

EVOLUTION DU METABOLISME HEPATIQUE AU COURS DU GAVAGE ET IMPACT SUR LA FONTE LIPIDIQUE

**Lo Bara¹, Marty-Gasset Nathalie¹, Canlet Cécile², Tremblay-Franco Marie², Arroyo
Julien³, Molette Caroline¹, Viala Didier⁴, Chambon Christophe⁴, Bouillier-Oudot
Michel¹, Bonnefont Cécile MD¹**

¹ *GenPhyse, Université de Toulouse, INRA, INPT, ENVT, 31326 CASTANET-TOLOSAN,*

² *Toxalim (Research Centre in Food Toxicology), Université de Toulouse, INRA, ENVT, INP-
Purpan, UPS, Toulouse, France*

³ *ASSELDOR, La Tour de Glane, 24420 COULAURES,*

⁴ *PFEM, Composante Protéomique, INRA de Theix, 63122 Saint Genès Champanelle
(France)*

cecile.bonnefont@ensat.fr

RÉSUMÉ

Comprendre et maîtriser la variabilité du rendement technologique est un objectif important pour améliorer la qualité technologique du foie gras et assurer une meilleure valorisation du produit final. Dans cette optique, ce projet vise à étudier les mécanismes biologiques mis en place lors du développement de la stéatose hépatique au cours du gavage et leur variabilité en relation avec le rendement technologique des foies à la cuisson. Pour cela, 210 canards ont été gavés, 15 ont été abattus avant la mise en gavage (à J0), puis 30 tous les deux jours de J2 à J12. La teneur en lipides a été déterminée. Les métabolites polaires ont été analysés par RMN du proton, et les protéines par spectrométrie de masse. Cette étude a mis en évidence la transition entre la glycogénogenèse et la lipogenèse en début de gavage. Le rendement technologique est maximal après 11 repas de gavage (98% pour un poids de foie de 343 g), puis celui-ci diminue et sa variabilité augmente en parallèle du développement de la stéatose hépatique pour atteindre 72% pour des foies de 758 g après 23 repas de gavage. A partir du milieu du gavage, on observe une mise en place progressive de réponse au stress oxydatif dans le foie qui semble expliquer la diminution du rendement technologique.

ABSTRACT

Hepatic metabolism evolution during force-feeding and impact on the melting rate

The improvement of fatty liver quality, and then the best valorization of the product is a great objective of “foie gras” production. The aim of this study was to improve the knowledge on the variability of the melting rate to better manage it. Here, the biological mechanisms that occur during hepatic steatosis development and their variability linked to the melting rate were studied during the kinetic of the force-feeding period. 210 ducks were overfed. 15 were slaughtered before the force-feeding period (D0), then 30 ducks were slaughtered every 2 days from D2 to D12. The lipid content was determined. The hydrophilic metabolites were analyzed by ¹H-NMR and the proteins by mass spectrometry. This study showed the transition between the neoglycogenesis process and the lipogenetic process at the beginning of the force-feeding period. The technological yield was maximum after 11 meals of force-feeding (98% for liver weighing 343 g), then it decreased and its variability increased during the development of hepatic steatosis to achieve 72% for livers weighing 758 g after 23 meals of overfeeding. At mid overfeeding period, an oxidative stress response began that might explain the technological yield decrease.

INTRODUCTION

Le taux de fonte du foie gras à la cuisson ayant des répercussions à la fois sur les qualités organoleptiques des foies gras et sur les performances des unités de production, celui-ci a déjà été largement étudié (Théron et al., 2013). Des facteurs zootechniques et les conditions pré ou post mortem ainsi que des caractéristiques des foies ont été analysés pour mieux maîtriser la fonte, mais une variabilité persiste (Théron et al., 2012). L'objectif de l'essai présenté ici est de mieux comprendre la relation entre la variabilité de la fonte des foies à la cuisson et les caractéristiques des foies, en recherchant le moment où s'installe cette variabilité. Pour ce faire, les caractéristiques du foie ont été étudiées au cours de la cinétique de gavage.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Elevage et gavage des animaux

210 canards mulards mâles ont été élevés pendant 12 semaines à la Ferme Expérimentale de l'Oie et du Canard (FEOC, Coulaures, Dordogne) dans des conditions standards. Puis, ils ont été gavés deux fois par jour pour arriver à un total de 23 repas, avec une ration constituée de 38% de grains de maïs et de 62% de farine de maïs, additionnée de 3% du premix Provigav (Sanders).

1.2. Mesures, prélèvements et analyses

Avant la mise en gavage (à J0), quinze canards ont été abattus. Puis tous les deux jours de J2 à J12, 30 animaux ont été abattus, après 11 h de jeûne en moyenne.

Tous les animaux ont été pesés à la mise en gavage et avant leur abattage. Après l'éviscération des foies à chaud, des spectres ont été acquis dans le proche infra-rouge (SPIR, ASD Labspec Pro spectrometer). Leur couleur (L^* , a^* , b^*) a été déterminée avec le chromamètre CR 300 Minolta. Des prélèvements hépatiques ont été réalisés sur le milieu de la face externe du petit lobe et congelés dans de l'azote liquide, puis conservés à -80° . La teneur en lipides totaux (Folch et al., 1957) a été mesurée sur 65 échantillons, puis prédite sur l'ensemble des échantillons à partir des équations réalisées sur les spectres SPIR avec le logiciel Winisi (FOSS Analytical A/S). Les métabolites hydrophiles ont été extraits sur 166 échantillons (Beckonert et al., 2007) puis mesurés par RMN du proton (Bruker Avance III HD 600 MHz) à la plateforme MetaToul (Toulouse). Les protéines ont été extraites sur 140 échantillons puis mesurées par LC MS/MS (QTOF, IMPACTII, Bruker) à la plateforme PFEM (Clermont-Ferrand-Theix). Les foies dont le poids était supérieur à 300 g (seuil réglementaire pour la définition du foie gras de canard) ont été congelés à -20°C à la FEOC puis

transformés au LEGTA de Périgueux (Dordogne) afin de déterminer le rendement technologique.

A 6 h post mortem après refroidissement des carcasses, un muscle pectoral et une cuisse ont été disséqués et leurs poids ont été relevés.

Des tests de comparaison de moyenne (ANOVA avec la date d'abattage comme effet fixe) et des tests de comparaison de variance (Fisher) ont été réalisés et des corrélations de Pearson ont été calculées avec le logiciel R (version 3.2.3).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La consommation totale d'aliment en gavage a été de 9,64 kg ce qui est équivalent à la consommation moyenne d'aliment en gavage (Litt et Pé, 2015). Les performances zootechniques sont synthétisées dans le tableau 1. Le poids à la mise en gavage est de 4,1 kg. Il est équivalent entre tous les lots. Le poids vif des canards augmente régulièrement au cours du gavage ($P < 0,001$). Il est multiplié par 1,6 après 23 repas de gavage. Ainsi, le gain de poids moyen sur la période est de $2\,357 \pm 336$ g. Les poids des organes de réserves (peau du muscle pectoral, gras abdominal et foie) augmentent fortement (respectivement multipliés par 2,5, 4,5 et 9,0) alors que ceux des muscles pectoraux sont stables jusqu'à J10 ($P > 0,05$).

L'évolution des caractéristiques des foies et les corrélations entre les paramètres sont présentées dans les tableaux 2 et 3. La croissance pondérale du foie correspond principalement à une augmentation de la teneur en lipides (corrélation de 0,86). Elle est fortement corrélée positivement à la luminance (L^* ; 0,84) et à l'indice de jaune (b^* ; 0,69). Le rendement technologique des foies à la cuisson est maximal à J6 avec 97,5 %, puis il diminue pour atteindre 87,9 % à J10 et 72,1 % à J12. Il est corrélé négativement avec la plupart des paramètres mesurés : -0,62 avec le poids de foie et la teneur en lipides.

L'étude par RMN du proton a permis de déterminer 112 buckets significatifs au cours du temps, les buckets qui ont pu être identifiés et associés à des métabolites sont présentés dans le tableau 4.

Les analyses protéomiques ont permis d'identifier 599 protéines présentes dans les échantillons de foie avec au moins 2 peptides. 312 de ces protéines ont un niveau d'expression qui varie significativement au cours du temps ($P < 0,01$).

Une analyse plus fine des résultats montre une augmentation conséquente du poids de foie entre J0 et J2 (+ 66 g/j ; 216 g en moyenne à J2) avec une augmentation maximale du taux de lipides (fois 3,1 ; 14,1% en moyenne à J2 ; Tableau 2) et une accumulation de glycogène (Tableau 4). La glycogénogenèse est la première voie de stockage de l'excès de glucose hépatique généré par une alimentation riche en amidon au cours du gavage (Baudonnet-Lenfant, 1993).

Ensuite entre J2 et J4, on observe un ralentissement de la croissance pondérale du foie (+ 20 g/j ; 256 g en

moyenne ; Tableau 2), une forte augmentation du taux de lipides (fois 2,1 ; Tableau 2) ainsi qu'une augmentation du glucose et une diminution du glycérol (Tableau 4). Cette réduction de la croissance hépatique correspond à une phase d'adaptation avec le fort développement des voies de synthèse lipidiques aux dépens des voies de la glycogénèse (Baudonnet-Lenfant, 1993). Puis la croissance pondérale du foie s'amplifie progressivement (+ 43,5 g/j entre J4 et J6, jusqu'à + 79,5 g/j entre J10 et J12 ; Tableau 2) avec une accumulation de lipides dans le foie qui représentent jusqu'à 56,2% de la matière sèche du foie (Tableau 2).

La comparaison de J0 et J12 en protéomique montre une amplification du métabolisme des acides gras avec 35 protéines impliquées (résultats IPA®, non montrés). L'évolution, au cours de la cinétique de gavage, du niveau d'expression de nombreux acides aminés met en évidence que le métabolisme cellulaire est exacerbé (Tableau 4). L'augmentation de la phosphocholine et de la glycérophosphocholine (Tableau 4) signe l'activation de la synthèse des membranes.

En ce qui concerne le rendement technologique des foies à la cuisson, il est maximal à J6 et sa variabilité augmente au cours du temps (Tableau 2 ; tests de Fisher $p < 0,05$; non montrés). En deçà de 550 g, la majorité des foies présente un rendement supérieur à 90% et le coefficient de variation est inférieur à 3% (Figure 1A). Au-delà, par contre, on observe rapidement des valeurs de rendement technologique inférieures à 80% et le coefficient de variation augmente fortement ; il dépasse les 17% pour des foies de poids supérieur à 700 g. Par ailleurs, il ne semble pas que le taux de lipides soit déterminant, car au-delà de 50% de lipides, il n'y a plus de relation entre le rendement technologique et le taux de lipides, le coefficient de variation pouvant atteindre 15,7 % (Figure 1B).

La diminution de la quantité du glutathion réduit jusqu'à J6 suivi de son augmentation jusqu'à la fin de la cinétique de gavage (J12 ; Tableau 4) marque

l'activation de la réponse au stress oxydatif à partir du milieu du gavage, en effet celui-ci joue un rôle dans le contrôle de la quantité d'espèces oxygénées activées et donc dans le maintien de l'homéostasie cellulaire. Les analyses protéomiques entre J0 et J12 montrent la modification entre le début et la fin du gavage de l'expression de 9 protéines impliquées dans le métabolisme du glutathion (G6PD, GSTK1, CTH, SOD1, GSTZ1, IDH1, GSTT1, GSTA1 et GSTA5) et de 7 protéines impliquées dans le stress oxydatif (SOD1, PDHA1, BPRDX4, HSD17B10, QDPR, GSTZ1 et RGN) (résultats IPA® non montrés). Ces résultats appuient nos études précédentes avec l'apparition de stress cellulaire et de phénomènes apoptotiques associés à une dégradation de la qualité technologique des foies (Théron et al., 2011 ; Awde et al., 2014 ; Bonnefont et al., 2014).

CONCLUSION

Après le 11^{ème} repas (J6), les foies dépassent le seuil réglementaire de 300 g pour être considéré comme un foie gras, leur teneur en lipides est de 42% et leur rendement technologique est maximal (98%). Jusqu'au 15^{ème} repas (J8), ce dernier reste très élevé (95%). Mais la prolongation du gavage se manifeste par une détérioration de ce paramètre associée à une augmentation du poids de foie ainsi qu'à l'apparition de stress oxydatif.

Il nous importe alors d'approfondir ces résultats pour savoir si certaines de ces modulations dans l'évolution de la croissance du foie ne correspondent pas à des étapes clés du métabolisme hépatique susceptibles d'amorcer chez certains animaux une saturation plus précoce des voies de la lipogénèse et conduisant en fin de gavage à un profil métabolique de stress cellulaire associé à une amplification des phénomènes apoptotiques sources de dégradation de la qualité technologique des foies et donc de leurs qualités organoleptiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Awde S., Marty-Gasset N., Prahkarnkao K., Rémignon H., 2014. JAF, (62), 3262–3268.
- Baudonnet-Lenfant C., 1993. Thèse de doctorat INP Toulouse, pp170.
- Beckonert O., Keun HC., Ebbels TMD., Bundy J., Holmes E., Lindon JC., Nicholson JK., 2007. Nat. Protoc., (2), 2692-703.
- Bonnefont CMD., Guerra A., Théron L., Molette C., Canlet C., Fernandez X., 2014. Poult. Sci., (93), 1542-52.
- Folch J., Lees M., Sloane Stanley GH., 1957. J. Biol. Chem., (226), 497–509.
- Litt J. et Pé MP., 11^e JRA-JRFG, 25-26 mars 2015, Tours, 147-152.
- Marie-Etancelin C., Basso B., Davail S., Gontier K., Fernandez X., Vitezica ZG., Bastianelli D., Baéza E., Bernadet-MD., Guy G., Brun JM., Legarra A., 2011. J Anim Sci., (89), 669-679.
- Théron L., Fernandez X., Marty-Gasset N., Pichereaux C., Rossignol M., Chambon C., Viala D., Astruc T., Molette C., 2011. JAF, (59), 12617-12628.
- Théron L., Cullere M., Bouillier-Oudot M., Manse H., Dalle Zotte A., Molette C., Fernandez X., Vitezica ZG., 2012. J Anim Sci., (90), 3312-3317.
- Théron L., Bouillier-Oudot M., Marie-Etancelin C., Bonnefont C., Fernandez X., Molette C., 2013. INRA Prod. Anim., (26,5), 415-424.

Tableau 1. Poids vif et composition corporelle de canards mulards au cours de la cinétique de gavage (moyenne \pm ET ; n = 15 à J0 ; n = 30 aux autres dates).

	J0	J2	J4	J6	J8	J10	J12	p
Consommation	0	860 \pm 44 ^f	2303 \pm 157 ^e	4004 \pm 219 ^d	5849 \pm 217 ^c	7769 \pm 218 ^b	9635 \pm 219 ^a	***
Poids vif MEG	4137 \pm 287	4130 \pm 282	4151 \pm 291	4142 \pm 278	4140 \pm 283	4142 \pm 283	4138 \pm 272	NS
Poids vif abattage	4140 \pm 289 ^f	4655 \pm 297 ^e	4920 \pm 349 ^e	5258 \pm 306 ^d	5713 \pm 396 ^c	6048 \pm 464 ^b	6495 \pm 440 ^a	***
Poids saigné plumé	3654 \pm 265 ^f	4154 \pm 279 ^e	4321 \pm 289 ^e	4702 \pm 283 ^d	5054 \pm 312 ^c	5359 \pm 348 ^b	5748 \pm 311 ^a	***
Poids carcasse		3334 \pm 232 ^c	3349 \pm 224 ^c	3489 \pm 306 ^c	3754 \pm 214 ^b	3871 \pm 255 ^{ab}	4100 \pm 228 ^a	***
Poids foie	84 \pm 18 ^f	216 \pm 25 ^e	256 \pm 28 ^e	343 \pm 39 ^d	458 \pm 92 ^c	599 \pm 101 ^b	758 \pm 106 ^a	***
Poids gras abdominal	28 \pm 12 ^f	44 \pm 13 ^e	54 \pm 16 ^e	71 \pm 13 ^d	87 \pm 16 ^c	109 \pm 22 ^b	122 \pm 19 ^a	***
Poids peau du muscle pectoral	74 \pm 11 ^f	80 \pm 15 ^f	98 \pm 13 ^e	122 \pm 12 ^d	145 \pm 17 ^c	172 \pm 22 ^b	184 \pm 21 ^a	***
Poids muscle pectoral	267 \pm 20 ^b	267 \pm 23 ^b	270 \pm 21 ^b	268 \pm 22 ^b	273 \pm 22 ^{ab}	283 \pm 23 ^{ab}	289 \pm 21 ^a	***
Poids cuisse	339 \pm 28 ^d	361 \pm 29 ^d	400 \pm 38 ^c	399 \pm 78 ^c	450 \pm 35 ^b	468 \pm 35 ^b	506 \pm 41 ^a	***
Gain de poids		525 \pm 118 ^f	769 \pm 245 ^e	1116 \pm 218 ^d	1573 \pm 298 ^c	1906 \pm 312 ^b	2357 \pm 336 ^a	***
IC		1,75 \pm 0,61 ^c	3,23 \pm 0,81 ^b	3,71 \pm 0,67 ^{ab}	3,84 \pm 0,72 ^a	4,18 \pm 0,68 ^a	4,17 \pm 0,58 ^a	***
Pois foie / Consommation		251 \pm 30 ^c	111 \pm 10 ^b	86 \pm 11 ^a	78 \pm 15 ^a	77 \pm 13 ^a	79 \pm 11 ^a	***

*** p < 0,001

a,b,c,d,e Deux dates avec des exposants différents sont statistiquement différentes.

Tableau 2. Caractéristiques des foies de canards mulards au cours de la cinétique de gavage (moyenne \pm ET ; n = 15 à J0 ; n = 30 aux autres dates). Les teneurs en lipides sont des valeurs prédites à partir des données des spectres mesurés dans le proche infra-rouge.

	J0	J2	J4	J6	J8	J10	J12	p
Poids (g)	84 \pm 18 ^f	216 \pm 25 ^e	256 \pm 28 ^e	343 \pm 39 ^d	458 \pm 92 ^c	599 \pm 101 ^b	758 \pm 106 ^a	***
Teneur en lipides (%)	4,60 \pm 1,37 ^e	14,12 \pm 2,18 ^f	29,41 \pm 4,82 ^e	41,75 \pm 4,41 ^d	48,54 \pm 4,10 ^c	52,60 \pm 3,15 ^b	56,21 \pm 3,55 ^a	***
Rendement technologique (%)				98 \pm 1 ^a	95 \pm 4 ^a	88 \pm 7 ^b	72 \pm 11 ^c	***
L*	35 \pm 2 ^e	49 \pm 2 ^d	55 \pm 3 ^c	56 \pm 2 ^c	60 \pm 3 ^b	63 \pm 2 ^a	65 \pm 3 ^a	***
a*	13 \pm 1 ^d	20 \pm 2 ^a	18 \pm 2 ^b	17 \pm 2 ^b	15 \pm 2 ^c	12 \pm 1 ^d	10 \pm 2 ^e	***
b*	10 \pm 1 ^e	22 \pm 2 ^d	28 \pm 3 ^c	31 \pm 3 ^b	32 \pm 3 ^{ab}	34 \pm 3 ^a	34 \pm 4 ^a	***

*** p < 0,001

a,b,c,d,e,f Deux dates avec des exposants différents sont statistiquement différentes.

Tableau 3. Corrélations entre la consommation en gavage, poids vif à l'abattage, poids du gras abdominal et les caractéristiques des foies (n=195).

	Consommation en gavage	Poids vif abattage	Poids gras abdominal	Foie Poids	Foie Rendement	Foie MS	Foie Lip	Foie MM ^Y	Foie L*	Foie a*	Foie b*
Consommation	1,00	0,88	0,87	0,94	-0,77	0,92	0,92	-0,84	0,84	-0,69	0,76
Poids vif abattage		1,00	0,86	0,90	-0,73	0,81	0,82	-0,78	0,79	-0,58	0,65
Poids gras abdominal			1,00	0,84	-0,66	0,81	0,82	-0,79	0,76	-0,58	0,69
Foie Poids				1,00	-0,84	0,86	0,86	-0,80	0,84	-0,68	0,69
Foie Rendement					1,00	-0,62	-0,62	0,58	-0,59	0,67	-0,41
Foie MS						1,00	0,99	-0,87	0,89	-0,52	0,86
Foie Lip							1,00	-0,87	0,90	-0,55	0,87
Foie MM ^Y								1,00	-0,82	0,23	-0,80
Foie L*									1,00	-0,51	0,89
Foie a*										1,00	-0,32
Foie b*											1,00

^Y Les MM ont été mesurées sur 65 échantillons représentatifs de l'ensemble des données.

Tableau 4. Liste des métabolites différentiels entre deux dates d'abattage. Les métabolites en vert augmentent au cours du temps alors que les métabolites en rouge diminuent.

Intervalles abattage	2 jours						4 jours					6 jours				8 jours				10 jours			12 jours	
Métabolites	J0-J2	J2-J4	J4-J6	J6-J8	J8-J10	J10-J12	J0-J4	J2-J6	J4-J8	J6-J10	J8-J12	J0-J6	J2-J8	J4-J10	J6-J12	J0-J8	J2-J10	J4-J12	J0-J10	J2-J12	J0-J12			
Isoleucine							+	+				+				+	+		+	+	+			
Lactate	+						+			+	+	+			+	+	+	+	+	+	+			
Alanine							+								+	+		+	+	+	+			
Thréonine	+						+			+	+				+	+	+	+	+	+	+			
Lysine							+								+	+		+	+	+	+			
Glutamine	+						+												+		+			
Creatine							+	+	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
Phosphocreatine							+	+	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
Phosphocholine	+			+			+	-		+				+	+	+		+	+	+	+			
Glycogene	+		+				+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
Serine	+	+					+	+				+	+	+		+	+	+	+	+	+			
Glycérophosphocholine	-							+					+				+			+				
Choline	-						-					-				-			-		-			
Glucose	-	+		-			+	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-			
Bétaïne	-									-		-		-		-	-	-	-	-	-			
TMAO	-									-		-		-		-		-	-	-	-			
Taurine	-									-		-		-		-		-	-	-	-			
Myoinositol	-						-			-		-		-		-		-	-	-	-			
Uridine										-									-	-	-			
AMP			-				-	-	-			-	-	-		-	-	-	-	-	-			
IMP			-				-	-	-			-	-	-		-	-	-	-	-	-			
ADP			-						-			-		-		-	-	-	-	-	-			
Proline							-	-	-			-	-	-		-	-	-	-	-	-			
Glutamate		-					-	-	-			-	-	-		-	-	-	-	-	-			
Glutathione réduit	-		-				-	-		+	+	-			+	-			-		-			
Succinate			+				-	+	+			-	-	+		-			-	-	-			
Glycine		-	+	-						-		-			-	-	-	-	-	-	-			
Glycérol		-	+	-						-		-		-		-		-	-	-	-			

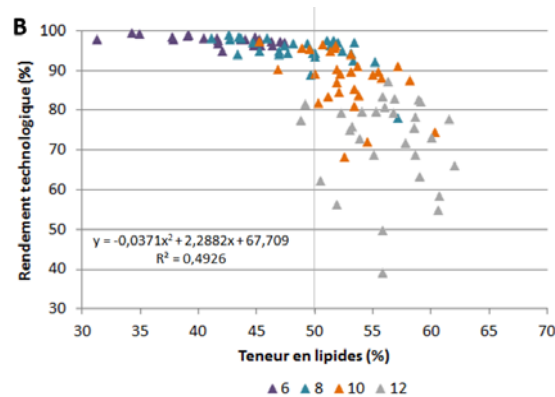
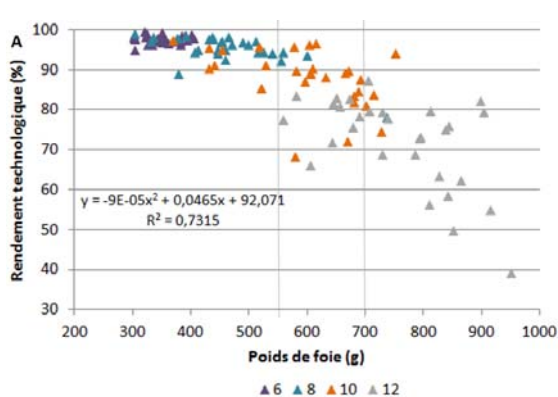


Figure 1. Evolution du rendement technologique des foies à la cuisson en fonction du poids de foie (A) et en fonction du taux de lipides des foies (B).