the plasma fraction, which is subject to constant fluctuations in FA composition, the liver offers a more stable reflection of lipid metabolic status. Hence, the identical abundance of the different n-3 PUFAs (ALA, DHA, EPA) in the TAG and PL compartments of the liver in all mice suggests that the observed differences in plasma PL are the result of differential postprandial kinetics, rather than nutritional status. It may then be suggested that nutritional doses of vegetable lecithins are not sufficient to significantly modify ALA bioavailability and body lipid status in the short term. This concurs with the fact that the hepatic and intestinal expression of genes involved in the metabolism of ALA and n-3 PUFAs, such as beta-oxidation or bioconversion to n-3 LC-PUFAs, did not differ amongst groups.

Besides their role on lipid metabolism, dietary PL represent potential modulators of gut microbiota. As recent reports have highlighted detrimental effects of synthetic emulsifiers on gut microbiota [4,5,51], we additionally aimed to assess the short-term impact of RL and SL on the abundance of some bacteria known for their metabolic effects. Indeed, it has recently been shown in humans randomized to either plant-based or animal-based diets that the gut microbiome is capable of responding quickly (2-4 days) to changes in nutrient microenvironment [52]. We show here that the faecal bacterial count of *Clostridium leptum*

was increased in mice after only 5 days of consumption of vegetable lecithins, regardless of their source or dose. *C. leptum*, also commonly referred to as Clostridial cluster IV, represents one of the dominant groups of faecal bacteria in humans (16-25%) [53]. The *C. leptum* subgroup is largely composed of fibrolytic, butyrate-producing bacteria, generally associated with beneficial anti-inflammatory effects [54]. Patients suffering from chronic inflammatory diseases, such as Crohn's disease and ulcerative colitis, have been shown to have reduced faecal levels of *C. leptum* [55]. The short-term consumption of SL and RL hence seems to induce beneficial shifts in the gut microbiota. Nonetheless, the impact of RL and SL on the gut microbiota was assessed on a limited number of faecal microbial species. A more global metagenomic analysis is now required to grasp a more in-depth understanding of the impact of these natural emulsifiers on bacterial diversity and function.

Bile acids are increasingly recognized as important regulators of lipid metabolism and gut microbiota properties [30,56]. In fact, changes in the BA pool precede and causally impact shifts in intestinal microbial populations [57]. We hereby demonstrate that the short-term consumption of 10% RL, but not SL, induces an increase in the abundance of sulfated BA, primarily of CA-7S. This observed sulfation appears to take place predominantly in the liver, as demonstrated by the increase in the hepatic mRNA expression of *Sult2a1* in the 10% RL group vs control.

In hepatocytes, the sulfation of BA is catalysed by sulfotransferases, notably at the 3, 7 and 12 positions[58]. This renders them more hydrophilic, thereby promoting their elimination in urine or feces and reducing their toxicity[59]. In addition, BA-sulfates are poor substrates for the apical sodium-dependent BA transporter (ASBT)[59], thus the sulfation of BA markedly inhibits their passive re-absorption. Furthermore, the increase in sulfation of CA at the 7 position in the liver inhibits its microbial conversion to DCA[60], which corroborates the observed decrease in the relative abundance of DCA in the 10%-RL group. As DCA is considered toxic, this increase in BA sulfation by RL may then result in beneficial effects on intestinal health.

Nevertheless, these observations in mice may not be directly transposed to humans, as differences in BA metabolism between the two species are important[30]; future studies must be undertaken to specifically explore the effects of vegetable lecithins on BA metabolism in humans.

The presence of emulsifiers within foods is evermore prevalent, which leads us to question their health impacts. This study hence aimed to assess the short-term impact of two natural

emulsifiers on markers of gut and metabolic health. Our results demonstrate that nutritional doses (<10%) of RL and SL, despite a potential effect on postprandial plasmatic lipid kinetics, do not affect plasmatic or hepatic lipid concentrations and metabolism. However, after only 5 days of consumption, both vegetable lecithins were capable of modifying the gut bacteria profile, by increasing *C. leptum*, a health-promoting, anti-inflammatory bacterial group. In the current context of obesity and associated low-grade inflammation, the use of these natural ingredients therefore seems preferential over that of synthetic emulsifiers, whose detrimental effects on the microbiota and host gut health have been recently reported.

Interestingly, our study also highlights some differential metabolic impacts of the two plant-derived lecithins. RL, but not SL, induced an increase in the postprandial abundance of ALA in plasma and in the sulfation of primary BA, suggesting a specific beneficial impact on metabolic and intestinal health. As most studies using vegetable lecithins have focused on soy, which displays important societal concerns regarding sustainability and the use of genetically modified organisms, rapeseed lecithin appears as a novel food ingredient with promising beneficial nutritional benefits.

Acknowledgements

The authors would like to thank Hubert Vidal, Béatrice Morio, Frédéric Capel and Mélanie Le Barz for helpful advice on experimental procedures and useful discussion of the results. The authors thank Alexandre Debain for this help during the animal study. We also thank Didier Majou (ACTIA) for useful discussion. CR thanks ANRT (Association Nationale de la Recherche et le Technologie) for PhD funding.

Authors' contribution

CR, CB, CV and M-CM designed the research; CR, CB, FL, HB, LH, DR, EM, EL, FC, JW, MU, CV and M-CM conducted the research; CR, CB and M-CM analyzed the data and performed statistical analyses; CR, EM, EL, DR, LH, CV and M-CM provided useful scientific insight; CB and FL participated in the in vivo experiments; EM and EL performed qPCR analysis; JW and MU performed faecal microbiota analysis; LH and DR performed bile acid analysis; CR and M-CM wrote the paper; CR, CV and M-CM had primary responsibility for final content. All authors read and approved the final manuscript.

References

- [1] Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, "Rapport Oqali : Bilan et évolution de l'utilisation des additifs dans les produits transformés," available at <https://www.anses.fr/fr/content/rapport-oqali-bilan-et-%C3%A9volution-de-lutilisation-des-additifs-dans-les-produits-transform%C3%A9s>, 2019.
- [2] E. P. Halmos, A. Mack, P. R. Gibson, *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2019, 49, 41–50.
- [3] D. Partridge, K. A. Lloyd, J. M. Rhodes, A. W. Walker, A. M. Johnstone, B. J. Campbell, *Nutr. Bull.* 2019, 44, 329–349.
- [4] B. Chassaing, O. Koren, J. K. Goodrich, A. C. Poole, S. Srinivasan, R. E. Ley, A. T. Gewirtz, *Nature* 2015, 519, 92–96.
- [5] B. Chassaing, T. Van de Wiele, J. De Bodt, M. Marzorati, A. T. Gewirtz, *Gut* 2017, 66, 1414–1427.
- [6] M. T. Nguyen, D. Van de Walle, C. Petit, B. Beheydt, F. Depypere, K. Dewettinck, J. Am. Oil Chem. Soc. 2014, 91, 1093–1101.
- [7] K. Ahuja, S. Singh, "Food Additives Market Report 2018-2024 - Industry Size, Growth Analysis," available at <https://www.gminsights.com/industry-analysis/food-additives-market-size>, 2018.
- [8] W. van Nieuwenhuyzen, *INFORM* 2014, 24, 254–259.
- [9] W. S. A. Aoyagi, *History of Lecithin and Phospholipids (1850-2016): Extensively Annotated Bibliography and Sourcebook, Including Phosphatides and Liposomes*, Soyinfo Center 2016.
- [10] T. Wang, E. G. Hammond, W. R. Fehr, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1997, 74, 1587–1594.
- [11] A. S. Abdelhamid, T. J. Brown, J. S. Brainard, P. Biswas, G. C. Thorpe, H. J. Moore, K. H. Deane, F. K. AlAbdulghafoor, C. D. Summerbell, H. V. Worthington, F. Song, L. Hooper, *Cochrane Database Syst. Rev.* 2018, 7, CD003177.
- [12] C. Nguemeni, B. Delplanque, C. Rovère, N. Simon-Rousseau, C. Gandin, G. Agnani, J. L. Nahon, C. Heurteaux, N. Blondeau, *Pharmacol. Res.* 2010, 61, 226–233.
- [13] EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA), *EFSA J.* 2010, 8, 1461.
- [14] L. Burri, N. Hoem, S. Banni, K. Berge, *Int. J. Mol. Sci.* 2012, 13, 15401–15419.
- [15] S. M. Ulven, K. B. Holven, *Vasc. Health Risk Manag.* 2015, 11, 511–524.
- [16] M. Cholewski, M. Tomczykowa, M. Tomczyk, *Nutrients* 2018, 10, DOI 10.3390/nu10111662.
- [17] S. Ghasemifard, G. M. Turchini, A. J. Sinclair, *Prog. Lipid Res.* 2014, 56, 92–108.
- [18] T. Nakano, I. Inoue, S. Katayama, M. Seo, S. Takahashi, S. Hokari, R. Shinozaki, K. Hatayama, T. Komoda, *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2009, 45, 227–234.
- [19] I. Geurden, S. Kaushik, G. Corraze, *Br. J. Nutr.* 2008, 100, 512–517.
- [20] T. A. Wilson, C. M. Meservey, R. J. Nicolosi, *Atherosclerosis* 1998, 140, 147–153.

- [21] M. T. Childs, J. A. Bowlin, J. T. Ogilvie, W. R. Hazzard, J. J. Albers, *Atherosclerosis* 1981, 38, 217–228.
- [22] J. W. Burgess, T. A.-M. Neville, P. Rouillard, Z. Harder, D. S. Beanlands, D. L. Sparks, *J. Lipid Res.* 2005, 46, 350–355.
- [23] R. Lordan, A. Tsoupras, I. Zabetakis, *Mol. Basel Switz.* 2017, 22, DOI 10.3390/molecules22111964.
- [24] A. Werner, R. Havinga, F. Pertou, F. Kuipers, H. J. Verkade, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2006, 290, G1177-1185.
- [25] J. Ahn, S. I. Koo, *J. Nutr. Biochem.* 1995, 6, 604–612.
- [26] H. Plovier, P. D. Cani, *Microbiol. Spectr.* 2017, 5, DOI 10.1128/microbiolspec.BAD-0002-2016.
- [27] P. D. Cani, N. M. Delzenne, *Curr. Opin. Pharmacol.* 2009, 9, 737–743.
- [28] A. Ghazalpour, I. Cespedes, B. J. Bennett, H. Allayee, *Curr. Opin. Lipidol.* 2016, 27, 141–147.
- [29] S. Just, S. Mondot, J. Ecker, K. Wegner, E. Rath, L. Gau, T. Streidl, G. Hery-Arnaud, S. Schmidt, T. R. Lesker, V. Bieth, A. Dunkel, T. Strowig, T. Hofmann, D. Haller, G. Liebisch, P. Gérard, S. Rohn, P. Lepage, T. Clavel, *Microbiome* 2018, 6, DOI 10.1186/s40168-018-0510-8.
- [30] J. Y. L. Chiang, J. M. Ferrell, *Annu. Rev. Nutr.* 2019, 39, 175–200.
- [31] M. Nishimukai, H. Hara, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2007, 71, 1192–1197.
- [32] C. Robert, L. Couëdelo, C. Vaysse, M.-C. Michalski, *Biochimie* 2020, 169, 121–132.
- [33] A. Mortensen, F. Aguilar, R. Crebelli, A. D. Domenico, M. J. Frutos, P. Galtier, D. Gott, U. Gundert-Remy, C. Lambré, J.-C. Leblanc, O. Lindtner, P. Moldeus, P. Mosesso, A. Oskarsson, D. Parent-Massin, I. Stankovic, I. Waalkens-Berendsen, R. A. Woutersen, M. Wright, M. Younes, L. Brimer, A. Altieri, A. Christodoulidou, F. Lodi, B. Dusemund, *EFSA J.* 2017, 15, e04742.
- [34] Food and Drug Administration, 2005.
- [35] E. G. Bligh, W. J. Dyer, *Can. J. Biochem. Physiol.* 1959, 37, 911–917.
- [36] A. Sehl, L. Couëdelo, L. Fonseca, C. Vaysse, M. Cansell, *Food Chem.* 2018, 251, 1–8.
- [37] A. Sehl, L. Couëdelo, I. Chamekh-Coelho, C. Vaysse, M. Cansell, *Br. J. Nutr.* 2019, 1–21.
- [38] P. Carasi, S. M. Racedo, C. Jacquot, D. E. Romanin, M. A. Serradell, M. C. Urdaci, *J. Immunol. Res.* 2015, 2015, DOI 10.1155/2015/361604.
- [39] P. Carasi, S. M. Racedo, C. Jacquot, A. M. Elie, M. de los Á. Serradell, M. C. Urdaci, *Front. Immunol.* 2017, 8, DOI 10.3389/fimmu.2017.00088.
- [40] L. Humbert, M. A. Maubert, C. Wolf, H. Duboc, M. Mahé, D. Farabos, P. Seksik, J. M. Mallet, G. Trugnan, J. Masliah, D. Rainteau, *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.* 2012, 899, 135–145.
- [41] M. Nishimukai, H. Hara, Y. Aoyama, *Br. J. Nutr.* 2003, 90, 565–571.

- [42] C. Robert, L. Couëdelo, C. Knibbe, L. Fonseca, C. Buisson, E. Errazuriz-Cerda, E. Meugnier, E. Loizon, C. Vaysse, M.-C. Michalski, *J. Nutr.* 2020, DOI 10.1093/jn/nxaa244.
- [43] D. Sugasini, V. C. Devaraj, M. Ramesh, B. R. Lokesh, *Lipids* 2014, 49, 225–233.
- [44] Y. Jiang, S. K. Noh, S. I. Koo, *J. Nutr.* 2001, 131, 2358–2363.
- [45] M.-C. Michalski, L. Couëdelo, A. Penhoat, C. Vaysse, C. Vors, in *Lipids Edible Oils* (Ed.: C.M. Galanakis), Academic Press 2020, pp. 45–92.
- [46] L. Amate, A. Gil, M. Ramírez, *J. Nutr.* 2001, 131, 1250–1255.
- [47] L. Couëdelo, S. Amara, M. Lecomte, E. Meugnier, J. Monteil, L. Fonseca, G. Pineau, M. Cansell, F. Carrière, M. C. Michalski, C. Vaysse, *Food Funct.* 2015, 6, 1726–1735.
- [48] C. Vors, P. Capolino, C. Guérin, E. Meugnier, S. Pesenti, M.-A. Chauvin, J. Monteil, N. Peretti, M. Cansell, F. Carrière, M.-C. Michalski, *Food Funct.* 2012, 3, 537–546.
- [49] M.-C. Michalski, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2009, 111, 413–431.
- [50] K. Raynal-Ljutovac, J. Bouvier, C. Gayet, N. Simon, F. Joffre, F. Fine, J.-L. Vendevre, C. Lopez, J.-M. Chardigny, M.-C. Michalski, C. Genot, *Ol. Corps Gras Lipides* 2011, 18, 324–351.
- [51] E. Viennois, A. Bretin, P. E. Dubé, A. C. Maue, C. J. G. Dauriat, N. Barnich, A. T. Gewirtz, B. Chassaing, *Cell Rep.* 2020, 33, 108229.
- [52] L. A. David, A. C. Materna, J. Friedman, M. I. Campos-Baptista, M. C. Blackburn, A. Perrotta, S. E. Erdman, E. J. Alm, *Genome Biol.* 2014, 15, R89.
- [53] C. Lay, L. Rigottier-Gois, K. Holmstrøm, M. Rajilic, E. E. Vaughan, W. M. de Vos, M. D. Collins, R. Thiel, P. Namsolleck, M. Blaut, J. Doré, *Appl. Environ. Microbiol.* 2005, 71, 4153–4155.
- [54] Y. Li, F. Huang, L. Liu, H. Qiao, Y. Li, H. Cheng, *Ann. Allergy Asthma Immunol. Off. Publ. Am. Coll. Allergy Asthma Immunol.* 2012, 109, 201–207.
- [55] J. Kabeerdoss, V. Sankaran, S. Pugazhendhi, B. S. Ramakrishna, *BMC Gastroenterol.* 2013, 13, 20.
- [56] T. Q. de Aguiar Vallim, E. J. Tarling, P. A. Edwards, *Cell Metab.* 2013, 17, 657–669.
- [57] X. Zheng, F. Huang, A. Zhao, S. Lei, Y. Zhang, G. Xie, T. Chen, C. Qu, C. Rajani, B. Dong, D. Li, W. Jia, *BMC Biol.* 2017, 15, DOI 10.1186/s12915-017-0462-7.
- [58] W. Teubner, W. Meinl, S. Florian, M. Kretzschmar, H. Glatt, *Biochem. J.* 2007, 404, 207–215.
- [59] Y. Alnouti, *Toxicol. Sci.* 2009, 108, 225–246.
- [60] N. Pacini, E. Albin, A. Ferrari, R. Zanchi, G. Marca, T. Bandiera, *Arzneimittelforschung.* 1987, 37, 983–987.

Tables

Table 1. Main fatty acid profile and general composition of the lipid formulations.

	Control	1% RL	3% RL	10% RL	10% SL
Fatty acid composition (g/100g of total fatty acids)^a					
12:0	0.06	0.06	0.07	0.06	0.05
14:0	0.2	0.2	0.3	0.3	0.2
15:0	0.03	0.03	0.03	0.04	0.03
16:0	14.2	14.3	14.3	14.5	14.0
18:0	2.8	2.8	2.8	2.7	2.8
18:1(n-9)	45.4	45.1	45.1	45.2	47.2
18:1(n-7)	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9
18:2(n-6)	28.8	28.9	28.8	28.7	27.2
18:3(n-3)	4.3	4.3	4.3	4.3	4.4
20:0	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
20:5(n-3) ^b	-	-	-	-	-
22:0	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
22:6(n-3) ^b	-	-	-	-	-
24:0	0.08	0.08	0.08	0.08	0.1
Σ (SFA) ^c	18.1	18.1	18.2	18.2	17.9
Σ (MUFA) ^c	48.5	48.3	48.2	48.3	50.2
Σ (PUFA) ^c	33.1	33.2	33.1	33.0	31.5
Σ (n-6 PUFA) ^c	28.8	28.9	28.8	28.8	27.2
Σ (n-3 PUFA) ^c	4.3	4.3	4.3	4.3	4.4
Ratio n-6/n-3 PUFA ^c	6.7	6.7	6.7	6.7	6.2
Σ (TFA) ^c	0.3	0.4	0.4	0.4	0.3
Ingredient (g/100g of final mixture)					
Rapeseed oil	51	50	49	45	46
Palm oil	22	22	22	21	19
Grapeseed oil	27	27	26	24	20
Rapeseed lecithin	-	1.0	3.0	10	-
Soybean lecithin	-	-	-	-	10

a) Fatty acid values were obtained by gas chromatography coupled to a flame ionization detector (GC-FID).

b) Of note, the lipid formulations were devoid of LC n-3 PUFAs.

c) MUFA=mono-unsaturated fatty acids; PUFA=poly-unsaturated fatty acids; RL=rapeseed lecithin; SFA=saturated fatty acids; SL=soybean lecithin; TFA=trans-fatty acids.

Table 2. Fatty acid and phospholipid composition of both rapeseed and soybean lecithin.

	Rapeseed lecithin	Soybean lecithin
Fatty acid composition (g/100g of total FA)^a		
16:0	11.5	22.0
18:0	0.8	3.0
18:1(n-9)	47.7	15.4
18:2(n-6)	29.8	51.9
18:3(n-3)	4.8	4.1
20:5(n-3) ^b	-	-
22:6(n-3) ^b	-	-
Σ (SFA) ^c	13.3	26.1
Σ (MUFA) ^c	51.3	17.6
Σ (PUFA) ^c	34.9	56.1
Σ (n-6 PUFA) ^c	29.9	52.0
Σ (n-3 PUFA) ^c	4.8	4.1
Σ (TFA) ^c	0.6	0.2
Phospholipid composition (g/100g of total PL)^a		
PC	34.0	34.8
PE	40.6	38.6
PI + PS	15.0	14.7
Lyso-PC	3.7	1.9
Lyso-PE	2.7	5.5
Others	4.0	4.5

a) Data was obtained by gas chromatography coupled to a flame ionization detector (GC-FID) and high-performance thin layer chromatography (HPTLC), respectively.

b) Of note, both lecithin are devoid of LC n-3 PUFAs.

c) MUFA=mono-unsaturated fatty acids; PC=phosphatidylcholine; PE=phosphatidylethanolamine; PI=phosphatidylinositol; PS=phosphatidylserine; PUFA=poly-unsaturated fatty acids; SFA=saturated fatty acids; TFA=trans-fatty acids.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Supplementary Experimental Section

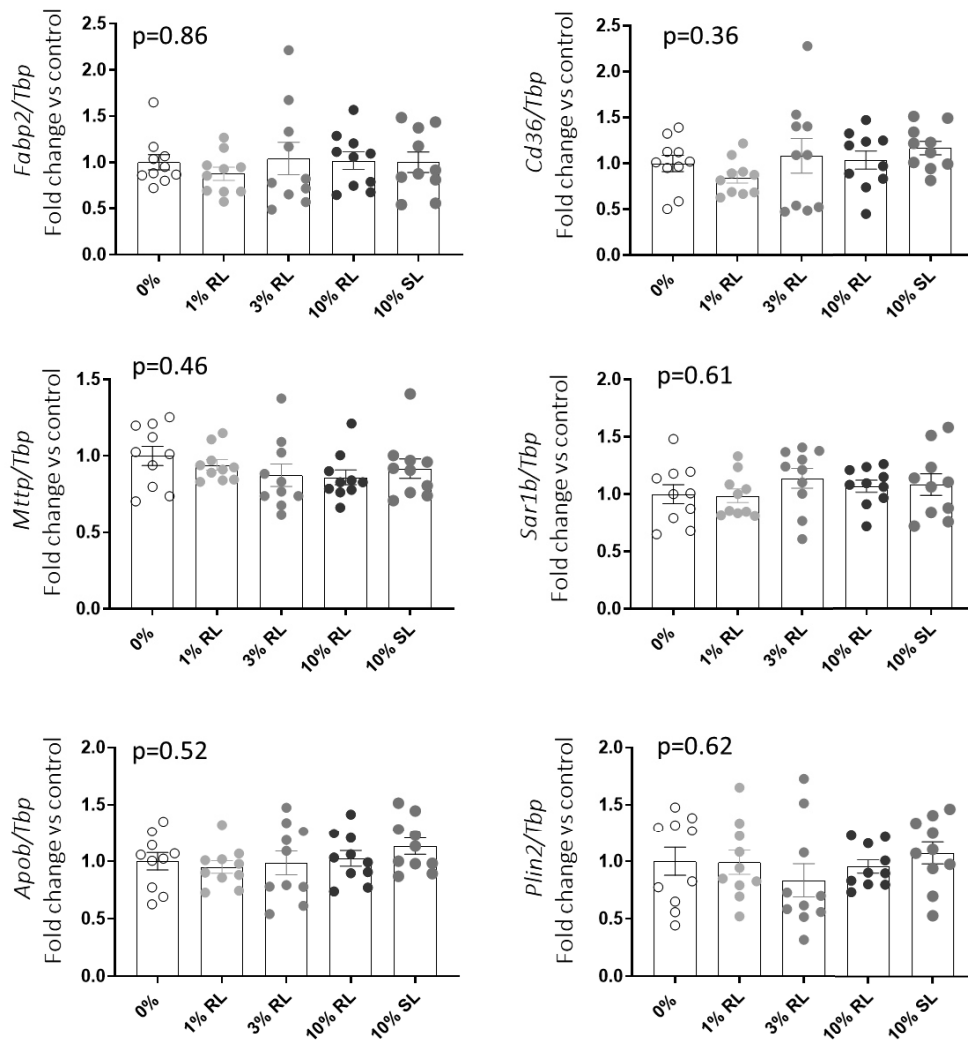
Preparation and characterization of the lipid formulations and diets

The quantification of the lipid fractions of the two lecithins was evaluated by high-performance thin layer chromatography (HPTLC), using two consecutive plate migrations: the first with petroleum ether and acetone at a ratio of 60:20; the second, with hexane, petroleum ether and acetic acid at a ratio of 80:20:1. The spots corresponding to the TAG and PL fractions were then visualized under UV-light after vaporization of 2,7-DCF in ethanol (0.2%, w/v). Their relative proportions were determined using the area of the spots.

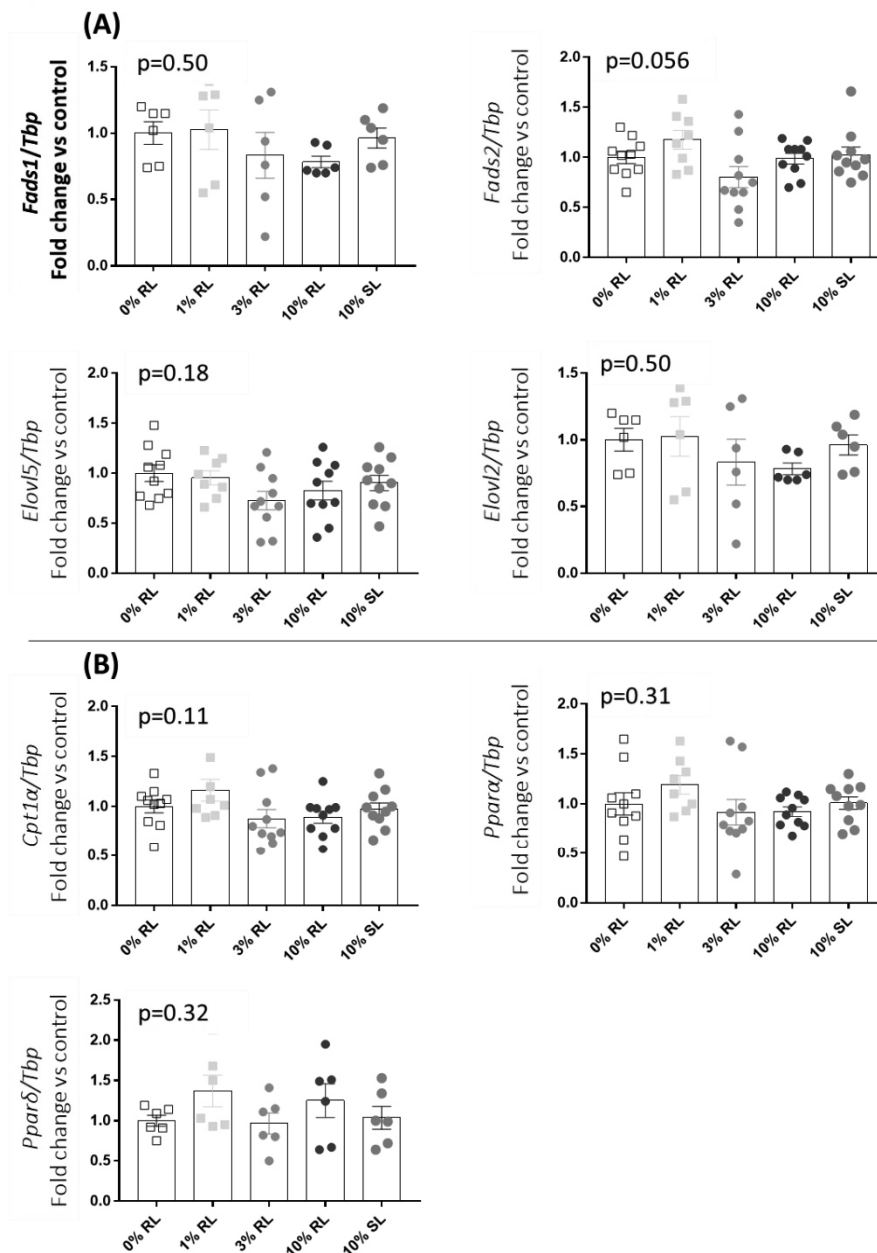
Plasma and hepatic lipid analyses

Plasma and liver samples were thawed to room temperature. Free FA were extracted according to the technique described by Bligh et Dyer (326). PL and TAG were separated by thin layer chromatography (TLC) using hexane/diethyl-ether/acetic acid (80:20:1, v/v/v) as a migration solvent. They were then derived into FAME by transmethylation, as previously described (references 36 and 37 in the manuscript). Diheptadecanoyl-glycerophosphoethanolamine and triheptadecanoyl-glycerol were added as internal standards for the quantification of TAG and PL, respectively.

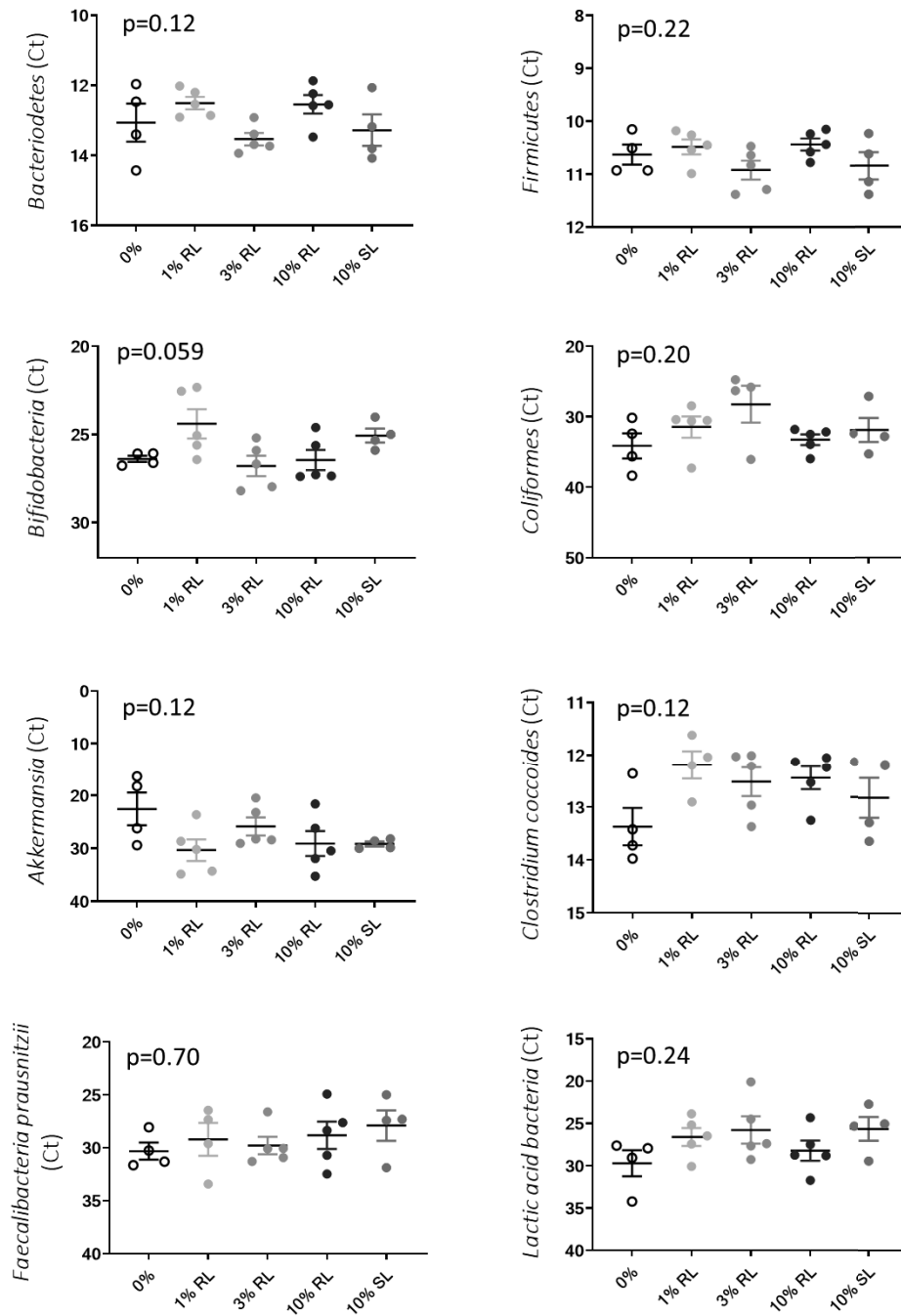
Subsequent FAME were separated using GC-FID (TRACE GC, Thermo Fisher Scientific). Automatic injection was used, with a split injection ratio of 1:33. A fused-silica capillary column (BPX 70, 60m×0.25mm i.d., 0.25µm film; SGE, France) was used with hydrogen as a carrier gas (inlet pressure: 120kPa). The column temperature program was as follows: the temperature increased from 160°C to 180°C at a rate of 1.3°C/min, and was maintained for 65 minutes before increasing at a rate of 25°C/min for 15 minutes until it reached 230°C. Injector and detector temperatures were maintained at 250°C and 280°C, respectively. GC peaks were integrated using the Chromquest software (Thermofinnigan).



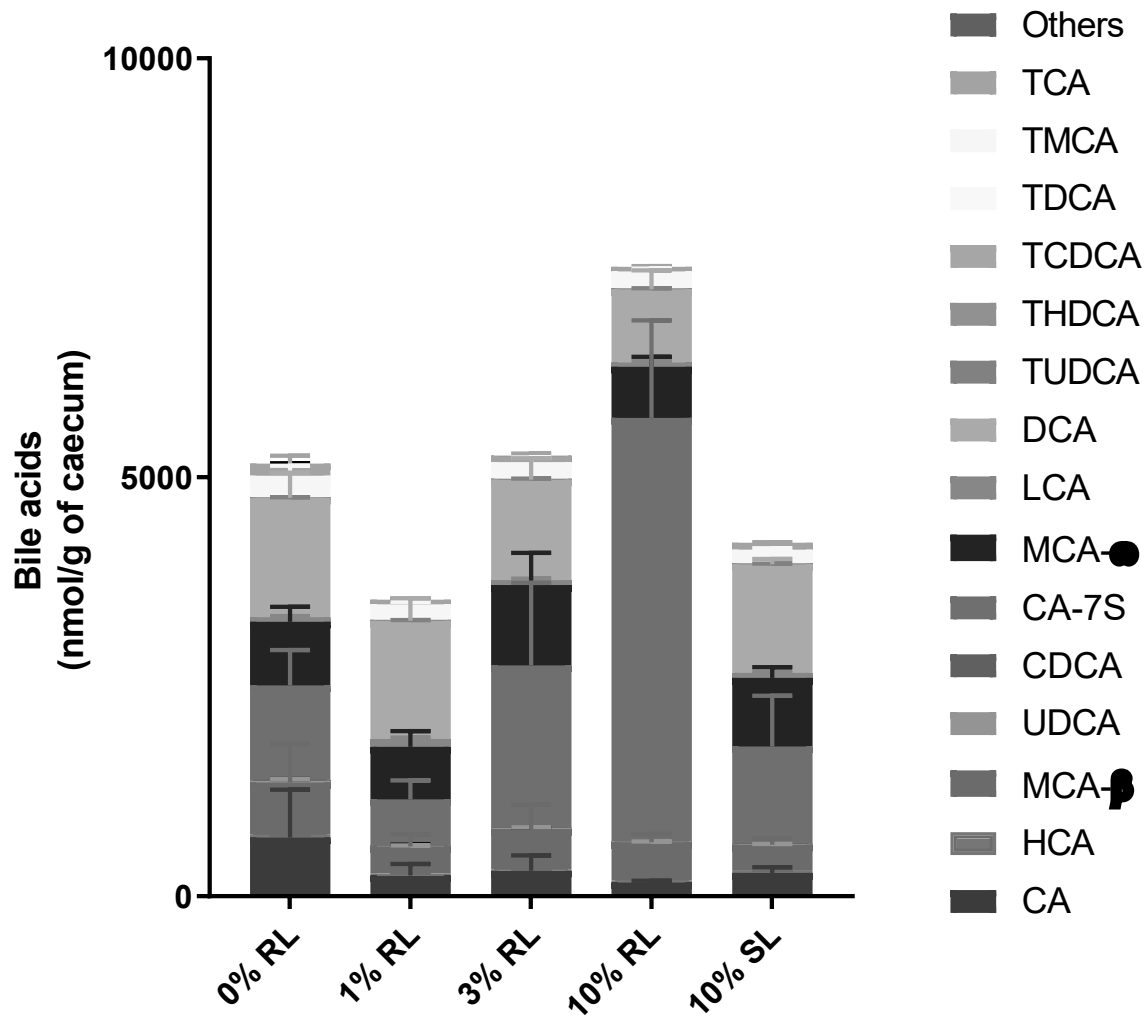
Supplementary Figure S1. The mRNA expression of genes involved in lipid absorption in the jejunum of mice. Values are normalized to the levels of the mRNA expression of *Tbp* and expressed as relative amount compared with control (0% lecithin). Bars represent mean \pm SEM, n=7-9. To test the impact of lecithin on the expression of these genes, all groups were analyzed by one-way ANOVA. *Apob*=apolipoprotein B; *Cd36*=cluster of differentiation 36; *Fabp2*=fatty acid binding protein 2; *Mttp*=microsomal triglyceride transport protein; *Plin2*=perilipin 2; RL=rapeseed lecithin; *Sar1b*=secretion associated Ras related GTPase 1B; SL=soybean lecithin; *Tbp*=TATA box binding protein.



Supplementary Figure S2. The mRNA expression of genes involved in (A) bioconversion of ALA to n-3 long chain polyunsaturated fatty acids and (B) beta-oxidation, in the liver of mice. Values are normalized to the levels of the mRNA expression of *Tbp* and expressed as relative amount compared with control (0% lecithin). Bars represent mean \pm SEM, n=7-9. To test the impact of lecithin on the expression of these genes, all groups were analyzed by one-way ANOVA. *Cpt1 α* =Carnitine palmitoyltransferase I-alpha; *Elovl2-5*=elongase of very-long-chain fatty acids-like 2-5; *Fads1-2*=Fatty Acid Desaturase 1-2; *Ppara δ* =peroxisome proliferator-activated receptor alpha-delta; RL=rapeseed lecithin; SL=soybean lecithin; *Tbp*=TATA box binding protein.



Supplementary Figure S3. The DNA expression of *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Bifidobacteria*, *Coliformes*, *Akkermansia*, *Clostridium coccoides*, *Lactic acid bacteria* and *Faecalibacteria prausnitzii* in the feces of mice following 5 days of consumption of diets containing 0 to 10% RL or SL. Bars represent mean \pm SEM, n=4-5. To test the impact of SL and RL on these parameters, all groups were analyzed by one-way ANOVA. Ct=number of cycles; RL=rapeseed lecithin. SL=soybean lecithin.



Supplementary Figure S4. The bile acid profile in the caecum of Swiss mice, after 5 days of consumption of diets containing 0 to 10% RL or SL. Values represent mean \pm SEM, $n=5-7$. CA=cholic acid; CDA=deoxycholic acid; CDCA= chenodeoxycholic acid; HCA= hypocholeic acid; HDCA= hyodeoxycholic acid; LCA= lithocholic acid; MCA= muricholic acid; RL=rapeseed lecithin; SL=soybean lecithin; T=taurine-conjugated; UDCA= ursodeoxycholic acid.

CHAPITRE 4: Impacts
métaboliques et inflammatoires
de la consommation à long terme
des lécithines de colza et de soja
– résultats préliminaires

I. Introduction et objectifs

La consommation de lécithines végétales s'inscrit dans un régime occidental caractérisé, non seulement par la présence de nombreux additifs, mais également par un apport excessif en graisses. A long terme, ce genre de diète hyperlipidique (ou « high-fat » en anglais) promeut l'installation d'une inflammation de bas-grade et engendre des altérations au niveau du métabolisme et du microbiote, participant ainsi au développement de l'obésité et de ses comorbidités (327,328). Il est ainsi primordial de déterminer les effets à long terme des lécithines de colza et de soja en tant qu'ingrédients dans un régime HF.

Pour ce faire, des souris Swiss mâles (n=72, 12/groupe) ont été nourries pendant 13 semaines avec différents régimes : un régime classique d'animalerie, dit « Chow » (3% de lipides) ; un régime HF (25% de lipides) dépourvu d'ALA et enrichi en acide palmitique et en acide linoléique, représentatif d'un régime occidental ; ou différents régimes HF (25% des lipides) enrichis en ALA et contenant 0, 10 ou 20% de lécithine de colza, ou 10% de lécithine de soja.

La composition lipidique de chaque régime est présentée dans le Tableau 1 ; le Tableau 2 représente, quant à lui, la composition générale des différents régimes hyperlipidiques. Dans les régimes HF enrichis en ALA, l'ALA représente environ 4% de la partie lipidique, qui, elle, constitue 25% des régimes. La teneur en ALA de ces régimes est ainsi d'approximativement 1%, ce représente une dose largement atteignable via une alimentation équilibrée. A noter également que le ratio LA/ALA de ces régimes est de 5, ce qui correspond aux valeurs conseillées par l'ANSES.

De même que dans les études précédentes, les régimes HF enrichis en ALA ont été conçus de manière à avoir une composition en AG similaire, différant seulement de par leur vectorisation : plus la dose de lécithine était importante, plus l'ALA était porté par les PL, comparativement aux TAG. De ce fait, ce design permet d'étudier l'effet des lécithines et de la forme de vectorisation de l'ALA sur (i) leur capacité à augmenter la biodisponibilité de l'ALA à long terme, (ii) différents paramètres biométriques, métaboliques et inflammatoires, et (iii) le métabolisme des acides biliaires et le microbiote, pouvant être impliqués dans ces effets.

En parallèle et indépendamment de la question centrale sur les lécithines, la comparaison entre le groupe HF dépourvu d'ALA et le groupe HF enrichi en ALA sous forme de TG (0% de lécithine) nous permettra de déterminer les effets directs de l'ALA sur le microbiote et sur certains paramètres métaboliques et inflammatoires, qui restent méconnus. Nous espérons ainsi mettre en évidence d'éventuels effets protecteurs de l'ALA vis-à-vis des altérations métaboliques engendrées par des diètes hyperlipidiques.

Le poids et la prise alimentaire des souris ont été mesurés chaque semaine. Puis, suite aux 13 semaines de régime, les souris ont été mises à jeun pendant 12h, puis anesthésiées par inhalation d'isoflurane et euthanasiées par exsanguination via une ponction cardiaque. Le plasma, ainsi que plusieurs tissus, dont le foie et différents compartiments du TA blanc (TA mésentérique, TA épidydimal (TAE), TA sous-cutané) et de l'intestin (jéjunum, duodénum, iléon, caecum, côlon) ont été prélevés, puis stockés à -80°C pour analyse.

Cette étude ayant été réalisée pendant le confinement lié à la crise sanitaire de la Covid-19 au printemps 2020, certaines analyses ne sont pas entièrement terminées et demeurent en cours. Nous ne présenterons donc ici que certains résultats préliminaires pour base de discussion et perspectives, en lien avec les précédents articles.

Tableau 1. Profil en acide gras et en phospholipides des différents régimes.

	Chow	HF Palm	0% L	10% LC	20% LC	10% LS
Acide gras (g/100g d'acides gras totaux)						
12:0	-	2.2	0.1	0.1	0.1	0.1
14:0	0.4	1.6	0.4	0.4	0.4	0.4
15:0	0.1	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
16:0	15.8	32.2	17.6	17.4	17.0	17.7
18:0	2.0	4.7	3.1	3.0	2.9	3.0
18:1(n-9)	21.9	32.2	47.3	48.1	48.9	48.0
18:2(n-6)	50.0	24.9	23.8	23.6	23.4	23.3
18:3(n-3)	4.3	0.2	4.7	4.6	4.6	4.7
20:0	0.3	0.3	0.5	0.5	0.4	0.5
20:5(n-3)	0.6	-	-	-	-	-
22:0	0.3	0.1	0.5	0.5	0.4	0.4
22:6(n-3)	1.0	-	-	-	-	-
24:0	0.2	0.09	0.2	0.2	0.2	0.2
Σ (SFA)	19.2	41.7	22.5	22.1	21.5	22.4
Σ (MUFA)	24.3	32.6	48.3	49.1	49.9	49.0
Σ (PUFA)	56.5	25.1	28.6	28.1	28.0	28.0
Σ (n-6 PUFA)	50.2	24.9	23.8	23.6	23.4	23.3
Σ (n-3 PUFA)	6.2	0.2	4.7	4.6	4.6	4.7
Ratio n-6/n-3 PUFA	8.1	125	5.1	5.1	5.1	5.0
Σ (TFA)	NA*	0.5	0.6	0.6	0.6	0.5
Phospholipides (g/100g de mélange huileux)						
PC	NA*	0.08	0.06	2.6	5.3	2.1
PE	NA*	0.08	0.06	1.6	3.3	1.1
PI	NA*	0.03	0.02	1.6	3.2	1.4
Lyso-PC	NA*	0.06	0.05	0.2	0.3	0.2
SM	NA*	0.1	0.08	0.09	0.1	0.1
PL totaux	NA*	0.4	0.4	6.6	13.4	5.4

* = non analysé

Tableau 2. Composition générale des différents régimes hyperlipidiques.

	HF Palm	0% L	10% LC	20% LC	10% LS
Ingrédient (g/100g de régime)					
Poudre de caséines	20	20	20	20	20
L-cystine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Dextrose	10	10	10	10	10
Saccharose	10	10	10	10	10
Amidon de maïs	23.7	23.7	23.7	23.7	23.7
Cellulose brute	5	5	5	5	5
Minéraux(PM205B SAFE)	5	5	5	5	5
Vitamines (PV200 SAFE)	1	1	1	1	1
Lipides totaux	25	25	25	25	25
dont lécithine de colza	-	-	2.5	5	-
dont lécithine de soja	-	-	-	-	2.5

II. Résultats préliminaires

1. L'apport en ALA, et non sa vectorisation par les lécithines végétales, permet d'augmenter sa biodisponibilité à long terme

Comme décrit dans les deux études *in vivo* précédentes, la composition en AG du foie a été analysée par chromatographie en phase gazeuse (GC-FID, cf articles 1 et 2).

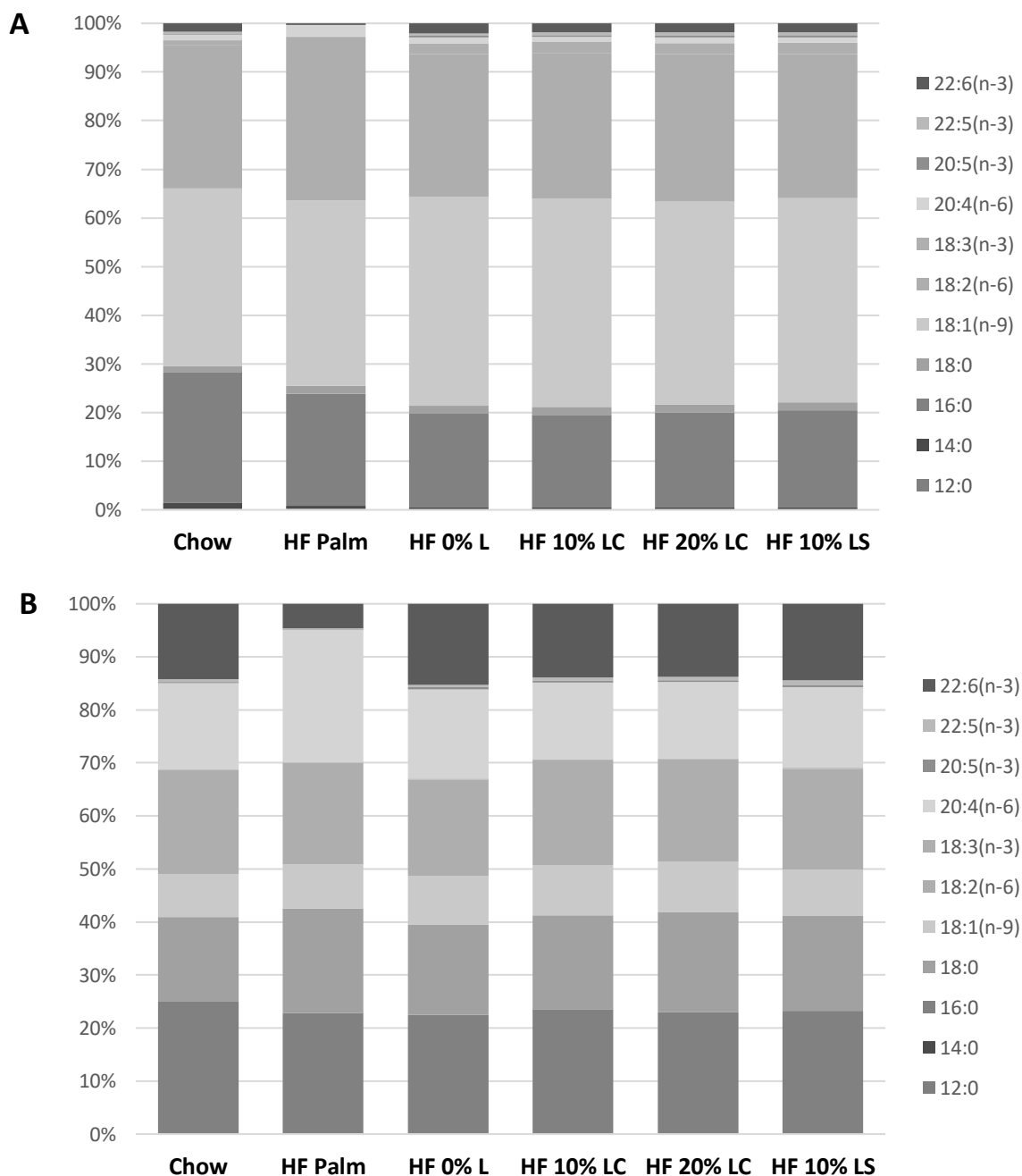


Figure 19. Profils en acides gras majoritaires (A) des triacylglycérols et (B) des phospholipides hépatiques après 13 semaines de régime, n=11-12. HF = high-fat ; L= lécithine ; LC= lécithine de colza ; LS= lécithine de soja.

On observe que la consommation de régimes HF aux profils en acides gras quasi-identiques mais comportant des doses croissantes de lécithines végétales engendre des profils lipidiques similaires au niveau hépatique chez la souris (**Figure 19**). Ainsi, la vectorisation d'une partie des AG sous forme de lécithine végétale ne permet pas de moduler la composition lipidique des foies. Les souris ayant consommé des régimes HF contenant de la lécithine de colza ou de soja possèdent le même pourcentage relatif en ALA dans les TAG et les PL hépatiques que celles ayant consommé un régime HF enrichi en ALA, mais dépourvu de lécithine (**Figure 20**).

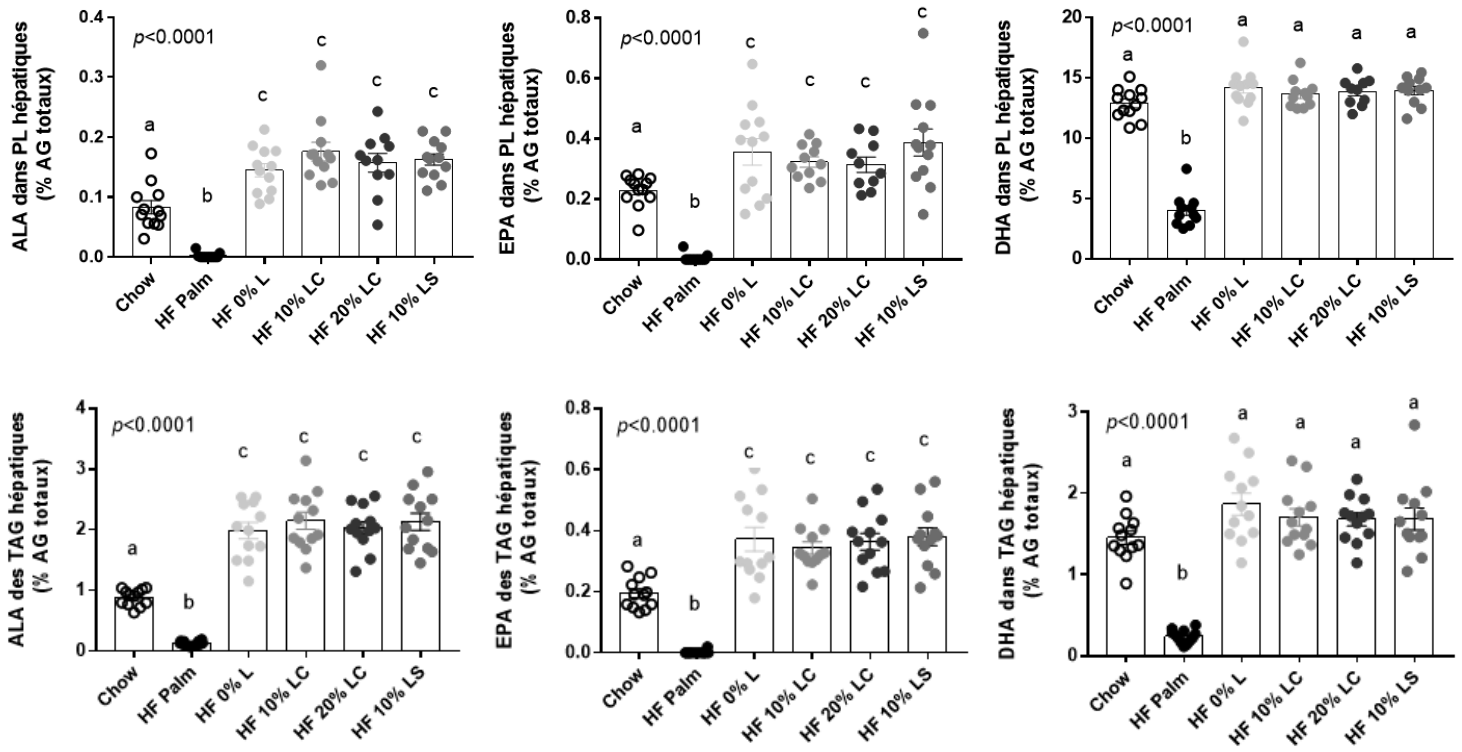


Figure 20. Pourcentage relatif en ALA et en ses dérivés à longue chaîne, EPA et DHA, au niveau des TAG et des PL hépatiques après 13 semaines de régime, $n=11-12$. Les groupes ont été comparés via une ANOVA à sens unique, suivie du test post-hoc de Tukey. Les moyennes considérées comme étant significativement différentes sont représentées par des lettres alphabétiques différentes. HF = high-fat ; L = lécithine ; LC= lécithine de colza ; LS= lécithine de soja.

Ces résultats démontrent que la consommation à long terme de lécithines végétales, qu'elles soient issues du colza ou du soja, ne permet pas d'augmenter la biodisponibilité de l'ALA, par rapport à une huile (HF 0% L). Ceci est observée aussi bien à des doses nutritionnelles (10%) qu'à une dose de supplémentation (20%). La vectorisation d'ALA sous forme de lécithine ne permet pas non plus d'augmenter sa bioconversion en longue chaîne : les souris ayant consommé des régimes HF enrichi en ALA ont des teneurs hépatiques en EPA et en DHA

identiques, peu importe la dose de lécithine consommée. Ces données viennent alors confirmer les effets à court terme des lécithines végétales exposés dans le chapitre précédent.

Néanmoins, il est intéressant de noter que les souris ayant consommé des régimes HF enrichis en ALA ont des teneurs hépatiques en ALA et en EPA plus élevées que celles ayant consommé un régime d'animalerie classique (contrôle). Ceci démontre qu'à long terme, un apport plus important en ALA est capable d'augmenter les concentrations en ALA et en EPA du foie (Figure 20). En revanche, aucune différence n'est observée quant à la teneur hépatique en DHA chez ces souris. De plus, la teneur en DHA du foie des souris du groupe « HF Palm », dont le régime est entièrement dépourvu d'ALA, est fortement diminuée, par rapport aux autres groupes. Ceci suggère que la teneur en DHA du foie est strictement régulée et que seul un apport très largement insuffisant en ALA peut entraîner une diminution de sa concentration hépatique. Ces données sont en accord avec la majorité des études à ce sujet, qui démontre qu'un apport croissant en ALA améliore le statut en EPA, mais pas en DHA (6,10,329)

Par ailleurs, nous observons que les souris ayant consommé le régime « HF Palm » dépourvu d'ALA et enrichi en LA, possèdent des PL hépatiques contenant moins de DHA, mais plus d'acide arachidonique (AA), que les souris ayant consommé de l'ALA. Ceci confirme que la teneur en ALA et en LA des régimes impacte la bioconversion de ces acides gras en leurs dérivés respectifs. De cette manière, nous observons que plus le ratio LA/ALA est élevé (ratio de 125 pour le régime « HF Palme »), plus les PL hépatiques sont riches en AA ; plus ce ratio est faible (de l'ordre de 5 pour les régimes HF enrichis en ALA), plus le contenu en DHA des PL hépatiques devient élevé.

De manière générale, nos résultats démontrent que l'apport en ALA, et non sa vectorisation par les lécithines végétales, permet d'augmenter sa biodisponibilité tissulaire à long terme.

2. Des doses nutritionnelles de lécithines végétales ne modifient pas les lipides plasmatiques

Outre leur rôle en tant que vecteurs d'ALA, les lécithines végétales, de par leur teneur en PL, sont largement impliquées dans le métabolisme des lipides. Des études cliniques et précliniques démontrent que la supplémentation en lécithine ou en PC de soja engendre des effets liporégulateurs, tels que des effets hypotriglycéridémiant et hypocholestérolémiant, au niveau systémique dans le cadre de dyslipidémies (290–292). Néanmoins, leur rôle en tant qu'ingrédient au sein d'une alimentation occidentale demeure controversé. Un des objectifs de

cette étude était d'évaluer la capacité de doses nutritionnelles de différentes lécithines végétales à moduler les lipides plasmatiques.

Nos résultats ne démontrent aucun effet différentiel entre les groupes, quant aux niveaux de cholestérol total et de triglycérides plasmatiques. La concentration plasmatique en acides gras libres n'est pas non plus modifiée chez les souris ayant consommé des régimes HF enrichis en ALA et contenant des lécithines végétales, par rapport au groupe contrôle. L'incorporation de doses nutritionnelles de lécithine végétale au sein d'un régime riche en graisses ne paraît ainsi pas moduler les lipides circulants chez la souris. Au vu de l'utilisation croissante des lécithines par l'IAA et de l'apport en lipides actuel de la population, ces résultats seraient plutôt rassurants et incitent à une vérification chez l'humain dans un contexte de régime occidental.

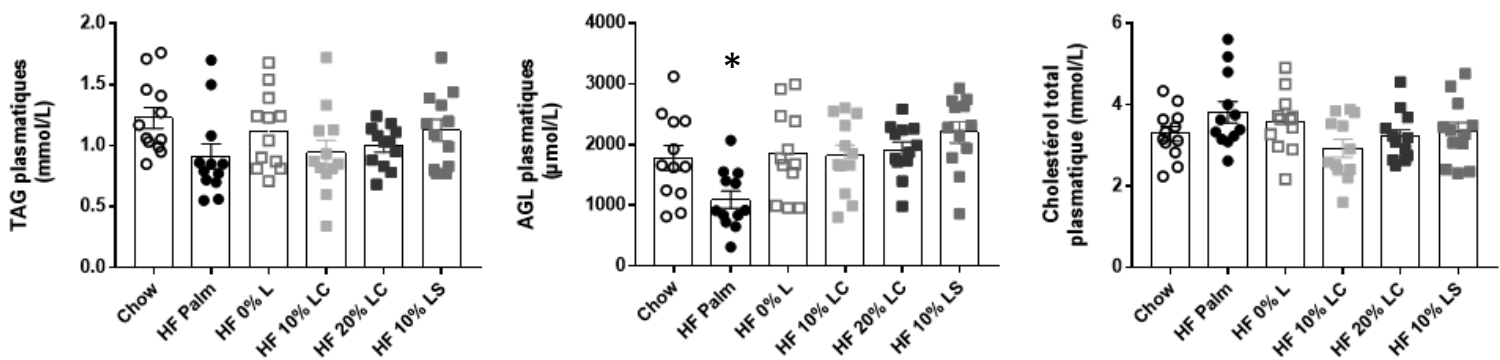


Figure 21. Lipides (triacylglycérols, acides gras libres et cholestérol total) plasmatiques des souris après 13 semaines de régime, n=8. Les groupes ont été comparés via une ANOVA à sens unique, suivie du test post-hoc de Dunnett versus le groupe Chow. Les valeurs considérées comme étant significativement différentes sont représentées par *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$. AGL= acides gras libres ; HF = high-fat ; LC= lécithine de colza ; LS= lécithine de soja ; TAG= triacylglycérols.

3. Effets différentiels des lécithines de colza et de soja sur la prise de poids et l'adiposité

Outre leur impact sur le métabolisme des lipides, l'impact de la consommation de régimes HF enrichis en ALA et en lécithines végétales chez la souris a également été évalué sur certains paramètres biométriques, notamment la prise de poids (**Figure 22**) et l'adiposité (**Figure 23**).

En effet, de récents travaux menés par notre équipe ont démontré que l'incorporation de 1.2% de lécithine de soja au sein d'un régime riche en graisse entraîne une augmentation de l'adiposité et de l'inflammation du TA blanc chez la souris (317). Or, au vu des résultats

exposés dans les chapitres précédents, la lécithine de colza exercerait des effets différentiels et bénéfiques par rapport à la lécithine de soja. Il convient alors de comparer les effets de la lécithine de soja et de colza sur ces paramètres, lorsque celles-ci sont incorporées dans des régimes HF.

Nous observons tout d'abord que la prise de poids au cours du temps est supérieure chez les souris ayant consommé des régimes HF, par rapport à celles nourries avec le régime Chow, validant ainsi notre modèle de régime HF. Néanmoins, seules les souris nourries avec 10% de lécithine de soja et 20% de lécithine de colza ont une prise de poids finale significativement plus importante que les souris contrôle. Il est intéressant de noter que cette prise de poids n'est pas observée chez les souris ayant consommé 10% de lécithine de colza. Ceci suggère un effet promoteur du gain de poids de la lécithine de soja à des doses nutritionnelles, comparativement à la lécithine de colza, qui n'aurait ce type d'effet qu'à des doses supérieures.

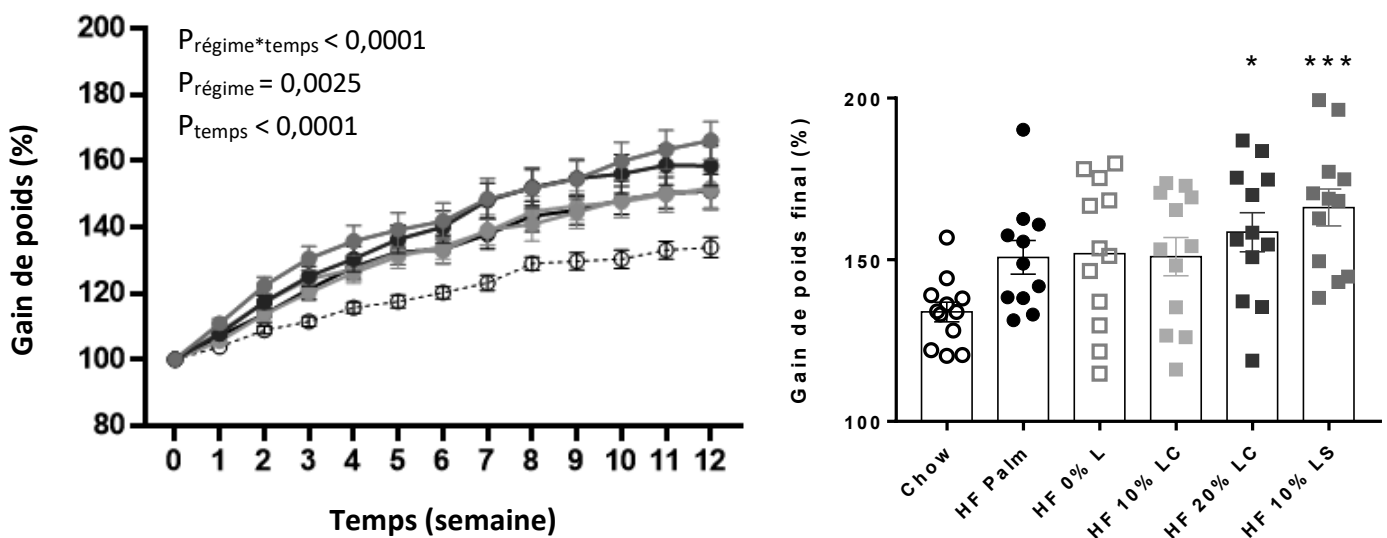


Figure 22. (A) Suivi du gain de poids au cours des 13 semaines de régime et (B) gain de poids final après les 13 semaines de régime, n=11-12. Afin d'évaluer l'impact de l'ajout de lécithine végétale à un régime hyperlipidique sur l'évolution du gain de poids avec le temps, une ANOVA à deux facteurs a été réalisée, suivie du test post-hoc de Dunnett versus le groupe témoin Chow. En ce qui concerne le gain de poids final, les groupes ont été comparés via une ANOVA à sens unique, également suivie du test post-hoc de Dunnett versus le groupe Chow. Les valeurs considérées comme étant significativement différentes sont représentées par *: $p < 0,05$; ***: $p < 0,001$. HF = high-fat ; LC= lécithine de colza ; LS= lécithine de soja.

Concernant l'adiposité plus spécifiquement, nous observons une augmentation de l'adiposité totale (poids du tissu adipeux blanc total) chez toutes les souris ayant consommé des régimes HF, comparativement au groupe contrôle. Ce même effet est observé au niveau du tissu adipeux

épididymal (TAE). En revanche, aucun effet différentiel n'est observé entre les groupes HF, ce qui suggère que l'enrichissement en ALA et l'ajout de lécithine à des diètes HF ont un effet neutre sur ces deux paramètres.

Les régimes HF enrichis en ALA et contenant 0% ou 10% de lécithine de colza n'engendrent pas non plus de modification au niveau du TA sous-cutané et du TA mésentérique, par rapport au groupe contrôle. Cependant, de même que pour la prise de poids finale, l'incorporation de 10% de lécithine de soja et de 20% de lécithine de colza induit une augmentation significative du poids de ces deux dépôts, par rapport au groupe contrôle. Ainsi, seule la lécithine de soja est capable d'induire, à des doses nutritionnelles, une augmentation de l'adiposité viscérale et de l'adiposité sous-cutanée, par rapport à un régime sain. Ces effets ne sont observés pour la lécithine de colza que lorsque celle-ci est ajoutée à une dose de supplémentation (20%).

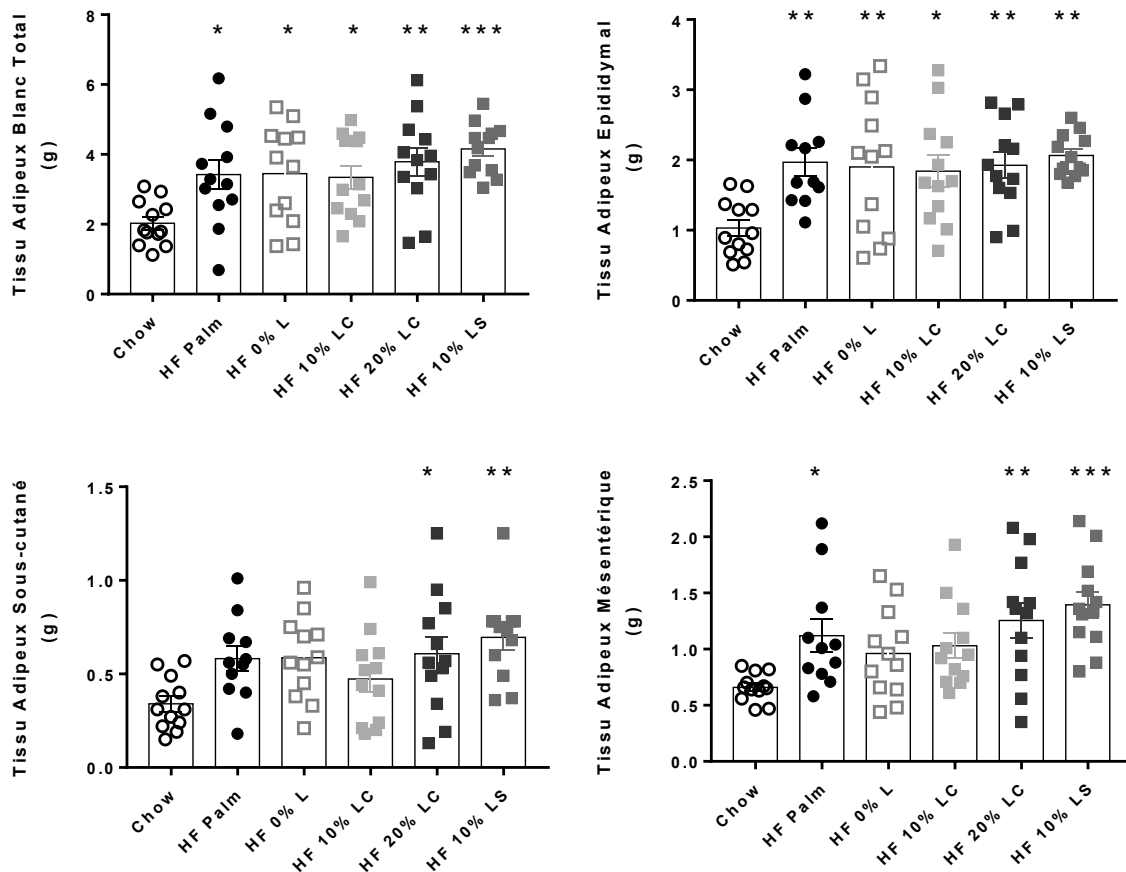


Figure 23. Poids des différents compartiments du tissu adipeux blanc des souris, n=11-12. Afin d'évaluer l'impact de l'ajout de lécithine végétale à un régime hyperlipidique sur l'adiposité, une ANOVA à sens unique a été réalisée, suivie du test post-hoc de Dunnett versus le groupe témoin Chow. Les valeurs considérées comme étant significativement différentes sont représentées par *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$. HF = high-fat ; LC= lécithine de colza ; LS= lécithine de soja.

Afin d'approfondir l'étude des effets des lécithines sur le TA, une analyse histologique des TAE permettant d'observer les adipocytes a été effectuée. Ainsi, si l'ajout de lécithine à régime HF n'engendre aucune différence de masse du TAE, l'analyse histologique des adipocytes de ce tissu révèle que l'ajout de 20% de lécithine de colza et de 10% de lécithine de soja génère des adipocytes de plus grosse taille, comparativement au groupe contrôle (**Figure 24**). On observe également cette même tendance dans le groupe HF Palm. Ainsi, l'ajout d'ALA au sein d'un régime HF engendrerait des adipocytes de taille similaire à ceux observés dans le groupe contrôle, effet qui est contrebalancé par la présence de 10% de lécithine de soja et 20% de lécithine de colza. Il serait dès lors intéressant d'effectuer une analyse histologique similaire au niveau du TA sous-cutané et du TA mésentérique, pour lesquels l'ajout de 10% de lécithine de soja et de 20% de lécithine de colza entraîne d'ors et déjà une augmentation de leur masse.

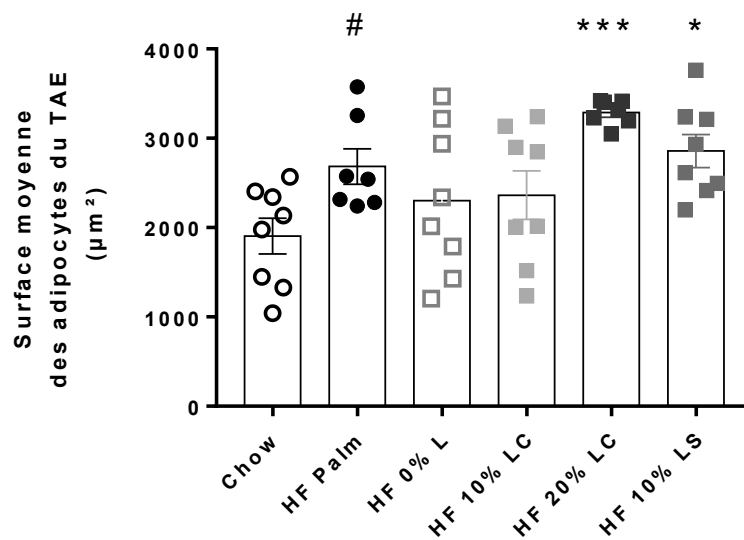


Figure 24. Surface moyenne des adipocytes du tissu adipeux épидидymal des souris, n=8. Les groupes ont été comparés via une ANOVA à sens unique, suivie du test post-hoc de Dunnett versus le groupe Chow. Les moyennes considérées comme étant significativement différentes sont représentées par : # : $0.1 < p < 0,05$; * : $p < 0,05$; *** : $p < 0,001$. HF = high-fat ; LC= lécithine de colza ; LS= lécithine de soja ; TAE = tissu adipeux épидидymal.

4. Des effets bénéfiques de l'ALA au sein de régime hyperlipidique sur des paramètres inflammatoires dans le tissu adipeux

Au vu des données sur l'adiposité, nous avons cherché à déterminer si les lécithines de colza et de soja engendrent également des effets différentiels au niveau de l'inflammation du TA (**Figure 25**).

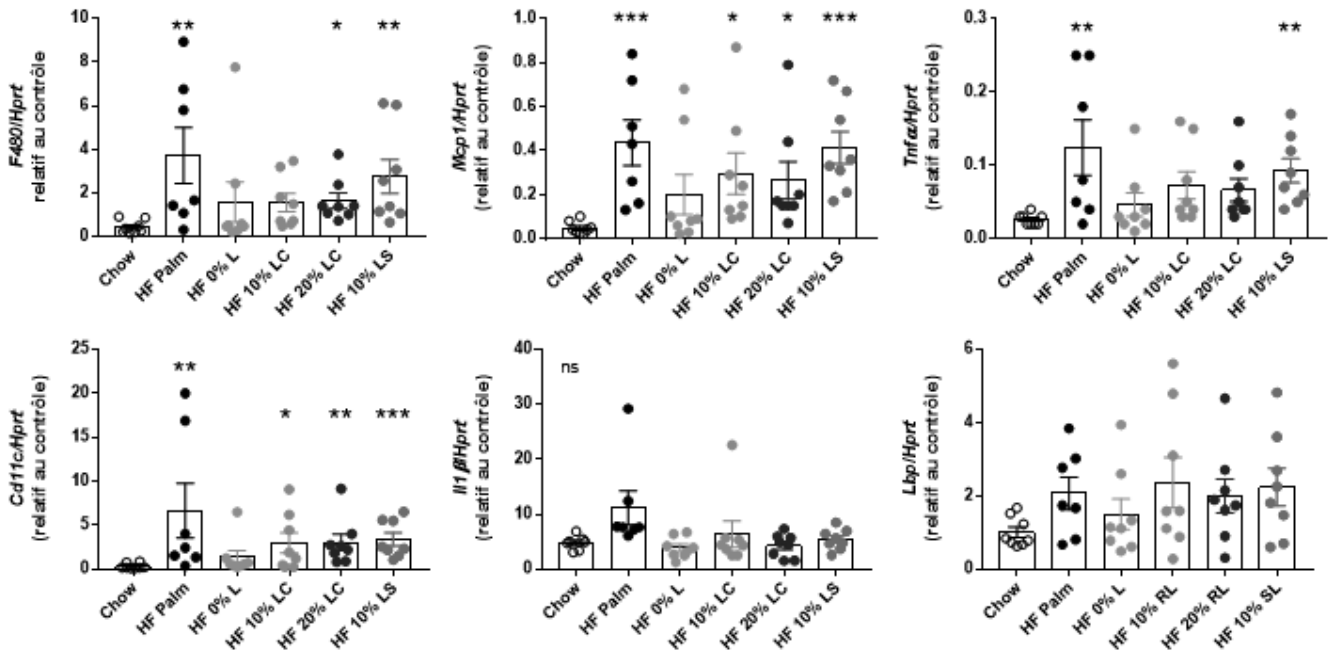


Figure 25. Expressions de gènes impliqués dans l'inflammation au niveau du tissu adipeux épидидymal, n=8. Les valeurs ont été rapportées à *Hprt* et exprimées par rapport au contrôle (Chow). Chaque bar représente la moyenne \pm l'erreur type de la moyenne. Les groupes ont été comparés via une ANOVA à sens unique, suivie du test post-hoc de Dunnett versus le groupe contrôle. Les valeurs considérées comme étant significativement différentes sont représentées par *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$. *Cd11c* = cluster de différenciation 11c ; HF = high-fat ; *Il-1β* = interleukine-1β ; L = lécithine ; *Lbp* = lipopolysaccharide binding protein ; LC = lécithine de colza ; LS = lécithine de soja ; *Mcp1* = monocyte chemoattractant protein 1 ; *Tnfa* = tumor necrosis factor- α .

On observe que l'expression génique des marqueurs de l'inflammation, tels que *Mcp1* et *Tnfa*, et *Cd11c*, *F4/80*, en lien avec l'infiltration macrophagique, est systématiquement augmentée pour le groupe HF Palm, comparativement au groupe contrôle. En revanche, celle du groupe HF enrichi en ALA et dépourvu de lécithine est similaire à celle du groupe contrôle. Nos résultats suggèrent ainsi que l'enrichissement d'un régime HF en ALA engendre des effets bénéfiques sur l'expression des gènes impliqués dans l'inflammation du TA. Néanmoins, l'ajout de lécithine, quelle que soit son origine ou sa dose, mais plus particulièrement la lécithine de soja, semble annihiler ces effets. Les résultats observés ici concernant la lécithine de soja corroborent ceux obtenus précédemment par notre équipe, dans un autre design expérimental. En effet, l'expression de ces mêmes gènes de l'inflammation du TA était augmentée chez des souris C57BL6/J ayant consommé pendant 8 semaines un régime HF (21% de lipides) contenant 1,2% de lécithine de soja, par rapport à celles nourries avec un régime normolipidique (312). Alors, bien qu'elle n'engendre pas le même effet délétère que la lécithine

de soja au niveau de l'adiposité, la lécithine de colza exerce un effet pro-inflammatoire similaire au niveau du TAE.

5. Analyses complémentaires en cours

L'ensemble de ces données apportent des premières pistes quant aux effets à long terme des lécithines de colza et de soja sur des paramètres métaboliques et inflammatoires. Afin de compléter ces premiers résultats, nous avons également récolté les fèces des souris à différents temps ($t = 0$, $t = 2$ semaines, et temps final = 13 semaines), pour effectuer des analyses du microbiote. Ces analyses ont lieu dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe de Philippe Gérard (INRAE MICALIS, Jouy-en-Josas). Les analyses statistiques sont actuellement en cours.

De la même manière, au vu des résultats précédemment observés lors de l'étude à court terme chez la souris, nous avons prélevé les caecums des souris pour effectuer une analyse des acides biliaires. Ceux-ci ont été envoyés chez l'équipe de Dominique Rainteau (Plateforme de Lipidomique de l'Hôpital Saint-Antoine, Paris), pour y être analysés prochainement.

Nous espérons que ces données permettront d'obtenir des éléments de compréhension des mécanismes qui sous-tendent les effets métaboliques des lécithines de colza et de soja en tant qu'ingrédients au sein de régimes déséquilibrés mimant l'alimentation occidentale.

CHAPITRE 5 : Discussion générale et perspectives

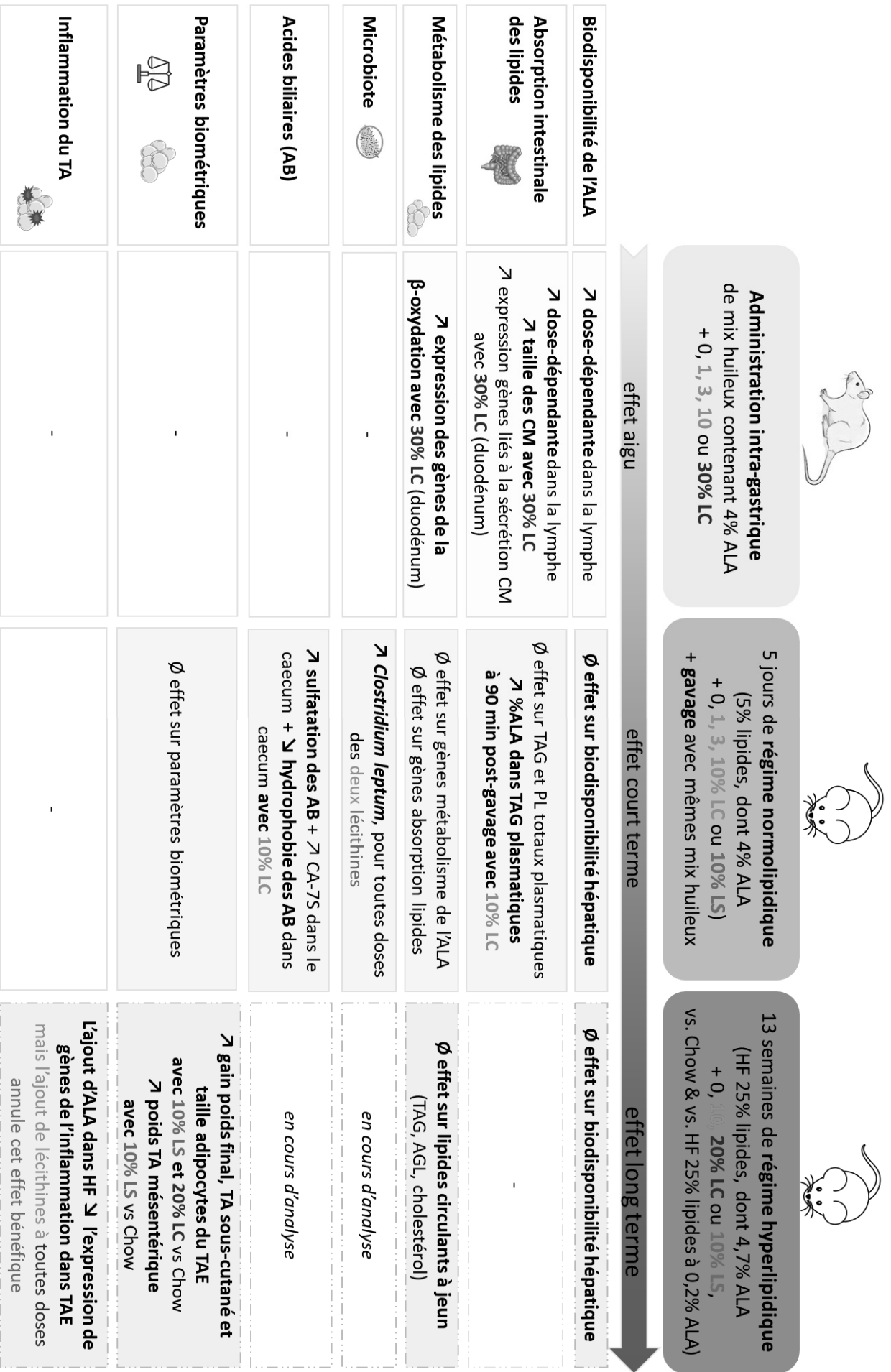


Figure 1. Principaux résultats des trois études précliniques menées lors de la thèse.

I. L'alimentation occidentale actuelle

Si l'alimentation est intimement associée à une notion de plaisir, elle reste avant tout un besoin, permettant de fournir tous les nutriments essentiels au bon fonctionnement de l'organisme. Cependant, force est de constater que, dans nos sociétés occidentales actuelles, de mauvaises habitudes alimentaires ont pris le dessus. L'alimentation dite « occidentale », pauvre en fibres et riche en sucres simples et en graisses, génère, entre autres, un apport énergétique excessif, qui contribue activement à la prévalence croissante de l'obésité. Moins palpable cependant est le fait que cette alimentation est également à l'origine de carences, notamment car l'apport en AG essentiels, comme l'ALA, y est insuffisant. Comment alors palier à cet apport insuffisant d'ALA, sans pour autant augmenter l'apport en lipides totaux, qui est, lui, suffisant ? Existe-t-il des aliments ou des ingrédients permettant de rendre l'ALA qu'ils contiennent plus biodisponible ? Si oui, quel impact auraient ces sources alimentaires riches en ALA sur la santé métabolique et intestinale ? Seraient-elles recommandables ? Nous tâcherons de répondre à ces questions au travers de la discussion qui suit, en nous appuyant sur les résultats des études menées sur les lécithines végétales au cours de cette thèse (**Figure 1**).

II. Les lécithines végétales : vecteurs efficaces d'ALA dans l'alimentation ?

1. Un effet dose-dépendant des lécithines végétales sur le métabolisme des lipides

De par leur richesse en PL et en ALA, mais également l'ampleur de leur utilisation en tant qu'émulsifiant et texturant dans les aliments, les lécithines végétales apparaissent comme des vecteurs d'ALA efficaces et prometteurs. En effet, les données de la littérature indiquent que la supplémentation en lécithines végétales permettrait d'augmenter l'absorption intestinale des lipides. Néanmoins, les études portant sur des doses plus faibles, i.e. des doses nutritionnelles de lécithines (<10%), sont à la fois parcellaires et contradictoires, et leur impact en tant qu'ingrédient dans l'alimentation occidentale demeure méconnu.

Nos travaux révèlent pour la première fois un effet dose-réponse d'une lécithine végétale sur l'absorption intestinale des lipides. Ainsi, chez le rat, l'administration de lécithine de colza entraîne une augmentation dose-dépendante de l'absorption des lipides et de l'ALA, augmentation qui ne devient significative qu'à des doses de supplémentation (30% des lipides totaux). Au-delà des aspects quantitatifs, la lécithine de colza permet également de moduler des paramètres cinétiques de l'absorption intestinale des lipides. Ainsi, l'administration de lécithine de colza chez le rat engendre une apparition plus précoce des lipides dans la lymphe, et ce, là

encore, de manière dose-dépendante. L'enrichissement en ALA des lipides lymphatiques est ainsi plus rapide lorsqu'il est porté par la lécithine de colza. Ceci peut avoir des implications métaboliques importantes, puisqu'une apparition plus précoce de l'ALA dans la lymphe sous-entend que l'ALA est rendu plus rapidement biodisponible pour engendrer ses effets biologiques dans l'organisme.

Ces effets seraient en partie dus à une accrétion augmentée des lipides dans les CM au cours de leur synthèse dans l'entérocyte. On observe ainsi que la taille, et non le nombre, des CM lymphatiques est augmentée chez les rats ayant ingéré 30% de lécithine de colza, comparativement à ceux n'ayant pas reçu de lécithine. Chez ces rats, l'expression des gènes impliqués dans la sécrétion des CM est également augmentée au niveau duodénal. Ces résultats corroborent ceux de Nishimukai et al., qui, en utilisant un inhibiteur de la formation de CM, le « pluronic L-81 », ont conclu que l'effet promoteur de la PC de soja sur l'absorption des lipides était dû à la sécrétion intestinale de CM (287). Les lécithines étant des agents amphiphiles, leur contribution à l'émulsification du bolus alimentaire et leur capacité à faciliter la micellisation des lipides dans la lumière intestinale pourrait également participer à cette absorption améliorée. De plus, les PL contenus dans les lécithines influencent l'activité des lipases digestives et il a ainsi été montré que la lécithine de soja, de par sa teneur en PC, était capable d'augmenter l'activité de la lipase gastrique (181). La contribution de ce type de mécanismes dans les résultats observés serait donc à explorer avec la lécithine de colza, en utilisant par exemple un modèle de digestion *in vitro*.

Des données existantes concernant la pré-émulsification d'une huile par des lécithines exposent également cet effet stimulant des lécithines sur l'absorption lipidique. Ainsi, Garaoiva et al. ont démontré chez l'Homme que l'émulsification d'une huile de poisson avec de la lécithine de soja induit un pic plus précoce et plus important de la concentration plasmatique en AGPI oméga 3 et en ALA qu'une huile seule (280). De même, chez le rat, Couédelo et al. ont montré que l'administration d'une huile de lin (riche en ALA) émulsionnée avec de la lécithine de soja entraîne une absorption intestinale et une sécrétion lymphatique d'ALA augmentées par rapport à l'huile seule ou émulsionnée avec du caséinate de sodium (266). Cependant, indépendamment de la présence d'un émulsifiant, la structure émulsionnée vs non-émulsionnée d'une matière grasse est à elle seule capable de stimuler l'absorption intestinale des lipides (207,236). Nous avons ainsi pris soin de ne pas pré-émulsionner les mix huileux avant leur administration dans nos études, afin d'élucider l'effet de la simple présence de lécithine sur l'absorption des lipides et de l'ALA, un effet qui demeure très peu décrit dans la littérature.

Les nouveaux résultats que nous présentons ici viennent éclairer pour la première fois les données controversées de la littérature concernant l'effet des lécithines végétales sur l'absorption lipidique. Nous mettons ainsi en évidence que, même sans pré-émulsification préalable, les lécithines végétales sont capables d'augmenter de manière dose-dépendante l'apparition des lipides dans la lymphe, mais que seules des doses de supplémentation permettent d'augmenter significativement l'absorption des lipides en aigu. De plus, il convient de souligner que ces effets ont été étudiés ici en utilisant la lécithine de colza, et non la lécithine de soja, comme c'est le cas de la grande majorité des études existantes sur les lécithines végétales, cette dernière étant largement majoritaire sur le marché. Il conviendra alors de vérifier si cet effet dose peut être transposé aux lécithines végétales de manière générale, en reproduisant un design expérimental similaire avec d'autres sources de lécithines, comme la lécithine de soja ou de tournesol.

Cependant, si on remarque que les lécithines engendrent une exacerbation de l'absorption de l'ALA à des doses de supplémentation, il est important de déterminer aussi leur effet sur le devenir post-absorptif de l'ALA. En effet, la notion de biodisponibilité d'un AG prend en compte à la fois la digestion des TAG et PL qui le contiennent et son absorption, mais également sa capacité à engendrer les réponses physiologiques escomptées. Une fois absorbés, les lipides ont plusieurs devenir métaboliques possibles : principalement utilisés comme substrat d'énergie (β -oxydation) ou stockés au niveau du TA, ils peuvent également exercer des rôles physiologiques qui leur sont propres dans divers tissus cibles. Ainsi, bien qu'il soit en grande partie β -oxydé, l'ALA exerce plusieurs autres fonctions physiologiques, dont la principale relève de sa conversion en ses dérivés à longue chaîne (8). Il est alors primordial d'évaluer l'impact de sa forme de vectorisation sur son devenir métabolique. En effet, si la vectorisation de l'ALA par des lécithines augmente son absorption, mais qu'il est par ailleurs β -oxydé, cela serait alors peu intéressant d'un point de vue nutritionnel. Dans le duodénum, qui constitue le premier organe d'intérêt dans ce processus, nous montrons que l'administration de lécithine de colza à une dose de supplémentation (30%), mais pas à des doses nutritionnelles plus faibles, induit, par rapport à une huile seule, une augmentation de l'expression des gènes impliqués dans la β -oxydation, mais aussi de ceux impliqués dans la bioconversion de l'ALA en ses dérivés à longue chaîne. Morise et al. ont montré chez le rongeur qu'une augmentation des apports en ALA induit à la fois une augmentation de sa β -oxydation mais aussi de sa conversion en ses dérivés (329). L'augmentation de l'absorption de l'ALA par l'ingestion de 30% de lécithine semblerait donc induire le même type d'effet dans le duodénum. Ces résultats suggèrent alors que la vectorisation de l'ALA sous forme de lécithine ne l'oriente en rien vers un devenir métabolique en particulier, mais permet, à des doses de supplémentation,

d'engendrer une augmentation de sa bioconversion en ses dérivés à longue chaîne, dont les effets physiologiques sont largement décrits par ailleurs comme étant bénéfiques (21). Ces données méritent d'être confortées et validées avec des études utilisant des traceurs isotopiques pour un suivi précis de l'ALA, à la fois chez l'animal et chez l'Homme.

2. Des doses nutritionnelles de lécithines végétales ne suffisent pas à augmenter la biodisponibilité de l'ALA

Il est primordial de prendre en compte que les lécithines végétales sont avant tout consommées en tant qu'ingrédients au sein de régimes complexes, où leur apport ne peut se faire à de fortes doses, rarement supérieures à 10% des lipides totaux. Nous démontrons ici, à travers trois études précliniques utilisant deux modèles murins différents, que des doses nutritionnelles de lécithines de colza et de soja ne suffisent pas à améliorer la biodisponibilité de l'ALA, par rapport à une huile, que ce soit au niveau hépatique ou systémique, à court et à long terme. De ce fait, l'utilisation des lécithines de colza et de soja, toutes deux riches en ALA, en tant qu'ingrédients ne semble pas répondre au besoin actuel d'améliorer la biodisponibilité de l'ALA. De plus, nous montrons chez la souris qu'à long terme, l'incorporation d'une dose plus élevée, i.e. une dose de supplémentation (20% des lipides totaux), de lécithine de colza dans un régime HF, ne permet pas non plus d'augmenter la biodisponibilité hépatique de l'ALA.

Si l'ALA est en priorité beta-oxydé, son deuxième devenir post-absorptif est son stockage au sein du TA (14), où il constitue le principal oméga 3 (330). En effet, il a été montré chez le rongeur qu'un apport croissant en ALA engendre un enrichissement progressif du TA épидidymal (TAE) en ALA (329). Il convient alors de déterminer si sa vectorisation sous forme de PL via les lécithines végétales affecte également son accrétion au niveau du TA. La capacité des PL à augmenter l'accrétion des AG qu'ils contiennent dans leur tissus cibles a déjà été démontrée (226). Ainsi, dans le cas du DHA, son acheminement jusqu'au cerveau, où il exerce un rôle physiologique essentiel, serait meilleur lorsqu'il est vectorisé par des PL, et d'autant plus par des lyso-PL, que sous forme de TAG (224,225). L'analyse de la composition en AG du TA des souris ayant consommé des régimes HF enrichis en ALA et en lécithine est ainsi prévue et permettra d'évaluer si des doses nutritionnelles de lécithine sont capables d'augmenter l'accrétion de l'ALA au niveau du TA, son principal lieu de stockage.

III. Des régimes occidentaux enrichis en ALA et en lécithines

1. Effet protecteur de l'ALA au niveau du tissu adipeux

Bien que le TA blanc constitue le principal lieu de stockage des lipides, il agit également comme un organe endocrine dynamique, qui joue un rôle central dans le métabolisme des lipides et le maintien de l'homéostasie énergétique de l'organisme. Chez le rongeur, la consommation excessive de lipides peut entraîner la mise en place d'obésité (331), durant laquelle le TA subit des changements morphologiques et fonctionnels, qui sont, à leur tour, responsables de complications métaboliques. Au-delà de leur quantité, la nature des lipides ingérés a également un impact non-négligeable sur l'accumulation et la répartition de l'adiposité parmi les différents dépôts du TA. Il a ainsi été démontré, aussi bien chez l'animal que chez l'Homme, que la consommation d'acides gras saturés engendre une adiposité plus importante, comparativement à la consommation d'AGPI (332–334).

Nous montrons ici que des souris ayant consommé pendant 13 semaines un régime riche en graisses mais enrichi en ALA (4,7% des lipides totaux, 1% du régime total) présentent une prise de poids et des TA sous-cutané et viscéral de poids similaires à ceux de souris ayant été nourries avec un régime « Chow » normolipidique. Les souris nourries avec la diète HF enrichi en ALA ne démontraient pas non plus d'hypertrophie de leurs adipocytes au niveau du TAE, comparées aux souris nourries avec le régime Chow. Chez le rongeur, l'ALA semble donc atténuer la prise de poids, l'augmentation de l'adiposité viscérale et sous-cutanée et l'hypertrophie adipocytaire, typiquement engendrées par des diètes HF. Il exercerait ainsi des effets prophylactiques vis-à-vis des maladies métaboliques et cardiovasculaires, et ce même à des doses relativement faibles. Ceci pourrait s'expliquer en partie par l'inhibition par l'ALA de la conversion de l'acide linoléique (LA) en acide arachidonique (AA), et de l'inhibition conséquente de la synthèse d'eicosanoïdes de la série n-6 dérivés de l'AA. En effet, ces dérivés, comme le 2-arachidonoylglycerol (2-AG), ont été démontrés comme étant pro-adipogènes (335). La diminution de l'AA dans les PL hépatiques des souris ayant consommé des diètes HF enrichies en ALA par rapport à celles nourries avec le régime HF dépourvu d'ALA, semble aller dans ce sens. Il serait alors intéressant d'étudier l'expression des gènes impliqués dans de tels processus et d'analyser les différents eicosanoïdes présents au niveau du TA.

Chez le rongeur, la consommation d'AGPI n-3 à longue chaîne induit des effets anti-obésité similaires à ceux de l'ALA observés ici (22). Que ce soit en prévention ou chez des rongeurs obèses, la supplémentation en EPA/DHA au sein d'un régime HF limiterait la prise de poids et l'adiposité viscérale et sous-cutanée, et permettrait de réduire, voire de prévenir, certains troubles métaboliques liés à l'obésité, tels que la résistance à l'insuline et la dyslipidémie

(169,336–338). Certaines études ont cherché à comprendre les mécanismes impliqués et ont révélé que ces effets seraient en partie dus à une augmentation de la β -oxydation mitochondriale et peroxysomale des lipides, mais aussi à une diminution de la lipogénèse au niveau du TA (169,336,339,340). Des analyses génomiques dans les différents dépôts de TA sont actuellement en cours, afin d'évaluer si ces pistes mécanistiques sont également impliquées dans l'effet anti-adipogène de l'ALA.

Ainsi, nos données révèlent que, tout comme ses dérivés à longue chaîne (EPA, DHA), l'incorporation d'ALA au sein de régime HF est capable d'induire un effet anti-adipogène protecteur. L'ALA étant largement moins étudié que ses dérivés à longue chaîne et ses effets biologiques étant souvent attribués à son rôle de précurseur, nos données apportent ainsi de nouvelles informations précieuses quant aux effets physiologiques de l'ALA. Au vu des recommandations actuelles en faveur d'une alimentation plus riche en produits végétaux, ces résultats offrent des perspectives encourageantes sur le rôle préventif de l'ALA vis-à-vis des maladies liées à l'obésité.

2. Effet différentiel des lécithines de colza et de soja sur l'adiposité et certains paramètres métaboliques

De surcroît, nos travaux montrent que l'ajout à 10% des lipides totaux de lécithine de colza aux régimes HF enrichis en ALA ne contrecarre pas l'effet protecteur de l'ALA vis-à-vis de l'adiposité. Cependant, lorsque l'on augmente la dose de lécithine de colza à 20% des lipides totaux, qui représente non plus une dose nutritionnelle, mais une dose de supplémentation, ces effets protecteurs ne sont plus observés. En revanche, en ce qui concerne la lécithine de soja, seuls 10% suffisent pour annihiler les effets bénéfiques de l'ALA sur ces paramètres. Nous démontrons ainsi pour la première fois un effet différentiel des lécithines de colza et de soja sur la prise de poids et l'adiposité chez des souris en condition de régime HF, en faveur de la lécithine de colza, dont l'ajout au sein d'un régime riche en graisse à des doses nutritionnelles semble neutre. Ceci suggère que la forme de vectorisation de l'ALA sous forme de PL ou de TAG ne permet pas entièrement d'expliquer les différences observées au niveau de l'adiposité. De même, chez des souris nourries pendant 9 semaines avec des régimes HF enrichis ou non en EPA/DHA, la vectorisation de l'EPA et du DHA sous forme de PL ou de TAG n'avait pas eu d'effet différentiel significatif sur la prise de poids, l'adiposité et la taille des adipocytes (337).

Cet effet différentiel des lécithines de soja et de colza est également observé au niveau des acides biliaires. On observe chez la souris que lorsqu'elle est ajoutée à une dose de 10% des

lipides totaux au sein d'un régime normo-lipidique de 5 jours, la lécithine de colza, mais pas la lécithine de soja, augmente la sulfatation des acides biliaires, et notamment de l'acide cholique avec la formation de CA-7S, et diminue de ce fait l'hydrophobie des acides biliaires du caecum. L'ensemble de ces processus est connu pour faciliter l'élimination des acides biliaires et représente le moyen de détoxification des acides biliaires le plus efficace de l'organisme (89). Il a été démontré chez des patients ayant subi une iléostomie que la consommation d'huile de colza augmentait l'excrétion d'AB et de cholestérol, comparativement à la consommation d'une même quantité d'huile d'olive (341). Les auteurs proposent que certains composés mineurs, comme par exemple la quantité plus importante de stérols végétaux dans le colza que dans l'olive, seraient en partie responsables de ces effets. Une telle hypothèse pourrait ainsi être transposée aux lécithines de colza et de soja. Outre les PL et TAG, les lécithines contiennent aussi des stérols végétaux et des polyphénols, dont la contribution aux effets différentiels du soja et du colza n'est certainement pas négligeable et mériterait d'être davantage étudiée. Au vu du profil en acides gras des PL des lécithines, il est également possible que les effets moins favorables de la lécithine de soja comparativement à la lécithine de colza soient en partie dus à la teneur significativement plus élevée du soja en AGPI n-6, décrits comme pro-inflammatoires.

3. L'ALA, les lécithines végétales et la composante inflammatoire du TA

Les diètes HF n'entraînent pas seulement une augmentation de l'adiposité, mais sont également à l'origine d'une inflammation de bas grade du TA, caractéristique de l'obésité (74,327). Ici nous retrouvons cette augmentation de l'inflammation avec le régime HF pauvre en ALA.

Nos travaux démontrent qu'en plus de ses effets anti-adipogènes, l'ALA exerce également un effet protecteur vis-à-vis de la composante inflammatoire du TA. Nos résultats appuient les effets anti-inflammatoires de l'ALA au niveau du TA précédemment montrés chez des rats obèses nourris pendant 8 semaines avec des régimes HF supplémentés ou non en huile de lin, riche en ALA (342). Les rats nourris avec les régimes HF enrichis en ALA présentaient des adipocytes de plus petite taille (-17%) et des niveaux tissulaires de MCP1 et de TNF α moins importants, que ceux nourris avec un régime HF non supplémenté en ALA. Les AGPI n-3 à longue chaîne (DHA, EPA) sont aussi largement décrits comme exerçant des effets anti-inflammatoires en situation de diètes hyperlipidiques (343). Certaines études cliniques révèlent que les effets anti-inflammatoires de l'EPA et du DHA seraient dus, entre autres, à leur conversion en leurs dérivés lipidiques bioactifs, tels que les endocannabinoïdes N-eicosapentaenoyl ethanolamine (EPEA) et N-docosahexaenoyl ethanolamine (DHEA) (344,345). Ainsi, en plus de diminuer la synthèse des dérivés de l'AA, comme

l'endocannabinoïde 2-AG, l'ALA, en tant que précurseur de l'EPA/DHA, pourrait également favoriser la synthèse de ces dérivés anti-inflammatoires. L'ALA peut lui aussi être métabolisé en oxylipines, dotées de propriétés antiplaquettaires et d'activités anti-inflammatoires (33). En réalité, comme récemment souligné lors d'une méta-analyse sur les effets santé des AGPI n-3, trop peu d'études se focalisent sur l'ALA (20) et ne le considèrent uniquement pour son rôle de précurseur des AGPI à longues chaînes. Or, nous montrons ici chez la souris qu'au sein de régimes hyperlipidiques, l'ALA a des effets métaboliques bénéfiques qui lui sont propres.

Néanmoins, il convient de noter que la présence de lécithines végétales semble exercer un effet plutôt négatif sur l'inflammation, en annulant les effets protecteurs de l'ALA observés dans notre étude à long terme. Or, chez des souris C57BL/6J nourries de régime HF, la vectorisation d'oméga 3 à longue chaîne (EPA+DHA) sous forme de PL ne démontre pas d'effet différentiel sur l'expression des gènes impliqués dans l'inflammation au niveau du TA, par rapport à leur vectorisation sous forme de TAG (167). La présence de lécithine végétale, et non pas leur apport d'ALA sous forme de PL, semble ainsi être responsable des effets observés dans notre étude. De surcroît, les résultats observés ici concernant la lécithine de soja corroborent ceux obtenus précédemment par notre équipe, dans un autre design expérimental. En effet, l'expression de ces mêmes gènes de l'inflammation du TA était augmentée chez des souris C57BL6/J ayant consommé pendant 8 semaines un régime HF (21% de lipides) contenant 1,2% de lécithine de soja, par rapport à celles nourries avec un régime HF contrôle de profil en acides gras similaire mais dépourvu de lécithine (312). Il conviendra alors d'explorer dans de futures études les différents processus à l'origine de ces effets des lécithines végétales sur l'inflammation. Néanmoins, nos travaux chez la souris révèlent que, bien que les lécithines annihilent les effets protecteurs de l'ALA vis-à-vis de l'inflammation, elles n'exacerbent pas l'effet pro-inflammatoire des diètes HF. L'utilisation de lécithine végétale comme ingrédient au sein d'un régime occidental, riche en graisse, semble ainsi neutre, concernant la composante inflammatoire du TA.

IV. Les lécithines végétales : émulsifiants naturels aux effets prometteurs sur la santé intestinale

Par ailleurs, nos travaux montrent qu'au bout de 5 jours de régime normo-lipidique l'incorporation de doses nutritionnelles de lécithines de colza et de soja engendre une augmentation de l'abondance fécale de *Clostridium leptum*, un groupe bactérien associé à des effets anti-inflammatoires bénéfiques et dont l'abondance est diminuée dans des maladies inflammatoires intestinales (72). Les effets à long terme des lécithines sur le microbiote restent

à être élucidés (analyses statistiques en cours), mais ces premiers résultats à court terme chez la souris sont encourageants quant à l'utilisation des lécithines en tant qu'émulsifiant dans l'alimentation occidentale. Ceci est d'autant plus vrai qu'il a été démontré que certains émulsifiants synthétiques, tels le CMC et le PS80, induisent des effets néfastes sur la santé métabolique et le microbiote. En effet, Chassaing et al. ont démontré, à la fois chez des souris Swiss et des souris C57BL/6J, que la consommation pendant 8 semaines d'eau ou de régime Chow contenant 1% de ces émulsifiants synthétiques (CMC et PS80) promeut un profil pro-inflammatoire du microbiote intestinal, une inflammation de bas grade, ainsi que certains aspects du syndrome métabolique, comme une hyperphagie et une adiposité augmentée (321). Ces effets ont ensuite été validés chez l'Homme (322). De cette manière, de nombreux chercheurs tirent la sonnette d'alarme concernant l'utilisation d'émulsifiants et leur impact sur la santé métabolique (346,347). Des études mécanistiques complémentaires sont dès lors nécessaires pour mieux comprendre l'impact des lécithines végétales, en tant qu'émulsifiant naturel, sur la santé intestinale en explorant notamment leurs effets sur la barrière intestinale (intégrité, perméabilité, mucus, etc.) et le microbiote intestinal.

V. De l'animal à l'Homme

Ces travaux de thèse menés chez des rongeurs apportent des informations importantes quant aux effets métaboliques et inflammatoires de l'ALA et des lécithines végétales. A travers cette thèse, deux études se sont basées sur l'utilisation de souris Swiss, car ces souris, à l'inverse des souris C57BL/6J couramment utilisées pour ce genre d'étude, possèdent toutes les isoformes de la PLA₂. En effet, contrairement aux souris Swiss (Pla2 g2a^{+/+}), les souris C57BL/6J (Pla2 g2a^{-/-}) n'expriment pas la PLA₂ du groupe IIa, exprimée par le gène Pla2 g2a (348). Or, cette protéine est impliquée dans la lipolyse des PL et, nos travaux se focalisant sur la biodisponibilité d'un acide gras selon sa vectorisation par des PL végétaux, il était primordial d'utiliser un modèle animal adapté, possédant toutes les isoformes de PLA₂. Les souris Swiss sont par ailleurs non-consanguines, et reflètent donc une variabilité génétique semblable à celle retrouvée au sein de la population humaine (349,350). Ceci explique notamment pourquoi les souris Swiss démontrent une large variabilité de réponses physiologiques et sont globalement moins sensibles aux régimes HF que d'autres souris, telles les C57BL/6J par exemple (351,352). De manière générale et indépendamment de leur souche, les souris présentent des caractéristiques métaboliques différentes de celles de l'Homme, surtout en ce qui concerne le métabolisme des acides biliaires (80). Il est absolument indispensable de prendre en compte ces différences inter-espèces lors de la mise en place d'études précliniques. Néanmoins, les données

obtenues lors d'études précliniques sont précieuses et nécessaires, et constituent une base indispensable avant la mise en place ultérieure d'études cliniques. Nous estimons que l'effet prometteur des lécithines riches en ALA mis en évidence chez le rongeur lors de ces présents travaux sur des paramètres métaboliques et inflammatoires au sein de différents régimes, mérite d'être plus amplement étudié chez l'Homme. Une étude clinique nommée FADiets est actuellement en train d'être menée par une équipe du Rowett Institute en Ecosse, dont l'objectif est d'étudier l'impact de la lécithine de soja sur la santé intestinale (353). Au vu des résultats obtenus dans cette thèse, il serait judicieux d'effectuer une étude d'intervention nutritionnelle se focalisant sur les effets spécifiques de la lécithine de colza, étude qui pourrait être menée en partenariat avec le Centre de Recherche en Nutrition Humaine (CRNH) Rhône-Alpes avec lequel notre laboratoire travaille en étroite collaboration.

VI. La lécithine de colza : un ingrédient prometteur

Bien que les chiffres montrent un léger recul de l'utilisation des additifs au sein des aliments (242), il sera toujours nécessaire pour l'IAA d'avoir recours à des émulsifiants permettant d'apporter une texture plaisante et d'améliorer les propriétés organoleptiques des aliments. Dans le contexte global actuel, marqué à la fois par une obésité pandémique et des enjeux environnementaux majeurs, il est alors primordial de favoriser des émulsifiants naturels, écoresponsables, durables, et nutritifs. Les lécithines végétales, bien qu'elles ne permettent pas d'augmenter la biodisponibilité de l'ALA à des doses nutritionnelles, apparaissent comme des ingrédients à haut potentiel nutritionnel, sans effet néfaste sur la santé métabolique démontré jusqu'ici, comme c'est le cas de certains émulsifiants synthétiques. La lécithine de colza, d'origine naturelle, produite localement et aux propriétés nutritionnelles bénéfiques, semble particulièrement prometteuse et ses effets santé méritent d'être plus amplement étudiés. De plus, les lécithines étant largement utilisées dans l'alimentation animale, la lécithine de colza s'inscrit parfaitement dans le concept d'une « seule santé », initié dans les années 2000, qui relie environnement, santé animale et santé humaine. La lécithine de colza semble alors avoir un bel avenir devant elle.

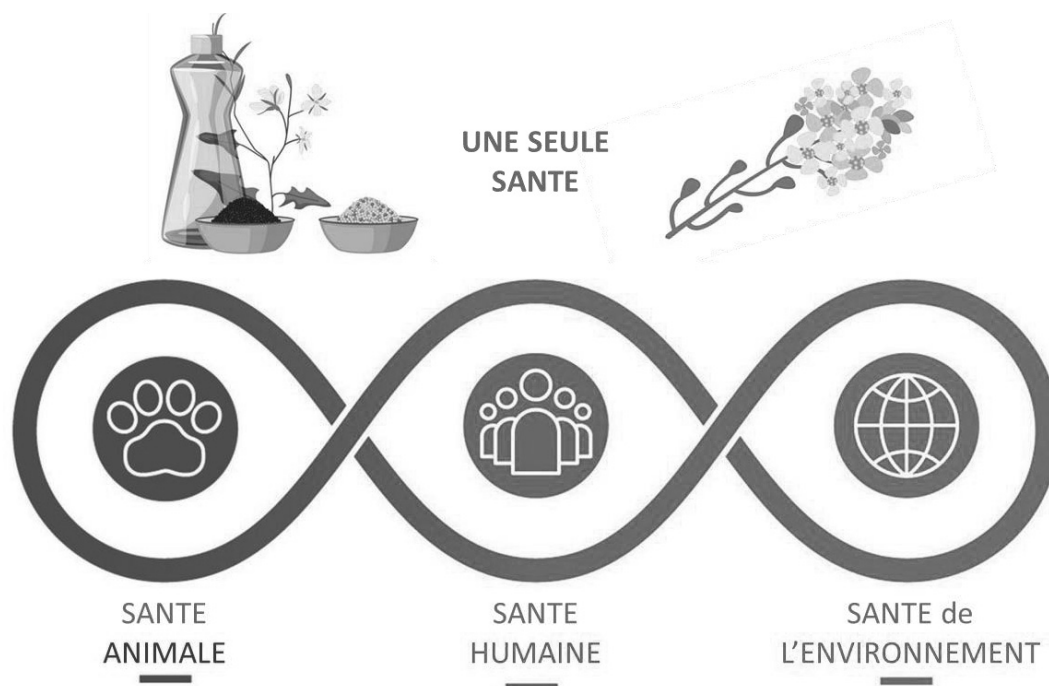


Figure 2. La lécithine de colza, un ingrédient écoresponsable au haut potentiel nutritionnel, s'intègre dans le concept actuel d'« une seule santé ». (Adapté de © Vet Record, *BMJ*)

Références

1. Claude L. Les lipides – nutrition et santé. Lavoisier; 2013. 354 p.
2. Chevreul ME. Recherches chimiques sur les corps gras d'origine animale. Levrault; 1823. 522 p.
3. Wisniak J, William Prout. Educación Química. 1 avr 2015;26(2):162-73.
4. Spector AA, Kim H-Y. Discovery of essential fatty acids. J Lipid Res. janv 2015;56(1):11-21.
5. Schönfeld P, Wojtczak L. Short- and medium-chain fatty acids in energy metabolism: the cellular perspective. J Lipid Res. juin 2016;57(6):943-54.
6. Baker EJ, Miles EA, Burdge GC, Yaqoob P, Calder PC. Metabolism and functional effects of plant-derived omega-3 fatty acids in humans. Progress in Lipid Research. 1 oct 2016;64:30-56.
7. Legrand P. Données récentes sur les désaturases chez l'animal et l'homme. Cah Nutr Diét. 2003;38(6):376-83.
8. Burdge GC. Metabolism of α -linolenic acid in humans. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids. 1 sept 2006;75(3):161-8.
9. Arterburn LM, Hall EB, Oken H. Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. Am J Clin Nutr. 2006;83(6 Suppl):1467S-1476S.
10. Burdge GC, Wootton SA. Conversion of alpha-linolenic acid to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in young women. Br J Nutr. oct 2002;88(4):411-20.
11. Plourde M, Cunnane SC. Extremely limited synthesis of long chain polyunsaturates in adults: implications for their dietary essentiality and use as supplements. Appl Physiol Nutr Metab. août 2007;32(4):619-34.
12. Domenichiello AF, Chen CT, Trepanier M-O, Stavro PM, Bazinet RP. Whole body synthesis rates of DHA from α -linolenic acid are greater than brain DHA accretion and uptake rates in adult rats. J Lipid Res. janv 2014;55(1):62-74.
13. Cunnane SC. Metabolism of polyunsaturated fatty acids and ketogenesis: an emerging connection. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. mars 2004;70(3):237-41.
14. Lin YH, Salem N. Whole body distribution of deuterated linoleic and alpha-linolenic acids and their metabolites in the rat. J Lipid Res. déc 2007;48(12):2709-24.
15. Burr GO, Burr MM. Nutrition classics from The Journal of Biological Chemistry 82:345-67, 1929. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. Nutr Rev. août 1973;31(8):248-9.
16. Benolken RM, Anderson RE, Wheeler TG. Membrane fatty acids associated with the electrical response in visual excitation. Science. 21 déc 1973;182(4118):1253-4.

17. Holman RT, Johnson SB, Hatch TF. A case of human linolenic acid deficiency involving neurological abnormalities. *Am J Clin Nutr.* mars 1982;35(3):617-23.
18. Bjerve KS, Mostad IL, Thoresen L. Alpha-linolenic acid deficiency in patients on long-term gastric-tube feeding: estimation of linolenic acid and long-chain unsaturated n-3 fatty acid requirement in man. *Am J Clin Nutr.* janv 1987;45(1):66-77.
19. Wu JHY, Micha R, Imamura F, Pan A, Biggs ML, Ajaz O, et al. Omega-3 fatty acids and incident type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr.* juin 2012;107 Suppl 2:S214-227.
20. Abdelhamid AS, Brown TJ, Brainard JS, Biswas P, Thorpe GC, Moore HJ, et al. Omega-3 fatty acids for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 18 2018;7:CD003177.
21. Shahidi F, Ambigaipalan P. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Their Health Benefits. *Annu Rev Food Sci Technol.* 25 mars 2018;9:345-81.
22. Albracht-Schulte K, Kalupahana NS, Ramalingam L, Wang S, Rahman SM, Robert-McComb J, et al. Omega-3 fatty acids in obesity and metabolic syndrome: a mechanistic update. *J Nutr Biochem.* 2018;58:1-16.
23. ANSES. Actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras. 2011 mai. Report No.: 2006-SA-0359.
24. Schmitz G, Ecker J. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. *Prog Lipid Res.* mars 2008;47(2):147-55.
25. Li K, Huang T, Zheng J, Wu K, Li D. Effect of marine-derived n-3 polyunsaturated fatty acids on C-reactive protein, interleukin 6 and tumor necrosis factor α : a meta-analysis. *PLoS ONE.* 2014;9(2):e88103.
26. AbuMweis S, Jew S, Tayyem R, Agraib L. Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid containing supplements modulate risk factors for cardiovascular disease: a meta-analysis of randomised placebo-control human clinical trials. *J Hum Nutr Diet.* 2018;31(1):67-84.
27. Vors C, Allaire J, Mejia SB, Khan TA, Sievenpiper JL, Lamarche B. Comparing the Effects of Docosahexaenoic and Eicosapentaenoic Acids on Inflammation Markers Using Pairwise and Network Meta-Analyses of Randomized Controlled Trials. *Adv Nutr.* 13 août 2020;
28. Innes JK, Calder PC. The Differential Effects of Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid on Cardiometabolic Risk Factors: A Systematic Review. *Int J Mol Sci.* 9 févr 2018;19(2).
29. Bhatt DL, Steg PG, Miller M, Brinton EA, Jacobson TA, Ketchum SB, et al. Cardiovascular Risk Reduction with Icosapent Ethyl for Hypertriglyceridemia. *N Engl J Med.* 03 2019;380(1):11-22.
30. Ander BP, Weber AR, Rampersad PP, Gilchrist JSC, Pierce GN, Lukas A. Dietary flaxseed protects against ventricular fibrillation induced by ischemia-reperfusion in normal and hypercholesterolemic Rabbits. *J Nutr.* déc 2004;134(12):3250-6.

31. Poudel-Tandukar K, Nanri A, Matsushita Y, Sasaki S, Ohta M, Sato M, et al. Dietary intakes of alpha-linolenic and linoleic acids are inversely associated with serum C-reactive protein levels among Japanese men. *Nutr Res.* juin 2009;29(6):363-70.
32. Nguemni C, Delplanque B, Rovère C, Simon-Rousseau N, Gandin C, Agnani G, et al. Dietary supplementation of alpha-linolenic acid in an enriched rapeseed oil diet protects from stroke. *Pharmacol Res.* mars 2010;61(3):226-33.
33. Liu M, Chen P, Véricel E, Lelli M, Béguin L, Lagarde M, et al. Characterization and biological effects of di-hydroxylated compounds deriving from the lipoxygenation of ALA. *J Lipid Res.* août 2013;54(8):2083-94.
34. Morise A, Hermier D, Combe N, Legrand P, Mourot J, Fenart E, et al. Effet de la dose d'acide alpha-linolénique alimentaire sur le métabolisme lipidique. *OCL.* 1 sept 2005;12(5-6):400-6.
35. FAO. Food Outlook - Oilcrops, oils and meals [Internet]. 2015. Disponible sur: http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM_MARKETS_MONITORING/Oilcrops/Documents/Food_outlook_oilseeds/Oilcrops_October_2015.pdf
36. Guo Q, Ye A, Bellissimo N, Singh H, Rousseau D. Modulating fat digestion through food structure design. *Prog Lipid Res.* 2017;68:109-18.
37. Wang TY, Liu M, Portincasa P, Wang DQ-H. New insights into the molecular mechanism of intestinal fatty acid absorption. *Eur J Clin Invest.* nov 2013;43(11):1203-23.
38. Beppu F, Yasuda K, Okada A, Hirosaki Y, Okazaki M, Gotoh N. Comparison of the Distribution of Unsaturated Fatty Acids at the *Sn*-2 Position of Phospholipids and Triacylglycerols in Marine Fishes and Mammals. *J Oleo Sci.* 2017;66(11):1217-27.
39. Lands WE. Metabolism of glycerolipides; a comparison of lecithin and triglyceride synthesis. *J Biol Chem.* avr 1958;231(2):883-8.
40. Galanakis CM. *Lipids and Edible Oils: Properties, Processing and Applications.* Academic Press; 2019. 374 p.
41. ANSES. Actualisation des repères PNNS : élaboration des références nutritionnelles [Internet]. 2016. Report No.: 2012-SA-0103. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/system/files/NUT2012SA0103Ra-2.pdf>
42. ANSES. Avis et rapport de l'ANSES sur l'étude individuelle nationale des consommations alimentaires 3 (INCA 3). 2017. Report No.: 2014-SA-0234.
43. Armand M. Chapitre 25. Armand M. Stratégies de contrôle de la biodisponibilité des lipides. 9 sept 2013;373-413.
44. Marcil V, Peretti N, Delvin E, Levy E. [Digestive and absorptive processes of lipids]. *Gastroenterol Clin Biol.* déc 2004;28(12):1257-66.
45. Chassaing B, Darfeuille-Michaud A. Interaction entre *Escherichia coli* et plaques de Peyer dans la maladie de Crohn - Le rôle des long polar fimbriae. *Med Sci (Paris).* 1 juin 2011;27(6-7):572-3.

46. Kim YS, Ho SB. Intestinal Goblet Cells and Mucins in Health and Disease: Recent Insights and Progress. *Curr Gastroenterol Rep.* oct 2010;12(5):319-30.
47. Wang S-L, Shao B-Z, Zhao S-B, Fang J, Gu L, Miao C-Y, et al. Impact of Paneth Cell Autophagy on Inflammatory Bowel Disease. *Front Immunol.* 2018;9:693.
48. Mabbott NA, Donaldson DS, Ohno H, Williams IR, Mahajan A. Microfold (M) cells: important immunosurveillance posts in the intestinal epithelium. *Mucosal Immunol.* juill 2013;6(4):666-77.
49. Moran GW, Leslie FC, Levison SE, McLaughlin JT. Enteroendocrine Cells: Neglected Players in Gastrointestinal Disorders? *Therap Adv Gastroenterol.* juill 2008;1(1):51-60.
50. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science.* 10 juin 2005;308(5728):1635-8.
51. Ghazalpour A, Cespedes I, Bennett BJ, Allayee H. Expanding role of gut microbiota in lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol.* avr 2016;27(2):141-7.
52. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol.* juill 2007;5(7):e177.
53. Milani C, Duranti S, Bottacini F, Casey E, Turrone F, Mahony J, et al. The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2017;81(4).
54. Martin R, Nauta AJ, Ben Amor K, Knippels LMJ, Knol J, Garssen J. Early life: gut microbiota and immune development in infancy. *Benef Microbes.* nov 2010;1(4):367-82.
55. Campeotto F, Waligora-Dupriet A-J, Doucet-Populaire F, Kalach N, Dupont C, Butel M-J. [Establishment of the intestinal microflora in neonates]. *Gastroenterol Clin Biol.* mai 2007;31(5):533-42.
56. Mariat D, Firmesse O, Levenez F, Guimarães V, Sokol H, Doré J, et al. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiol.* 9 juin 2009;9:123.
57. Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell.* 16 mars 2012;148(6):1258-70.
58. Lema I, Araújo JR, Rolhion N, Demignot S. Jejunum: The understudied meeting place of dietary lipids and the microbiota. *Biochimie [Internet].* 17 sept 2020 [cité 27 sept 2020]; Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300908420302121>
59. Seekatz AM, Schnizlein MK, Koenigskecht MJ, Baker JR, Hasler WL, Bleske BE, et al. Spatial and Temporal Analysis of the Stomach and Small-Intestinal Microbiota in Fasted Healthy Humans. *mSphere [Internet].* 13 mars 2019 [cité 27 sept 2020];4(2). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6416366/>
60. Verdu EF, Galipeau HJ, Jabri B. Novel players in coeliac disease pathogenesis: role of the gut microbiota. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* sept 2015;12(9):497-506.

61. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 12 mai 2011;473(7346):174-80.
62. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 13 juin 2012;486(7402):207-14.
63. Plovier H, Cani PD. Microbial Impact on Host Metabolism: Opportunities for Novel Treatments of Nutritional Disorders? *Microbiol Spectr*. 2017;5(3).
64. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2 nov 2004;101(44):15718-23.
65. Sommer F, Bäckhed F. The gut microbiota--masters of host development and physiology. *Nat Rev Microbiol*. avr 2013;11(4):227-38.
66. Tolhurst G, Heffron H, Lam YS, Parker HE, Habib AM, Diakogiannaki E, et al. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes*. févr 2012;61(2):364-71.
67. De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Goncalves D, Vinera J, Zitoun C, Duchamp A, et al. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell*. 16 janv 2014;156(1-2):84-96.
68. Kimura I, Ozawa K, Inoue D, Imamura T, Kimura K, Maeda T, et al. The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nat Commun*. 2013;4:1829.
69. Frankel WL, Zhang W, Singh A, Klurfeld DM, Don S, Sakata T, et al. Mediation of the trophic effects of short-chain fatty acids on the rat jejunum and colon. *Gastroenterology*. févr 1994;106(2):375-80.
70. Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*. 27 mars 2014;157(1):121-41.
71. Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y, et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science*. 21 janv 2011;331(6015):337-41.
72. Kabeerdoss J, Sankaran V, Pugazhendhi S, Ramakrishna BS. *Clostridium leptum* group bacteria abundance and diversity in the fecal microbiota of patients with inflammatory bowel disease: a case-control study in India. *BMC Gastroenterol*. 26 janv 2013;13:20.
73. Zhang M, Liu B, Zhang Y, Wei H, Lei Y, Zhao L. Structural Shifts of Mucosa-Associated Lactobacilli and *Clostridium leptum* Subgroup in Patients with Ulcerative Colitis. *J Clin Microbiol*. févr 2007;45(2):496-500.
74. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. juill 2007;56(7):1761-72.
75. de Aguiar Vallim TQ, Tarling EJ, Edwards PA. Pleiotropic Roles of Bile Acids in Metabolism. *Cell Metab*. 7 mai 2013;17(5):657-69.

76. Monte MJ, Marin JJG, Antelo A, Vazquez-Tato J. Bile acids: chemistry, physiology, and pathophysiology. *World J Gastroenterol*. 21 févr 2009;15(7):804-16.
77. Chiang JYL. Bile Acid Metabolism and Signaling. *Compr Physiol*. juill 2013;3(3):1191-212.
78. Chiang JYL. Bile acids: regulation of synthesis. *J Lipid Res*. oct 2009;50(10):1955-66.
79. Teubner W, Meinel W, Florian S, Kretzschmar M, Glatt H. Identification and localization of soluble sulfotransferases in the human gastrointestinal tract. *Biochem J*. 1 juin 2007;404(Pt 2):207-15.
80. Chiang JYL, Ferrell JM. Bile Acids as Metabolic Regulators and Nutrient Sensors. *Annu Rev Nutr*. 21 2019;39:175-200.
81. Yang T, Shu T, Liu G, Mei H, Zhu X, Huang X, et al. Quantitative profiling of 19 bile acids in rat plasma, liver, bile and different intestinal section contents to investigate bile acid homeostasis and the application of temporal variation of endogenous bile acids. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 1 sept 2017;172:69-78.
82. Wouthuyzen-Bakker M, Bodewes F a. JA, Verkade HJ. Persistent fat malabsorption in cystic fibrosis; lessons from patients and mice. *J Cyst Fibros*. mai 2011;10(3):150-8.
83. Ticho AL, Malhotra P, Dudeja PK, Gill RK, Alrefai WA. Intestinal Absorption of Bile Acids in Health and Disease. *Compr Physiol*. 18 déc 2019;10(1):21-56.
84. Dawson PA, Karpen SJ. Intestinal transport and metabolism of bile acids. *J Lipid Res*. juin 2015;56(6):1085-99.
85. Rao A, Haywood J, Craddock AL, Belinsky MG, Kruh GD, Dawson PA. The organic solute transporter α - β , Ost α -Ost β , is essential for intestinal bile acid transport and homeostasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 11 mars 2008;105(10):3891-6.
86. Enright EF, Griffin BT, Gahan CGM, Joyce SA. Microbiome-mediated bile acid modification: Role in intestinal drug absorption and metabolism. *Pharmacol Res*. 2018;133:170-86.
87. Pacini N, Albin E, Ferrari A, Zanchi R, Marca G, Bandiera T. Transformation of sulfated bile acids by human intestinal microflora. *Arzneimittelforschung*. août 1987;37(8):983-7.
88. Ridlon JM, Harris SC, Bhowmik S, Kang D-J, Hylemon PB. Consequences of bile salt biotransformations by intestinal bacteria. *Gut Microbes*. 3 mars 2016;7(1):22-39.
89. Alnouti Y. Bile Acid Sulfation: A Pathway of Bile Acid Elimination and Detoxification. *Toxicol Sci*. 1 avr 2009;108(2):225-46.
90. Thomas C, Pellicciari R, Pruzanski M, Auwerx J, Schoonjans K. Targeting bile-acid signalling for metabolic diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*. août 2008;7(8):678-93.
91. Salic K, Kleemann R, Wilkins-Port C, McNulty J, Verschuren L, Palmer M. Apical sodium-dependent bile acid transporter inhibition with volixibat improves metabolic aspects and components of non-alcoholic steatohepatitis in *Ldlr*^{-/-}.Leiden mice. *PLOS ONE*. 24 juin 2019;14(6):e0218459.

92. Moreau H, Gargouri Y, Lecat D, Junien JL, Verger R. Screening of preduodenal lipases in several mammals. *Biochim Biophys Acta*. 15 avr 1988;959(3):247-52.
93. Carrière F. La lipolyse gastro-intestinale chez l'homme. *Lipid Nutri+* [Internet]. 2013 [cité 18 sept 2020];(17). Disponible sur: https://www.researchgate.net/publication/261113034_La_lipolyse_gastro-intestinale_chez_l'homme
94. Carriere F, Barrowman JA, Verger R, Laugier R. Secretion and contribution to lipolysis of gastric and pancreatic lipases during a test meal in humans. *Gastroenterology*. sept 1993;105(3):876-88.
95. Armand M (Institut N de la S et de la RM, Pasquier B, Borel P, Andre M, Senft M, Peyrot J, et al. Emulsion and absorption of lipids: the importance of physicochemical properties. *Oleagineux Corps Gras Lipides (France)* [Internet]. 1997 [cité 21 sept 2020]; Disponible sur: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR1998003195>
96. Guimbaud R, Moreau JA, Bouisson M, Durand S, Escourrou J, Vaysse N, et al. Intraduodenal free fatty acids rather than triglycerides are responsible for the release of CCK in humans. *Pancreas*. janv 1997;14(1):76-82.
97. Carrière F, Renou C, Lopez V, De Caro J, Ferrato F, Lengsfeld H, et al. The specific activities of human digestive lipases measured from the in vivo and in vitro lipolysis of test meals. *Gastroenterology*. oct 2000;119(4):949-60.
98. El Alaoui M, Soulère L, Noiriel A, Popowycz F, Khatib A, Queneau Y, et al. A continuous spectrophotometric assay that distinguishes between phospholipase A1 and A2 activities. *J Lipid Res*. 2016;57(8):1589-97.
99. Lombardo D, Guy O. Studies on the substrate specificity of a carboxyl ester hydrolase from human pancreatic juice. II. Action on cholesterol esters and lipid-soluble vitamin esters. *Biochim Biophys Acta*. 11 janv 1980;611(1):147-55.
100. Couëdelo L, Termon A, Vaysse C. Matrice lipidique et biodisponibilité de l'acide alpha-linolénique. *OCL*. 1 mars 2017;24(2):D204.
101. Petit V, Niot I, Poirier H, Besnard P. Absorption intestinale des acides gras: faits et incertitudes. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. mars 2007;21(1):38-45.
102. Tran TTT, Buttet M, Traynard V, Besnard P, Poirier H, Niot I. Mécanisme d'absorption intestinale des acides gras à longue chaîne: rôle émergent du CD36. *OCL*. 1 juill 2012;19(4):200-8.
103. Ko C-W, Qu J, Black DD, Tso P. Regulation of intestinal lipid metabolism: current concepts and relevance to disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. mars 2020;17(3):169-83.
104. Chow SL, Hollander D. A dual, concentration-dependent absorption mechanism of linoleic acid by rat jejunum in vitro. *J Lipid Res*. mars 1979;20(3):349-56.
105. Abumrad NA, Davidson NO. Role of the gut in lipid homeostasis. *Physiol Rev*. juill 2012;92(3):1061-85.

106. Lobo M v, L H, N R-V, E T, P de la C, A C, et al. Localization of the lipid receptors CD36 and CLA-1/SR-BI in the human gastrointestinal tract: towards the identification of receptors mediating the intestinal absorption of dietary lipids [Internet]. Vol. 49, The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society. *J Histochem Cytochem*; 2001 [cité 21 sept 2020]. Disponible sur: <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/11561009/>
107. Ibrahimi A, Abumrad NA. Role of CD36 in membrane transport of long-chain fatty acids. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. mars 2002;5(2):139-45.
108. Drover VA, M A, F N, No D, Am N, D S, et al. CD36 deficiency impairs intestinal lipid secretion and clearance of chylomicrons from the blood [Internet]. Vol. 115, The Journal of clinical investigation. *J Clin Invest*; 2005 [cité 21 sept 2020]. Disponible sur: <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/15841205/>
109. Tran TTT, H P, L C, F N, Mm P, V P, et al. Luminal lipid regulates CD36 levels and downstream signaling to stimulate chylomicron synthesis [Internet]. Vol. 286, The Journal of biological chemistry. *J Biol Chem*; 2011 [cité 21 sept 2020]. Disponible sur: <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/21610069/>
110. Cifarelli V, Abumrad NA. Intestinal CD36 and Other Key Proteins of Lipid Utilization: Role in Absorption and Gut Homeostasis. *Compr Physiol*. 26 mars 2018;8(2):493-507.
111. Yamashita S, K H, T K, M J, Y T, M I, et al. Physiological and pathological roles of a multi-ligand receptor CD36 in atherogenesis; insights from CD36-deficient patients [Internet]. Vol. 299, Molecular and cellular biochemistry. *Mol Cell Biochem*; 2007 [cité 21 sept 2020]. Disponible sur: <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/16670819/>
112. Hajri H, Xx H, A B, Na A. Defective fatty acid uptake modulates insulin responsiveness and metabolic responses to diet in CD36-null mice [Internet]. Vol. 109, The Journal of clinical investigation. *J Clin Invest*; 2002 [cité 21 sept 2020]. Disponible sur: <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/12021254/>
113. Laugerette F, Passilly-Degrace P, Patris B, Niot I, Febbraio M, Montmayeur J-P, et al. CD36 involvement in orosensory detection of dietary lipids, spontaneous fat preference, and digestive secretions. *J Clin Invest*. nov 2005;115(11):3177-84.
114. Masson CJ, Plat J, Mensink RP, Namiot A, Kisielewski W, Namiot Z, et al. Fatty Acid- and Cholesterol Transporter Protein Expression along the Human Intestinal Tract. *PLoS One* [Internet]. 29 avr 2010 [cité 22 sept 2020];5(4). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2861623/>
115. Shim J, Moulson CL, Newberry EP, Lin M-H, Xie Y, Kennedy SM, et al. Fatty acid transport protein 4 is dispensable for intestinal lipid absorption in mice. *J Lipid Res*. mars 2009;50(3):491-500.
116. Milger K, Herrmann T, Becker C, Gotthardt D, Zickwolf J, Ehehalt R, et al. Cellular uptake of fatty acids driven by the ER-localized acyl-CoA synthetase FATP4. *J Cell Sci*. 15 nov 2006;119(Pt 22):4678-88.
117. Hall AM, Wiczler BM, Herrmann T, Stremmel W, Bernlohr DA. Enzymatic properties of purified murine fatty acid transport protein 4 and analysis of acyl-CoA synthetase activities in tissues from FATP4 null mice. *J Biol Chem*. 25 mars 2005;280(12):11948-54.

118. Buttet M, Traynard V, Tran TTT, Besnard P, Poirier H, Niot I. From fatty-acid sensing to chylomicron synthesis: Role of intestinal lipid-binding proteins. *Biochimie*. 1 janv 2014;96:37-47.
119. Paalvast Y, de Boer JF, Groen AK. Developments in intestinal cholesterol transport and triglyceride absorption. *Curr Opin Lipidol*. juin 2017;28(3):248-54.
120. Stahl A, Hirsch DJ, Gimeno RE, Punreddy S, Ge P, Watson N, et al. Identification of the major intestinal fatty acid transport protein. *Mol Cell*. sept 1999;4(3):299-308.
121. Krimbou L, Hajj Hassan H, Blain S, Rashid S, Denis M, Marcil M, et al. Biogenesis and speciation of nascent apoA-I-containing particles in various cell lines. *J Lipid Res*. août 2005;46(8):1668-77.
122. Magun AM, Mish B, Glickman RM. Intracellular apoA-I and apoB distribution in rat intestine is altered by lipid feeding. *J Lipid Res*. sept 1988;29(9):1107-16.
123. Pelsers MMAL, Namiot Z, Kisielewski W, Namiot A, Januszkiewicz M, Hermens WT, et al. Intestinal-type and liver-type fatty acid-binding protein in the intestine. Tissue distribution and clinical utility. *Clin Biochem*. oct 2003;36(7):529-35.
124. Phan CT, Tso P. Intestinal lipid absorption and transport. *Front Biosci*. 1 mars 2001;6:D299-319.
125. Wang B, Rong X, Duerr MA, Hermanson DJ, Hedde PN, Wong JS, et al. Intestinal Phospholipid Remodeling Is Required for Dietary-Lipid Uptake and Survival on a High-Fat Diet. *Cell Metab*. 8 mars 2016;23(3):492-504.
126. Hussain MM, Fatma S, Pan X, Iqbal J. Intestinal lipoprotein assembly. *Curr Opin Lipidol*. juin 2005;16(3):281-5.
127. 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. *J Biol Chem*. 9 juill 1999;274(28):19565-72.
128. Hussain MM. Intestinal lipid absorption and lipoprotein formation. *Curr Opin Lipidol*. juin 2014;25(3):200-6.
129. Mansbach CM, Siddiqi SA. The biogenesis of chylomicrons. *Annu Rev Physiol*. 2010;72:315-33.
130. Burri L, Hoem N, Banni S, Berge K. Marine omega-3 phospholipids: metabolism and biological activities. *Int J Mol Sci*. 21 nov 2012;13(11):15401-19.
131. Windler E, Chao Y, Havel RJ. Determinants of hepatic uptake of triglyceride-rich lipoproteins and their remnants in the rat. *The Journal of Biological Chemistry*. 10 juin 1980;255(11):5475-80.
132. Zhu J, Lee B, Buhman KK, Cheng J-X. A dynamic, cytoplasmic triacylglycerol pool in enterocytes revealed by ex vivo and in vivo coherent anti-Stokes Raman scattering imaging. *J Lipid Res*. juin 2009;50(6):1080-9.
133. Walther TC, Chung J, Farese RV. Lipid Droplet Biogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 06 2017;33:491-510.

134. Robertson MD, Parkes M, Warren BF, Ferguson DJP, Jackson KG, Jewell DP, et al. Mobilisation of enterocyte fat stores by oral glucose in humans. *Gut*. juin 2003;52(6):834-9.
135. Moreira LS, Piva B, Gentile LB, Mesquita-Santos FP, D'Avila H, Maya-Monteiro CM, et al. Cytosolic phospholipase A2-driven PGE2 synthesis within unsaturated fatty acids-induced lipid bodies of epithelial cells. *Biochim Biophys Acta*. mars 2009;1791(3):156-65.
136. Encyclopedia Britannica. Lipoprotein [Internet]. Encyclopedia Britannica. 2007 [cité 23 sept 2020]. Disponible sur: <https://www.britannica.com/science/lipoprotein>
137. Jean Dallongeville. Le métabolisme des lipoprotéines. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. 1 févr 2006;41(1):55-60.
138. Long JZ, Cravatt BF. The metabolic serine hydrolases and their functions in mammalian physiology and disease. *Chem Rev*. 12 oct 2011;111(10):6022-63.
139. Hussain MM, Strickland DK, Bakillah A. The mammalian low-density lipoprotein receptor family. *Annual Review of Nutrition*. 1999;19:141-72.
140. Amate L, Gil A, Ramírez M. Dietary long-chain PUFA in the form of TAG or phospholipids influence lymph lipoprotein size and composition in piglets. *Lipids*. oct 2002;37(10):975-80.
141. Martins IJ, Mortimer BC, Miller J, Redgrave TG. Effects of particle size and number on the plasma clearance of chylomicrons and remnants. *J Lipid Res*. déc 1996;37(12):2696-705.
142. Werner A, Havinga R, Kuipers F, Verkade HJ. Treatment of EFA deficiency with dietary triglycerides or phospholipids in a murine model of extrahepatic cholestasis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. mai 2004;286(5):G822-832.
143. Nakamura T, Kuranuki S. Nutrition—Macronutrients. In: Vasan RS, Sawyer DB, éditeurs. *Encyclopedia of Cardiovascular Research and Medicine* [Internet]. Oxford: Elsevier; 2018 [cité 19 oct 2020]. p. 531-7. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128096574995991>
144. Caër C. Inflammation du tissu adipeux au cours de l'obésité humaine : implication des lymphocytes Th17 [Internet] [phdthesis]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI; 2016 [cité 20 oct 2020]. Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01390654>
145. Wronska A, Kmiec Z. Structural and biochemical characteristics of various white adipose tissue depots. *Acta Physiol (Oxf)*. juin 2012;205(2):194-208.
146. Pezeshkian M, Noori M, Najjarpour-Jabbari H, Abolfathi A, Darabi M, Darabi M, et al. Fatty acid composition of epicardial and subcutaneous human adipose tissue. *Metab Syndr Relat Disord*. avr 2009;7(2):125-31.
147. Zwick RK, Guerrero-Juarez CF, Horsley V, Plikus MV. Anatomical, Physiological, and Functional Diversity of Adipose Tissue. *Cell Metab*. 09 2018;27(1):68-83.
148. Oikonomou EK, Antoniades C. The role of adipose tissue in cardiovascular health and disease. *Nat Rev Cardiol*. 2019;16(2):83-99.

149. Unamuno X, Gómez-Ambrosi J, Rodríguez A, Becerril S, Frühbeck G, Catalán V. Adipokine dysregulation and adipose tissue inflammation in human obesity. *Eur J Clin Invest.* sept 2018;48(9):e12997.
150. Stolarczyk E. Adipose tissue inflammation in obesity: a metabolic or immune response? *Curr Opin Pharmacol.* 2017;37:35-40.
151. Klok MD, Jakobsdottir S, Drent ML. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review. *Obes Rev.* janv 2007;8(1):21-34.
152. Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW. Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature.* 21 sept 2006;443(7109):289-95.
153. Yadav A, Kataria MA, Saini V, Yadav A. Role of leptin and adiponectin in insulin resistance. *Clin Chim Acta.* 18 févr 2013;417:80-4.
154. Haute Autorité de Santé. Surpoids et obésité de l'adulte : prise en charge médicale de premier recours. 2011 Szptembre.
155. Kojta I, Chacińska M, Błachnio-Zabielska A. Obesity, Bioactive Lipids, and Adipose Tissue Inflammation in Insulin Resistance. *Nutrients* [Internet]. 3 mai 2020 [cité 21 oct 2020];12(5). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7284998/>
156. Chait A, den Hartigh LJ. Adipose Tissue Distribution, Inflammation and Its Metabolic Consequences, Including Diabetes and Cardiovascular Disease. *Front Cardiovasc Med* [Internet]. 25 févr 2020 [cité 21 oct 2020];7. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7052117/>
157. Vague J. The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease. 1956. *Nutrition.* janv 1999;15(1):89-90; discussion 91.
158. Lee M-J, Wu Y, Fried SK. Adipose tissue heterogeneity: implication of depot differences in adipose tissue for obesity complications. *Mol Aspects Med.* févr 2013;34(1):1-11.
159. Heymsfield SB, Wadden TA. Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *N Engl J Med.* 19 2017;376(3):254-66.
160. Ognjanovic S, Bao S, Yamamoto SY, Garibay-Tupas J, Samal B, Bryant-Greenwood GD. Genomic organization of the gene coding for human pre-B-cell colony enhancing factor and expression in human fetal membranes. *J Mol Endocrinol.* avr 2001;26(2):107-17.
161. Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzameli I, Yin H, Flier JS. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest.* nov 2006;116(11):3015-25.
162. Kennedy A, Martinez K, Chuang C-C, LaPoint K, McIntosh M. Saturated fatty acid-mediated inflammation and insulin resistance in adipose tissue: mechanisms of action and implications. *J Nutr.* janv 2009;139(1):1-4.
163. Alvheim AR, Torstensen BE, Lin YH, Lillefosse HH, Lock E-J, Madsen L, et al. Dietary linoleic acid elevates endogenous 2-arachidonoylglycerol and anandamide in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and mice, and induces weight gain and inflammation in mice. *Br J Nutr.* 28 avr 2013;109(8):1508-17.

164. Todoric J, Löffler M, Huber J, Bilban M, Reimers M, Kadl A, et al. Adipose tissue inflammation induced by high-fat diet in obese diabetic mice is prevented by n-3 polyunsaturated fatty acids. *Diabetologia*. sept 2006;49(9):2109-19.
165. Ludwig T, Worsch S, Heikenwalder M, Daniel H, Hauner H, Bader BL. Metabolic and immunomodulatory effects of n-3 fatty acids are different in mesenteric and epididymal adipose tissue of diet-induced obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 1 juin 2013;304(11):E1140-1156.
166. Lin H-Y, Chen C-C, Chen Y-J, Lin Y-Y, Mersmann HJ, Ding S-T. Enhanced amelioration of high-fat diet-induced fatty liver by docosahexaenoic acid and lysine supplementations. *Biomed Res Int*. 2014;2014:310981.
167. Awada M, Meynier A, Soulage CO, Hadji L, Gélœn A, Viau M, et al. n-3 PUFA added to high-fat diets affect differently adiposity and inflammation when carried by phospholipids or triacylglycerols in mice. *Nutr Metab (Lond)*. 15 févr 2013;10(1):23.
168. Huber J, Löffler M, Bilban M, Reimers M, Kadl A, Todoric J, et al. Prevention of high-fat diet-induced adipose tissue remodeling in obese diabetic mice by n-3 polyunsaturated fatty acids. *Int J Obes (Lond)*. juin 2007;31(6):1004-13.
169. Huang C-W, Chien Y-S, Chen Y-J, Ajuwon KM, Mersmann HM, Ding S-T. Role of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Ameliorating the Obesity-Induced Metabolic Syndrome in Animal Models and Humans. *Int J Mol Sci*. 9 oct 2016;17(10).
170. Vors C. Impact de la structure de la matière grasse sur l'absorption et le devenir métabolique des lipides et des endotoxines chez l'Homme normo-pondéré ou obèse [Internet] [These de doctorat]. Lyon, INSA; 2012 [cité 7 oct 2020]. Disponible sur: <http://www.theses.fr/2012ISAL0091>
171. Favé G. Stratégies d'amélioration de la biodisponibilité des acides gras : approches physico-chimiques et enzymatiques [Internet] [These de doctorat]. Aix-Marseille 2; 2006 [cité 2 oct 2020]. Disponible sur: <http://www.theses.fr/2006AIX20694>
172. Michalski MC, Genot C, Gayet C, Lopez C, Fine F, Joffre F, et al. Multiscale structures of lipids in foods as parameters affecting fatty acid bioavailability and lipid metabolism. *Prog Lipid Res*. oct 2013;52(4):354-73.
173. Ramirez M, Amate L, Gil Á. Absorption and distribution of dietary fatty acids from different sources. *Early human development*. 1 déc 2001;65 Suppl:S95-101.
174. Jandacek RJ, Whiteside JA, Holcombe BN, Volpenhein RA, Taulbee JD. The rapid hydrolysis and efficient absorption of triglycerides with octanoic acid in the 1 and 3 positions and long-chain fatty acid in the 2 position. *Am J Clin Nutr*. mai 1987;45(5):940-5.
175. Lorenzen JK, Nielsen S, Holst JJ, Tetens I, Rehfeld JF, Astrup A. Effect of dairy calcium or supplementary calcium intake on postprandial fat metabolism, appetite, and subsequent energy intake. *Am J Clin Nutr*. mars 2007;85(3):678-87.
176. Mattson FH, Nolen GA, Webb MR. The absorbability by rats of various triglycerides of stearic and oleic acid and the effect of dietary calcium and magnesium. *J Nutr*. oct 1979;109(10):1682-7.

177. Teng K-T, Nagapan G, Cheng HM, Nesaretnam K. Palm olein and olive oil cause a higher increase in postprandial lipemia compared with lard but had no effect on plasma glucose, insulin and adipocytokines. *Lipids*. avr 2011;46(4):381-8.
178. Rein P, Saely CH, Aczel S, Patsch B, Drexel H. Omega-3 fatty acids significantly reduce postprandial triglyceridemia in male smokers: a pilot study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. févr 2009;19(2):e3-4.
179. Svensson J, Rosenquist A, Ohlsson L. Postprandial lipid responses to an alpha-linolenic acid-rich oil, olive oil and butter in women: a randomized crossover trial. *Lipids Health Dis*. 28 juin 2011;10:106.
180. Hamosh M. Lingual and gastric lipases. *Nutrition*. déc 1990;6(6):421-8.
181. Gargouri Y, Pieroni G, Riviere C, Saunier JF, Lowe PA, Sarda L, et al. Kinetic assay of human gastric lipase on short- and long-chain triacylglycerol emulsions. *Gastroenterology*. oct 1986;91(4):919-25.
182. 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. *The Journal of Nutrition*. juill 2005;135(7):1626-30.
183. Tsuzuki W. Absorption properties of micellar lipid metabolites into Caco2 cells. *Lipids*. juill 2007;42(7):613-9.
184. Innis SM, Dyer R. Dietary triacylglycerols with palmitic acid (16:0) in the 2-position increase 16:0 in the 2-position of plasma and chylomicron triacylglycerols, but reduce phospholipid arachidonic and docosahexaenoic acids, and alter cholesteryl ester metabolism in formula-Fed piglets. *J Nutr*. juill 1997;127(7):1311-9.
185. Porsgaard T, Høy CE. Lymphatic transport in rats of several dietary fats differing in fatty acid profile and triacylglycerol structure. *J Nutr*. juin 2000;130(6):1619-24.
186. Christensen MS, Høy CE, Redgrave TG. Lymphatic absorption of n - 3 polyunsaturated fatty acids from marine oils with different intramolecular fatty acid distributions. *Biochim Biophys Acta*. 17 nov 1994;1215(1-2):198-204.
187. Christensen MS, Høy CE, Becker CC, Redgrave TG. Intestinal absorption and lymphatic transport of eicosapentaenoic (EPA), docosahexaenoic (DHA), and decanoic acids: dependence on intramolecular triacylglycerol structure. *Am J Clin Nutr*. janv 1995;61(1):56-61.
188. Christensen MS, Müllertz A, Høy CE. Absorption of triglycerides with defined or random structure by rats with biliary and pancreatic diversion. *Lipids*. juin 1995;30(6):521-6.
189. Tso P, Lee T, Demichele SJ. Lymphatic absorption of structured triglycerides vs. physical mix in a rat model of fat malabsorption. *Am J Physiol*. 1999;277(2):G333-340.
190. Alfieri A, Imperlini E, Nigro E, Vitucci D, Orrù S, Daniele A, et al. Effects of Plant Oil Interesterified Triacylglycerols on Lipemia and Human Health. *Int J Mol Sci [Internet]*. 30 déc 2017 [cité 2 oct 2020];19(1). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5796054/>

191. Jung HR, Turner SM, Neese RA, Young SG, Hellerstein MK. Metabolic adaptations to dietary fat malabsorption in chylomicron-deficient mice. *The Biochemical Journal*. 15 oct 1999;343 Pt 2:473-8.
192. Couëdelo L, Vaysse C, Vaique E, Guy A, Gosse I, Durand T, et al. The Fraction of α -Linolenic Acid Present in the sn-2 Position of Structured Triacylglycerols Decreases in Lymph Chylomicrons and Plasma Triacylglycerols during the Course of Lipid Absorption in Rats. *J Nutr*. 1 janv 2012;142(1):70-5.
193. Redgrave TG, Kodali DR, Small DM. The effect of triacyl-sn-glycerol structure on the metabolism of chylomicrons and triacylglycerol-rich emulsions in the rat. *The Journal of Biological Chemistry*. 15 avr 1988;263(11):5118-23.
194. Mortimer BC, Kenrick MA, Holthouse DJ, Stick RV, Redgrave TG. Plasma clearance of model lipoproteins containing saturated and polyunsaturated monoacylglycerols injected intravenously in the rat. *Biochimica Et Biophysica Acta*. 9 juill 1992;1127(1):67-73.
195. Berry SEE, Sanders TAB. Influence of triacylglycerol structure of stearic acid-rich fats on postprandial lipaemia. *The Proceedings of the Nutrition Society*. mai 2005;64(2):205-12.
196. Summers LK, Fielding BA, Herd SL, Ilic V, Clark ML, Quinlan PT, et al. Use of structured triacylglycerols containing predominantly stearic and oleic acids to probe early events in metabolic processing of dietary fat. *Journal of Lipid Research*. oct 1999;40(10):1890-8.
197. Boulos P, Combe N. Biodisponibilité de l'acide α -linoléique : intérêt d'une huile combinée. *OCL*. janv 2000;7(1):101-4.
198. Berry SEE. Triacylglycerol structure and interesterification of palmitic and stearic acid-rich fats: an overview and implications for cardiovascular disease. *Nutr Res Rev*. juin 2009;22(1):3-17.
199. Zock PL, de Vries JH, de Fouw NJ, Katan MB. Positional distribution of fatty acids in dietary triglycerides: effects on fasting blood lipoprotein concentrations in humans. *Am J Clin Nutr*. janv 1995;61(1):48-55.
200. Berry SEE, Woodward R, Yeoh C, Miller GJ, Sanders TAB. Effect of interesterification of palmitic acid-rich triacylglycerol on postprandial lipid and factor VII response. *Lipids*. avr 2007;42(4):315-23.
201. West AL, Burdge GC, Calder PC. Lipid structure does not modify incorporation of EPA and DHA into blood lipids in healthy adults: a randomised-controlled trial. *Br J Nutr*. sept 2016;116(5):788-97.
202. Yli-Jokipii KM, Schwab US, Tahvonen RL, Kurvinen J-P, Mykkänen HM, Kallio HPT. Chylomicron and VLDL TAG structures and postprandial lipid response induced by lard and modified lard. *Lipids*. juill 2003;38(7):693-703.
203. Bonnaire L, Sandra S, Helgason T, Decker EA, Weiss J, McClements DJ. Influence of lipid physical state on the in vitro digestibility of emulsified lipids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 28 mai 2008;56(10):3791-7.

204. Sanders TAB, Berry SEE, Miller GJ. Influence of triacylglycerol structure on the postprandial response of factor VII to stearic acid-rich fats. *The American Journal of Clinical Nutrition*. avr 2003;77(4):777-82.
205. Sanders TAB, Filippou A, Berry SE, Baumgartner S, Mensink RP. Palmitic acid in the sn-2 position of triacylglycerols acutely influences postprandial lipid metabolism. *The American Journal of Clinical Nutrition*. déc 2011;94(6):1433-41.
206. Raynal-Ljutovac K, Bouvier J, Gayet C, Simon N, Joffre F, Fine F, et al. Organisation structurale et moléculaire des lipides dans les aliments : impacts possibles sur leur digestion et leur assimilation par l'Homme. *OCL*. 1 nov 2011;18(6):324-51.
207. Michalski M-C, Vors C, Lecomte M. Impact métabolique des matières grasses alimentaires : vers le concept des lipides rapides/lipides lents et l'effet matrice. *Lipid Nutri+* [Internet]. 2018 [cité 13 mai 2019];39. Disponible sur: <http://www.terresunivia.fr/decouvrir-terres-univia/actualites/lipid-nutri-ndeg39-novembredecembre-2018-287>
208. Genot C, Meynier A, Bernoud-Hubac N, Michalski M-C. Chapter 5 - Bioavailability of Lipids in Fish and Fish Oils. In: Raatz SK, Bibus DM, éditeurs. *Fish and Fish Oil in Health and Disease Prevention* [Internet]. San Diego: Academic Press; 2016 [cité 8 oct 2020]. p. 61-74. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128028445000051>
209. Lordan R, Tsoupras A, Zabetakis I. Phospholipids of Animal and Marine Origin: Structure, Function, and Anti-Inflammatory Properties. *Molecules*. 14 nov 2017;22(11).
210. Ulven SM, Holven KB. Comparison of bioavailability of krill oil versus fish oil and health effect. *Vasc Health Risk Manag*. 28 août 2015;11:511-24.
211. Schuchardt JP, Hahn A. Bioavailability of long-chain omega-3 fatty acids. Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids. juill 2013;89(1):1-8.
212. Hamazaki T, Urakaze M, Makuta M, Ozawa A, Soda Y, Tatsumi H, et al. Intake of different eicosapentaenoic acid-containing lipids and fatty acid pattern of plasma lipids in the rats. *Lipids*. déc 1987;22(12):994-8.
213. Cholewski M, Tomczykowa M, Tomczyk M. A Comprehensive Review of Chemistry, Sources and Bioavailability of Omega-3 Fatty Acids. *Nutrients* [Internet]. 4 nov 2018 [cité 8 oct 2020];10(11). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6267444/>
214. Hosomi R, Fukunaga K, Nagao T, Tanizaki T, Miyauchi K, Yoshida M, et al. Effect of Dietary Partial Hydrolysate of Phospholipids, Rich in Docosahexaenoic Acid-Bound Lysophospholipids, on Lipid and Fatty Acid Composition in Rat Serum and Liver. *Journal of Food Science*. 2019;84(1):183-91.
215. Ramprasath VR, Eyal I, Zchut S, Jones PJ. Enhanced increase of omega-3 index in healthy individuals with response to 4-week n-3 fatty acid supplementation from krill oil versus fish oil. *Lipids in Health and Disease*. 5 déc 2013;12(1):178.
216. Ghasemifard S, Turchini GM, Sinclair AJ. Omega-3 long chain fatty acid « bioavailability »: a review of evidence and methodological considerations. *Progress in Lipid Research*. oct 2014;56:92-108.

217. Michalski M-C, Couëdelo L, Penhoat A, Vaysse C, Vors C. Chapter 2 - Bioavailability and metabolism of dietary lipids. In: Galanakis CM, éditeur. *Lipids and Edible Oils* [Internet]. Academic Press; 2020 [cité 8 oct 2020]. p. 45-92. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128171059000021>
218. Sehl A, Couëdelo L, Chamekh-Coelho I, Vaysse C, Cansell M. In vitro lipolysis and lymphatic absorption of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in the rat: influence of the molecular lipid species as carrier. *Br J Nutr.* 24 juin 2019;1-21.
219. Cansell M, Nacka F, Combe N. Marine lipid-based liposomes increase in vivo FA bioavailability. *Lipids.* mai 2003;38(5):551-9.
220. Cansell M, Moussaoui N, Petit AP, Denizot A, Combe N. Feeding rats with liposomes or fish oil differently affects their lipid metabolism. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 2006;108(6):459-67.
221. Mathews SA, Oliver WT, Phillips OT, Odle J, Diersen-Schade DA, Harrell RJ. Comparison of Triglycerides and Phospholipids as Supplemental Sources of Dietary Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids in Piglets. *J Nutr.* 1 oct 2002;132(10):3081-9.
222. Ahn SH, Lim SJ, Ryu YM, Park H-R, Suh HJ, Han SH. Absorption rate of krill oil and fish oil in blood and brain of rats. *Lipids Health Dis.* 18 juill 2018;17(1):162.
223. Lagarde M, Bernoud N, Thiès F, Brossard N, Lemaitre-Delaunay D, Croset M, et al. Lysophosphatidylcholine as a carrier of docosahexaenoic acid to target tissues. *World Rev Nutr Diet.* 2001;88:173-7.
224. Lagarde M, Bernoud N, Brossard N, Lemaitre-Delaunay D, Thiès F, Croset M, et al. Lysophosphatidylcholine as a preferred carrier form of docosahexaenoic acid to the brain. *J Mol Neurosci.* juin 2001;16(2-3):201-4; discussion 215-221.
225. Sugasini D, Yalagala PC, Goggin A, Tai L, Subbaiah P. Enrichment of brain docosahexaenoic acid (DHA) is highly dependent upon the molecular carrier of dietary DHA: Lysophosphatidylcholine is more efficient than either phosphatidylcholine or triacylglycerol. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* 1 août 2019;74:108231.
226. Wijendran V, Huang M-C, Diau G-Y, Boehm G, Nathanielsz P, Brenna T. Efficacy of Dietary Arachidonic Acid Provided as Triglyceride or Phospholipid as Substrates for Brain Arachidonic Acid Accretion in Baboon Neonates. *Pediatric research.* 1 avr 2002;51:265-72.
227. Michalski M-C. Specific molecular and colloidal structures of milk fat affecting lipolysis, absorption and postprandial lipemia. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 2009;111(5):413-31.
228. Islam MA, Devle H, Comi I, Ulleberg EK, Rukke E-O, Vegarud GE, et al. Ex vivo digestion of raw, pasteurised and homogenised milk – Effects on lipolysis and proteolysis. *International Dairy Journal.* 1 févr 2017;65:14-9.
229. Borel P, Armand M, Ythier P, Dutot G, Melin C, Senft M, et al. Hydrolysis of emulsions with different triglycerides and droplet sizes by gastric lipase in vitro. Effect on pancreatic lipase activity. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* 1 mars 1994;5(3):124-33.

230. Hur SJ, Decker EA, McClements DJ. Influence of initial emulsifier type on microstructural changes occurring in emulsified lipids during in vitro digestion. *Food Chemistry*. 1 mai 2009;114(1):253-62.
231. Mun S, Decker EA, McClements DJ. Influence of emulsifier type on in vitro digestibility of lipid droplets by pancreatic lipase. *Food Research International*. 1 juill 2007;40(6):770-81.
232. Golding M, Wooster T. The influence of emulsion structure and stability on lipid digestion. *Current Opinion in Colloid & Interface Science - CURR OPIN COLLOID INTERFACE S*. 1 avr 2010;15:90-101.
233. Golding M, Wooster TJ, Day L, Xu M, Lundin L, Keogh J, et al. Impact of gastric structuring on the lipolysis of emulsified lipids. *Soft Matter*. 22 mars 2011;7(7):3513-23.
234. Singh H, Ye A, Horne D. Structuring food emulsions in the gastrointestinal tract to modify lipid digestion. *Progress in Lipid Research*. mars 2009;48(2):92-100.
235. Marciani L, Faulks R, Wickham MSJ, Bush D, Pick B, Wright J, et al. Effect of intragastric acid stability of fat emulsions on gastric emptying, plasma lipid profile and postprandial satiety. *The British Journal of Nutrition*. mars 2009;101(6):919-28.
236. Vors C, Pineau G, Gabert L, Draï J, Louche-Pélissier C, Defoort C, et al. Modulating absorption and postprandial handling of dietary fatty acids by structuring fat in the meal: a randomized crossover clinical trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*. janv 2013;97(1):23-36.
237. Mortensen A, Aguilar F, Crebelli R, Domenico AD, Frutos MJ, Galtier P, et al. Re-evaluation of lecithins (E 322) as a food additive. *EFSA Journal*. 2017;15(4):e04742.
238. Li J, Wang X, Zhang T, Wang C, Huang Z, Luo X, et al. A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1 avr 2015;10(2):81-98.
239. Miura S, Mutoh T, Shiinoki Y, Yoshioka T. Emulsifying properties of phospholipids in the reconstitution of cream using butter oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 1 nov 2006;108:898-903.
240. Markets and Markets. Lecithin and Phospholipids Market by Lecithin Type, Source (Soy, Sunflower, Egg and Others), Application (Food, Nutrition & Supplements, Feed, Pharmaceuticals and Others), & by Region - Global Trends and Forecasts to 2020 [Internet]. 2015 [cité 6 oct 2020]. Disponible sur: <https://www.prnewswire.com/in/news-releases/lecithin-market-worth-111-billion-usd-by-2020-530921781.html>
241. Ahuja K, Singh S. Food Additives Market Report 2018-2024 - Industry Size, Growth Analysis [Internet]. 2018 [cité 15 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.gminsights.com/industry-analysis/food-additives-market-size>
242. Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Rapport Oqali : Bilan et évolution de l'utilisation des additifs dans les produits transformés [Internet]. 2019 [cité 17 déc 2019]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/content/rapport-oqali-bilan-et-%C3%A9volution-de-lutilisation-des-additifs-dans-les-produits-transform%C3%A9s>

243. Bardeau T. Phospholipides bio-sourcés riches en acides gras oméga 3 pour la formulation de liposomes [Internet] [phdthesis]. Université de Bordeaux; 2015 [cité 6 oct 2020]. Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01298731>
244. Aoyagi WSA. History of Lecithin and Phospholipids (1850-2016): Extensively Annotated Bibliography and Sourcebook, Including Phosphatides and Liposomes. Soyinfo Center; 2016. 954 p.
245. Liu D, Ma F. Soybean Lecithins. In: Recent Trends for Enhancing the Diversity and Quality of Soybean Products [Internet]. Dora Krezhov; 2011 [cité 16 mai 2019]. p. 483-500. Disponible sur: <https://www.intechopen.com/books/recent-trends-for-enhancing-the-diversity-and-quality-of-soybean-products>
246. Hall JM, Powell HA, Rajic L, Korach KS. The Role of Dietary Phytoestrogens and the Nuclear Receptor PPAR γ in Adipogenesis: An in Vitro Study. *Environ Health Perspect.* 2019;127(3):37007.
247. Tsiaoussis J, Antoniou MN, Koliarakis I, Mesnage R, Vardavas CI, Izotov BN, et al. Effects of single and combined toxic exposures on the gut microbiome: Current knowledge and future directions. *Toxicol Lett.* 27 avr 2019;312:72-97.
248. Association Nationale des Industries Agroalimentaires (ANIA). Feuille de Route du Plan Industriel Agro-Alimentaire [Internet]. 2015. Disponible sur: <https://www.ania.net/wp-content/uploads/2015/06/plan-industriel-agro-alimentaire-feuille-de-route.pdf>
249. Nieuwenhuyzen W van, Tomás MC. Update on vegetable lecithin and phospholipid technologies. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 1 mai 2008;110(5):472-86.
250. Robert C, Couédelo L, Knibbe C, Fonseca L, Buisson C, Errazuriz-Cerda E, et al. Rapeseed Lecithin Increases Lymphatic Lipid Output and α -Linolenic Acid Bioavailability in Rats. *J Nutr.* 16 sept 2020;
251. Nguyen MT, Van de Walle D, Petit C, Beheydt B, Depypere F, Dewettinck K. Mapping the Chemical Variability of Vegetable Lecithins. *J Am Oil Chem Soc.* juill 2014;91(7):1093-101.
252. Wang T, Hammond EG, Fehr WR. Phospholipid fatty acid composition and stereospecific distribution of soybeans with a wide range of fatty acid composition. *J Amer Oil Chem Soc.* 1 déc 1997;74(12):1587-94.
253. Bourgeois C. Influence de la structuration de l'interface colloïdale sur la formulation et la biodisponibilité d'acides gras d'intérêt nutritionnel [Internet] [These de doctorat]. Bordeaux; 2018 [cité 6 oct 2020]. Disponible sur: <https://www.theses.fr/2018BORD0379>
254. Xie M, Dunford NT. Lipid composition and emulsifying properties of canola lecithin from enzymatic degumming. *Food Chem.* 1 mars 2017;218:159-64.
255. Przybylski R. Canola/Rapeseed Oil. In: Vegetable Oils in Food Technology [Internet]. John Wiley & Sons, Ltd; 2011 [cité 15 mai 2019]. p. 107-36. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781444339925.ch4>
256. van Nieuwenhuyzen W. The Changing World of Lecithins - International Lecithin & Phospholipid Society. *INFORM.* 2014;24(4):254-9.

257. Vikbjerg AF, Rusig J-Y, Jonsson G, Mu H, Xu X. Comparative evaluation of the emulsifying properties of phosphatidylcholine after enzymatic acyl modification. *J Agric Food Chem.* 3 mai 2006;54(9):3310-6.
258. Li J, Guo Z. Identification and quantification of phenolic compounds in rapeseed originated lecithin and antioxidant activity evaluation. *LWT-Food Sci Technol.* nov 2016;73:397-405.
259. Cui L, Decker EA. Phospholipids in foods: prooxidants or antioxidants? *J Sci Food Agric.* 15 janv 2016;96(1):18-31.
260. Li J, Pedersen JN, Anankanbil S, Guo Z. Enhanced fish oil-in-water emulsions enabled by rapeseed lecithins obtained under different processing conditions. *Food Chem.* 30 oct 2018;264:233-40.
261. Ramadan MF. Antioxidant characteristics of phenolipids (quercetin-enriched lecithin) in lipid matrices. *Industrial Crops and Products.* 1 mars 2012;36(1):363-9.
262. Robert C, Couëdelo L, Vaysse C, Michalski M-C. Vegetable lecithins: A review of their compositional diversity, impact on lipid metabolism and potential in cardiometabolic disease prevention. *Biochimie.* févr 2020;169:121-32.
263. Robert C, Michalski M-C. Les lécithines végétales : aperçu des connaissances quant à leurs impacts métaboliques. *Lipid Nutri+* [Internet]. 2020 [cité 6 oct 2020];42. Disponible sur: <http://iterg.com/index.php/fr/2020/01/09/les-lecithines-vegetales/>
264. Mentella MC, Scaldaferrì F, Ricci C, Gasbarrini A, Miggiano GAD. Cancer and Mediterranean Diet: A Review. *Nutrients.* 2 sept 2019;11(9).
265. Widmer RJ, Flammer AJ, Lerman LO, Lerman A. The Mediterranean diet, its components, and cardiovascular disease. *The American Journal of Medicine.* mars 2015;128(3):229-38.
266. Couëdelo L, Amara S, Lecomte M, Meugnier E, Monteil J, Fonseca L, et al. Impact of various emulsifiers on ALA bioavailability and chylomicron synthesis through changes in gastrointestinal lipolysis. *Food Funct.* mai 2015;6(5):1726-35.
267. Vors C, Capolino P, Guérin C, Meugnier E, Pesenti S, Chauvin M-A, et al. Coupling in vitro gastrointestinal lipolysis and Caco-2 cell cultures for testing the absorption of different food emulsions. *Food Funct.* mai 2012;3(5):537-46.
268. Lecomte M, Bourlieu C, Meugnier E, Penhoat A, Cheillan D, Pineau G, et al. Milk Polar Lipids Affect In Vitro Digestive Lipolysis and Postprandial Lipid Metabolism in Mice. *J Nutr.* août 2015;145(8):1770-7.
269. Lairon D. Digestion and absorption of lipids. *Designing Functional Foods: Measuring and Controlling Food Structure Breakdown and Nutrient Absorption.* 1 juill 2009;68-93.
270. Patton JS, Carey MC. Inhibition of human pancreatic lipase-colipase activity by mixed bile salt-phospholipid micelles. *Am J Physiol.* oct 1981;241(4):G328-336.
271. Favé G, Lévêque C, Peyrot J, Pieroni G, Coste TC, Armand M. Modulation of gastric lipolysis by the phospholipid specie: link to specific lipase-phospholipid interaction at the lipid/water interface? *The FASEB Journal.* 1 avr 2007;21(6):A1010-A1010.

272. Saito H, Arimoto I, Tanaka M, Sasaki T, Tanimoto T, Okada S, et al. Inhibition of lipoprotein lipase activity by sphingomyelin: role of membrane surface structure. *Biochimica Et Biophysica Acta*. 19 juill 2000;1486(2-3):312-20.
273. Duong M, Psaltis M, Rader DJ, Marchadier D, Barter PJ, Rye K-A. Evidence that hepatic lipase and endothelial lipase have different substrate specificities for high-density lipoprotein phospholipids. *Biochemistry*. 25 nov 2003;42(46):13778-85.
274. Tsuzuki W, Ue A, Nagao A, Endo M, Abe M. Inhibitory effect of lysophosphatidylcholine on pancreatic lipase-mediated hydrolysis in lipid emulsion. *Biochim Biophys Acta*. 30 août 2004;1684(1-3):1-7.
275. Lin X, Wang Q, Li W, Wright AJ. Emulsification of algal oil with soy lecithin improved DHA bioaccessibility but did not change overall in vitro digestibility. *Food Funct*. nov 2014;5(11):2913-21.
276. Tso P, Kendrick H, Balint JA, Simmonds WJ. Role of biliary phosphatidylcholine in the absorption and transport of dietary triolein in the rat. *Gastroenterology*. janv 1981;80(1):60-5.
277. O'Doherty PJ, Kakis G, Kuksis A. Role of luminal lecithin in intestinal fat absorption. *Lipids*. mai 1973;8(5):249-55.
278. Werner A, Havinga R, Perton F, Kuipers F, Verkade HJ. Lymphatic chylomicron size is inversely related to biliary phospholipid secretion in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. juin 2006;290(6):G1177-1185.
279. Ahn J, Koo SI. Intraduodenal phosphatidylcholine infusion restores the lymphatic absorption of vitamin A and oleic acid in zinc-deficient rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 1 nov 1995;6(11):604-12.
280. Garaiova I, Guschina IA, Plummer SF, Tang J, Wang D, Plummer NT. A randomised cross-over trial in healthy adults indicating improved absorption of omega-3 fatty acids by pre-emulsification. *Nutr J*. 25 janv 2007;6(1):4.
281. 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. *J Clin Biochem Nutr*. sept 2009;45(2):227-34.
282. Geurden I, Kaushik S, Corraze G. Dietary phosphatidylcholine affects postprandial plasma levels and digestibility of lipid in common carp (*Cyprinus carpio*). *Br J Nutr*. sept 2008;100(3):512-7.
283. Sadouki M, Bouchoucha M. Changes of lipid and fatty acid absorption induced by high dose of citric acid ester and lecithin emulsifiers. *Int J Food Sci Nutr*. sept 2014;65(6):728-32.
284. Sugasini D, Devaraj VC, Ramesh M, Lokesh BR. Lymphatic transport of α -linolenic acid and its conversion to long chain n-3 fatty acids in rats fed microemulsions of linseed oil. *Lipids*. mars 2014;49(3):225-33.
285. Davidson NO, Kollmer ME, Glickman RM. Apolipoprotein B synthesis in rat small intestine: regulation by dietary triglyceride and biliary lipid. *J Lipid Res*. janv 1986;27(1):30-9.

286. Jiang Y, Noh SK, Koo SI. Egg phosphatidylcholine decreases the lymphatic absorption of cholesterol in rats. *J Nutr.* sept 2001;131(9):2358-63.
287. Nishimukai M, Hara H. Soybean phosphatidylcholine-induced enhancement of lymphatic absorption of triglyceride depends on chylomicron formation in rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* mai 2007;71(5):1192-7.
288. Simons LA, Hickie JB, Ruys J. Treatment of hypercholesterolaemia with oral lecithin. *Australian and New Zealand Journal of Medicine.* juin 1977;7(3):262-6.
289. Wójcicki J, Pawlik A, Samochowiec L, Kaldonńska M, Myśliwiec Z. Clinical evaluation of lecithin as a lipid-lowering agent. *Phytotherapy Research.* 1995;9(8):597-9.
290. Childs MT, Bowlin JA, Ogilvie JT, Hazzard WR, Albers JJ. The contrasting effects of a dietary soya lecithin product and corn oil on lipoprotein lipids in normolipidemic and familial hypercholesterolemic subjects. *Atherosclerosis.* févr 1981;38(1-2):217-28.
291. Polichetti E, Janisson A, de la Porte PL, Portugal H, Léonardi J, Luna A, et al. Dietary polyenylphosphatidylcholine decreases cholesterolemia in hypercholesterolemic rabbits: role of the hepato-biliary axis. *Life Sci.* 13 oct 2000;67(21):2563-76.
292. Wilson TA, Meservey CM, Nicolosi RJ. Soy lecithin reduces plasma lipoprotein cholesterol and early atherogenesis in hypercholesterolemic monkeys and hamsters: beyond linoleate. *Atherosclerosis.* sept 1998;140(1):147-53.
293. Burgess JW, Boucher J, Neville TA-M, Rouillard P, Stamler C, Zachariah S, et al. Phosphatidylinositol promotes cholesterol transport and excretion. *J Lipid Res.* juill 2003;44(7):1355-63.
294. Cohn JS, Kamili A, Wat E, Chung RWS, Tandy S. Dietary phospholipids and intestinal cholesterol absorption. *Nutrients.* 2010;2(2):116-27.
295. Noh SK, Koo SI. Milk sphingomyelin is more effective than egg sphingomyelin in inhibiting intestinal absorption of cholesterol and fat in rats. *J Nutr.* oct 2004;134(10):2611-6.
296. Polichetti E, Janisson A, Iovanna C, Portugal H, Mekki N, Lorec A-M, et al. Stimulation of the apo AI-high density lipoprotein system by dietary soyabean lecithin in humans. *Journal of Nutritional Biochemistry - J NUTR BIOCHEM.* 1 nov 1998;9:659-64.
297. Küllenberg D, Taylor LA, Schneider M, Massing U. Health effects of dietary phospholipids. *Lipids Health Dis.* 5 janv 2012;11:3.
298. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal.* 2010;8(3):1461.
299. Burgess JW, Neville TA-M, Rouillard P, Harder Z, Beanlands DS, Sparks DL. Phosphatidylinositol increases HDL-C levels in humans. *J Lipid Res.* févr 2005;46(2):350-5.

300. Imaizumi K, Mawatari K, Murata M, Ikeda I, Sugano M. The contrasting effect of dietary phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine on serum lipoproteins and liver lipids in rats. *J Nutr.* déc 1983;113(12):2403-11.
301. Sahebkar A. Fat lowers fat: Purified phospholipids as emerging therapies for dyslipidemia. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids.* 1 avr 2013;1831(4):887-93.
302. Noh SK, Koo SI. Egg sphingomyelin lowers the lymphatic absorption of cholesterol and alpha-tocopherol in rats. *J Nutr.* nov 2003;133(11):3571-6.
303. Buang Y, Wang Y-M, Cha J-Y, Nagao K, Yanagita T. Dietary phosphatidylcholine alleviates fatty liver induced by orotic acid. *Nutrition.* août 2005;21(7-8):867-73.
304. Ide T, Murata M, Sunada Y. Triacylglycerol and Fatty Acid Synthesis in Hepatocytes in Suspension Isolated from Rats Fed Soybean Phospholipid. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry - BIOSCI BIOTECHNOL BIOCHEM.* 1 janv 1994;58:699-702.
305. Ide T, Murata M, Moriuchi H. Microsomal Triacylglycerol Synthesis and Diacylglycerol Concentration in the Liver of Rats Fed with Soybean and Egg Yolk Phospholipids. *Biosci Biotechnol Biochem.* janv 1992;56(5):732-5.
306. Mastellone I, Polichetti E, Grès S, de la Maisonneuve C, Domingo N, Marin V, et al. Dietary soybean phosphatidylcholines lower lipidemia: mechanisms at the levels of intestine, endothelial cell, and hepato-biliary axis. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* 1 sept 2000;11(9):461-6.
307. Rouyer IA, Takahashi Y, Ide T. Dietary phospholipid-dependent reductions in gene expression and activity of liver enzymes in fatty acid synthesis in fasted-refed rats. *J Nutr Sci Vitaminol.* juin 1999;45(3):287-302.
308. van der Veen JN, Lingrell S, da Silva RP, Jacobs RL, Vance DE. The concentration of phosphatidylethanolamine in mitochondria can modulate ATP production and glucose metabolism in mice. *Diabetes.* août 2014;63(8):2620-30.
309. Li Z, Agellon LB, Allen TM, Umeda M, Jewell L, Mason A, et al. The ratio of phosphatidylcholine to phosphatidylethanolamine influences membrane integrity and steatohepatitis. *Cell Metab.* mai 2006;3(5):321-31.
310. Calzada E, Onguka O, Claypool SM. Phosphatidylethanolamine Metabolism in Health and Disease. *Int Rev Cell Mol Biol.* 2016;321:29-88.
311. Lee HS, Nam Y, Chung YH, Kim HR, Park ES, Chung SJ, et al. Beneficial effects of phosphatidylcholine on high-fat diet-induced obesity, hyperlipidemia and fatty liver in mice. *Life Sciences.* 18 nov 2014;118(1):7-14.
312. Lecomte M, Couëdelo L, Meugnier E, Plaisancié P, Létisse M, Benoit B, et al. Dietary emulsifiers from milk and soybean differently impact adiposity and inflammation in association with modulation of colonic goblet cells in high-fat fed mice. *Mol Nutr Food Res.* mars 2016;60(3):609-20.
313. Nishimukai M, Hara H, Aoyama Y. Enteral administration of soybean lecithin enhanced lymphatic absorption of triacylglycerol in rats. *Br J Nutr.* sept 2003;90(3):565-71.

314. Karantonis HC, Antonopoulou S, Demopoulos CA. Antithrombotic lipid minor constituents from vegetable oils. Comparison between olive oils and others. *J Agric Food Chem.* 27 févr 2002;50(5):1150-60.
315. Treede I, Braun A, Sparla R, Kühnel M, Giese T, Turner JR, et al. Anti-inflammatory effects of phosphatidylcholine. *J Biol Chem.* 14 sept 2007;282(37):27155-64.
316. Stremmel W, Hanemann A, Ehehalt R, Karner M, Braun A. Phosphatidylcholine (lecithin) and the mucus layer: Evidence of therapeutic efficacy in ulcerative colitis? *Digestive Diseases (Basel, Switzerland).* 2010;28(3):490-6.
317. Lecomte M, Couëdelo L, Meugnier E, Loizon E, Plaisancié P, Durand A, et al. Soybean polar lipids differently impact adipose tissue inflammation and the endotoxin transporters LBP and sCD14 in flaxseed vs. palm oil-rich diets. *J Nutr Biochem.* mai 2017;43:116-24.
318. Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, Koeth R, Levison BS, DuGar B, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature.* 7 avr 2011;472(7341):57-63.
319. Obeid R, Awwad HM, Rabagny Y, Graeber S, Herrmann W, Geisel J. Plasma trimethylamine N-oxide concentration is associated with choline, phospholipids, and methyl metabolism. *Am J Clin Nutr.* 1 mars 2016;103(3):703-11.
320. Zhu W, Gregory JC, Org E, Buffa JA, Gupta N, Wang Z, et al. Gut Microbial Metabolite TMAO Enhances Platelet Hyperreactivity and Thrombosis Risk. *Cell.* 24 mars 2016;165(1):111-24.
321. Chassaing B, Koren O, Goodrich JK, Poole AC, Srinivasan S, Ley RE, et al. Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome. *Nature.* 05 2015;519(7541):92-6.
322. Chassaing B, Van de Wiele T, De Bodt J, Marzorati M, Gewirtz AT. Dietary emulsifiers directly alter human microbiota composition and gene expression ex vivo potentiating intestinal inflammation. *Gut.* 2017;66(8):1414-27.
323. Viennois E, Bretin A, Dubé PE, Maue AC, Dauriat CJG, Barnich N, et al. Dietary Emulsifiers Directly Impact Adherent-Invasive *E. coli* Gene Expression to Drive Chronic Intestinal Inflammation. *Cell Rep.* 6 oct 2020;33(1):108229.
324. David LA, Materna AC, Friedman J, Campos-Baptista MI, Blackburn MC, Perrotta A, et al. Host lifestyle affects human microbiota on daily timescales. *Genome Biol.* 2014;15(7):R89.
325. Zheng X, Huang F, Zhao A, Lei S, Zhang Y, Xie G, et al. Bile acid is a significant host factor shaping the gut microbiome of diet-induced obese mice. *BMC Biol [Internet].* 14 déc 2017 [cité 21 juill 2020];15. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5731064/>
326. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol.* août 1959;37(8):911-7.
327. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes.* juin 2008;57(6):1470-81.

328. Cândido FG, Valente FX, Grześkowiak ŁM, Moreira APB, Rocha DMUP, Alfenas R de CG. Impact of dietary fat on gut microbiota and low-grade systemic inflammation: mechanisms and clinical implications on obesity. *Int J Food Sci Nutr.* mars 2018;69(2):125-43.
329. Morise A, Combe N, Boué C, Legrand P, Catheline D, Delplanque B, et al. Dose effect of α -linolenic acid on PUFA conversion, bioavailability, and storage in the hamster. *Lipids.* 1 avr 2004;39(4):325.
330. Geerling BJ, v Houwelingen AC, Badart-Smook A, Stockbrügger RW, Brummer RJ. Fat intake and fatty acid profile in plasma phospholipids and adipose tissue in patients with Crohn's disease, compared with controls. *The American journal of gastroenterology.* févr 1999;94(2):410-7.
331. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutr Res Rev.* déc 2010;23(2):270-99.
332. Ikemoto S, Takahashi M, Tsunoda N, Maruyama K, Itakura H, Ezaki O. High-fat diet-induced hyperglycemia and obesity in mice: differential effects of dietary oils. *Metabolism.* déc 1996;45(12):1539-46.
333. Hill JO, Peters JC, Lin D, Yakubu F, Greene H, Swift L. Lipid accumulation and body fat distribution is influenced by type of dietary fat fed to rats. *Int J Obes Relat Metab Disord.* avr 1993;17(4):223-36.
334. Rosqvist F, Iggman D, Kullberg J, Cedernaes J, Johansson H-E, Larsson A, et al. Overfeeding polyunsaturated and saturated fat causes distinct effects on liver and visceral fat accumulation in humans. *Diabetes.* juill 2014;63(7):2356-68.
335. D'Angelo S, Motti ML, Meccariello R. ω -3 and ω -6 Polyunsaturated Fatty Acids, Obesity and Cancer. *Nutrients.* 10 sept 2020;12(9).
336. Martínez-Fernández L, Laiglesia LM, Huerta AE, Martínez JA, Moreno-Aliaga MJ. Omega-3 fatty acids and adipose tissue function in obesity and metabolic syndrome. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators.* 1 sept 2015;121:24-41.
337. Rossmeisl M, Jilkova ZM, Kuda O, Jelenik T, Medrikova D, Stankova B, et al. Metabolic effects of n-3 PUFA as phospholipids are superior to triglycerides in mice fed a high-fat diet: possible role of endocannabinoids. *PLoS One.* 2012;7(6):e38834.
338. de Mello AH, Schraiber R de B, Goldim MP de S, Mathias K, Mendes C, Corrêa MEAB, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids have beneficial effects on visceral fat in diet-induced obesity model. *Biochem Cell Biol.* 2019;97(6):693-701.
339. Kopecky J, Rossmeisl M, Flachs P, Kuda O, Brauner P, Jilkova Z, et al. n-3 PUFA: bioavailability and modulation of adipose tissue function. *Proc Nutr Soc.* nov 2009;68(4):361-9.
340. Flachs P, Horakova O, Brauner P, Rossmeisl M, Pecina P, Franssen-van Hal N, et al. Polyunsaturated fatty acids of marine origin upregulate mitochondrial biogenesis and induce beta-oxidation in white fat. *Diabetologia.* nov 2005;48(11):2365-75.
341. Ellegård L, Andersson H, Bosaeus I. Rapeseed oil, olive oil, plant sterols, and cholesterol metabolism: an ileostomy study. *Eur J Clin Nutr.* déc 2005;59(12):1374-8.

342. Baranowski M, Enns J, Blewett H, Yakandawala U, Zahradka P, Taylor CG. Dietary flaxseed oil reduces adipocyte size, adipose monocyte chemoattractant protein-1 levels and T-cell infiltration in obese, insulin-resistant rats. *Cytokine*. 1 août 2012;59(2):382-91.
343. Calder PC. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes. *Nutrients*. mars 2010;2(3):355-74.
344. Itariu BK, Zeyda M, Hochbrugger EE, Neuhofer A, Prager G, Schindler K, et al. Long-chain n-3 PUFAs reduce adipose tissue and systemic inflammation in severely obese nondiabetic patients: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. nov 2012;96(5):1137-49.
345. Rossmeisl M, Pavlisova J, Janovska P, Kuda O, Bardova K, Hansikova J, et al. Differential modulation of white adipose tissue endocannabinoid levels by n-3 fatty acids in obese mice and type 2 diabetic patients. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. 2018;1863(7):712-25.
346. Halmos EP, Mack A, Gibson PR. Review article: emulsifiers in the food supply and implications for gastrointestinal disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2019;49(1):41-50.
347. Laster J, Bonnes SL, Rocha J. Increased Use of Emulsifiers in Processed Foods and the Links to Obesity. *Curr Gastroenterol Rep*. 2 déc 2019;21(11):61.
348. Reddy ST, Winstead MV, Tischfield JA, Herschman HR. Analysis of the secretory phospholipase A2 that mediates prostaglandin production in mast cells. *J Biol Chem*. 23 mai 1997;272(21):13591-6.
349. Ainge H, Thompson C, Ozanne SE, Rooney KB. A systematic review on animal models of maternal high fat feeding and offspring glycaemic control. *Int J Obes (Lond)*. mars 2011;35(3):325-35.
350. Tuttle AH, Philip VM, Chesler EJ, Mogil JS. Comparing phenotypic variation between inbred and outbred mice. *Nat Methods*. 2018;15(12):994-6.
351. Souza GFP, Solon C, Nascimento LF, De-Lima-Junior JC, Nogueira G, Moura R, et al. Defective regulation of POMC precedes hypothalamic inflammation in diet-induced obesity. *Sci Rep*. 04 2016;6:29290.
352. Alexander J, Chang GQ, Dourmashkin JT, Leibowitz SF. Distinct phenotypes of obesity-prone AKR/J, DBA2J and C57BL/6J mice compared to control strains. *Int J Obes (Lond)*. janv 2006;30(1):50-9.
353. Partridge D, Lloyd KA, Rhodes JM, Walker AW, Johnstone AM, Campbell BJ. Food additives: Assessing the impact of exposure to permitted emulsifiers on bowel and metabolic health - introducing the FADiets study. *Nutr Bull*. déc 2019;44(4):329-49.

ANNEXES

IMPACT OF THE ADDITION OF VEGETABLE LECITHIN IN OIL ON LIPID METABOLISM AND THE BIOAVAILABILITY OF AN ESSENTIAL FATTY ACID: ALPHA-LINOLENIC ACID

Robert C.^{1,2,*} Buisson C.¹ Meugnier E.¹ Loizon E.¹ Couédelo L.² van de Weghe J.³ Urdaci M.³ Laugerette F.¹ Vaysse C.² and Michalski MC¹

¹INRA UMR1397, INSERM U1060 CarMeN laboratory, F-69310 Pierre Bénite; ²ITERG, F-33610 Pessac; ³IBPH, F-33710 Gradignan



INTRODUCTION

It is now well established that not only the quantity, but also the quality of dietary lipids may modulate intestinal lipid metabolism. In this way, pharmacological doses of marine phospholipids (PL) have been shown to enhance intestinal lipid absorption and increase the bioavailability of marine omega 3 FA, EPA and DHA^{2,3}. But data on PL of vegetable origin is lacking.
 → Our objective was hence to evaluate the extent to which different nutritional doses of lecithin (i.e. ≤10%) of varying vegetable sources may modulate postprandial lipid metabolism, the bioavailability of a vegetable omega 3, alpha linolenic acid (ALA), and impact host gut health.

METHODS

① Male Swiss mice (n=60) were fed diets containing oil mixes of similar fatty acid profiles (identical ALA content) containing 0, 1, 3 or 10% rapeseed lecithin or 10% soya lecithin for 5 days. Following an overnight fast, the mice were force-fed the same oil mix as during the preliminary diet and euthanised after 90 min.
 ② As a complementary mechanistic study, male Wistar rats (n=30) with mesenteric duct cannulation were fed oil mixtures (as described above) with 0 to 20% rapeseed lecithin. Lymph fractions were collected up to 6h post-gavage.
 Lipid analysis was performed using GC-FID. Target gene expression and microbiota composition were determined via RT-qPCR.

RESULTS

POSTPRANDIAL LIPIDS

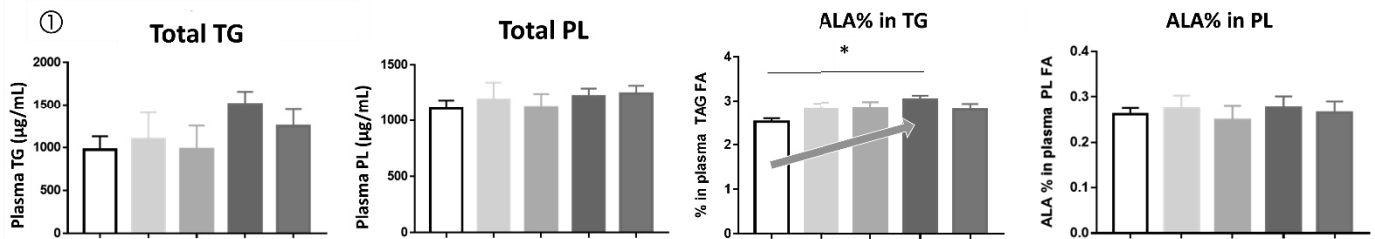


Figure 1: Total triglyceride (TG) and phospholipid (PL) concentrations, and percentage of ALA in TG and PL fractions in plasma 90 minutes after gavage (after 5 days of corresponding diet). Bars represent mean ± SEM (n=12). Statistically significant means are represented by *: p < 0,05 (one-way ANOVA).

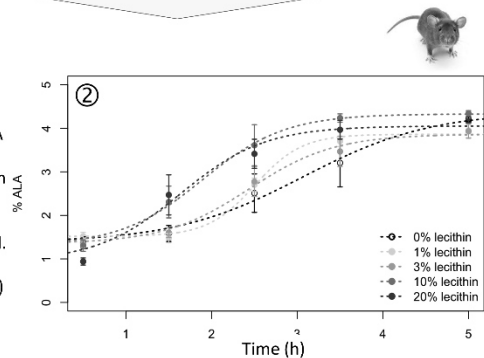
- The origin and amount of lecithin engendered no difference in the plasma concentrations of TG or PL. **The percentage of ALA in plasma TG was significantly higher (+20%) for the oil mixture containing 10% of rapeseed lecithin than that containing only TG.** Interestingly, this increase was not observed in the group containing 10% of soy lecithin.
- In PL, the percentage of ALA was identical in all groups.

No impact on expression of genes involved in intestinal lipid absorption, β-oxidation or hepatic lipid metabolism

Legend: TG only (white), 1% Rapeseed Lecithin (light grey), 3% Rapeseed Lecithin (medium grey), 10% Rapeseed Lecithin (dark grey), 10% Soy Lecithin (black).

Rapeseed lecithin increases the rate of appearance of ALA in lymph

Figure 2: Percentage of ALA in total lymphatic lipids as a function of time in a rat mesenteric duct cannulated model. Bars represent mean ± SEM (n=6)



IMPACT ON GUT MICROBIOTA

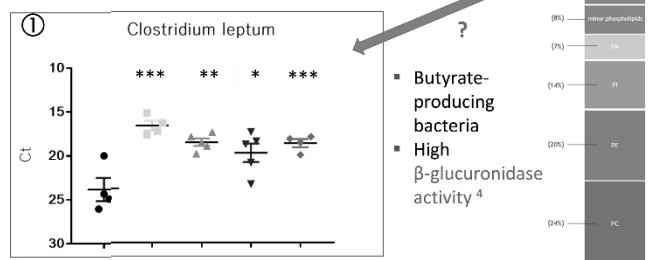


Figure 3: Faecal Clostridium leptum after 5 days of diet. Bars represent mean ± SEM (n=4-5). Statistically significant means are represented by *: p < 0,05; **: p < 0,01; ***: p < 0,001 (one-way ANOVA).

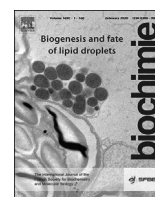
CONCLUSION & PERSPECTIVES

Our study demonstrates that nutritional doses of rapeseed lecithin are capable of modulating the kinetics of postprandial ALA absorption, without increasing the plasmatic concentration of total lipids, as well as increasing a specific strain of health-promoting bacteria in the gut.

Considering the complexity and importance of gut lipid homeostasis⁵, further elements must be assessed to determine the underlying mechanisms of such effects, which may prove useful in the current context of metabolic disorders associated with hyperlipidaemia and concomitant omega 3 (ALA) deficiency.

REFERENCES

1. Michalski et al., *Lipid Nutri+* (39), 2018.
2. Burri et al., *Int J Mol Sci* (13), 2012.
3. Lordan et al., *Molecules* (22), 2017.
4. Lopetuso et al., *Gut Pathogens* (5), 2013.
5. Abumrad et Davidson, *Physiol Rev* (92), 2012.



Review

Vegetable lecithins: A review of their compositional diversity, impact on lipid metabolism and potential in cardiometabolic disease prevention



Chloé Robert ^{a, b}, Leslie Couëdelo ^b, Carole Vaysse ^b, Marie-Caroline Michalski ^{a, *}

^a Univ Lyon, CarMeN Laboratory, Inserm, INRAE, INSA Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon-Sud Medical School, Pierre-Bénite, FR-69310, France

^b ITERG, Equipe Nutrition, Santé et Biochimie des Lipides, Canéjan, FR-33610, Canéjan, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 20 May 2019

Accepted 25 November 2019

Available online 28 November 2019

Keywords:

Lecithin

Vegetal phospholipid

Food additive

Lipoprotein

Metabolic diseases

ABSTRACT

Vegetable lecithins, widely used in the food industry as emulsifiers, are a mixture of naturally occurring lipids containing more than 50% of phospholipids (PL). PL exert numerous important physiological effects. Their amphiphilic nature notably enables them to stabilise endogenous lipid droplets, conferring them an important role in lipoprotein transport, functionality and metabolism. In addition, beneficial effects of dietary lecithin on metabolic disorders have been reported since the 1990s. This review attempts to summarize the effects of various vegetable lecithins on lipid and lipoprotein metabolism, as well as their potential application in the treatment of dyslipidemia associated with metabolic disorders.

Despite controversial data concerning the impact of vegetable lecithins on lipid digestion and intestinal absorption, the beneficial effect of lecithin supplementation on plasma and hepatic lipoprotein and cholesterol levels is unequivocal. This is especially true in hyperlipidemic patients. Furthermore, the immense compositional diversity of vegetable lecithins endows them with a vast range of biochemical and biological properties, which remain to be explored in detail. Data on the effects of vegetable lecithins alternative to soybean, both as supplements and as ingredients in different foods, is undoubtedly lacking. Given the exponential demand for vegetable products alternative to those of animal origin, it is of primordial importance that future research is undertaken in order to elucidate the mechanisms by which individual fatty acids and PL from various vegetable lecithins modulate lipid metabolism. The extent to which they may influence parameters associated with metabolic disorders, such as intestinal integrity, low-grade inflammation and gut microbiota must also be assessed.

© 2019 Elsevier B.V. and Société Française de Biochimie et Biologie Moléculaire (SFBBM). All rights reserved.

Contents

1. Introduction	122
2. Dietary vegetable lecithins: major sources and composition	122
2.1. Dietary vegetable lecithin composition and structure	122
2.2. Phospholipids: biological function	123
2.3. The compositional diversity of vegetable lecithins	123
2.4. Socio-economic and environmental preoccupations concerning soy lecithin	124
3. Vegetable lecithins influence lipid digestion and intestinal absorption	124
3.1. Digestion and intestinal absorption of dietary phospholipids	124
3.2. PL vs TAG as vectors of fatty acids of nutritional importance	125
3.3. Impact on gastro-intestinal (GI) lipid digestion	125
3.4. Impact on intestinal lipid absorption	126

* Corresponding author. CarMeN laboratory, CENS-ELI Building 2D, Hôpital Lyon Sud secteur 2, 165 Chemin du Grand Revoyet, 69310, Pierre Bénite, France.

E-mail address: marie-caroline.michalski@inra.fr (M.-C. Michalski).

4. Vegetable lecithins impact lipid homeostasis	126
4.1. Lecithins in the regulation of blood lipid profile	126
4.2. Impact on lipid metabolism in liver and adipose tissue	127
5. Vegetable lecithins: towards a preventive role in dyslipidaemia associated with metabolic disorders	128
5.1. Potential of vegetable lecithin on obesity and associated metabolic disorders	128
5.2. Impact on gut microbiota	129
6. Conclusion and future prospects	129
Author contribution	129
Declaration of competing interest	129
Acknowledgements	129
References	130

1. Introduction

Food additives represent an increasingly growing market within the food industry, estimated to reach USD 25 billion by 2024 in Europe only [1]. In response to this and due to a rise in consumer awareness regarding health consciousness, food additives are under intense scrutiny and are constantly being assessed and revised for health concerns. Concomitantly, the demand for natural products has increased dramatically. Lecithin, commonly used in the food industry under the number E322 for their emulsifying and stabilising properties, are a mixture of naturally occurring lipids containing more than 50% of phospholipids (cf. section 2 for official definition). Phospholipids, as major constituents of cell membranes in ubiquitous tissues, components of bile, and active messengers involved in cell signal transduction, exert numerous important physiological effects. They enable the micellar solubilisation of lipids in the lumen and hence facilitate lipid hydrolysis and absorption within the enterocyte. Their amphiphilic nature makes them important components of the coat of lipid droplets and lipoproteins, attributing them an important role in lipid transport and metabolism. In this way, they have been shown to modulate lipoprotein metabolism, decrease cholesterol levels and exert beneficial effects on hepatic function. These pleiotropic beneficial health effects have generated much interest and many studies have investigated the potential role of lecithins in the prevention and/or treatment of metabolic diseases. A growing interest in marine PL has appeared in the last few years, which has yielded promising results regarding the effects of lecithin of marine origin on metabolic health (as reviewed by Lordan et al. [2]), but data is still lacking when it comes to vegetable lecithin. We have found no systematic review that effectively resumes and concludes on the effects of vegetable lecithin on lipid metabolism and their potential role in metabolic disorder prevention. With an expanding need to restrain from animal and marine sourced ingredients, vegetable products are expected to explode on the food market and it is crucial that their nutritional, bioactive properties are known. This focused review will hence attempt to gather the existing literature and succinctly conclude on the role of lecithin of vegetable origin on fatty acid bioavailability and metabolism.

2. Dietary vegetable lecithins: major sources and composition

The term lecithin must first be clearly defined. Many studies, especially within the field of medicine, have used the terms “lecithin” and “phosphatidylcholine” (PC) interchangeably [3]. In this review, the term lecithin refers to the mixture of lipids composed predominantly of phospholipids (>50%) derived from animal or vegetable origin. This is in agreement with the definition reported in the *Codex Alimentarius* presented by FAO/WHO and by EFSA [4].

Conversely, PC refers to a glycerophospholipid composed of a phosphatidic acid linked to a choline polar head group by a phosphoester bond.

2.1. Dietary vegetable lecithin composition and structure

Lipids represent an extremely vast range of molecules with diverse structures and functions. While the majority of dietary lipids are present as triacylglycerols (TAG), PL account for 3–6% of total lipid intake [5]. Indeed, PL are ubiquitous components of biological membranes, and as such, are present in foods of animal, marine and vegetable origin. Commercial lecithin may thus be obtained from a wide range of sources, the most common being eggs, milk, fish or oil-bearing seeds (notably soybean).

PL are made up of a hydrophobic tail consisting of two fatty acid chains esterified at the *sn*-1 and *sn*-2 positions of a glycerol moiety, to which a phosphate group with a hydrophilic residue is attached at the *sn*-3 position. The *sn*-2 position of PL usually carries an unsaturated fatty acid, such as oleic acid, linoleic acid or alpha-linolenic acid, whereas a saturated fatty acid typically occupies the *sn*-1 position [2]. This is only true however when concentrations of unsaturated fatty acids are high. When these concentrations are low, unsaturated fatty acids are equally distributed between the *sn*-1 and *sn*-2 positions [6]. This non-random regio-distribution of fatty acids in PL is seemingly similar amongst vegetal and animal species, and may result from the intrinsic properties of the enzymes involved in the synthesis pathway for PL in eukaryotes, the so-called “Kennedy pathway”. Indeed, the acyltransferase involved in the esterification of the glycerol backbone at the *sn*-1 position tends to favour saturated fatty acids, whereas that involved in the succeeding esterification at the *sn*-2 position preferentially binds unsaturated fatty acids [7]. The fatty acid moiety at the *sn*-2 position of vegetal PL may further be modified by the Land’s cycle [8]. Enzymes involved in this cycle (notably lyso-phospholipid acetyltransferases and phospholipases A_2) also tend to favour PUFA as substrates [7]. This then results in the typical PL structure containing a saturated fatty acid at the *sn*-1 position and an unsaturated fatty acid at the *sn*-2 position.

The most common bioactive PL in biological vegetable cells are phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine (PE), phosphatidylinositol (PI) and phosphatidylserine (PS) (see Fig. 1). While animal cells also contain sphingomyelin (SM), a PL containing a choline head and a sphingosine moiety instead of the glycerol backbone, it is absent in vegetable cells. Vegetable lecithin are therefore devoid of SM. Vegetable lecithin may also contain lyso-phospholipids, which consist of PL whose fatty acid chain has been hydrolysed at the *sn*-1 or the *sn*-2 position. Other lipids, such as triacylglycerols, glycolipids and sterols, as well as liposoluble vitamins may be found in smaller quantities in vegetable lecithin.

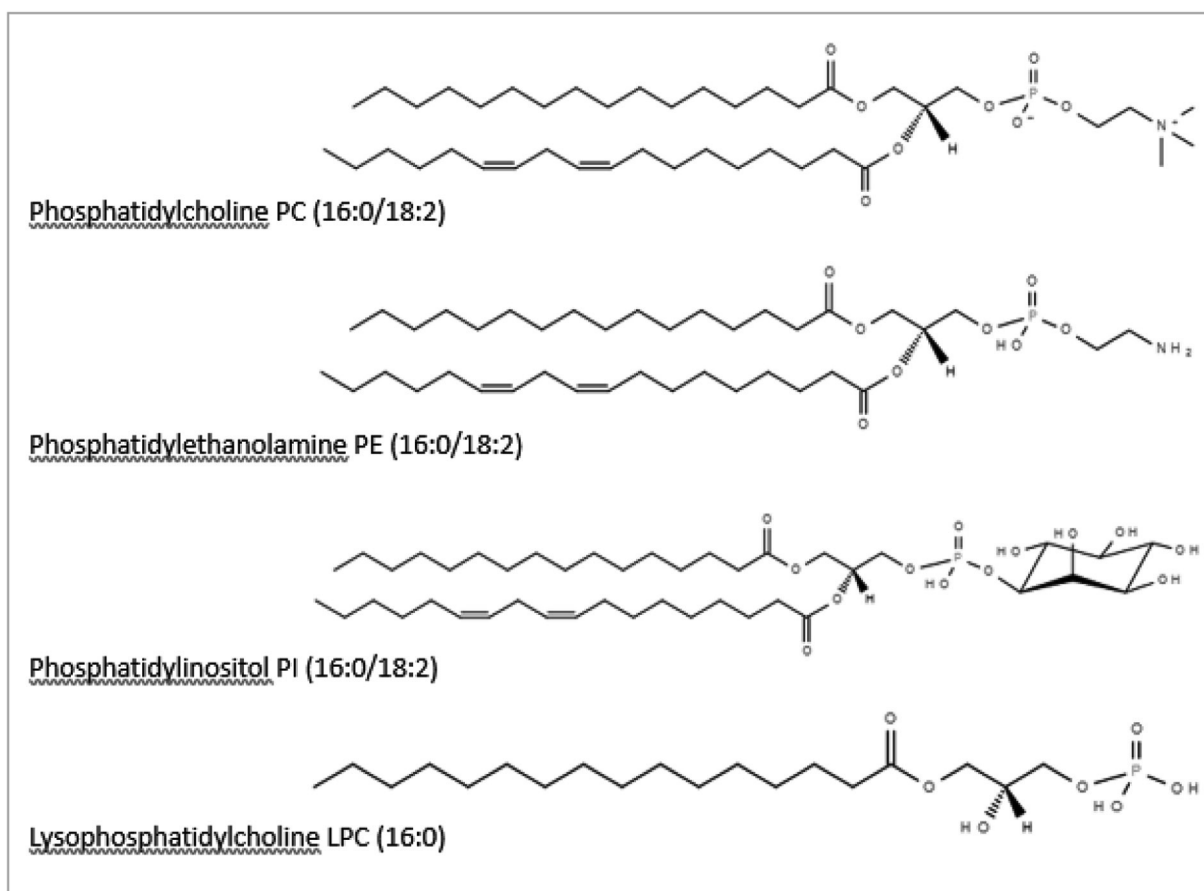


Fig. 1. Structures of the major phospholipids found in soybean lecithin. Lipid structures were drawn using LIPID MAPS tools.

2.2. Phospholipids: biological function

PL are essential components of all cellular and sub-cellular membranes, in association with cholesterol, glycolipids and peripheral and integral proteins. The biological importance of PL derives from their amphiphilic properties. They are indeed capable of forming selectively permeable lipid bi-layers, which act as barriers between cells or organelles and their surroundings. In doing so, they provide a unique, biologically rich environment, suitable for proteins and other bioactive compounds. Along with cholesterol, they are responsible for the formation of lipid rafts, which are involved in cell signalling and apoptosis. The inherent amphiphilic nature of PL additionally allows them to act as important constituents of the coat of lipid droplets and lipoproteins, attributing them an important role in lipid transport and metabolism. This intrinsic property endows PL with potent emulsifying capacities: they are capable of stabilising lipid droplets both endogenously and within a food matrix, where they contribute to the texture and palatability of foods. Lecithin are consequently extremely widespread food emulsifiers: their market is projected to reach USD 350 million by 2024 [1].

In addition, PL, along with bile salts and cholesterol, enable the micellar solubilisation of lipids in the small intestinal lumen and hence facilitate lipid hydrolysis and absorption of lipolysis products within the enterocyte. Certain PL also act as lipid mediators of inflammation or as secondary messengers in cell signaling. In this way, PL possess pleiotropic properties, which are, not least of all, dictated by their fatty acid composition. Indeed, the fatty acid composition of PL defines and determines its structural and

functional properties [9]. The higher the degree of unsaturation, the less rigid its molecular structure will be and hence the more fluid the membrane. In this way, the ratio of saturated to unsaturated fatty acid in phospholipids has a direct impact on the functionality of the cellular membrane, lipid droplet or lipoprotein coat which they form. Consequently, cellular functions, as well as the activity of membrane bound enzymes, carriers and receptors may be modulated by dietary PL. In addition to their structural roles, as integral components of cell membranes, PL are also involved in cell signalling, as precursors of lipid mediators and are therefore essential for communication and interaction between the body cells. In this way, PL participate in a variety of metabolic, neurological, and intracellular signalling processes [10] such as cell development, necrosis and apoptosis, transport, DNA replication, neuronal signalling, or secretion [11].

2.3. The compositional diversity of vegetable lecithins

The lipid composition of PL membranes varies amongst tissues and organisms, and as such, the lipid composition of lecithin reflects that of its origin. Generally, the fatty acid composition of vegetable lecithin typically reflects that of the corresponding oil-bearing seed [12]. As a result, rapeseed lecithin, like rapeseed oil, generally possess high concentrations of mono-unsaturated fatty acids (MUFA), notably oleic acid, whereas soy lecithin contain a high proportion of n-6 polyunsaturated fatty acids (PUFA), most of which is represented by linoleic acid. Table 1 presents the typical phospholipid and fatty acid composition of soy, sunflower and rapeseed lecithin. An early study has demonstrated that these fatty

Table 1
Summarised data on phospholipid composition [4] and fatty acid composition [13] of three liquid vegetable lecithins (soy, sunflower and rapeseed).

	Soy lecithin	Sunflower lecithin	Rapeseed lecithin
Phospholipid composition (%) [4]			
PC	12.7–16.7	14.3–17.2	16.7–18.2
PI	6.5–11.8	12.3–14.9	10.4–12.3
PE	6.5–13.6	4.8–6.8	6.5–8.0
PA	2.3–6.0	1.3–3.2	2.4–3.6
Fatty acid composition (%) [13]			
16:0	16	11	7
18:0	4	4	1
18:1	17	18	56
18:2	55	63	25
18:3	7	0	6
Others	1	4	5

acids are equally distributed amongst the different classes of PL (such as PC, PE, PI) within lecithin [6].

The phospholipid and fatty acid profiles of lecithin also hugely depend on the agronomical, genetic and environmental parameters of the seed crops they originate from [12]. Agronomical conditions, such as storage and extraction conditions, have been shown to modulate the lipid composition of vegetable lecithin [13]. Vegetable lecithin are by-products of the refining of oil. They may be obtained via diverse extraction methods, such as physical or enzymatic degumming. Canola lecithin obtained from enzymatic degumming demonstrated higher emulsion stability than that derived from water degumming and this was attributed to the phospholipid composition of the lecithin [14]. The crop- or process-induced variability within one vegetable lecithin source may hence be higher than that between lecithin sources [13]. However, Nguyen et al. demonstrated via the use of biplots and principal component analysis that, despite their heterogeneity, vegetable lecithins could be distinguished according to their origin [12]. They found rapeseed lecithin to be the most different amongst soybean, sunflower and rapeseed lecithin. In comparison to soy and sunflower lecithin, rapeseed lecithin tended to possess the highest relative concentration of PC. Sunflower lecithin displayed the highest and lowest concentration of PI and PE, respectively [6,12,15].

This composition data plays an important role, as the phospholipid composition of lecithin determines its emulsifying capacity. PC, which forms a lamellar layer at the lipid/water interface, and lysoPC, which engenders a hexagonal phase, promote oil-in-water emulsion stability, whereas PE (reverse hexagonal phase) facilitates water-in-oil emulsions [16]. The amount of neutral lipids, such as TAG, present in lecithins also modulates emulsifying properties. Lecithins that have undergone a deoiling fractionation process and hence contain reduced neutral lipid concentrations, possess enhanced oil-in-water dispersion functionality [17].

Furthermore, different lecithins from various sources (soy, rapeseed) or with differing PL compositions have been reported to exert varying antioxidant properties [18]. PL may indeed act as antioxidative agents: they are able of chelating pro-oxidative metals, forming anti-oxidative Maillard reaction products, changing the location of primary antioxidants or regenerating primary antioxidants. These mechanisms are clearly summarised by Cui et Decker [19] and may be, in part, attributed to the negatively charged phosphate head group, which can bind pro-oxidative metals, thereby inhibiting lipid oxidation. The basic amino functions and intramolecular hydroxyl groups of the side-chain moieties of PL have also been reported to be implicated in such mechanisms [20]. However, the antioxidative activities of PL depend massively on the conditions and food matrices in which

they are contained. In addition, processing conditions may further alter the antioxidant capacity of lecithin. It has been shown *in vitro* that rapeseed lecithin obtained via both chemical or water-degumming displayed higher antioxidant capacities than soy lecithin when associated with fish oil [21]. The presence of phenols, such as sinapic acid and canolol, in rapeseed lecithin appears to increase its antioxidant and ion-chelating capacities, most probably due to the synergism between phenols and phospholipids [22]. This synergistic effect has also been observed between quercetin and lecithin [23]. The role of individual fatty acids inherent to each vegetable lecithin must not be undermined with regards to the antioxidant activity of lecithin. N-3 PUFA such as eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) possess antioxidant properties, for example, unlike saturated fatty acids. Extraction processing may also affect the oxidative stability of lecithins. The deoiling process of lecithin reduces significantly the content of phenolic compounds in rapeseed lecithin and consequently its antioxidant effect [18].

2.4. Socio-economic and environmental preoccupations concerning soy lecithin

Soybean lecithin dominates over the vegetable lecithin market, representing more than 90% of available lecithin products [24]. With arising concerns about genetically modified organisms (GMOs) and awareness concerning environmental issues, there is an expanding demand/need for the development of alternative sources of vegetable lecithin. In Europe, the market for sunflower and rapeseed lecithin, which are locally produced, is increasing [13]. However, the majority of studies using vegetable lecithin have used soy lecithin and data concerning rapeseed or sunflower lecithin are lacking. The presence of concomitant compounds such as pollutants and phytoestrogens in soy lecithin must also be evaluated and subsequent impact on metabolic and intestinal health must be studied [25,26].

3. Vegetable lecithins influence lipid digestion and intestinal absorption

Vegetable lecithin provide food-derived PL with specific fatty acid profiles that, once incorporated in host membranes, have the potential to modulate membrane-dependant cellular functions. Whereas there is an expanding knowledge regarding the mechanisms by which PL are digested and absorbed, their incorporation into membranes *in vivo* and their ability to exert subsequent beneficial health effects remain to be elucidated.

3.1. Digestion and intestinal absorption of dietary phospholipids

Phospholipids, unlike TAG, are not hydrolysed by gastric lipases. Their digestion begins in the intestinal lumen, where they are readily hydrolysed by phospholipases A₁ (PLA₁s) or phospholipases A₂ (PLA₂s), which catalyze the hydrolysis of the ester bond of the acyl group at the sn-1 or the sn-2 position of the PL respectively, to produce one lyso-phospholipid (LysoPL) and a free fatty acid [27]. It has been demonstrated that other pancreatic enzymes, such as pancreatic lipase related protein 2 (PRLP2) and cholesterol ester hydrolase (CEL) also possess phospholipase activity of the PLA₁ type [28]. Inhibition of PLA₂ reduces fatty acid absorption in rats, suggesting the importance of this hydrolysis step in maintaining normal lipid absorption [29]. Nearly the entirety of dietary PL are absorbed (>90%) into enterocytes, where they are resynthesized, incorporated into the surface layer of chylomicrons (CM), and to a lesser extent, of intestine-derived very low density lipoproteins (VLDL) and liberated into the lymph to finally reach the systemic

circulation [30]. In the bloodstream, CM are catabolised by lipoprotein lipase (LPL) which hydrolyses TAG contained within the core of CM and liberates free fatty acids, which are then available for uptake by receiving tissues. Once the TAG-rich lipoproteins such as CM are degraded by LPL, a part of the PL located on the CM interface is hydrolysed by the endothelial lipase (EL), whose activity is similar to that of PLA1. The non-hydrolysed PL may be incorporated into high-density lipoprotein (HDL) fractions [31]. Interestingly, certain studies carried out in human intestinal Caco2-cells [32] and rats [33] have demonstrated that a non-negligible amount of PL in the lumen is absorbed passively and preferentially integrated into HDL fractions already present in the intestine [30,34]. In this way, the fatty acid composition of dietary lecithin affects the composition of lipoproteins in the bloodstream, in turn influencing the lipid composition and functionality of the various receiving tissues. The efficiency of PL in delivering specific fatty acids has recently generated much interest, notably for their potential in increasing the bioavailability of fatty acids of nutritional importance. In the current context of the epidemic explosion of obesity and metabolic disorders, limiting the intake of total lipids while increasing that of essential fatty acids such as n-3 PUFAs has become one of the major challenges of nutrition scientists.

3.2. PL vs TAG as vectors of fatty acids of nutritional importance

Growing evidence indicates beneficial biological activities of PL compared to that of dietary TAG [2,35]. Notably, there is a current explosion in the number of studies concerning marine PL as preferential vectors of the long chain n-3 PUFA (LC n-3PUFA), EPA and DHA. Burri et al. concluded in her review on marine PL that research so far tended to indicate a higher bioavailability of n-3 PUFAs when they were incorporated into PL comparatively to TAG [34]. A systematic review by Ulven also compared EPA and DHA bioavailability from PL-rich krill oil vs. TAG-rich fish oil in 14 studies [36]. They concluded that krill oil, rich in PL, presented a potential beneficial role compared to fish oil, but that more studies were required to certify this claim and to affirm positive effects on lipid metabolism. A study by Hosomi et al. [37] focused on lysophospholipids and demonstrated no differences in EPA and DHA bioavailability between TAG-bound or LysoPL-bound EPA and DHA in male Wistar rats. Although the effect of marine PL on lipid absorption are so far inconclusive, the efficiency with which these PL deliver specific fatty acids in receiving tissues is now recognised. For instance, studies have shown PL to be preferential carriers of DHA in the brain [38–40] and other tissues, such as liver, white adipose tissue and muscle [34,41] (cf. section 4.1 for further information and mechanisms).

Marine PL are not the subject of this review and readers curious to learn more may refer to the various reviews and studies listed above. Nonetheless, it could be extrapolated based on the plethora of evidence concerning marine PL that the bioavailability of FA present in vegetable lecithin would be increased comparatively to vegetable oil (TAG). But data concerning the optimal vectorization of typical vegetable fatty acids as either PL or TAG is lacking and more research must be undertaken to study these differences. This is all the more necessary as vegetable lecithin, although devoid of LC n-3 PUFA, contain other fatty acids of nutritional importance. Rapeseed and, to a lesser extent, soybean lecithin, contain alpha-linolenic acid (ALA), an essential fatty acid and precursor of the LC n-3 PUFA, EPA and DHA. The intake of ALA is particularly important, as it may not be synthesised endogenously in humans. Its presence in human cells relies on its uptake from the diet. Oleic acid, another major fatty acid in vegetable lecithin, is one of the staple components of the Mediterranean diet, which is proven to be one of the most beneficial diets in terms of cardio-metabolic health.

It is important to determine whether PL have the potential to increase the bioavailability of these fatty acids, comparatively to TAG.

Nonetheless, dietary lecithins have been shown to impact lipid metabolism in other ways than merely by delivering specific fatty acids. They have been reported to exert beneficial anti-dyslipidaemia effects by modulating postprandial lipid absorption and metabolism.

3.3. Impact on gastro-intestinal (GI) lipid digestion

Lipid metabolism is a complex process that involves a number of succeeding steps. Phospholipids play an important role in lipid metabolism since its early stages: the micellar solubilisation of lipids in the lumen. Lipids are hydrophobic by definition and their transport across the intestinal lumen towards enterocytes relies on the addition of biliary lipids. Bile salts secreted into the small intestine form lipid micelles with dietary lipids capable of withstanding the hydrophilic conditions of the intestinal lumen. Bile salts are hence essential for lipid micellisation and digestion, and their absence has been shown to result in severe intestinal fat malabsorption [42]. Bile is naturally rich in PL and more specifically in PC, which represents more than 95% of biliary PL. In fact, the contribution of endogenous PC to bile is much higher (10–15 g/day) than that of dietary, exogenous PC (1–2 g/day) [43]. The intrinsic amphiphilic structure of biliary phospholipids enables them to stabilise lipid micelles in the lumen and their presence hence facilitates micellar lipid solubilisation, increasing the surface of lipid droplets required for hydrolysis by digestive enzymes and ultimately leading to a higher bioavailability of fatty acids for uptake by the enterocyte. This increase in lipid droplet dispersion has been suggested as a limiting step in lipolysis [44]. In this way, it is now widely acknowledged that the pre-emulsification process of an oil enhances the digestion of the fatty acids it contains [45–48]. According to *in vitro* and human studies, fine emulsions made up of small lipid droplets (~0.5 µm) are more efficiently hydrolysed than those comprised of larger particles (>1.5 µm) [49,50]. Lipid hydrolysis kinetics are not only affected by the size of lipid droplets, but also largely depend on the nature of the surfactant molecule used to stabilise the lipid emulsion. Couëdelo et al. reported that soy lecithin-stabilised emulsions displayed higher lipolysis rates in an *in vitro* digestion model than those stabilised by either sodium caseinate or Tween 80 [51]. This is in accordance with a previous study by Vors et al. comparing sodium caseinate-stabilised and soy lecithin-stabilised emulsions [52]. A study by Lecomte et al. however demonstrated an increase in lipid hydrolysis with milk PL comparatively to soy PL [51]. This could be attributed to the presence of SM, a characteristic dairy phospholipid absent in vegetable lecithin. The impact of emulsifier type on subsequent lipolysis kinetics are mainly due to physicochemical parameters. Different emulsifiers interact differently with bile salts, generating varying molecular assemblies at the interface of lipid micelles, which affect the ability of bile salts to remove fatty acids from lipid droplets [53]. Moreover, the nature of the emulsifier determines its ability to modulate the activity of lipolytic enzymes [54]. Early *in vitro* studies have demonstrated that bile PL exert a regulatory effect on the binding of lipases onto the surface of lipid droplets [55]. LysoPC exerts an inhibitory effect on pancreatic lipase-mediated hydrolysis, by reducing both substrate affinity and lipase activity, effect which is counterbalanced however by the presence of bile salts [56]. Gargouri et al. reported that vegetable lecithin, naturally rich in PC, is capable of increasing the activity of gastric lipase and, as such, may enhance lipolysis efficiency [57]. PL contained in vegetable lecithin differently modulate gastric lipase activity: lipid droplets coated with PC, PI or PS induce a higher activity of gastric lipase, compared to PE or SM [58]. Nonetheless, the mere presence

of soy phospholipids without any emulsification process has also been shown to increase lipolysis rates. Lin et al. demonstrated via an *in vitro* digestion model that emulsification of algal oil with soy lecithin increased the initial lipolysis rate and DHA accessibility compared to that of bulk oil and to a non-emulsified mixture of similar composition containing soy lecithin [59]. However, the extent of lipolysis was similar between the bulk oil, the emulsified and the non-emulsified mixtures.

In this way, research so far demonstrated the efficiency by which soy lecithin impacts one of the initial steps of lipid metabolism: their solubilisation and hydrolysis in the lumen. Future research must be undertaken to study other sources of vegetable lecithin on such parameters.

3.4. Impact on intestinal lipid absorption

Lipids released from lipid micelles at the unstirred layers of the brush-border membrane (pH gradient) are then absorbed by the intestinal microvilli of enterocytes via passive or active pathways. The hydrolysis products are then resynthesized into TAG and PL within enterocytes, and liberated into the lymph via CM and, to a lesser extent, VLDL particles.

Early research investigating the biological activities of lecithin on intestinal lipid absorption was carried out in the 1970s up to the end of the 1990s and focused mainly on the role of endogenous phosphatidylcholine. Studies undertaken in bile-diverted rats showed that endogenous PC is required for and enhances the intestinal absorption of lipids and their lymphatic transport [60,61]. Indeed, by providing the surface coats of CM, promoting apolipoprotein B48 (ApoB48) synthesis and maintaining adequate enterocyte membrane composition, biliary PL facilitate the transport of dietary lipids from the lumen into lymph [62]. Importantly, small lipid droplets present a greater surface/core ratio than large lipid droplets and consequently require larger amounts of surface compounds such as PL. Consistently, it has been demonstrated that impaired biliary PL secretion in genetically modified rodents leads to delayed intestinal lipid absorption and engenders the secretion of significantly larger lipoproteins in lymph [62–64]. On the contrary, rodents with excess biliary PL secretion synthesize small CM particles [62]. This effect on lipoprotein size has major biological impacts. In effect, lipoprotein size and composition play an important role in the postprandial lipoprotein metabolism and TAG appearance in plasma [65]. At similar lipid load, smaller CM possess a lower affinity for LPL and their plasma clearance is considerably slower than that of larger lipoproteins [66]. Whereas endogenous PC enhances lipid intestinal absorption, the impact of dietary PC is much more controversial. Nakano et al. reported that oral administration of soybean lecithin and its hydrolysates promoted lymphatic TAG output in rats [67]. On the contrary, Davidson et al. reported that endogenous PC increased ApoB48 expression, but excess dietary PC did not enhance its expression any further [68]. A study by Sadouki and Bouchoucha demonstrated no difference in intestinal lipid absorption nor in fecal fatty acid excretion when 30% of lipids (4.5% of total diet) were replaced by lecithin compared to the control group in rats [69]. Likewise, Sugasini et al. observed no statistical difference in lymphatic TAG or PL concentrations in rats fed linseed oil in its non-emulsified form or when it was emulsified by phospholipids or whey protein [70]. In this way, the addition of dietary PL at low PL/TAG ratios (1/16–1/7) in several studies did not generate an increase in lipid lymphatic output [71,72]. However, Nishimikui et al. demonstrated in two follow-up studies that supplementation with a high dose of soybean PC (PC/TAG with a 1/3 ratio) was capable of enhancing TAG absorption and output in lymph, as well as plasma TAG concentrations in rats [72]. The authors concluded that, based on their previous findings, this increase

of TAG absorption by soybean PC must be due to an increase in CM secretion. Consistently, Couëdelo et al. observed an increase in the mRNA expression of proteins involved in chylomicron secretion and exocytosis (Mttp, ApoB and Sar1b) in the duodenum of rats fed linseed oil emulsified with soy lecithin compared to control rats (not gavaged), while rats fed linseed oil devoid of lecithin showed no difference in gene expression vs control rats [51]. Of note, although the expression of these genes were the highest in the soy lecithin group, there was no statistically significant difference between the oil and the oil + lecithin group. However, ApoB48 concentrations in the lymph were doubled in presence of soybean lecithin. Since each CM can only contain one ApoB48 molecule, ApoB48 concentrations are recognised as accurate measures of CM quantity [51]. Hence, it may be concluded that soy lecithin increases the number of CM particles, leading to an increase in interfacial lipoprotein surface.

Altogether, studies concerning the effect of vegetable lecithin have yielded contradicting results and remain rather inconclusive. In addition, there is a debate on whether the effect of lecithin arises from PC or from its hydrolysed products. Nakano et al. demonstrated that LysoPC and not PC enhanced TAG lymphatic output [67]. This highlights the need for further research on the impact of vegetable lecithin and the role of their individual PL on lipid absorption. In addition, CM coats composed of PUFA-rich PL have been shown to be more effectively cleared from plasma than those composed of saturated fatty acids [64]. Vegetable lecithin, with their high content of PUFA, may therefore exert beneficial effects on lipid intestinal absorption, which may be of use in the prevention of metabolic disorders.

To specifically study lipid intestinal absorption and uptake into enterocytes, *in vitro* models using intestinal cells such as Caco-2 cells or lymph-cannulated animal models are required. The data thus obtained in lymph or in the culture media is a reflection of the absorption of dietary lipids, since these have not yet been subjected to hepatic metabolism and been diluted within the endogenous plasma pool.

However, unlike lymphatic lipids, the lipid profile of plasma is not merely defined by the lipids absorbed at the intestinal level, but is a reflection of whole body homeostasis resulting from the lipid metabolism of individual tissues. Determining the impact of vegetable lecithin on plasma lipemia is therefore crucial in order to grasp a complete understanding of the effect of vegetable lecithin on lipid metabolism and homeostasis.

4. Vegetable lecithins impact lipid homeostasis

4.1. Lecithins in the regulation of blood lipid profile

The impact of vegetable lecithin on blood lipid profile has been demonstrated in several manners.

Firstly, the pre-emulsification of an oil with vegetable lecithin has been shown to increase the systemic bioavailability of certain fatty acids, without increasing total plasma lipid concentrations. In this way, Sugasini et al. observed no statistical difference in lymphatic TAG or PL concentrations in rats fed non-emulsified or PL-emulsified linseed oil, but reported higher plasma alpha-linolenic acid (ALA) concentrations in the PL-emulsified group [70]. Similar observations using flaxseed oil emulsions stabilised by soy lecithin were related by Couëdelo et al. [51]. Studies exploring the effect of vegetable lecithin supplementation on fatty acid bioavailability without pre-emulsification have generally led to the same conclusions. Geurden et al. demonstrated in carps that the combination of dietary PC and TAG enhanced postprandial plasma TAG concentrations, compared to TAG alone [73]. In rats, combined long-term supplementation of DHA-rich oils and deoiled soy

lecithin promoted higher DHA and n-3 PUFA concentrations in erythrocytes and plasma than either DHA or lecithin supplementation alone [74]. The authors suggest that the observations result from a synergistic effect of n-3 PUFA and crude lecithin. The mechanisms behind this specific improvement of fatty acid bioavailability are not well understood and require further research, but synergistic effects between PUFA and PL seem plausible [2]. This may be explained by the impact that lecithins may exert on specific genes, such as FADS2, PPAR γ and fatty acid binding proteins, notably CD36 and FATP4 [43]. In addition, this may stem from the fact that fatty acids bound to PL are less prone to beta-oxidation, than when they are present as TAG, hence the n-3 and n-6 PUFA largely present in soybean, sunflower and rapeseed lecithin are more shielded from beta-oxidation than those contained in the respective vegetable oils.

Aside from their impact on systemic fatty acid bioavailability, vegetable lecithins have been shown to influence the plasma concentrations of other major lipid classes. Notably, PL exert hypocholesterolemic effects and supplementation with soybean PL in patients with primary hyperlipidemia has been reported to significantly reduce blood cholesterol levels [30]. In a study conducted in hypercholesterolemic rabbits, both purified soybean PC and non-purified soybean lecithin (containing 23% PC) significantly decreased plasma total and esterified cholesterol concentrations [75]. Wilson et al. also reported that soybean PC supplementation in hypercholesterolemic monkeys and hamsters enhances the cholesterol-lowering effects of a lipid-lowering diet, while maintaining plasmatic HDL levels [76]. In this way, dietary PC not only reduces blood cholesterol levels, but it also increases HDL cholesterol, subsequently reducing serum LDL/HDL ratio, a marker of metabolic syndrome [77]. In diabetic patients, it was observed that a 2-month supplementation of polyenylphosphatidylcholine (PPC) purified from soybean lecithin generated elevated HDL cholesterol and Apolipoprotein A-I levels in plasma [78]. The increase in HDL following vegetable PL supplementation may be explained by the fact that PL are preferentially incorporated into HDL particles. Moreover, PL are substrates for lecithin-cholesterol acyl-transferase (LCAT), an enzyme which catalyzes the esterification of cholesterol, enabling the maturation of plasma HDL and consequently promoting cholesterol uptake from peripheral tissues by HDL particles [79]. Increase in Apo A-I also stimulates reverse cholesterol transport [80]. It has also been speculated that PL exert their hypocholesterolemic effect by reducing microsomal HMG-CoA reductase activity and increasing biliary cholesterol excretion [81]. In addition to their impact on enzyme activity and lipoprotein metabolism, vegetable PL promote fatty acid oxidation and impair the uptake of cholesterol by enterocytes [71]. PL are indeed capable of interacting with the membranes of enterocytes, thereby reducing their cholesterol binding capacity [82]. Some authors have reported that the degree of saturation and the length of fatty acids bound to PL control the quantity of cholesterol absorbed in the intestine. The higher the degree of saturation and the longer the chain length of the FA, the less cholesterol is absorbed [71,83,84]. One possible explanation for this finding is the fact that PL carrying saturated fatty acids are poor substrates for pPLA₂, therefore hindering the enzyme from accessing the micellar lipids (formed mainly of cholesterol, mono- and diglycerides, and coated with saturated PL) and in consequence impairing the cholesterol uptake [71].

It must be noted however that these effects are mainly described under dyslipidemic conditions [30]. Whereas the cholesterol-lowering effects of lecithin are widely validated under dyslipidemic conditions and in hypercholesterolemic patients, they remain more controversial in normal lipidemic conditions [30,85]. In a scientific opinion report, the EFSA concluded that there was

insufficient evidence to establish a cause and effect relationship between the consumption of soy PC and the maintenance of normal cholesterol levels in humans [86]. Nonetheless, this concerns PC specifically and data have revealed a promising role of PE and PI as a lipid-lowering agents [87–89].

The same conclusion may be made concerning the effect of lecithin on triglyceride metabolism. Whereas certain studies affirm a hypotriglyceridemic effect of lecithin in plasma, this causal relationship is far from unequivocal. The lack of convergence of existing data may be explained by the diversity and specificity of the lipid metabolism of each tissue. Of these, the liver and adipose tissue are central organs in the regulation and maintenance of whole body lipid homeostasis; hence alterations of their lipid profile by dietary factors may have major impacts on lipid metabolism as a whole.

4.2. Impact on lipid metabolism in liver and adipose tissue

The liver plays a central role in lipid metabolism, hence investigating the impact of lecithin on this organ is crucial. The partial replacement of dietary TAG by vegetable, and more specifically soybean, lecithin has been associated with an amelioration of the lipid profiles in the liver and most importantly, a reduction of hepatic TAG levels [90–92]. Buang et al. reported that the replacement of 20% of TAG by PC with similar fatty acid composition in a rat model diminished hepatic TAG accumulation by two thirds through a simultaneous downregulation of *de novo* fatty acid synthesis (PAP and FAS mRNA expression) and upregulation of mitochondrial beta-oxidation in the liver [93]. Similarly, Rouyer et al. demonstrated in fasted re-fed rats that diets containing 4% of soybean or safflower phospholipids markedly decreased hepatic fatty acid synthase and malic enzyme activity and mRNA expression in comparison to diets containing soybean oil [94]. Hence, the beneficial physiological effects of vegetable lecithin seem to result, in part, from an inhibitory effect on the activity and gene expression of enzymes involved in fatty acid synthesis. In addition, soy lecithin is associated with reduced hepatic and VLDL cholesterol levels, similar to those previously described in plasma [82,90].

Furthermore, PL metabolism in the liver plays an important role in hepatocyte lipid metabolism, as illustrated by the important role of LCAT and phospholipid transfer protein (PLTP) in hepatic lipid metabolism [95]. These enzymes are indeed modulated in NAFLD, leading to dyslipidaemia [96]. It may be extrapolated that PL imported via the intake of dietary lecithin modulate the activity of these enzymes, subsequently modulating hepatic lipid metabolism. This hypothesis deserves to be tested.

Moreover, the phospholipid composition of hepatocytes and, more specifically, their PC/PE ratio has been reported to be crucial in insulin signalling [97]. A stable PC/PE ratio in the liver is required for proper glucose and energy metabolism [98] and its alteration is associated with liver disease [99]. PE is essential for health and mice lacking either of the two major PE-producing pathways are not viable [100]. A considerable proportion of PE is converted to PC in the liver, via a reaction catalysed by PE methyltransferase (PEMT) [101]. The subsequent PC/PE ratio may hence be a result of both the activity of this enzyme and the amount of these phospholipids delivered from endogenous and exogenous pools. Vegetable lecithin, predominantly composed of PC and PE, may hence contribute to balance this PL ratio, which may partially explain its beneficial effect on hepatic lipid metabolism.

Several studies have also described the impact of marine or vegetable lecithin on adipocytes. Awada et al. reported that DHA-rich marine PL in a high fat diet induce lower adipose tissue mass with smaller adipocytes that, DHA-rich TAG in mice [102]. Soy PC supplementation was also associated with smaller adipocytes in high fat fed mice [103] but another study reported that 1.2%w/w of

soy lecithin in a high fat diet led to increased adiposity and larger adipocytes in mice compared to an isolipidic high fat diet devoid of soy lecithin [104]. Nonetheless, data concerning the impact of vegetable lecithin, and notably of lecithin sources other than soy, on adipose tissue and its lipid profile remains scarce. Considering the crucial role of adipocyte lipid profile and metabolism in metabolic disorders, it is of primordial importance that further research be carried out on the impact of such commonly used emulsifiers on adipose tissue.

Despite this lack of evidence, the data obtained so far concerning vegetable lecithin tends towards a beneficial impact on lipid profile (cf Fig. 2), which represents a non-negligible potential within the current upsurge of dyslipidaemia and associated metabolic disorders.

5. Vegetable lecithins: towards a preventive role in dyslipidaemia associated with metabolic disorders

5.1. Potential of vegetable lecithin on obesity and associated metabolic disorders

The prevalence of obesity is rising at unprecedented rates in developed countries, so that it now represents one of the main public health issues in the world [105]. Obesity is associated with a number of cardio-metabolic chronic diseases, such as type II diabetes mellitus, non-alcoholic fatty acid liver disease (NAFLD) and cardiovascular diseases (CVD). All of these disorders are characterised by hyperlipidaemia, that is to say abnormally elevated plasma triglyceride and cholesterol levels [106]. Based on the plethora of evidence concerning the crucial role of endogenous biliary PL on lipid metabolism, as well as the aforementioned lipid-lowering capacities of lecithin, it is not surprising that several studies have recently attempted to investigate the potential of lecithin on the prevention and amelioration of obesity-related metabolic disorders [90,93,103].

The findings obtained so far, mostly in preclinical models, convey rather encouraging information concerning the ameliorative effects of lecithin on obesity-related dyslipidaemia. Amongst

many reasons, this is in part due to the aforementioned physiological effects of PL on lipid gastro-intestinal metabolism. Long-term soybean-derived PC supplementation in mice fed a high-fat (HF) diet has been shown to alleviate obesity-related complications and normalize plasma lipid profiles, notably by reducing plasma triglycerides, cholesterol and leptin levels and diminishing the LDL/HDL ratio [103]. PC supplementation also attenuates HF-induced ApoE expression in the aorta in these mice [103]. In another study conducted in rats, diets supplemented with soybean lecithin presented decreased gastric emptying and food intake, most probably due to the increase in the secretion of gut hormone cholecystokinin (CCK) [107]. These effects observed in preclinical studies show the potential of soybean lecithin in the prevention of cardiovascular and metabolic disorders, as food intake and satiety are important contributing factors of obesity. The possible impact of lecithin in different foods or supplements on satiety and food intake must be confirmed in humans. An additional study performed on obese Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats, an animal model for obesity- and metabolic syndrome-related complications, reported that omega 3-PC (i.e. EPA and DHA) and not egg PC alleviated obesity-related dyslipidaemia, via reduction of hepatic fatty acid synthesis and increase in beta-oxidation and serum adiponectin levels [108]. Unlike egg PC, omega-3 PC acted by suppressing the gene expression of SREPB1 and PPAR δ , two nuclear receptors involved in the regulation of lipid and energy homeostasis [109]. This clearly demonstrates that the origin of PL and its fatty acid composition determine and modulate their subsequent physiological effects. Such preclinical observations highlight the need for further research investigating the difference between PL from different vegetable sources. To our knowledge, only one review has attempted to gather and compare the effects of individual PL compounds on long-term cardiometabolic health parameters [89]. The review explores the effects of PC, PE and PI on dyslipidaemia, in both animal models and humans, and concludes on the high potential of the use of these PL, especially PI, as alternative or adjunctive therapy for dyslipidaemia in the context of metabolic disorders.

More widely reported are the effects of lecithin supplementation

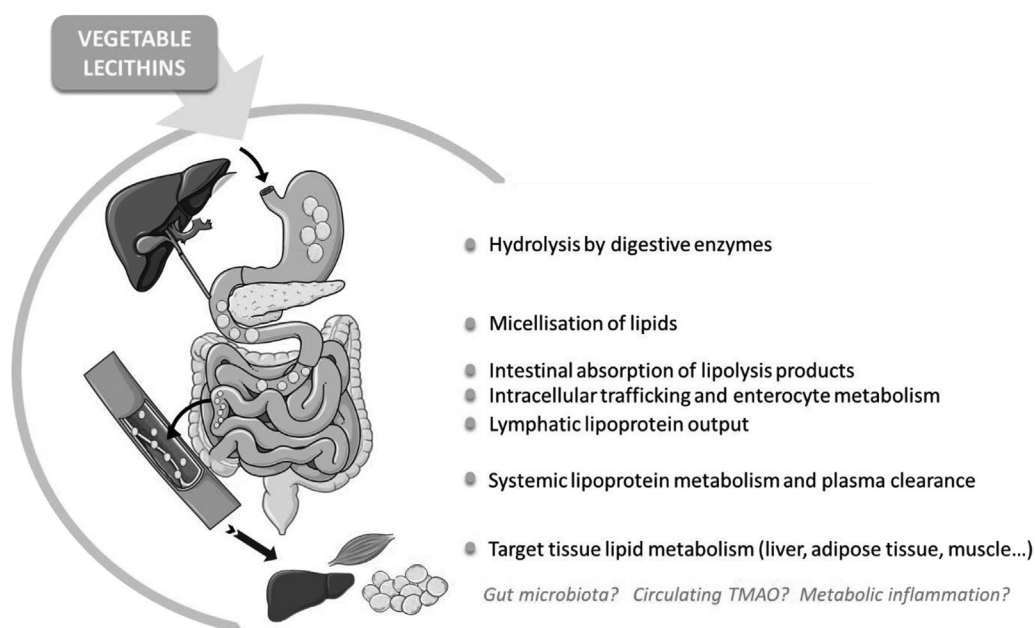


Fig. 2. Plausible impacts of vegetable lecithins on lipid and lipoprotein metabolism.

on obesity-related liver diseases, such as NAFLD and steatosis [93]. Indeed, historically, PL have been widely prescribed in the treatment of alcohol-induced liver damage and viral hepatitis. The beneficial impact of plant PL on such hepatic disorders are described in depth in two recent reviews [30,110]. The hepatic lipid-lowering properties of vegetable lecithin endows them with beneficial effects on liver metabolism with potential application in the treatment of hepatic diseases such as NAFLD [89].

Lecithins have also been reported to possess potent anti-inflammatory properties [30,111]. This is of particular interest, since metabolic disorders are highly associated with chronic low-grade inflammation in plasma and adipose tissue [112]. As reviewed by Küllenberg et al. and Treede et al. [30,111], beneficial anti-inflammatory properties of vegetable lecithin as a supplement have been reported in a number of inflammatory diseases, including arthritis and ulcerative colitis. However in a dietary context, regarding HF-induced metabolic low-grade inflammation in mice, soy PL (1.2 wt% in a HF diet) have recently been associated with higher markers of adipose tissue inflammation than milk PL [104]. Additionally, the addition of soy PL to a HF diet rich in flaxseed oil also induced higher markers of adipose tissue inflammation in mice than the HF diet enriched with flaxseed oil devoid of lecithin [113]. As outlined in a recent EFSA report, the latter studies by Lecomte et al. support the need for further research investigating the mechanisms and the effects of vegetable lecithin on metabolic inflammation [4] and warrant research in humans.

In addition, a study by Karantonis et al. reported that the polar lipid compartment (which constitutes vegetable lecithin) and not the neutral lipids of seed oils generated biologically active, antithrombotic and anti-atherogenic properties [114]. Vegetable lecithin may then play a promising role in the prevention of atherosclerosis. Interestingly, the study demonstrated the superiority of lecithin derived from olive oil compared to that of other seed oils (sunflower, corn or soybean) as a platelet aggregation factor (PAF) antagonist. This highlights once again the need for more research concerning individual phospholipids and different lecithin sources. More research must also be undertaken, which takes into consideration the other minor components of dietary vegetable lecithin. Notably, phyto-oestrogens may be present in non-negligible amounts. Phytosterols, such as those found in rapeseed lecithin, may equally play a synergistic role [18]. The presence of lipid soluble vitamins, such as vitamin E, may further explain certain observed effects of lecithin on lipid metabolism and homeostasis [22].

5.2. Impact on gut microbiota

A plethora of recent research has demonstrated the importance of gut microbiota on lipid metabolism and homeostasis [115,116]. As such, microbiota affects lipid absorption and, vice versa, ingested lipids influence the number, diversity and health status of the gut microbiota. It has recently been demonstrated that intestinal microbiota converts dietary phosphatidylcholine to trimethylamine (TMA), which is then further metabolised by flavin monooxygenase 3 (FMO3) and other FMO proteins in the liver into pro-atherogenic trimethylamine N-oxide (TMAO) [117]. High TMAO concentrations in plasma are associated with increased cardio-metabolic disease and atherosclerosis risk [117,118]; hence, it is thought that excess dietary PC increases the levels of TMAO resulting in a pro-inflammatory and pro-thrombotic state leading to insulin resistance, type II diabetes, and cardiovascular disease [117,119]. However, recent research indicates that the conversion of choline to the TMAO precursor, TMA, results from the presence of specific gut bacteria, rather than from excess dietary choline [2]. The authors of these studies specify that the need for further

research is required in order to clearly understand the relationship between dietary PL and the microbiota-dependent production of TMAO.

The present knowledge regarding the importance of gut microbiota on lipid metabolism and metabolic health renders obligatory that further research on the effect of vegetable lecithin on TMAO production and gut microbiota in general be explored. This is all the more important as the market of vegetable lecithins is expanding at unprecedented rates.

6. Conclusion and future prospects

Vegetable lecithins provide food-derived PL that, similarly to endogenous PL, have the potential to modulate numerous membrane-dependent cellular functions, as well as exert lipid-regulating, anti-inflammatory and antioxidant effects [2]. Despite the lack of converging evidence concerning their effects on lipid digestion and intestinal absorption, it is clear that dietary vegetable lecithin exert an overall beneficial effect on lipid and lipoprotein metabolism. In this way, they have been proposed as novel therapeutic agents for the treatment of hyperlipidaemia associated with metabolic and cardiovascular diseases [90]. Supporting this idea is the fact that PL are capable of forming unique lipid assemblies, referred to as liposomes, which have been investigated as drug carriers for decades and which have been associated with ameliorated blood and hepatic lipid profiles [120].

Importantly, this review highlights the evident lack of existing data concerning vegetable lecithin from sources other than soybean, and their effects on lipid metabolism and metabolic health. The immense compositional diversity of vegetable lecithins, arising from both agronomical and genetic factors, grants them with a vast range of biochemical and biological properties, which remain to be explored. Faced with the current epidemical outburst of obesity and the staggering growth rates of the lecithin market, future research must be undertaken in order to determine the health effects of vegetable lecithins, both as supplements and as ingredients in different foods. More specifically, it is of primordial importance that researchers attempt to elucidate the various mechanism by which individual fatty acids and PL from various vegetable lecithin modulate lipid metabolism and the extent to which they may influence parameters associated with metabolic disorders, such as intestinal integrity, low-grade inflammation and gut microbiota.

Author contribution

C.R. performed the literature review and wrote the original draft. M.-C.M., C.V. and L.C. revised the manuscript for important intellectual content. All authors have read and approved the final manuscript.

Declaration of competing interest

C.V. and L.C. are employees of ITERG. C.R. is a PhD student hired by ITERG (CIFRE doctoral grant). M.-C.M. received research fundings for other topics from Sodial-Candia R&D, the Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière (CNIEL, French Dairy Interbranch Organization) and Nutricia Research and has consultancy activities for food & dairy companies. These activities had no link with the present review. M.-C. M. is an external expert member of the Scientific Committee of ITERG. All authors are members of UMT ACTIA BALI (BioAvailability of Lipids and Intestine).

Acknowledgements

This review did not receive any specific grant from funding

agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors. Authors acknowledge UMT ACTIA BALI and ANRT for funding the PhD grant of C.R. Fig 2 contains pieces of artwork that are derivatives of artworks kindly provided by the Servier Medical Art database licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 Unported License.

References

- [1] K. Ahuja, S. Singh, Food additives market report 2018–2024 - industry size, growth analysis. <https://www.gminsights.com/industry-analysis/food-additives-market-size>, 2018. (Accessed 15 May 2019).
- [2] R. Lordan, A. Tsoupras, I. Zabetakis, Phospholipids of animal and marine origin: structure, function, and anti-inflammatory properties, *Molecules* 22 (2017), <https://doi.org/10.3390/molecules22111964>.
- [3] J. Li, X. Wang, T. Zhang, C. Wang, Z. Huang, X. Luo, Y. Deng, A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems, *Asian J. Pharm. Sci.* 10 (2015) 81–98, <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2014.09.004>.
- [4] A. Mortensen, F. Aguilar, R. Crebelli, A.D. Domenico, M.J. Frutos, P. Galtier, D. Gott, U. Gundert-Remy, C. Lambré, J.-C. Leblanc, O. Lindtner, P. Moldeus, P. Mosesso, A. Oskarsson, D. Parent-Massin, I. Stankovic, I. Waalkens-Berendsen, R.A. Woutersen, M. Wright, M. Younes, L. Brimer, A. Altieri, A. Christodoulidou, F. Lodi, B. Dusemund, Re-evaluation of lecithins (E 322) as a food additive, *EFSA Journal* 15 (2017), e04742, <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4742>.
- [5] A.B. Thomson, M. Keelan, M.L. Garg, M.T. Clandinin, Intestinal aspects of lipid absorption: in review, *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 67 (1989) 179–191.
- [6] T. Wang, E.G. Hammond, W.R. Fehr, Phospholipid fatty acid composition and stereospecific distribution of soybeans with a wide range of fatty acid composition, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74 (1997) 1587–1594, <https://doi.org/10.1007/s11746-997-0082-4>.
- [7] F. Beppu, K. Yasuda, A. Okada, Y. Hirotsaki, M. Okazaki, N. Gotoh, Comparison of the distribution of unsaturated fatty acids at the Sn-2 position of phospholipids and triacylglycerols in marine fishes and mammals, *J. Oleo Sci.* 66 (2017) 1217–1227, <https://doi.org/10.5650/jos.ess17132>.
- [8] W.E. Lands, Metabolism of glycerolipides; a comparison of lecithin and triglyceride synthesis, *J. Biol. Chem.* 231 (1958) 883–888.
- [9] W. Ehringer, D. Belcher, S.R. Wassall, W. Stillwell, A comparison of the effects of linolenic (18:3 omega 3) and docosahexaenoic (22:6 omega 3) acids on phospholipid bilayers, *Chem. Phys. Lipids* 54 (1990) 79–88.
- [10] Z. Guo, A.F. Vikbjerg, X. Xu, Enzymatic modification of phospholipids for functional applications and human nutrition, *Biotechnol. Adv.* 23 (2005) 203–259, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2005.02.001>.
- [11] B.J. Pettus, A. Bielawska, P. Subramanian, D.S. Wijesinghe, M. Maceyka, C.C. Leslie, J.H. Evans, J. Freiberg, P. Roddy, Y.A. Hannun, C.E. Chalfant, Ceramide 1-phosphate is a direct activator of cytosolic phospholipase A2, *J. Biol. Chem.* 279 (2004) 11320–11326, <https://doi.org/10.1074/jbc.M309262200>.
- [12] M.T. Nguyen, D. Van de Walle, C. Petit, B. Beheydt, F. Depypere, K. Dewettinck, Mapping the chemical variability of vegetable lecithins, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 91 (2014) 1093–1101, <https://doi.org/10.1007/s11746-014-2455-9>.
- [13] W. van Nieuwenhuizen, M.C. Tomás, Update on vegetable lecithin and phospholipid technologies, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 110 (2008) 472–486, <https://doi.org/10.1002/ejlt.200800041>.
- [14] M. Xie, N.T. Dunford, Lipid composition and emulsifying properties of canola lecithin from enzymatic degumming, *Food Chem.* 218 (2017) 159–164, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.074>.
- [15] R. Przybylski, Canola/rapeseed oil, in: *Vegetable Oils in Food Technology*, John Wiley & Sons, Ltd, 2011, pp. 107–136, <https://doi.org/10.1002/9781444339925.ch4>.
- [16] W. van Nieuwenhuizen, The changing world of lecithins - international lecithin & phospholipid society, *Inform 24* (2014) 254–259.
- [17] A.F. Vikbjerg, J.-Y. Rusig, G. Jonsson, H. Mu, X. Xu, Comparative evaluation of the emulsifying properties of phosphatidylcholine after enzymatic acyl modification, *J. Agric. Food Chem.* 54 (2006) 3310–3316, <https://doi.org/10.1021/jf052665w>.
- [18] J. Li, Z. Guo, Identification and quantification of phenolic compounds in rapeseed originated lecithin and antioxidant activity evaluation, *LWT - Food Sci. Technol. (Lebensmittel-Wissenschaft - Technol.)* 73 (2016) 397–405, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.039>.
- [19] L. Cui, E.A. Decker, Phospholipids in foods: prooxidants or antioxidants? *J. Sci. Food Agric.* 96 (2016) 18–31, <https://doi.org/10.1002/jsfa.7320>.
- [20] H. Saito, K. Ishihara, Antioxidant activity and active sites of phospholipids as antioxidants, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74 (1997) 1531–1536, <https://doi.org/10.1007/s11746-997-0072-6>.
- [21] J. Li, J.N. Pedersen, S. Anankanbil, Z. Guo, Enhanced fish oil-in-water emulsions enabled by rapeseed lecithins obtained under different processing conditions, *Food Chem.* 264 (2018) 233–240, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.053>.
- [22] D. Liu, F. Ma, Soybean lecithins, in: *Recent Trends for Enhancing the Diversity and Quality of Soybean Products*, Dora Krezhov, 2011, pp. 483–500, <https://doi.org/10.5772/1005>.
- [23] M.F. Ramadan, Antioxidant characteristics of phenolipids (quercetin-enriched lecithin) in lipid matrices, *Ind. Crops Prod.* 36 (2012) 363–369, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.10.008>.
- [24] W.S.A. Aoyagi, History of Lecithin and Phospholipids (1850–2016): Extensively Annotated Bibliography and Sourcebook, Including Phosphatides and Liposomes, Soyinfo Center, 2016.
- [25] J.M. Hall, H.A. Powell, L. Rajic, K.S. Korach, The role of dietary phytoestrogens and the nuclear receptor PPAR γ in adipogenesis: an in vitro study, *Environ. Health Perspect.* 127 (2019) 37007, <https://doi.org/10.1289/EHP3444>.
- [26] J. Tsiaoussis, M.N. Antoniou, I. Koliarakis, R. Mesnage, C.I. Vardavas, B.N. Izotov, A. Psaroulaki, A. Tsatsakis, Effects of single and combined toxic exposures on the gut microbiome: current knowledge and future directions, *Toxicol. Lett.* 312 (2019) 72–97, <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2019.04.014>.
- [27] M. El Alaoui, L. Soullère, A. Noiriél, F. Popowycz, A. Khatib, Y. Queneau, A. Abousalham, A continuous spectrophotometric assay that distinguishes between phospholipase A1 and A2 activities, *J. Lipid Res.* 57 (2016) 1589–1597, <https://doi.org/10.1194/jlr.D065961>.
- [28] D. Lombardo, O. Guy, Studies on the substrate specificity of a carboxyl ester hydrolase from human pancreatic juice. II. Action on cholesterol esters and lipid-soluble vitamin esters, *Biochim. Biophys. Acta* 611 (1980) 147–155.
- [29] S. Wang, S.K. Noh, S.I. Koo, Green tea catechins inhibit pancreatic phospholipase A(2) and intestinal absorption of lipids in ovariectomized rats, *J. Nutr. Biochem.* 17 (2006) 492–498, <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2006.03.004>.
- [30] D. Küllenberg, L.A. Taylor, M. Schneider, U. Massing, Health effects of dietary phospholipids, *Lipids Health Dis.* 11 (2012) 3, <https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-3>.
- [31] J.Z. Long, B.F. Cravatt, The metabolic serine hydrolases and their functions in mammalian physiology and disease, *Chem. Rev.* 111 (2011) 6022–6063, <https://doi.org/10.1021/cr200075y>.
- [32] L. Krimbou, H. Hajj Hassan, S. Blain, S. Rashid, M. Denis, M. Marcil, J. Genest, Biogenesis and speciation of nascent apoA-I-containing particles in various cell lines, *J. Lipid Res.* 46 (2005) 1668–1677, <https://doi.org/10.1194/jlr.M500038-JLR200>.
- [33] A.M. Magun, B. Mish, R.M. Glickman, Intracellular apoA-I and apoB distribution in rat intestine is altered by lipid feeding, *J. Lipid Res.* 29 (1988) 1107–1116.
- [34] L. Burri, N. Hoem, S. Banni, K. Berge, Marine omega-3 phospholipids: metabolism and biological activities, *Int. J. Mol. Sci.* 13 (2012) 15401–15419, <https://doi.org/10.3390/ijms131115401>.
- [35] K. Raynal-Ljutovac, J. Bouvier, C. Gayet, N. Simon, F. Joffre, F. Fine, J.-L. Venduvre, C. Lopez, J.-M. Chardigny, M.-C. Michalski, C. Genot, Organisation structurale et moléculaire des lipides dans les aliments : impacts possibles sur leur digestion et leur assimilation par l'Homme, *OCL* 18 (2011) 324–351, <https://doi.org/10.1051/ocl.2011.0415>.
- [36] S.M. Ulven, K.B. Holven, Comparison of bioavailability of krill oil versus fish oil and health effect, *Vasc. Health Risk Manag.* 11 (2015) 511–524, <https://doi.org/10.2147/VHRM.S85165>.
- [37] R. Hosomi, K. Fukunaga, T. Nagao, T. Tanizaki, K. Miyauchi, M. Yoshida, S. Kanda, T. Nishiyama, K. Takahashi, Effect of dietary partial hydrolysate of phospholipids, rich in docosahexaenoic acid-bound lysophospholipids, on lipid and fatty acid composition in rat serum and liver, *J. Food Sci.* 84 (2019) 183–191, <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14416>.
- [38] S.H. Ahn, S.J. Lim, Y.M. Ryu, H.-R. Park, H.J. Suh, S.H. Han, Absorption rate of krill oil and fish oil in blood and brain of rats, *Lipids Health Dis.* 17 (2018) 162, <https://doi.org/10.1186/s12944-018-0812-7>.
- [39] M. Lagarde, N. Bernoud, F. Thiès, N. Brossard, D. Lemaitre-Delaunay, M. Croset, J. Lecerf, Lysophosphatidylcholine as a carrier of docosahexaenoic acid to target tissues, *World Rev. Nutr. Diet.* 88 (2001) 173–177.
- [40] M. Lagarde, N. Bernoud, N. Brossard, D. Lemaitre-Delaunay, F. Thiès, M. Croset, J. Lecerf, Lysophosphatidylcholine as a preferred carrier form of docosahexaenoic acid to the brain, *J. Mol. Neurosci.* 16 (2001) 201–204, <https://doi.org/10.1385/JMN:16:2-3:201>, discussion 215–221.
- [41] A. Sehl, L. Couédelo, I. Chamekh-Coelho, Carole Vaysse and Maud Cansell. In vitro lipolysis and lymphatic absorption of n-3 long-chain PUFA in the rat: influence of the molecular lipid species as carrier, *Br. J. Nutr.* 122 (2019) 639–647, <https://doi.org/10.1017/S0007114519001491>.
- [42] M. Wouthuyzen-Bakker, F.A.J.A. Bodewes, H.J. Verkade, Persistent fat malabsorption in cystic fibrosis; lessons from patients and mice, *J. Cyst. Fibros.* 10 (2011) 150–158, <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2011.03.008>.
- [43] T.Y. Wang, M. Liu, P. Portincasa, D.Q.-H. Wang, New insights into the molecular mechanism of intestinal fatty acid absorption, *Eur. J. Clin. Investig.* 43 (2013) 1203–1223, <https://doi.org/10.1111/eci.12161>.
- [44] L. Couédelo, A. Termon, C. Vaysse, Matrice lipidique et biodisponibilité de l'acide alpha-linolénique, *OCL* 24 (2017) D204, <https://doi.org/10.1051/ocl/2017005>.
- [45] M.-C. Michalski, C. Vors, M. Lecomte, Impact métabolique des matières grasses alimentaires : vers le concept des lipides rapides/lipides lents et l'effet matrice, *Lipid Nutri+* 39 (2018). <http://www.terresuniviva.fr/decouvrir-terres-univiva/actualites/lipid-nutri-ndeg39-novembredecembre-2018-287>. (Accessed 13 May 2019).
- [46] M.C. Michalski, C. Genot, C. Gayet, C. Lopez, F. Fine, F. Joffre, J.L. Venduvre, J. Bouvier, J.M. Chardigny, K. Raynal-Ljutovac, Steering Committee of RMT LISTRAL, Multiscale structures of lipids in foods as parameters affecting fatty acid bioavailability and lipid metabolism, *Prog. Lipid Res.* 52 (2013)

- 354–373, <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2013.04.004>.
- [47] M. Golding, T. Wooster, The influence of emulsion structure and stability on lipid digestion, *Current Opinion in Colloid & Interface Science - CURR OPIN COLLOID INTERFACE S.* 15 (2010) 90–101, <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2009.11.006>.
- [48] F. Carrière, C. Renou, V. Lopez, J. De Caro, F. Ferrato, H. Lengsfeld, A. De Caro, R. Laugier, R. Verger, The specific activities of human digestive lipases measured from the in vivo and in vitro lipolysis of test meals, *Gastroenterology* 119 (2000) 949–960.
- [49] M. Armand, B. Pasquier, M. André, P. Borel, M. Senft, J. Peyrot, J. Salducci, H. Portugal, V. Jaussan, D. Lairon, Digestion and absorption of 2 fat emulsions with different droplet sizes in the human digestive tract, *Am. J. Clin. Nutr.* 70 (1999) 1096–1106, <https://doi.org/10.1093/ajcn/70.6.1096>.
- [50] M.A. Islam, H. Devle, I. Comi, E.K. Ulleberg, E.-O. Rukke, G.E. Vegarud, D. Ekeberg, Ex vivo digestion of raw, pasteurised and homogenised milk – effects on lipolysis and proteolysis, *Int. Dairy J.* 65 (2017) 14–19, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.09.008>.
- [51] L. Couêdelo, S. Amara, M. Lecomte, E. Meugnier, J. Monteil, L. Fonseca, G. Pineau, M. Cansell, F. Carrière, M.C. Michalski, C. Vaysse, Impact of various emulsifiers on ALA bioavailability and chylomicron synthesis through changes in gastrointestinal lipolysis, *Food Funct* 6 (2015) 1726–1735, <https://doi.org/10.1039/c5fo00070j>.
- [52] C. Vors, P. Capolino, C. Guérin, E. Meugnier, S. Sentent, M.-A. Chauvin, J. Monteil, N. Peretti, M. Cansell, F. Carrière, M.-C. Michalski, Coupling in vitro gastrointestinal lipolysis and Caco-2 cell cultures for testing the absorption of different food emulsions, *Food Funct* 3 (2012) 537–546, <https://doi.org/10.1039/c2fo10248j>.
- [53] J.N. Naso, F.A. Belleli, V.M. Pizones Ruiz-Henestrosa, A.M.R. Pilosof, Studies on the interactions between bile salts and food emulsifiers under in vitro duodenal digestion conditions to evaluate their bile salt binding potential, *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 174 (2019) 493–500, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.11.024>.
- [54] D. Lairon, Digestion and Absorption of Lipids, Designing Functional Foods: Measuring and Controlling Food Structure Breakdown and Nutrient Absorption, 2009, pp. 68–93, <https://doi.org/10.1533/9781845696603.166>.
- [55] J.S. Patton, M.C. Carey, Inhibition of human pancreatic lipase–colipase activity by mixed bile salt-phospholipid micelles, *Am. J. Physiol.* 241 (1981) G328–G336, <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1981.241.4.G328>.
- [56] W. Tsuzuki, A. Ue, A. Nagao, M. Endo, M. Abe, Inhibitory effect of lysophosphatidylcholine on pancreatic lipase-mediated hydrolysis in lipid emulsion, *Biochim. Biophys. Acta* 1684 (2004) 1–7, <https://doi.org/10.1016/j.bbaliip.2004.05.002>.
- [57] Y. Gargouri, G. Pieroni, C. Rivière, P.A. Lowe, J.F. Saunière, L. Sarda, R. Verger, Importance of human gastric lipase for intestinal lipolysis: an in vitro study, *Biochim. Biophys. Acta* 879 (1986) 419–423.
- [58] G. Favé, C. Lévêque, J. Peyrot, G. Pieroni, T.C. Coste, M. Armand, Modulation of gastric lipolysis by the phospholipid specie: link to specific lipase-phospholipid interaction at the lipid/water interface? *FASEB J.* 21 (2007) <https://doi.org/10.1096/fasebj.21.6.A1010-a>. A1010–A1010.
- [59] X. Lin, Q. Wang, W. Li, A.J. Wright, Emulsification of algal oil with soy lecithin improved DHA bioaccessibility but did not change overall in vitro digestibility, *Food Funct* 5 (2014) 2913–2921, <https://doi.org/10.1039/c4fo00577e>.
- [60] P. Tso, H. Kendrick, J.A. Balint, W.J. Simmonds, Role of biliary phosphatidylcholine in the absorption and transport of dietary triolein in the rat, *Gastroenterology* 80 (1981) 60–65.
- [61] P.J. O'Doherty, G. Kakis, A. Kuksis, Role of luminal lecithin in intestinal fat absorption, *Lipids* 8 (1973) 249–255.
- [62] A. Werner, R. Havinga, F. Pertont, F. Kuipers, H.J. Verkade, Lymphatic chylomicron size is inversely related to biliary phospholipid secretion in mice, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 290 (2006) G1177–G1185, <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00127.2005>.
- [63] J. Ahn, S.I. Koo, Intraduodenal phosphatidylcholine infusion restores the lymphatic absorption of vitamin A and oleic acid in zinc-deficient rats, *J. Nutr. Biochem.* 6 (1995) 604–612, [https://doi.org/10.1016/0955-2863\(95\)00126-K](https://doi.org/10.1016/0955-2863(95)00126-K).
- [64] A. Werner, R. Havinga, F. Kuipers, H.J. Verkade, Treatment of EFA deficiency with dietary triglycerides or phospholipids in a murine model of extrahepatic cholestasis, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 286 (2004) G822–G832, <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00425.2003>.
- [65] L. Amate, A. Gil, M. Ramirez, Dietary long-chain PUFA in the form of TAG or phospholipids influence lymph lipoprotein size and composition in piglets, *Lipids* 37 (2002) 975–980.
- [66] I.J. Martins, B.C. Mortimer, J. Miller, T.G. Redgrave, Effects of particle size and number on the plasma clearance of chylomicrons and remnants, *J. Lipid Res.* 37 (1996) 2696–2705.
- [67] T. Nakano, I. Inoue, S. Katayama, M. Seo, S. Takahashi, S. Hokari, R. Shinozaki, K. Hatayama, T. Komoda, Lysophosphatidylcholine for efficient intestinal lipid absorption and lipoprotein secretion in caco-2 cells, *J. Clin. Biochem. Nutr.* 45 (2009) 227–234, <https://doi.org/10.3164/jcnn.09-25>.
- [68] N.O. Davidson, M.E. Kollmer, R.M. Glickman, Apolipoprotein B synthesis in rat small intestine: regulation by dietary triglyceride and biliary lipid, *J. Lipid Res.* 27 (1986) 30–39.
- [69] M. Sadouki, M. Bouchoucha, Changes of lipid and fatty acid absorption induced by high dose of citric acid ester and lecithin emulsifiers, *Int. J. Food Sci. Nutr.* 65 (2014) 728–732, <https://doi.org/10.3109/09637486.2014.898261>.
- [70] D. Sugasini, V.C. Devaraj, M. Ramesh, B.R. Lokesh, Lymphatic transport of α -linolenic acid and its conversion to long chain n-3 fatty acids in rats fed microemulsions of linseed oil, *Lipids* 49 (2014) 225–233, <https://doi.org/10.1007/s11745-013-3873-4>.
- [71] Y. Jiang, S.K. Noh, S.I. Koo, Egg phosphatidylcholine decreases the lymphatic absorption of cholesterol in rats, *J. Nutr.* 131 (2001) 2358–2363, <https://doi.org/10.1093/jn/131.9.2358>.
- [72] M. Nishimukai, H. Hara, Soybean phosphatidylcholine-induced enhancement of lymphatic absorption of triglyceride depends on chylomicron formation in rats, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 71 (2007) 1192–1197.
- [73] I. Geurden, S. Kaushik, G. Corraze, Dietary phosphatidylcholine affects postprandial plasma levels and digestibility of lipid in common carp (*Cyprinus carpio*), *Br. J. Nutr.* 100 (2008) 512–517, <https://doi.org/10.1017/S0007114508904396>.
- [74] N. van Wijk, M. Balvers, M. Cansev, T.J. Maher, J.W.C. Sijben, L.M. Broersen, Dietary crude lecithin increases systemic availability of dietary docosahexaenoic acid with combined intake in rats, *Lipids* 51 (2016) 833–846, <https://doi.org/10.1007/s11745-016-4139-8>.
- [75] E. Polichetti, A. Janisson, P.L. de la Porte, H. Portugal, J. Léonardi, A. Luna, P. La Droitte, F. Chanussot, Dietary polyenylphosphatidylcholine decreases cholesterolemia in hypercholesterolemic rabbits: role of the hepato-biliary axis, *Life Sci.* 67 (2000) 2563–2576.
- [76] T.A. Wilson, C.M. Meservey, R.J. Nicolosi, Soy lecithin reduces plasma lipoprotein cholesterol and early atherogenesis in hypercholesterolemic monkeys and hamsters: beyond linoleate, *Atherosclerosis* 140 (1998) 147–153.
- [77] B.C. O'Brien, V.G. Andrews, Influence of dietary egg and soybean phospholipids and triacylglycerols on human serum lipoproteins, *Lipids* 28 (1993) 7–12.
- [78] R. Kirsten, B. Heintz, K. Nelson, K. Hesse, E. Schneider, G. Oremek, N. Nemeth, Polyenylphosphatidylcholine improves the lipoprotein profile in diabetic patients, *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 32 (1994) 53–56.
- [79] B. Wang, X. Rong, M.A. Duerr, D.J. Hermanson, P.N. Hedde, J.S. Wong, T.Q. de A. Vallim, B.F. Cravatt, E. Gratton, D.A. Ford, P. Tontonoz, Intestinal phospholipid remodeling is required for dietary-lipid uptake and survival on a high-fat diet, *Cell Metabol.* 23 (2016) 492–504, <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.01.001>.
- [80] E. Polichetti, A. Janisson, C. Iovanna, H. Portugal, N. Mekki, A.-M. Lorec, A.-M. Pauli, A. Luna, D. Lairon, P. la Droitte, H. Lafont, F. Chanussot, Stimulation of the apo AI–high density lipoprotein system by dietary soybean lecithin in humans, *J. Nutr. Biochem.* 9 (1998) 659–664, [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(98\)00059-X](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(98)00059-X).
- [81] J.W. Burgess, J. Boucher, T.A.-M. Neville, P. Rouillard, C. Stamler, S. Zachariah, D.L. Sparks, Phosphatidylinositol promotes cholesterol transport and excretion, *J. Lipid Res.* 44 (2003) 1355–1363, <https://doi.org/10.1194/jlr.M300062-JLR200>.
- [82] J.S. Cohn, A. Kamili, E. Wat, R.W.S. Chung, S. Tandy, Dietary phospholipids and intestinal cholesterol absorption, *Nutrients* 2 (2010) 116–127, <https://doi.org/10.3390/nu2020116>.
- [83] S.K. Noh, S.I. Koo, Egg sphingomyelin lowers the lymphatic absorption of cholesterol and alpha-tocopherol in rats, *J. Nutr.* 133 (2003) 3571–3576, <https://doi.org/10.1093/jn/133.11.3571>.
- [84] S.K. Noh, S.I. Koo, Milk sphingomyelin is more effective than egg sphingomyelin in inhibiting intestinal absorption of cholesterol and fat in rats, *J. Nutr.* 134 (2004) 2611–2616, <https://doi.org/10.1093/jn/134.10.2611>.
- [85] M.T. Childs, J.A. Bowlin, J.T. Ogilvie, W.R. Hazzard, J.J. Albers, The contrasting effects of a dietary soya lecithin product and corn oil on lipoprotein lipids in normolipidemic and familial hypercholesterolemic subjects, *Atherosclerosis* 38 (1981) 217–228.
- [86] EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA), Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol, *EFSA Journal* 8 (2010) 1461, <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1461>.
- [87] J.W. Burgess, T.A.-M. Neville, P. Rouillard, Z. Harder, D.S. Beanlands, D.L. Sparks, Phosphatidylinositol increases HDL-C levels in humans, *J. Lipid Res.* 46 (2005) 350–355, <https://doi.org/10.1194/jlr.M400438-JLR200>.
- [88] K. Imaizumi, K. Mawatari, M. Murata, I. Ikeda, M. Sugano, The contrasting effect of dietary phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine on serum lipoproteins and liver lipids in rats, *J. Nutr.* 113 (1983) 2403–2411, <https://doi.org/10.1093/jn/113.12.2403>.
- [89] A. Sahebkar, Fat lowers fat: purified phospholipids as emerging therapies for dyslipidemia, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids* 1831 (2013) 887–893, <https://doi.org/10.1016/j.bbaliip.2013.01.013>.
- [90] I. Mastellone, E. Polichetti, S. Grès, C. de la Maisonneuve, N. Domingo, V. Marin, A.-M. Lorec, C. Farnarier, H. Portugal, G. Kaplanski, F. Chanussot, Dietary soybean phosphatidylcholines lower lipidemia: mechanisms at the levels of intestine, endothelial cell, and hepato-biliary axis, *J. Nutr. Biochem.* 11 (2000) 461–466, [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(00\)00115-7](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(00)00115-7).
- [91] T. Ide, M. Murata, H. Moriuchi, Microsomal triacylglycerol synthesis and diacylglycerol concentration in the liver of rats fed with soybean and egg yolk phospholipids, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 56 (1992) 732–735, <https://doi.org/10.1271/bbb.56.732>.
- [92] T. Ide, M. Murata, Y. Sunada, Triacylglycerol and fatty acid synthesis in

- hepatocytes in suspension isolated from rats fed soybean phospholipid, *Biosci. Biotech. Biochem.* 58 (1994) 699–702, <https://doi.org/10.1271/bbb.58.699>.
- [93] Y. Buang, Y.-M. Wang, J.-Y. Cha, K. Nagao, T. Yanagita, Dietary phosphatidylcholine alleviates fatty liver induced by orotic acid, *Nutrition* 21 (2005) 867–873, <https://doi.org/10.1016/j.nut.2004.11.019>.
- [94] I.A. Rouyer, Y. Takahashi, T. Ide, Dietary phospholipid-dependent reductions in gene expression and activity of liver enzymes in fatty acid synthesis in fasted-refed rats, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 45 (1999) 287–302.
- [95] Z. Li, H. Jiang, T. Ding, C. Lou, H.H. Bui, M.-S. Kuo, X.-C. Jiang, Deficiency in lysophosphatidylcholine acyltransferase 3 reduces plasma levels of lipids by reducing lipid absorption in mice, *Gastroenterology* 149 (2015) 1519–1529, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.07.012>.
- [96] K.J. Nass, E.H. van den Berg, E.G. Gruppen, R.P.F. Dullaart, Plasma lecithin: cholesterol acyltransferase and phospholipid transfer protein activity independently associate with nonalcoholic fatty liver disease, *Eur. J. Clin. Invest.* 48 (2018), e12988, <https://doi.org/10.1111/eci.12988>.
- [97] J.N. van der Veen, J.P. Knelly, S. Wan, J.E. Vance, D.E. Vance, R.L. Jacobs, The critical role of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine metabolism in health and disease, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 1859 (2017) 1558–1572, <https://doi.org/10.1016/j.bbame.2017.04.006>.
- [98] J.N. van der Veen, S. Lingrell, R.P. da Silva, R.L. Jacobs, D.E. Vance, The concentration of phosphatidylethanolamine in mitochondria can modulate ATP production and glucose metabolism in mice, *Diabetes* 63 (2014) 2620–2630, <https://doi.org/10.2337/db13-0993>.
- [99] Z. Li, L.B. Agellon, T.M. Allen, M. Umeda, L. Jewell, A. Mason, D.E. Vance, The ratio of phosphatidylcholine to phosphatidylethanolamine influences membrane integrity and steatohepatitis, *Cell Metabol.* 3 (2006) 321–331, <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.03.007>.
- [100] E. Calzada, O. Onguka, S.M. Claypool, Phosphatidylethanolamine metabolism in health and disease, *Int Rev Cell Mol Biol* 321 (2016) 29–88, <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2015.10.001>.
- [101] D.E. Vance, Physiological roles of phosphatidylethanolamine N-methyltransferase, *Biochim. Biophys. Acta* 1831 (2013) 626–632, <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2012.07.017>.
- [102] M. Awada, A. Meynier, C.O. Soulage, L. Hadji, A. Gélouën, M. Viau, L. Ribourp, B. Benoit, C. Debard, M. Guichardant, M. Lagarde, C. Genot, M.-C. Michalski, n-3 PUFA added to high-fat diets affect differently adiposity and inflammation when carried by phospholipids or triacylglycerols in mice, *Nutr. Metab.* 10 (2013) 23, <https://doi.org/10.1186/1743-7075-10-23>.
- [103] H.S. Lee, Y. Nam, Y.H. Chung, H.R. Kim, E.S. Park, S.J. Chung, J.H. Kim, U.D. Sohn, H.-C. Kim, K.W. Oh, J.H. Jeong, Beneficial effects of phosphatidylcholine on high-fat diet-induced obesity, hyperlipidemia and fatty liver in mice, *Life Sci.* 118 (2014) 7–14, <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2014.09.027>.
- [104] M. Lecomte, L. Couédelo, E. Meugnier, P. Plaisancié, M. Létisse, B. Benoit, L. Gabert, A. Penhoat, A. Durand, G. Pineau, F. Joffre, A. Gélouën, C. Vaysse, F. Laugerette, M.-C. Michalski, Dietary emulsifiers from milk and soybean differently impact adiposity and inflammation in association with modulation of colonic goblet cells in high-fat fed mice, *Mol. Nutr. Food Res.* 60 (2016) 609–620, <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500703>.
- [105] H. El Hadi, A. Di Vincenzo, R. Vettor, M. Rossato, Cardio-metabolic disorders in non-alcoholic fatty liver disease, *Int. J. Mol. Sci.* 20 (2019), <https://doi.org/10.3390/ijms20092215>.
- [106] S. Tonstad, J.-P. Després, Treatment of lipid disorders in obesity, *Expert Rev. Cardiovasc Ther.* 9 (2011) 1069–1080, <https://doi.org/10.1586/erc.11.83>.
- [107] M. Nishimukai, H. Hara, Y. Aoyama, Enteral administration of soybean lecithin enhanced lymphatic absorption of triacylglycerol in rats, *Br. J. Nutr.* 90 (2003) 565–571.
- [108] B. Shirouchi, K. Nagao, N. Inoue, T. Ohkubo, H. Hibino, T. Yanagita, Effect of dietary omega 3 phosphatidylcholine on obesity-related disorders in obese Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats, *J. Agric. Food Chem.* 55 (2007) 7170–7176, <https://doi.org/10.1021/jf071225x>.
- [109] M. Narce, J.-P. Poisson, Lipid metabolism: regulation of lipid metabolism gene expression by peroxisome proliferator-activated receptor alpha and sterol regulatory element binding proteins, *Curr. Opin. Lipidol.* 13 (2002) 445–447.
- [110] K.-J. Gundermann, A. Kuenker, E. Kuntz, M. Drożdżdzik, Activity of essential phospholipids (EPL) from soybean in liver diseases, *Pharmacol. Rep.* 63 (2011) 643–659.
- [111] I. Treede, A. Braun, R. Sparla, M. Kühnel, T. Giese, J.R. Turner, E. Anes, H. Kulaksiz, J. Füllekrug, W. Stremmel, G. Griffiths, R. Ehehalt, Anti-inflammatory effects of phosphatidylcholine, *J. Biol. Chem.* 282 (2007) 27155–27164, <https://doi.org/10.1074/jbc.M704408200>.
- [112] O. Izaola, D. de Luis, I. Sajoux, J.C. Domingo, M. Vidal, [Inflammation and obesity (lipoinflammation)], *Nutr. Hosp.* 31 (2015) 2352–2358, <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.6.8829>.
- [113] M. Lecomte, L. Couédelo, E. Meugnier, E. Loizon, P. Plaisancié, A. Durand, A. Gélouën, F. Joffre, C. Vaysse, M.-C. Michalski, F. Laugerette, Soybean polar lipids differently impact adipose tissue inflammation and the endotoxin transporters LBP and sCD14 in flaxseed vs. palm oil-rich diets, *J. Nutr. Biochem.* 43 (2017) 116–124, <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.02.004>.
- [114] H.C. Karantonis, S. Antonopoulou, C.A. Demopoulos, Antithrombotic lipid minor constituents from vegetable oils. Comparison between olive oils and others, *J. Agric. Food Chem.* 50 (2002) 1150–1160.
- [115] P.D. Cani, N.M. Delzenne, Interplay between obesity and associated metabolic disorders: new insights into the gut microbiota, *Curr. Opin. Pharmacol.* 9 (2009) 737–743, <https://doi.org/10.1016/j.coph.2009.06.016>.
- [116] H. Plovier, P.D. Cani, Microbial impact on host metabolism: opportunities for novel treatments of nutritional disorders? *Microbiol. Spectr.* 5 (2017), <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.BAD-0002-2016>.
- [117] Z. Wang, E. Klipfell, B.J. Bennett, R. Koeth, B.S. Levison, B. DuGar, A.E. Feldstein, E.B. Britt, X. Fu, Y.-M. Chung, Y. Wu, P. Schauer, J.D. Smith, H. Allayee, W.H.W. Tang, J.A. DiDonato, A.J. Lusis, S.L. Hazen, Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease, *Nature* 472 (2011) 57–63, <https://doi.org/10.1038/nature09922>.
- [118] R. Obeid, H.M. Awwad, Y. Rabagny, S. Graeber, W. Herrmann, J. Geisel, Plasma trimethylamine N-oxide concentration is associated with choline, phospholipids, and methyl metabolism, *Am. J. Clin. Nutr.* 103 (2016) 703–711, <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.121269>.
- [119] W. Zhu, J.C. Gregory, E. Org, J.A. Buffa, N. Gupta, Z. Wang, L. Li, X. Fu, Y. Wu, M. Mehrabian, R.B. Sartor, T.M. McIntyre, R.L. Silverstein, W.H.W. Tang, J.A. DiDonato, J.M. Brown, A.J. Lusis, S.L. Hazen, Gut microbial metabolite TMAO enhances platelet hyperreactivity and thrombosis risk, *Cell* 165 (2016) 111–124, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.02.011>.
- [120] A. Ćwiklińska, A. Gliwińska, Z. Senderowska, B. Kortas-Stempak, A. Kuchta, K. Dąbkowski, M. Jankowski, Impact of phosphatidylcholine liposomes on the compositional changes of VLDL during lipoprotein lipase (LPL)-mediated lipolysis, *Chem. Phys. Lipids* 195 (2016) 63–70, <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2015.12.007>.

