



Effets des régimes alimentaires riches en lipides et en fructose sur la performance et le métabolisme de canards Mulard

Mémoire

Leslie Delprat

Maîtrise en sciences animales - avec mémoire
Maître ès sciences (M. Sc.)

Québec, Canada

© Leslie Delprat, 2021

**Effets des régimes alimentaires riches en lipides et en
fructose sur la performance et le métabolisme de canards
Mulard**

Mémoire

Leslie Delprat

Sous la direction de :

Michel Lefrançois, directeur de recherche

Daniel Rico, codirecteur de recherche

Résumé

Certains types de glucides et de lipides sont capables de modifier la prise alimentaire et l'adiposité chez les rongeurs. À long terme, une alimentation riche en graisses et en fructose peut augmenter la prise alimentaire et provoquer une stéatose hépatique chez les mammifères. De tels régimes combinés avec du sirop de maïs à haute teneur en fructose (HFCS) dans l'eau pourraient entraîner un phénotype similaire chez les canards destinés à la production de foie gras.

Les buts de ces deux études étaient donc dans un premier temps, d'évaluer les effets à court terme d'un régime alimentaire riche en graisse et en fructose chez le canard mulard et dans un second temps, d'évaluer l'impact à long terme de ce type régime combiné à de l'eau de boisson sucrée.

Pour les deux études, 48 canards mulards mâles ont été bloqués en fonction de leur poids et répartis au hasard dans différents groupes suivant un dispositif en blocs complets. Pour la première étude, ils ont été répartis dans deux groupes : Témoin (C); régime riche en gras et en fructose (FF). 12 canards supplémentaires du même lot ont été euthanasiés le jour 0 pour les mesures de base. Après 14 jours, le sang ainsi que le foie d'une partie des animaux ont été aléatoirement collectés (n=12/groupe). Pour la seconde étude qui a duré 92 jours, les canards ont été répartis dans quatre traitements (n=12 par groupe) : régime témoin (C) ; régime de contrôle et eau sucrée (CSW); régime riche en graisses, riche en fructose (FF) ou régime riche en matières grasses, riche en fructose et eau sucrée (FFSW). Le HFCS-55 a été mélangé avec de l'eau du robinet (13% v/p) et fourni *ad libitum* aux groupes CSW et FFSW.

À court terme, nous avons pu constater une consommation énergétique plus faible pour les canards témoin ce qui suggère une altération potentielle des signaux de satiété. Cependant, à long terme, l'alimentation ainsi que l'eau de boisson sucrée a altéré négativement la consommation. Contrairement à nos attentes, ces types de régimes ont donc eu impact limité sur les canards mulards.

Mots clés : Canards, Fructose, Stéatose hépatique

Abstract

Different types of dietary carbohydrate and lipids are known to alter feed intake and adiposity in rodents. Long-term feeding of high-fat, high-fructose diets has been shown to alter feed intake and cause fatty liver in mammals. Such diets in combination with the addition of high fructose corn syrup (HFCS) in the drinking water may result in a similar phenotype in ducks destined for the production of foie gras.

The aims of these studies were therefore firstly to assess the short-term effects of a diet rich in fat and fructose in mulard ducks and secondly to assess the long-term impact of this type of diet combined with sugar water.

Despite its higher energy content, feed intake was not reduced by the FF diet, suggesting a potential alteration of satiety signals, which may impact body liver and weight under longer-term interventions in ducks destined to produce foie gras. However, HFCS in the drinking water reduced voluntary feed intake, whereas overall, FF and C had similar feed intake. In contrast to rodent and human studies, FF diets failed to induce hyperphagia and liver steatosis. In the absence of overfeeding, the long-term feeding of high-fructose, high-fat diets, does not promote fatty liver.

Key words: Ducks, Fructose, Liver steatosis

Table des matières

Résumé.....	ii
Abstract.....	iii
Liste des figures	vii
Liste des tableaux.....	vii
Abréviations.....	viii
Glossaire	ix
Remerciements	xi
Avant-Propos.....	xii
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
CHAPITRE I : Revue de littérature	5
Le foie gras, processus de production	6
I. Le canard Mulard	6
II. Le processus et les conditions d'élevage	7
III. La composition de la diète.....	7
IV. Critères de qualités du foie gras.....	8
La stéatose hépatique	12
Effets du régime alimentaire et de la stratégie alimentaire sur le métabolisme énergétique.....	14
I. La fréquence d'alimentation	14
II. La composition biochimique de la diète	15
III. Effets sur les hormones liées à la régulation de la prise alimentaire et au métabolisme énergétique	20
Métabolismes énergétiques du foie	23
I. Les glucides	23
II. Lipides.....	24
Le microbiote intestinal.....	26
Les alternatives actuelles au gavage traditionnel.....	27

Références bibliographiques	30
CHAPITRE 2: Article 1	37
Résumé	38
Abstract	39
Introduction.....	40
Materials and methods	41
I. Experimental design and sampling.....	41
II. Chemical and biochemical analyses.....	42
III. Statistical analyses.....	43
Results	44
I. Effects of diets on feed intake, body weight and carcass composition	44
II. Effect of diets on liver weight, adiposity and color	44
III. Effects of diets on plasmatic concentrations of NEFA and glucose.....	44
Discussion and conclusion.....	45
Littérature cited.....	49
CHAPITRE III: Article 2	58
Résumé	59
Abstract	60
Introduction.....	61
Materials and Methods	62
I. Experimental design and sampling.....	62
II. Chemical and biochemical analyses.....	63
III. Statistical analyses.....	64
Results	65
I. Effects of treatments on plumage cleanliness, feed intake and body weight	65
II. Effects of treatments on liver weight, lipid content, fatty acid composition and color	65

III. Effect on plasma non-esterified fatty acid	66
Discussion and conclusion.....	66
Littérature cited.....	70
CONCLUSION GÉNÉRALE	81
Références bibliographiques	84

Liste des figures

<i>Figure 1: Obtention d'un canard Mulard par croisement (selon rougie.ca)</i>	<i>2</i>
<i>Figure 2 : Répartition de la production mondiale de foie gras en 2014 (selon Itavi, 2018)....</i>	<i>3</i>
<i>Figure 3: Progression de la stéatose hépatique (Source : adaptée de :BFMTV)</i>	<i>13</i>
<i>Figure 4 : Structure de l'amidon (universelle).....</i>	<i>16</i>
<i>Figure 5 : Structure chimique du glucose.....</i>	<i>16</i>
<i>Figure 6 Structure chimique du fructose</i>	<i>16</i>
<i>Figure 7 : Induction de la lipogenèse du foie par SREBP-1c, ChREBP et LXR adaptée de Linden et al. (2018).</i>	<i>22</i>
<i>Figure 8 : Métabolisme du fructose en comparaison à celui du glucose</i>	<i>24</i>
<i>Figure 9 : Iléon et caecum de canards Mulard (photo personnelle).....</i>	<i>27</i>

Liste des tableaux

<i>Tableau 1 : Composition (%) du foie gras en fonction de l'espèce, source : Salichon et al., 1994.....</i>	<i>9</i>
<i>Tableau 2 : Critères de classification du foie gras selon les normes de qualité établies (SICA Saint-Sever).....</i>	<i>11</i>
<i>Tableau 3: Composition en acides gras du maïs (Dubois et al., 2007).....</i>	<i>18</i>
<i>Tableau 4 Composition du Faux Gras de Gaïa.....</i>	<i>28</i>

Abréviations

AMPc	<i>Adénosine monophosphate cyclique</i>
Apo B	Apolipoprotéine
ATP	<i>Adénosine triphosphate</i>
ChREBP	Carbohydrate-responsive element-binding protein
CIFOG	Comité interprofessionnel des Palmipèdes à Foie Gras
CPT-1	Carnitine palmitoyltransferase 1
HFCS-55	Sirop de maïs à haute teneur en fructose (55% fructose et 45% glucose)
PPAR- γ	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma
SREBP1c	Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1c
VLDL	Very Low Density Lipoprotein ou en français lipoprotéine de très basse densité, transporteur lipidique sanguin
LXR	Récepteurs nucléaires des oxystérols
2X	Régime restreint dans le temps, 2 repas par jour

Glossaire

Accoupage	Éclosion des œufs provoquée et contrôlée en couveuses artificielles.
<i>Ad libitum</i>	À volonté.
Adipocytes	Cellules du tissu adipeux, spécialiste du stockage des graisses
Apolipoprotéine	Lipoprotéine synthétisée par le foie et les intestins.
Autophagie	Dégradation du cytoplasme de la cellule par ses propres lysosomes.
Cirrhose	État de dégénérescence hépatique, mort du foie, greffe d'organe ou mort de l'individu.
Cycle <i>de novo</i>	Le cycle <i>de novo</i> est une voie métabolique permettant la synthèse de lipides à partir de substrats glucidiques.
Fibrose	Augmentation anormale de la quantité de tissus conjonctifs dans un organe.
<i>Gamma GT</i>	C'est une aminoacyltransférase qui catalyse la réaction : - peptide + acide aminé peptide + 5-L-glutamyl-acide aminé.
Hélice de Lynen	Voie métabolique de dégradation des molécules d'acides gras.
Isocalorique	Identique en termes de calories
Lipases	Enzymes digestives intestinales.
Lipogénèse	Phénomène de stockage des graisses dans l'organisme.
Lipolyse	Phénomène de destruction des graisses dans l'organisme, opposé à la lipogénèse.

Néoglucogénèse	Aussi appelée gluconéogenèse, correspond à la synthèse du glucose à partir de composés non glucidiques
Phospholipides	Lipide contenant de l'acide phosphorique, constituant important des cellules vivantes animales et végétales.
Portomicrons	Complexe de protéines, triglycérides et cholestérol (équivalents aux chylomicrons des mammifères).
Stéatose hépatique	Le foie devient gras du fait d'un excès de graisse dans les tissus.
Transaminases	Enzyme qui catalyse un type de réaction entre un acide aminé et un acide α -cétonique.
Triglycérides	Complexe formé d'un glycérol et de trois acides gras

Remerciements

Tout d'abord je remercie le programme de bourse Mitacs pour son soutien financier tout au long de ma maîtrise, mais aussi pour sa foi en mon projet.

Merci également à mon directeur Michel Lefrançois de m'avoir intégré dans son dernier projet.

Merci également à mon codirecteur Daniel Rico pour sa bonne humeur et surtout pour toutes les connaissances qu'il m'a permis d'acquérir, pour le temps qu'il m'a accordé ainsi que pour ses multiples relectures et conseils qui m'ont permis d'élaborer ce mémoire.

Ensuite, je voudrais remercier Yolaine Lebeuf et Nancy Bolduc qui m'ont aidée lors de toutes mes expérimentations en laboratoire, qui ont su répondre à mes multiples questions et me former aux méthylations.

J'aimerais aussi remercier l'équipe de recherche du Département des sciences animales de l'Université Laval qui m'ont permis de travailler à leurs côtés ainsi que l'équipe du CRSAD, dont notamment Hélène Lavallée pour son appui technique en production animale.

Je tiens aussi à remercier Margot Lehmann, Alexis Ruiz et Andréa Celemín Sarmiento.

Enfin je tiens à remercier ma famille et tout particulièrement ma cousine Fanny Delprat qui a su être là pour moi dès que j'en avais besoin, et ce malgré le décalage horaire.

Avant-Propos

Ce mémoire comporte une introduction générale, quatre chapitres et une conclusion générale. L'introduction est organisée comme suit : mise en contexte, hypothèses et objectifs. Le premier chapitre est quant à lui composé de la revue bibliographique, celle-ci porte sur la production conventionnelle de foie gras, le mécanisme de foie ainsi que son métabolisme énergétique. La fréquence d'alimentation, les microbiotes et les alternatives à la production actuelle sont aussi évoqués. Le chapitre deux est rédigé sous forme d'article scientifique et montre l'effet d'un traitement alimentaire à base de fructose sur une courte période sur les performances des canards mulards. Tout comme le chapitre précédent, le troisième chapitre est rédigé sous forme d'article scientifique et traite des effets d'un traitement alimentaire de longue durée à base de fructose additionnée ou non d'eau sucrée sur les performances des canards mulards. Le dernier chapitre est composé de la conclusion générale et apporte des éléments nouveaux pour comprendre les résultats. Pour finir, une conclusion générale vient clore ce mémoire.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La production de foie gras est une pratique initialement détectée sur les oies il y a 4500 ans en Égypte (Pingel et al., 2012). Cette technique est encore utilisée de nos jours notamment dans le Sud-Ouest de la France, mais aussi au Canada. Les animaux sont alimentés de force avec une diète composée essentiellement d'eau et de maïs de manière qu'ils accumulent le plus de graisse possible dans le foie. L'aptitude à la stéatose hépatique est naturelle chez les oies et les canards et est non pathologique réversible (Hermier et al., 1999). Le foie leur permet l'accumulation de grandes réserves d'énergie, nécessaires lors de leur migration. Ainsi, chez les palmipèdes, le foie est le site principal de la lipogenèse *de novo* (Leveille et al., 1975). L'environnement (période de l'année, température, photopériode) est donc un des facteurs principaux régissant la stéatose hépatique. Effectivement, selon (Guy et al., 2013) dès que la température baisse et que la durée du jour diminue, le métabolisme des oiseaux migrateurs change. Il induit l'accumulation des lipides dans les tissus notamment du foie afin de préparer les animaux à la migration.

Actuellement, la production mondiale de foie gras est essentiellement faite à l'aide de canards Mulard issus du croisement femelle canard Pékin et mâle canard de Barbarie (figure 1).



Figure 1: Obtention d'un canard Mulard par croisement (selon rougie.ca)

En élevage, les animaux sont gavés à l'âge de 12 semaines durant 14 jours. Afin d'obtenir le foie gras, les éleveurs gavent les canards avec une ration à base de maïs (de 300g en début de gavage à 600-700g en fin de période). Selon Hermier et al. (1994), à la fin de cette période, le poids du foie peut représenter jusqu'à 10% du poids total de l'animal.

L'Europe produit à elle seule environ 90% de la production mondiale de foie gras suivi par la Chine, les États-Unis et le Canada (Eurofoiegras, 2019). En 2014, la production mondiale de foie gras atteignait 25 600 tonnes dont près des trois quarts de la production totale étaient produits en France avec 19 242 tonnes (Itavi, 2017). Le Québec produit à lui

seul la totalité des canards gavés du Canada (Québec, 2020). Comme nous pouvons le voir sur la figure 2 ci-dessous, les États-Unis, le Canada et le Mexique représentaient 1,7% de la production mondiale en 2014.

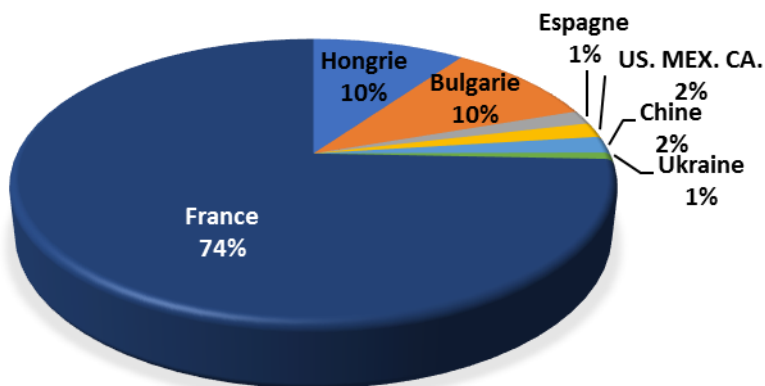


Figure 2 : Répartition de la production mondiale de foie gras en 2014 (selon Itavi, 2018)

Cependant, la production de foie gras est controversée à travers le monde à cause du gavage effectué sur les animaux (oies, canards). De ce fait, elle a même été interdite dans certains pays ou états par exemple en la Californie pour les États-Unis (Forth, 2018). On assiste à une montée du végétarisme, du véganisme (Asano and Biermann, 2019) et à la diffusion d'une multitude d'images-chocs contre la production animale notamment dans les pays développés. Les éleveurs sont sans cesse critiqués et sollicités pour améliorer les conditions animales. Face à ce contexte, l'élaboration de méthodes alternatives au gavage pour la production de foie gras s'avère obligatoire pour maintenir la production de cet aliment de luxe à long terme.

Le but de ce projet était donc d'étudier les effets du régime alimentaire sur les performances et le métabolisme des canards Mulard afin d'évaluer leur potentiel pour remplacer le gavage traditionnel. Pour ce faire, cette étude a évalué l'effet de la composition chimique des diètes des canards Mulard. En effet, les diètes étudiées étaient riches en fructose et en lipides avec très peu de choline afin d'amplifier le phénomène de la stéatose hépatique et de diminuer la sensation de satiété des animaux. Comme démontré chez la souris, on s'attendait à ce que ce type de diète engendre une augmentation de la prise alimentaire et par conséquent une accumulation de lipides dans le foie (Martinez-Lopez et al., 2017).

Les diètes étudiées étaient donc composées d'une grande quantité de fructose (plus de 40%). En effet, contrairement au glucose, le fructose ne semble pas stimuler la sécrétion d'insuline par les cellules pancréatiques (Rodin, 1991). Or, l'insuline est certainement un des éléments clés de la chaîne de réaction aboutissant à la synthèse et à la sécrétion de leptine entraînant la sensation de satiété (Woods et al., 1979; Schwartz and Morton, 2002; Harrold et al., 2012). En outre, le fait d'utiliser du fructose et du glucose dans la ration (expérience 1 et 2) et dans l'eau (expérience 2) devait nous permettre d'augmenter la prise alimentaire des canards par inhibition de la ghréline (Schwartz and Morton, 2002) grâce à la stimulation de l'insuline et de la leptine. Par conséquent, ces régimes alimentaires devaient déclencher un « auto-gavage » chez les animaux.

L'étude comporte en ce sens, deux objectifs principaux étudiés à l'aide de deux phases expérimentales :

- Évaluer l'impact de la composition en macronutriments (fructose, glucose et lipides) de la diète sur la consommation, le microbiote intestinal et l'accumulation des lipides dans le foie chez les canards.
- Évaluer l'impact de l'augmentation des lipides alimentaires et de la supplémentation en fructose de l'eau de boisson sur l'accumulation de graisse dans le foie et la consommation d'aliments.

CHAPITRE I : Revue de littérature

Le foie gras, processus de production

I. Le canard Mulard

Les canards Mulard sont des palmipèdes qui comme les oies cendrées sauvages (*Anser anser*) disposent de la faculté d'accumuler des graisses dans le foie afin de subvenir à leurs besoins énergétiques durant la migration (Cornelius et al., 2013; Guy et al., 2013). Ils équivalent à 90% de la production française de foie gras qui elle-même représentait 75% de la production mondiale en 2015.

Contrairement à l'oie, le canard possède un jabot beaucoup plus développé, ce qui lui permet d'ingérer une plus grande quantité de nourriture. Leur gésier est cependant moins musclé. Il peut développer des pressions de 180 mm de mercure contre 275 pour l'oie (Sturkie, 1986). Cette différence influence donc la fréquence d'administration (2 repas par jour pour le canard contre 3 pour l'oie selon (Blum et al., 1970) ainsi que la quantité de nourriture qui va leur être proposée à chaque prise.

Chez les monogastriques, l'absorption des glucides dépend de leur nature par des enzymes et/ou de la microflore bactérienne. Par exemple, l'assimilation de l'amidon contenu dans le maïs a principalement lieu dans l'intestin grêle à l'aide de l' α -amylase pancréatique et d'autres enzymes glycolytiques (Champ, 1985). Pour ce qui est des glucides pariétaux, l'absorption a essentiellement lieu dans le caecum et le colon où ils sont fermentés en acides gras volatiles et en gaz par la flore microbienne anaérobie (Champ, 1985; Vasai et al., 2014).

Les lipides alimentaires sont également absorbés au niveau de l'intestin grêle des volailles où ils ont été assemblés sous forme de portomicrons (équivalent à de plus gros chylomicrons chez les mammifères) avant d'être libérés dans la circulation porte. À par la suite, les portomicrons vont en partie être captés par le foie puis envoyés dans la circulation générale. Une partie des lipides qu'ils transportaient, notamment les acides gras polyinsaturés essentiels (tel que l'acide linoléique (C18 :2 n-6)) qui constituent environ 53% des acides gras totaux du maïs vont être utilisés par le foie (Baeza et al., 2013).

II. Le processus et les conditions d'élevage

Les conditions d'élevage pour la production de foie gras sont similaires dans toutes les exploitations. L'entreprise Rougié qui nous a fourni les animaux pour l'expérience, située à Saint Hélène de Bagot (Québec), reçoit les œufs fécondés de race Mulard au stade de 28 jours. Après accoupage des œufs, les canetons ont accès durant 12 semaines à l'eau et la nourriture à volonté. Durant les semaines 0 à 4, les bâtiments sont chauffés à 25°C puis la température diminue jusqu'à atteindre 15°C lors de la phase de gavage. En raison de leur dimorphisme sexuel, seuls les canards mâles sont gavés. Leur foie est plus gros que celui des femelles. De plus, en France selon l'arrêté du 23 février 1996 (Paquot épouse Negny, 2002) le foie de canard ne peut provenir que de mâles.

Après la phase d'élevage et de croissance, on assiste à une période dite de pré-gavage où les canards sont alimentés de façon restreinte dans le temps afin de développer l'élasticité du jabot, ainsi que de stimuler les fonctions digestives qui seront nécessaires durant la période de gavage.

En phase de pré-gavage, le canard consomme progressivement de 220 à 400g de nourriture par jour. À la suite de cette phase, la dernière étape est celle du gavage durant 10 à 12 jours. Ensuite, le canard est placé dans des cages par groupe de 3 individus et est gavé toutes les 12 heures au maïs à l'aide d'une gaveuse. Les bâtiments y sont ventilés (10 à 15°C pour les canards Mulard) et éclairés (8h de lumière par jour). En période de gavage, le canard reçoit une ration plafonnée entre 400g et 500g par repas soit en moyenne 10,7 kg de maïs/canard Mulard durant l'ensemble de la période (Salichon et al., 1994).

III. La composition de la diète

L'alimentation du canard pour la production de foie gras est essentiellement à base de maïs. En période de croissance et de pré-gavage, le maïs est fourni sous forme de granulés. Pour ce qui est du gavage, le maïs est gonflé dans de l'eau chaude avec un peu d'huile pour lubrifier l'œsophage. On peut y ajouter du vinaigre pour désinfecter l'œsophage en cas de lésions (Vincent Hattry, éleveur à Aubiet dans le Gers, France). Des formules à base de maïs, de mélasses issues de céréales, de tourteau de soja ou encore de farine de luzerne peuvent être utilisées (Babile et al., 1980).

Cependant, le maïs est la céréale la plus utilisée du fait de son pourcentage d'assimilation dans l'organisme (100% chez les volailles) contrairement à l'orge (50%) ou

encore au millet (65%). Le maïs est composé à 72% d'amidon, 10% de protéines et 4,3% de lipides (Saulnier, 2012).

Dans le maïs, la principale source de carbones de la ration provient des glucides présents majoritairement sous forme d'amidon. Ils sont nécessaires à l'apparition de la stéatose hépatique.

Cependant, ce régime est assez pauvre en protéines (10%). En effet, le ratio énergie/protéine est très élevé et favorise ainsi la synthèse de lipides chez les oiseaux (Baéza et al., 2013). Or, une des fonctions du foie est de maintenir l'homéostasie glucidique (Baéza et al. 2013). Pour cela, le foie va donc convertir le glucose en excès en acide gras (Browning and Horton, 2004) et donc favoriser la stéatose hépatique.

Enfin, le maïs est une céréale contenant peu de choline, d'acide folique, de méthionine et pas de vitamine B12. Or, il a été démontré que, chez les rats soumis à des diètes carencées à l'un ou plusieurs de ces composés présentait des stéatoses hépatiques (Baéza et al., 2013). Chez les canards, une carence en choline pourrait également engendrer la stéatose hépatique (Gabarrou et al. 1996). La carence en plusieurs de ces composés limite l'export des VLDL et favorise l'accumulation des lipides dans le foie. Il s'avère donc que l'utilisation de maïs pour la production de foie gras est idéale pour ce type de production.

IV. Critères de qualités du foie gras

La composition du foie gras ne diffère pas significativement selon l'espèce de canard gavée (tableau 1). Cependant, nous pouvons remarquer que la composition en lipides, en eau, en protéine et en cendre est significativement différente ($P < 0,01$) entre l'oie et le canard.

Tableau 1 : Composition (%) du foie gras en fonction de l'espèce, source : Salichon et al., 1994

Espèces	Lipides **	Eau **	Protéines *	Cendres *	Autres ³
Oie	54,6 ^a ± 4,3	32,7 ^a ± 3,1	8,3 ^a ± 0,9	0,7 ^a ± 0,1	3,7
Canard mulard	60,5 ^b ± 4,4	28,5 ^b ± 3,4	6,9 ^b ± 1	0,6 ^b ± 0,1	3,5
Canard de Barbarie	62,6 ^b ± 1,8	27,4 ^b ± 1,8	6,4 ^b ± 0,6	0,5 ^b ± 0,1	3,1

¹ Valeurs moyennes ± écarts types (n = 9). ² Les valeurs qui sont suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes (* P < 0,01 ; ** P < 0,001). ³ Obtenus par différence, nature indéterminée.

On considère qu'un foie gras est composé à 60% de lipides, 30% d'eau, 7% de protéines, 0,6% de minéraux (cendres) et enfin 3 à 4% d'autres constituants.

Un foie de canard maigre, c'est-à-dire sans gavage, contient peu de lipides qui sont essentiellement des phospholipides (Salichon et al., 1994). Avant gavage, les lipides du foie sont composés de 60-65% de phospholipides, 30% de triglycérides et 6% de cholestérol (Salichon et al., 1968).

Cependant, le processus de gavage modifie la composition du foie des canards. En effet, on observe une augmentation de la masse lipidique aux dépens de l'eau et des protéines ainsi qu'une faible teneur en minéraux (cendres). Concernant la composition lipidique du foie « gras », le gavage engendre une diminution considérable du pourcentage de phospholipides et une augmentation du pourcentage de triglycérides. Effectivement, en fin de gavage, les lipides du foie sont composés de 10% de phospholipides, de près de 90% de triglycérides et de 2% de cholestérol (Salichon et al., 1968). Ces modifications sont dues à l'apport important de lipides et de glucides par l'alimentation forcée qui engendre une saturation des capacités à déposer des triglycérides dans les tissus adipeux et donc, un dépôt important dans le foie (Babilé, 1989).

Pour être considéré comme gras, le foie d'un canard doit peser plus de 300 grammes.

Outre son poids, son aspect, sa consistance et son odeur sont des paramètres importants selon Paquot épouse Negny (2002) :

- Aspect : Le foie doit être coloré de manière uniforme d'une couleur blanche rosée à jaune dépendamment du type de maïs donné dans la ration (maïs blanc ou jaune). Le foie ne doit pas présenter de tâches, de pétéchies, ni de vaisseaux apparents ou de foyers hémorragiques qui reflèteraient une mauvaise saignée. De plus, l'organe doit paraître lisse et homogène.
- Consistance : Le foie doit être ferme, onctueux et souple au toucher. Il doit être en capacité de garder l'empreinte du doigt. En effet, si le foie est mou, cela traduit une dégénérescence graisseuse, ce qui n'est pas souhaité. Au contraire, s'il est dur, cela est synonyme de cirrhose. La surface doit également être sèche.
- Odeur : L'odeur ne doit pas être trop prononcée. Elle doit être « normale ».

Selon ces critères, les foies peuvent être classés dans différentes catégories (cf. tableau 2, selon Paquot 2002) :

Tableau 2 : Critères de classification du foie gras selon les normes de qualité établies (SICA Saint-Sever)

Qualité	Poids	Apparence	Texture	Odeur
Extra A	Min. 400gr	Paroi extérieure lisse, couleur blanche rosée uniforme, absence de taches rougeâtres ou sanguines, de défauts apparents.	Ferme, mais souple au toucher (les foies caoutchouteux, mous et durs sont exclus).	Pas d'odeur prononcée
Extra B		Même critère que l'extra A mais couleur moins uniforme, présence de tâches rougeâtres ou sanguines peu prononcées.		
2 ^{ème} catégorie	Min. 300gr*	Tous les foies normalement engraisés, mais ne répondant pas aux critères énoncés ci-dessus à l'exception des foies de « volailles ».		
Volaille	Foies non engraisés			

*Plan européen, 11 octobre 1995

La stéatose hépatique

La stéatose hépatique est une maladie réversible et évolutive liée à l'accumulation de lipides dans le foie. C'est cette pathologie que nous observons chez les canards à foie gras en fin de gavage. Cette maladie métabolique présente différents stades : stéatose simple (accumulation de lipides), stéatose avec inflammation non spécifique, stéatohépatite (stéatose avec lésions hépatiques), cirrhose (présence de fibrose) et enfin à l'hépatocarcinome (Brunt and Tiniakos, 2002; Collantes et al., 2004).

a. Simple

La stéatose hépatique est une accumulation de lipides dans le foie. Un régime trop riche en sucres et en graisses entraîne un excès d'acides gras libres et de ce fait, une accumulation d'adipocytes constitués de triglycérides, d'acide gras et de cholestérol dans le foie (Ratziu et al., 2005). La stéatose hépatique simple induit une insulino-résistance du fait que l'insuline produite en continu tente de diminuer en vain la concentration de sucres dans les tissus. Effectivement, l'insuline promeut l'absorption du glucose en circulation par les tissus. Il s'agit d'une hormone à activité anabolique. La stéatose induite chez les palmipèdes est intense puisque chez l'oie, le poids du foie peut être multiplié par 10 en 15 jours, passant de 100 g à 1 kg représentant ainsi jusqu'à 10% du poids corporel (Hermier et al., 1999). La réversibilité de la stéatose hépatique chez les palmipèdes gavés a été démontrée pour prouver l'origine non pathologique de cet état physiologique particulier. Contrairement à la stéatose d'origine pathologique, la stéatose chez les palmipèdes n'induit pas de lésions histologiques (Blum et al., 1970: 19). En effet, il y a une quasi-disparition de la stéatose hépatique, lorsqu'un animal gavé durant 2 semaines dispose ensuite d'un libre accès à la ration de base (Bengone-Ndong, 1996).

b. Non alcoolique

La stéatose hépatite non alcoolique ou encore appelée NASH (NonAlcoholic SteatoHepatitis) est une aggravation d'une stéatose hépatique simple (Ratziu et al., 2005). Elle est caractérisée par une stéatose, des anomalies hépatiques (augmentation du taux de transaminases ou de Gamma GT (GGT)) dans le sang, une inflammation du foie accompagnée d'une nécrose hépatocellulaire (Figure 3).

Cette pathologie survient chez des patients n'ayant pas de maladie alcoolique du foie. Une des causes majeures de cette maladie est l'insulino-résistance. En effet, les

patients en surpoids, notamment ceux ayant déjà une stéatose hépatique, produisent une forte quantité d'insuline dans le sang dans le but de faire diminuer le taux de sucre en circulation. Or, les cellules hépatiques s'épuisent dans le temps, la sensibilité à l'insuline diminue soit sa concentration dans le sang aussi ce qui augmente le taux de sucre en circulation. Le patient développe un diabète de type 2. Le fait d'être en hyperinsulinémie trouble le métabolisme des triglycérides intrahépatiques. En effet, les hépatocytes produisent des leptines responsables de la satiété; or dans le cas d'un métabolisme troublé, la leptine n'agira plus et le patient mangera toujours plus (Heek et al., 1997). La stéatohépatite non alcoolique est réversible et asymptotique comme la stéatose hépatique simple.

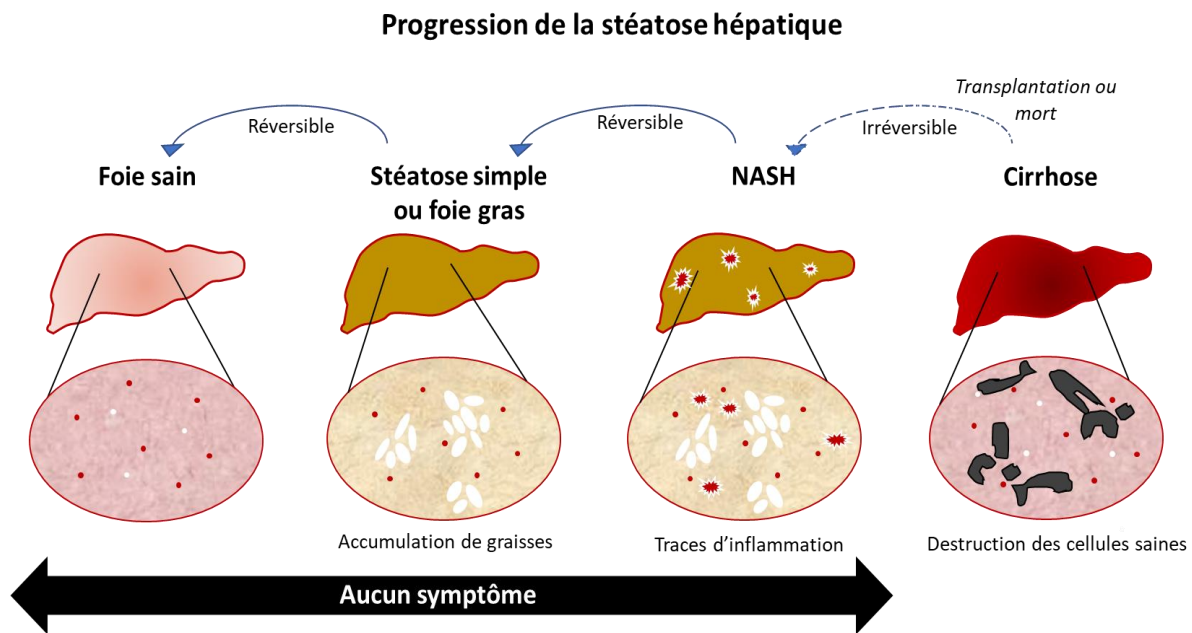


Figure 3: Progression de la stéatose hépatique (Source : adaptée de :BFMTV)

c. La cirrhose

La cirrhose est une maladie du foie découlant de toute maladie hépatique chronique (ex : stéatohépatite non alcoolique). Elle constitue la phase extrême d'aggravation de stéatose hépatique et est un phénomène irréversible qui peut entraîner la mort de l'organe et par la suite de l'individu. Les individus ayant une cirrhose hépatique sont sujets à des complications telles que le développement de carcinome hépatocellulaire.

Dans le cas d'une cirrhose hépatique, les cellules endommagées sont remplacées par des tissus conjonctifs appelés tissus cicatriciels on assiste alors à la fibrose. Les cellules hépatiques défaillantes sont remplacées petit à petit par du tissu conjonctif ce qui aboutit à la dégénérescence de l'organe (Bernard et al., 2008). Il est difficile de détecter la cirrhose hépatique du fait que le patient n'a aucun symptôme, il est donc important de suivre les patients à risque (diabétiques, prédispositions génétiques, etc.).

Effets du régime alimentaire et de la stratégie alimentaire sur le métabolisme énergétique

I. La fréquence d'alimentation

Chez le mammifère, la restriction du temps d'accès à la nourriture a des effets sur le métabolisme basal, de sorte que les dépenses énergétiques augmentent avec la restriction (Martinez-Lopez et al., 2017).

L'accès *ad libitum* à un régime alimentaire riche en graisses provoque chez les souris : l'obésité, la résistance à l'insuline, la stéatose hépatique, l'hypercholestérolémie et la dyslipidémie (Wang and Liao, 2012). En revanche, l'accès *ad libitum* au régime alimentaire riche en fructose n'entraîne pas d'augmentation marquée de l'adiposité, mais conduit à une intolérance au glucose et à une stéatose hépatique (Tetri et al., 2008; Mellor et al., 2011; Samuel, 2011). En d'autres termes, un régime riche en fructose favorise l'accumulation des graisses dans le foie.

Avec leur expérimentation menée chez la souris Martinez-Lopez et al., (2017) ont aussi démontré qu'avec un régime isocalorique, l'apport de nourriture deux fois par jour induisait plusieurs voies métaboliques favorables à la perte de poids ainsi qu'à la prévention du diabète. Cette expérience consistait à nourrir deux lots de souris avec un régime isocalorique selon deux stratégies alimentaires (*ad libitum* VS 2X : 2 repas de 2h par jour). Chez la souris, une différence significative a été observée entre les souris alimentées selon le régime 2X (deux fois par jour) et celles alimentées avec le régime *ad libitum*. Les souris alimentées avec le régime *ad libitum* ont eu significativement un poids plus élevé que les autres (Martinez-Lopez et al., 2017).

De plus, cette étude démontre que le régime 2X engendre une augmentation de l'oxydation des lipides dans le foie entraînant une diminution de la lipogenèse et donc, une diminution de lipides dans le foie en comparaison au régime *ad libitum*. Le régime 2X entraîne la diminution de la néoglucogenèse dans le foie diminuant ainsi, le taux de glucose dans le foie et dans le sang (Martinez-Lopez et al., 2017).

Les facteurs expliquant la prise de poids avec un régime administré à volonté seraient la quantité d'énergie ingérée quotidiennement ainsi que le métabolisme basal. Cependant, étant donné que les régimes étaient isocaloriques l'hypothèse suivante a été émise : la modification du métabolisme basal, comme démontré serait responsable de la différence sans pour autant que la prise alimentaire selon le traitement, soit significativement différente.

II. La composition biochimique de la diète

Les rations que l'on a testées étaient constituées en majeure partie de glucides (fructose) et de lipides (acide palmitique, acide oléique et linoléique), ce qui diffère de la ration traditionnelle composée en majeure partie d'amidon (maïs). Dans la seconde étude, le taux de protéine était également élevé (14%).

- Les glucides

Lors de la production conventionnelle de foies gras, la principale source de glucide provient de l'amidon contenu en grande quantité dans le maïs (72% d'amidon, 10% de protéine et 4,3% de lipide selon Saulnier (2012).

L'amidon est un homopolymère d'amylose et d'amylopectine. C'est un sucre complexe constitué de D-glucose reliés par des liaisons d'amylopectine (Figure 4). Il est hydrolysé par des amylases présentes dans la salive et les sucs pancréatiques en dextrine, maltose et glucose. Enfin, les dextrans et le maltose sont hydrolysés en glucose sous l'action de l'isomaltase et de la maltase.

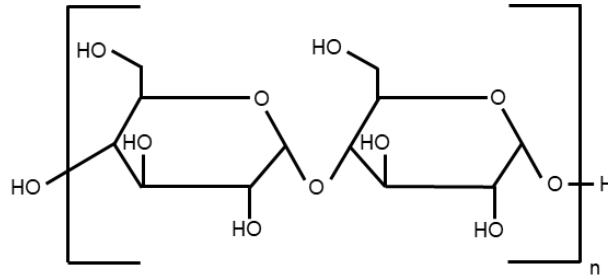


Figure 4 : Structure de l'amidon (universelle)

Le glucose est un sucre simple nommé ose (Figure 5) stocké dans les organismes sous forme de glycogène. Il constitue la première source de carbone pour la production d'ATP soit d'énergie indispensable au bon fonctionnement du métabolisme. La consommation et par conséquent la consommation de glucose sont régulées par un grand nombre d'hormones (leptine et ghréline notamment).

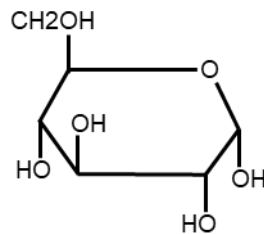


Figure 5 : Structure chimique du glucose

Afin de stimuler l'hyperphagie des palmipèdes, les rations « hypercaloriques » ont contenu une grande quantité de fructose qui est un isomère du glucose contenu dans l'amidon de maïs. Il s'agit d'un sucre simple appartenant à la famille des cétooses. Contrairement au glucose, il possède un groupement cétone en position 2 et non un groupement aldéhyde en position 1 (voir figure 6). Comparée au glucose, son utilisation entrainerait une résistance à certaines hormones de satiété et stimulerait la synthèse *de novo* et donc l'augmentation du stockage de lipides dans les tissus.

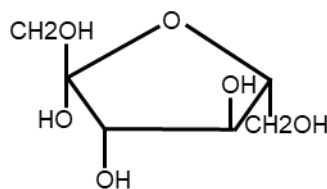


Figure 6 Structure chimique du fructose

En effet, le fructose possède le pouvoir de ralentir la sécrétion d'insuline, ce qui engendre une diminution de la production de leptine chez les mammifères (Woods et al., 1979; Rodin, 1991). Or la leptine est considérée comme l'hormone de la satiété, c'est-à-dire qu'elle permet de diminuer les sensations de faim et d'appétit (Halford et al., 1998). En ce sens, une ration composée de fructose devrait favoriser la prise alimentaire, ce qui n'est pas le cas d'une ration composée de glucose. L'augmentation de l'ingestion d'aliment devrait permettre l'assimilation de plus de calories et donc une plus grande accumulation de graisse, ce qui devrait engendrer une stéatose hépatique du foie plus importante.

- Les lipides

Comme mentionné plus haut, le maïs contient 4,3% de lipides (Saulnier, 2012) dont l'acide linoléique (C18 :2 n-6) qui représente environ 53% des acides gras totaux de la céréale (Baeza et al., 2013).

Comme nous pouvons le voir dans le tableau 3 ci-dessous, le maïs est composé de 57,1% d'acide gras polyinsaturés couramment nommés oméga 3 et 6. L'acide linoléique (oméga 6) et l'acide alpha linoléique (oméga 3) ne peuvent pas être synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Ils sont dits essentiels.

Les acides gras polyinsaturés sont des constituants des membranes cellulaires alors que les polyinsaturés dits essentiels permettent la régulation des gènes, dont ceux impliqués dans le métabolisme lipidique (Guesnet et al., 2005).

Pour toutes les raisons mentionnées plus bas, les rations « hyper-caloriques » que nous avons mises au point contenaient beaucoup d'acides gras palmitiques, oléiques et linoléiques.

L'acide palmitique (16 :0) est un acide gras saturé. Selon Guesnet et al. (2005), il démontre un effet hypercholestérolémiant. C'est-à-dire qu'il favorise l'augmentation du cholestérol dans le sang. Or, le cholestérol compose 6% des lipides du foie (Salichon et al., 1968). En d'autres termes, l'acide palmitique favorise la stéatose hépatique.

Tableau 3: Composition en acides gras du maïs (Dubois et al., 2007)

Maïs	
Type d'acide gras	Teneur (%)
C16:0	12,3
C18:0	1,9
C20:0	0,4
C22:0	0,1
C24:0	0,1
Total AGS	14,8
C16:1 <i>n</i> -7	0,1
C18:1 <i>n</i> -9	27,7
C20:1 <i>n</i> -9	0,3
C22:1 <i>n</i> -9	0,0
Total AGMI	28,1
C18:2 <i>n</i> -6	56,1
C18:3 <i>n</i> -3	1,0
Total AGPI	57,1
Total <i>n</i> -6	56,1
Total <i>n</i> -3	1,0
Ratio <i>n</i> -6/ <i>n</i> -3	56

L'acide oléique (18 :1 ω 9) quant à lui est un acide gras mono-insaturé. Or, ce type d'acide gras est utilisé comme source d'énergie par l'organisme. Il peut également être estérifié dans tous les types de lipides et en particulier dans les triglycérides de dépôt (tissu adipeux). L'acide oléique estérifie aussi le cholestérol (Legrand, 2007).

L'acide linoléique (18 :2 ω 6) et l'acide alpha linoléique (18 :3 ω 3) sont des acides gras essentiels c'est-à-dire qu'ils ne peuvent pas être synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Ils sont issus de l'acide oléique par une suite de réactions d'élongation et de désaturation (Legrand, 2007). Ces acides gras polyinsaturés sont des constituants des membranes cellulaires et les polyinsaturés essentiels ont un rôle dans la

régulation des gènes tel que ceux impliqués dans le métabolisme lipidique (Guesnet et al., 2005).

- La choline

La choline est impliquée dans le métabolisme lipidique. Elle permet l'exportation des triglycérides du foie vers les tissus périphériques. Il s'agit d'un précurseur des VLDL. Selon Sauvant et al., (2002), la choline est très présente dans l'alimentation (jusqu'à 7g/kg) bien que le maïs utilisé pour le gavage en contienne peu (0,4 à 0,6g/kg). L'utilisation d'un aliment contenant peu de choline tel que le maïs dans la ration des palmipèdes à foie gras limite l'exportation des triglycérides vers les tissus périphériques et favorise donc l'engraissement du foie (Baeza et al., 2013; Denis et al., 2019).

Dans l'ensemble des rations utilisées, il y a donc eu très peu de choline de manière à favoriser le stockage des graisses dans le foie et pas dans les tissus périphériques.

- Les protéines

Les protéines sont des macromolécules d'origine biologique qui sont essentielles aux fonctionnements des êtres vivants. Elles sont composées de divers acides aminés et jouent un rôle : structural, hormonal, enzymatique et moteur.

En grandes quantités dans les rations alimentaires, les protéines augmentent plus intensément la sensation de satiété par rapport aux glucides et aux lipides (Long et al., 2000). Elles possèderaient l'effet de satiété le plus fort par rapport aux autres macronutriments (Jahan Mihan, 2017). La vitesse de digestion des protéines varie en fonction de leur source et de leurs propriétés physicochimiques (Gilbert et al., 2011). Par exemple, chez les humains, les protéines provenant des poissons se digèrent plus lentement que celles issues de bœufs ou de volailles (Jahan-Mihan et al., 2011). Chez les animaux obèses, les régimes riches en protéines ont induiraient une diminution de la prise alimentaire ainsi qu'une plus grande perte de poids (Bong et al., 2010; Kim et al., 2012).

En ce qui concerne les protéines végétales, peu d'études ont été faites pour les comparer aux protéines animales, mais il semblerait qu'il n'y est pas de différence (Douglas et al., 2015).

III. Effets sur les hormones liées à la régulation de la prise alimentaire et au métabolisme énergétique

Comme dit précédemment, la stéatose hépatique est d'origine alimentaire et résulte de divers mécanismes. Une forte activité lipogénique combinée à une faible exportation des lipides hépatiques néosynthétisés ainsi qu'une faible rétention des lipides circulant par les tissus périphériques favorise le retour vers le foie (Baeza et al., 2013).

- La leptine et la ghréline, hormones directement liées à la prise alimentaire

La ghréline et la leptine sont deux hormones antagonistes directement liées à la prise alimentaire. La ghréline stimule l'appétit et donc la prise alimentaire. Sa teneur diminue lors de la prise alimentaire et augmente en état de jeûne. La leptine est quant à elle une hormone peptidique impliquée dans la régulation des réserves graisseuses de l'organisme. Également surnommée hormone de satiété, c'est une cytokine produite par les adipocytes présents dans la circulation sanguine. Elle augmente la sensation de satiété au cours des repas (Cassy et al., 2001). Chez le poulet, c'est en 1998 que le gène codant pour cette hormone a été mis en évidence (Taouis et al., 1998).

Chez le poulet, la leptine s'exprime plus dans les tissus adipeux et particulièrement dans le foie. Cette expression génique dans les cellules hépatiques est en lien avec la lipogenèse des volailles (Leveille et al., 1975). En clair, selon Boden (1996), la prise alimentaire induit l'augmentation du taux de leptine dans le sang alors que l'état de jeûne le fait diminuer.

De plus, selon Teff et al. (2004) une alimentation chronique en fructose comme dans ces études induit une résistance à la leptine. Ce type d'alimentation engendre donc à un dérèglement alimentaire. Chez le rat, la perturbation engendrée par cette leptino-résistance ajoutée à un régime riche en graisse favorise la prise de poids et le taux d'adiposités (Teff et al., 2004). En choisissant un tel régime pour nos canards (Fructoses + graisses) nous nous attendons à induire un phénomène similaire et donc la stéatose hépatique permettant la production de foie gras.

- Insuline et glucagon, hormones indirectement liées à la prise alimentaire

L'insuline et le glucagon sont deux hormones indirectement liées à la prise alimentaire dite clés du métabolisme du glucose et donc de la production d'énergie sous

forme d'ATP. Dans le cas d'une glycémie élevée (post-repas), l'insuline a pour but de diminuer le taux de glucose circulant dans le sang en induisant principalement son stockage dans le foie et les muscles squelettiques sous forme de glycogène. C'est la voie de la glycogénogenèse.

Dans le cas inverse, c'est-à-dire en baisse de glycémie, lorsque le corps a besoin d'énergie, le glucagon va dans un premier temps agir sur le foie en transformant le glycogène en glucose. Dans un second temps, le glucose va être libéré dans la circulation sanguine. Il s'agit de la glycogénolyse. Cette hormone a donc pour rôle d'augmenter le taux de sucre dans le sang. Pour se faire, il va augmenter la concentration d'AMPc et induire la phosphorylation du glycogène synthase. En présence de substrat est phosphorylé, son action est inactivée. On a donc un arrêt du stockage sous forme de glycogène.

- Gènes de régulation et facteurs de transcription

L'insuline active le facteur de transcription SREBP (Sterol Regulatory Element-Binding Protein) dont notamment l'une de ses trois isoformes SREBP-1c (proteine-1c) contenues dans le foie (Tian et al., 2018). SREBP-1c active la synthèse des acides gras, des triglycérides et du cholestérol dans l'ensemble des organes (Horton et al., 2002). Par conséquent, leur hyperactivation peut provoquer la stéatose hépatique, la cirrhose voir une insuffisance hépatique (Moon et al., 2012).

Le glucose active le facteur de transcription « Carbohydrate Response Element Binding Protein » (ChREBP) qui active la glycolyse et la synthèse d'acides gras (Linden et al., 2018).

Les SREBP-2 quant à eux, activent les LXR (récepteurs nucléaires des oxystérols) du foie par le biais de ligands. Les LXR vont eux aussi venir activer les SREBP-1c et ChREBP (Linden et al., 2018). En outre, selon Linden et al. (2018), la lipogenèse dépend de l'action de : SREBP-1c, ChREBP et LXR (voir figure 7)

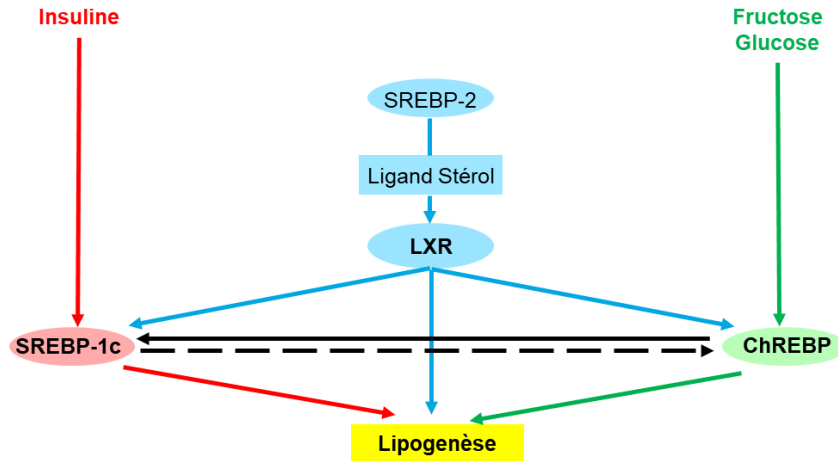


Figure 7 : Induction de la lipogenèse du foie par SREBP-1c, ChREBP et LXR adaptée de Linden et al. (2018).

Ce schéma illustre l'action synergique de l'insuline et du fructose / glucose dans la promotion de la lipogenèse hépatique. L'insuline active la transcription de l'ARNm de SREBP-1c ainsi que le traitement protéolytique de la protéine SREBP-1c, tandis que le fructose / glucose active le ChREBP par de multiples mécanismes. L'activation médiée par l'insuline de la transcription SREBP-1c agit par le biais de LXR et SREBP eux-mêmes. Bien que le LXR régule la lipogenèse principalement en augmentant l'ARNm de SREBP-1c, il peut également activer directement les promoteurs de ChREBP et certains gènes lipogéniques. SREBP-2, qui régule les gènes de biosynthèse du cholestérol, contrôle la production de ligands de stérols endogènes nécessaires au LXR pour activer la transcription des gènes SREBP1c, ChREBP et lipogéniques. ChREBP régule également directement l'expression de SREBP-1c et, au moins dans certaines conditions, SREBP-1c peut également réguler ChREBP. Ensemble, SREBP-1c, LXR et ChREBP sont nécessaires pour une induction maximale de la lipogenèse hépatique postprandiale

Chez les canards en fin de gavage Héroult et al. (2010) ont démontré qu'une surexpression des gènes DGAT2 (catalyse la dernière étape de la synthèse des triglycérides), SCD (catalyse l'étape de limitation de vitesse dans la formation d'acides gras mono-insaturés), ChREBP, FAS (acide gras synthase) et SREBP-1 impactaient positivement la lipogenèse ainsi qu'une sous expression des gènes codants pour l'apo-B (synthèse des VLDL) et pour CPT-1 (oxydation des lipides). Ces expressions géniques sont donc synonymes d'une augmentation de la synthèse des acides gras et des triglycérides, de diminution des VLDL formés et de l'oxydation des acides gras favorisant l'accumulation des lipides dans le foie.

Cependant, l'expression de PPAR- γ (facteur de transcription activé par SREBP-1c) n'est pas amplifiée (Héroult et al., 2010). Or, elle est accrue chez les rongeurs présentant une insulino-résistance et une stéatose hépatique (Browning and Horton, 2004).

Un apport insuffisant en donneur méthyle conduit à l'augmentation de l'homocystéine dans le foie ce qui permet la surexpression de SREBP-1 et donc favorise la lipogenèse soit la stéatose hépatique (Roblin et al., 2007).

Métabolismes énergétiques du foie

Chez les oiseaux, la lipogenèse *de novo* s'effectue essentiellement dans le foie (Leveille et al., 1975). La synthèse des acides gras dépend de la disponibilité de précurseurs glucidiques alimentaires. On assiste donc à une forte stimulation en période de gavage, car le maïs, riche en amidon, est distribué en quantité élevée durant cette période (de 300g en début de gavage à 700g selon Baéza et al. 2013).

D'après Saez et al. (2008), si l'on tient compte des teneurs en amidon ($\approx 70\%$) et en lipide ($\approx 4\%$) du maïs et de la capacité de conversion de l'acide linoléique et du glucose en lipide neutre, on peut estimer que 90% des triglycérides stockés dans le foie proviennent des glucides alimentaires.

I. Les glucides

À son arrivée dans la cellule, le glucose, la plus petite sous unité métabolisable, entre dans la glycolyse. La glycolyse comprend une succession d'étapes enzymatiques aboutissant à deux molécules de pyruvate ainsi que deux molécules d'ATP à partir d'une molécule de glucose. À ce moment-là, le pyruvate traverse la paroi mitochondriale (passage du cytoplasme à la mitochondrie) pour être transformé en acétyl-CoA sous l'action de la pyruvate déshydrogénase. Ensuite, l'acétyl-CoA est entraîné dans le cycle de Krebs. Celui-ci engendre un enchaînement de réactions aboutissant à la production d'énergie sous forme d'ATP, de CO_2 et de NADH qui sera utilisé pour produire de l'énergie au niveau de la chaîne respiratoire (Awde, 2014).

En outre, les cellules hépatiques ont la capacité d'utiliser le glucose pour la synthèse des acides gras *de novo* (Awde, 2014). Chez les oiseaux, le foie est le principal site de la lipogenèse *de novo* (Leveille et al., 1975). En effet, cette aptitude est plus importante chez les oiseaux que chez la plupart des mammifères dont le principal site de la lipogenèse *de novo* se trouve dans les adipocytes (Hanson and Ballard, 1967; Mourot and Kouba, 1999). Par exemple, chez le canard 75% du glucose entrant dans les hépatocytes est transformé en acides gras (Evans, 1972).

Dans la Figure 8, nous pouvons voir la différence métabolique par rapport au traitement du fructose et du glucose. En effet, la formation d'acide gras à partir de substrats glucidiques tel que le fructose est aussi possible. Le fructose est catabolisé plus vite que le glucose, par conséquent celui-ci constitue un macronutriment intéressant à incorporer dans les rations. Enfin, l'action du glucose combinée au fructose permet de saturer les voies du catabolisme glucidique et ainsi, de dévier le métabolisme vers la synthèse lipidique. Enfin, la totalité des lipides sécrétés par le foie n'est pas entièrement déposée dans les tissus périphériques et une fraction retourne au foie accentuant ainsi le développement de la stéatose hépatique (Baeza et al., 2013).

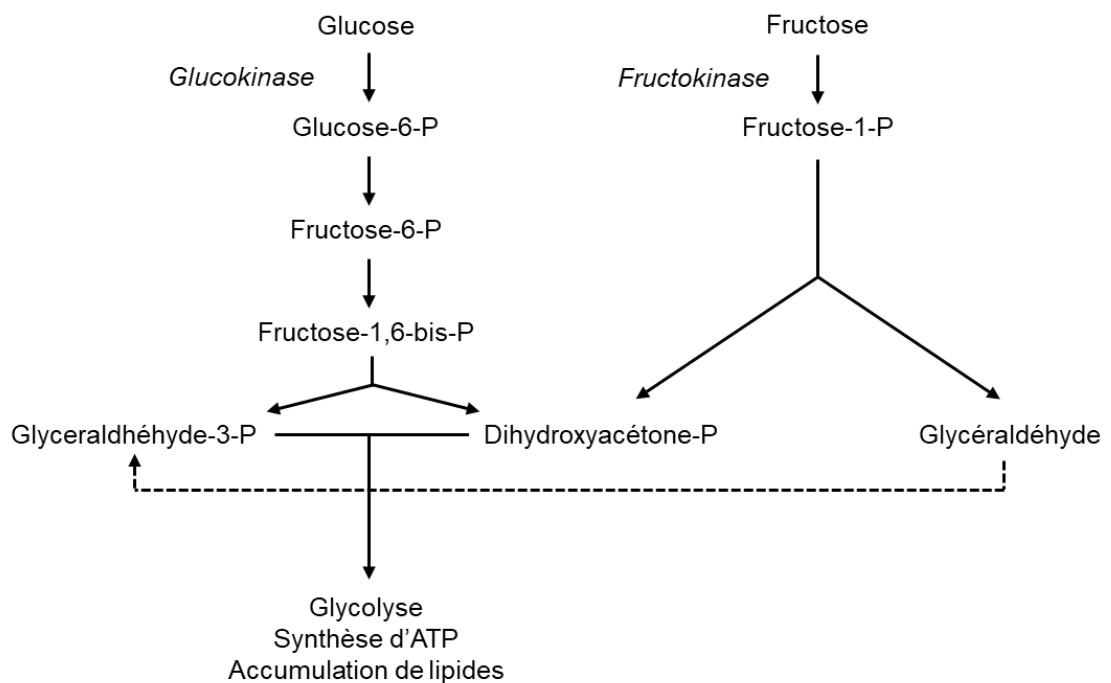


Figure 8 : Métabolisme du fructose en comparaison à celui du glucose

II. Lipides

Le catabolisme des lipides correspond au phénomène d'absorption des acides gras qui sont catabolisés sous forme de triglycérides.

Dans un premier temps, les lipides hépatiques (triglycérides, phospholipides et cholestérol) sont assemblés sous forme de lipoprotéines et s'associent de préférence à l'apolipoprotéine B (pour former des VLDL : *Very Low Density Lipoproteins*) ou à l'apolipoprotéine A-I (pour former les HDL : *High Density Lipoproteins*) afin de pouvoir être exportés dans la circulation sanguine à l'aide de portomicrons. Les VLDL sont ensuite hydrolysés pour permettre leur captage par les tissus périphériques adipeux ou musculaires (Baeza et al., 2013). Au bout des capillaires sanguins, on assiste à une dégradation des triglycérides en acides gras et glycérol par la lipoprotéine-lipase. Ce qui leur permet d'entrer dans les myocytes et les adipocytes.

Chez les oiseaux, c'est au niveau des hépatocytes que se produit l'essentiel de la lipogénèse (Saadoun and Leclercq, 1987). Dans la cellule, les acides gras et le glycérol peuvent être utilisés de manière différente : soit la cellule a besoin d'énergie, il y a donc oxydation pour la récupérer, soit la cellule n'a pas besoin d'énergie et il y a reformation de triglycérides et stockage à long terme dans les adipocytes ainsi que dans le foie ce qui accentue la stéatose hépatique (Baeza et al., 2013).

Dans le cas où la cellule a besoin d'énergie, le glycérol arrive en grande quantité au niveau du foie par la veine porte où il sera catabolisé comme présenté. Le bilan du catabolisme du glycérol (substrat glucidique) donne 2 NADH, H⁺, 2 ATP et un pyruvate. Pour les acides gras, leur oxydation va permettre de produire de l'Acétyl-CoA et ainsi de récupérer de l'énergie. Il est important de noter que l'énergie récupérée par la cellule dépendra de la longueur de la chaîne de l'acide gras. Une première étape du catabolisme des acides gras consiste en la phase d'activation du substrat par la thiokinase dans le cytosol. Une fois l'Acyl CoA obtenu, celui-ci est transporté dans la mitochondrie par le biais d'un transporteur spécifique qui est la carnitine. Ensuite, l'Acyl coA (acide gras activé) entre dans la voie de la bêta oxydation (ou Hélice de Lynen). Chaque tour d'hélice libère une molécule d'acétyl-CoA qui est envoyée dans le cycle de Krebs, ou bien renvoyée vers la formation de triglycérides.

Comme dit précédemment, dans le cas où la cellule n'a pas besoin d'énergie, les triglycérides sont stockés dans les adipocytes. Or, les canards en gavage ont des caractéristiques génétiques spécialement sélectionnées pour favoriser l'accumulation de lipides dans les hépatocytes plutôt que dans les adipocytes. Chez les oiseaux, la lipogénèse est très limitée dans les tissus adipeux (Leveille et al., 1975) ce qui favorise le retour des

lipides vers le foie qui lui, au contraire, dispose d'une aptitude à la lipogenèse très importante. Cette particularité rend donc des palmipèdes plus disposés à la formation de foie « gras ».

Le microbiote intestinal

D'après Larbier et Leclercq (1992), le tube digestif des oiseaux se décompose en plusieurs segments allant du bec au cloaque : jabot, proventricule, gésier, pancréas, intestin grêle (duodénum, jéjunum, iléon), caeca et rectum. Chaque segment est particulier en raison de son rôle et de la composition de la flore microbienne.

Concernant ce projet, nous allons nous intéresser plus particulièrement à l'intestin grêle qui permet de terminer la digestion des glucides (duodénum) et l'absorption des nutriments (jéjunum et iléon) ainsi qu'aux caeca qui sont impliqués dans la formation des acides gras volatiles (AGV). Les résultats sont en cours d'analyse et nous ne les présenterons donc pas dans les articles.

Chez les canards, des études en microbiologie ont montré que les différents segments du système digestif disposaient d'activités microbiennes différentes. Ce sont le jabot, l'intestin grêle (duodénum, jéjunum, iléon) et les caeca qui sont les plus riches en micro-organismes, car ils proposent des conditions plus adéquates (pH, etc.) à leur développement (Vasai, 2013). On peut tout de même différencier deux zones distinctes : la première comportant des bactéries anaérobies facultatives allant du jabot à la fin de l'iléon et la seconde contenant seulement des bactéries anaérobies strictes au niveau des caeca (Vasai, 2013). La réalisation de banques de clones a permis de faire ressortir deux phylums de bactéries différentes : *Firmicutes* et *Bacteroidetes* quelle que soit la zone étudiée (Zhu et al., 2002; Lu et al., 2003).

- Dans l'iléon (Figure 9 , ci-dessous) : Chez les poulets, on observe 10^8 à 10^9 bactéries par gramme de contenu (Wise and Siragusa, 2007). L'iléon dispose d'une plus grande diversité bactérienne par rapport au duodénum et au jéjunum. Selon Vasai (2013), l'iléon des canards Mulard a pour classes dominantes les *Clostridia* (60,57%), *Bacilli* (8,63%), *Bacteroidia* (14,14%) et *Gammaproteobacteria* (10,73%).
- Dans les caeca (figure 9, ci-dessous) : Selon Engberg et al. (2004), l'environnement bactérien le plus riche du système digestif des poulets se retrouve dans les caeca (de 10^8 à 10^{10} bactéries par gramme de contenu). La flore y est anaérobie stricte

et, selon Vasai (2013), a pour phyla dominants chez les canards, plus particulièrement les Mulard, les *Firmicutes* (33,94%) et les *Bacteroidetes* (57,03%). Au niveau des classes, les *Bacteroidia* représentent la majorité des *Bacteroidetes* et les *Clostridia* la majorité des *Firmicutes*.

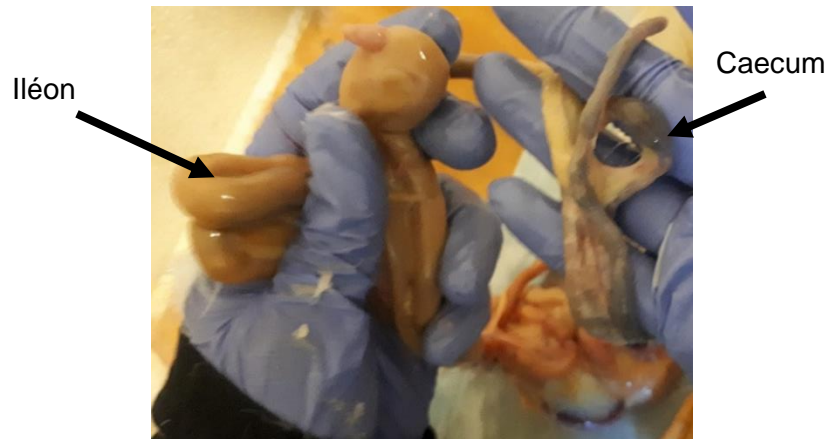


Figure 9 : Iléon et caecum de canards Mulard (photo personnelle)

L'alimentation est un facteur déterminant pour le développement de la flore microbienne du tractus digestif (Hammons et al., 2010; Karasov et al., 2011).

Lors du gavage, les canards sont nourris avec une alimentation riche en amidon (maïs) donnée en grande quantité, ce qui impacte le microbiote (Vasai, 2013). L'iléon est la partie du tractus digestif la plus influencée par ce changement alimentaire. Chez le Mulard, ce sont les *Gammaproteobacteria* (+40%) qui augmentent à mi-gavage et de façon transitoire. En fin de gavage, nous trouvons 60% de *Bacilli* et 30% de *Clostridia*. À contrario, peu de changement au niveau de la flore est observé au niveau des caeca. Le ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* a tendance à augmenter chez les hommes obèses et à diminuer lors d'une perte de poids (Ley et al., 2006). L'augmentation de ce ratio semble donc liée au gavage des animaux.

Les alternatives actuelles au gavage traditionnel

Aujourd'hui, il n'existe pas encore d'alternative pour remplacer de manière aussi efficace le gavage traditionnel des palmipèdes. Certaines recherches ont été effectuées en ce sens, mais la durée d'élevage des animaux pour obtenir un foie gras est très longue. Selon l'étude de Guy et al., (2013), l'induction naturelle à la stéatose hépatique chez les

oies *Anser Anser* pour permettre la production de foie gras d'oie d'une moyenne de 800 grammes a pris 12 semaines. Or, en élevage traditionnel la période de gavage dure seulement 2 semaines. En définitive, si les éleveurs utilisaient le comportement naturel des animaux à l'aide de la photopériode, cela alors prendrait six fois plus de temps et le coût de production serait beaucoup plus élevé. Les foies seraient donc commercialisés à des tarifs extrêmement élevés et peu accessibles aux consommateurs. Par ailleurs le même type de technique est déjà utilisé de manière marginale notamment par un producteur espagnol et un producteur québécois sur l'île d'Orléans. Par exemple, le prix d'un foie gras sans gavage chez le producteur espagnol est de 905,6€ le kilo (selon Le monde,2013 alors que le prix moyen au 1er août 2019 (FranceFgrimer, 2020) était de 32€ le kilo pour les foies classés extra.

Tableau 4 Composition du Faux Gras de Gaïa

Composition (%)	
Lipides	22
<i>dont acides gras saturés</i>	<i>18,2</i>
Glucides	9,5
<i>dont sucres</i>	<i>0,5</i>
Protéines	4,5
Fibres alimentaires	3,4
Sel	3,4

Enfin, il est également possible de trouver sur le marché un produit biologique végétal de remplacement au foie gras nommé « Faux Gras » produit par une entreprise belge. Sa valeur énergétique est inférieure à celle du foie gras traditionnel (respectivement 261kcal vs 462kcal pour 100g). Le faux gras de Gaïa est composé de : levure alimentaire, eau, huile de coco, amidon de pomme de terre, pulpe de tomates, champagne (2 %), huile de

tournesol, protéine de tournesol, sel marin, truffe (1 %), coriandre, cannelle et clou de girofle. Il est composé de 22% de lipides dont 18,2% saturés (tableau 4).

Cependant, pour le moment aucune étude n'a encore permis de trouver un compromis au gavage permettant de produire cet aliment de façon plus éthique avec une durée équivalente au gavage actuel de manière à ce que cela n'impacte pas trop le portefeuille des consommateurs.

Références bibliographiques

Asano, Y. M., and G. Biermann. 2019. Rising adoption and retention of meat-free diets in online recipe data. *Nature Sustainability*. 2:621–627. doi:10.1038/s41893-019-0316-0.

Awde, S. 2014. Relation entre protéolyse hépatique et qualités technologiques et sensorielles du foie gras de canard. Available from: <http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00002684/>

Babilé, R. 1989. La production de foie gras de canards de Barbarie (*Cairina moschata*): aspects génétiques, nutritionnels et technologiques [thesis]. Toulouse, INPT. Available from: <http://www.theses.fr/1989INPT008A>

Babile, R., G. Matheron, P. Delpech, and M. T. Farran. 1980. La production de foie gras de canard de Barbarie mâle : analyse de différents facteurs de variation. *Ann. Zootech.* 29:265–276. doi:10.1051/animres:19800303.

Baeza, E., C. Marie-Etancelin, S. Davail, and C. Diot. 2013. La stéatose hépatique chez les palmipèdes. *INRA Prod. Anim.* 26:403–414.

Bengone-Ndong, T. 1996. Contribution à l'étude des conséquences du gavage de canards sur le devenir des xénobiotiques [thesis]. Toulouse, INPT. Available from: <http://www.theses.fr/1996INPT005A>

Bernard, P.-H., J.-F. Blanc, B. L. Bail, V. de Ledinghen, A. Rullier, and C. Balabaud. 2008. Carcinome hépatocellulaire sur foie noncirrhotique: un regain d'intérêt. </data/revues/03998320/00220004/371/>. Available from: <https://www.em-consulte.com/en/article/97960>

Blum, J.-C., J.-C. Gaumeton, J.-P. Muh, and B. Leclerq. 1970. Modifications de la valeur des normes sanguines en fonction du degré de stéatose hépatique chez l'oie gavée. *Annales de Recherches Vétérinaires*. 1:167–168. doi:HAL Id: hal-00900663.

Boden, G. 1996. Fatty Acids and Insulin Resistance. *Diabetes Care*. 19:394–395. doi:10.2337/diacare.19.4.394.

Bong, H. Y., J. Y. Kim, H. I. Jeong, M. S. Moon, J. Kim, and O. Kwon. 2010. Effects of corn gluten hydrolyzates, branched chain amino acids, and leucine on body weight reduction in obese rats induced by a high-fat diet. *Nutr Res Pract*. 4:106–113. doi:10.4162/nrp.2010.4.2.106.

Browning, J. D., and J. D. Horton. 2004. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest*. 114:147–152. doi:10.1172/JCI200422422.

Brunt, E. M., and D. G. Tiniakos. 2002. Pathology of steatohepatitis. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 16:691–707. doi:10.1053/bega.2002.0326.

Cassy, S. ((Institut N. de la R. A., S. Dridi, M. Picard, and M. Taouis. 2001. Leptin in chicken. *Productions Animales (France)*. Available from: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR2001003024>

Champ, M. 1985. Digestion des glucides chez le monogastrique. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 25:819–842. doi:10.1051/rnd:19850629.

Collantes, R., J. P. Ong, and Z. M. Younossi. 2004. Nonalcoholic fatty liver disease and the epidemic of obesity. *Cleveland Clinic Journal of Medicine.* 71:657–664. doi:10.3949/ccjm.71.8.657.

Cornelius, J. M., T. Boswell, S. Jenni-Eiermann, C. W. Breuner, and M. Ramenofsky. 2013. Contributions of endocrinology to the migration life history of birds. *General and Comparative Endocrinology.* 190:47–60. doi:10.1016/j.ygcen.2013.03.027.

Denis, B., J. Arroyo, H. Manse, C. Bannelier, F. Lavigne, M. Bija, and L. Fortun-Lamothe. 2019. Effets d'une supplémentation en choline sur les performances des oies pendant les phases d'élevage et de gavage. *Journée de la recherche avicole et palmipèdes à foie gras.* 549–553.

Douglas, S. M., T. R. Lasley, and H. J. Leidy. 2015. Consuming Beef vs. Soy Protein Has Little Effect on Appetite, Satiety, and Food Intake in Healthy Adults. *J. Nutr.* 145:1010–1016. doi:10.3945/jn.114.206987.

Dubois, V., S. Breton, M. Linder, J. Fanni, and M. Parmentier. 2007. Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 109:710–732. doi:10.1002/ejlt.200700040.

Engberg, R. M., M. S. Hedemann, S. Steinfeldt, and B. B. Jensen. 2004. Influence of Whole Wheat and Xylanase on Broiler Performance and Microbial Composition and Activity in the Digestive Tract. *Poult Sci.* 83:925–938. doi:10.1093/ps/83.6.925.

Evans, A. J. 1972. In vitro lipogenesis in the liver and adipose tissues of the female Aylesbury duck at different ages. *British Poultry Science.* 13:595–602. doi:10.1080/00071667208415986.

Farrell, D. 2004. Management, nutrition and products of domestic geese: a review. *Proceedings of the 16th Australian Poultry Science Symposium, Sydney, New South Wales, Australia, 9-11 February 2004.* 139–144.

Forth, C. E. 2018. France and the fattened American: animality, consumption and the logic of *gavage*. *Food, Culture & Society.* 21:350–366. doi:10.1080/15528014.2018.1451041.

Gabarrou JF, Salichon MR, Guy G, Blum JC. Hybrid ducks overfed with boiled corn develop an acute hepatic steatosis with decreased choline and polyunsaturated fatty acid level in phospholipids. *Reproduction Nutrition Development.* 1996;36(5):473-84.

Geng, S., W. Zhu, C. Xie, X. Li, J. Wu, Z. Liang, W. Xie, J. Zhu, C. Huang, M. Zhu, R. Wu, and C. Zhong. 2016. Medium-chain triglyceride ameliorates insulin resistance and inflammation in high fat diet-induced obese mice. *Eur J Nutr.* 55:931–940. doi:10.1007/s00394-015-0907-0.

Gilbert, J.-A., N. T. Bendsen, A. Tremblay, and A. Astrup. 2011. Effect of proteins from different sources on body composition. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 21 Suppl 2:B16-31. doi:10.1016/j.numecd.2010.12.008.

Guesnet, P., J.-M. Alessandri, P. Astorg, F. Pifferi, and M. Lavalie. 2005. Les rôles physiologiques majeurs exercés par les acides gras polyinsaturés (AGPI). *OCL*. 12:333–343. doi:10.1051/ocl.2005.0333.

Guy, G., L. Fortun-Lamothe, G. Bénard, and X. Fernandez. 2013. Natural induction of spontaneous liver steatosis in Greylag Landaise geese (*Anser anser*). *J Anim Sci*. 91:455–464. doi:10.2527/jas.2012-5492.

Halford, J. C. G., S. C. D. Wanninayake, and J. E. Blundell. 1998. Behavioral Satiety Sequence (BSS) for the Diagnosis of Drug Action on Food Intake. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 61:159–168. doi:10.1016/S0091-3057(98)00032-X.

Hammons, S., P. L. Oh, I. Martínez, K. Clark, V. L. Schlegel, E. Sitorius, S. E. Scheideler, and J. Walter. 2010. A small variation in diet influences the *Lactobacillus* strain composition in the crop of broiler chickens. *Systematic and Applied Microbiology*. 33:275–281. doi:10.1016/j.syapm.2010.04.003.

Hanson, R. W., and F. J. Ballard. 1967. The relative significance of acetate and glucose as precursors for lipid synthesis in liver and adipose tissue from ruminants. *Biochemical Journal*. 105:529–536. doi:10.1042/bj1050529.

Harrold, J. A., T. M. Dovey, J. E. Blundell, and J. C. G. Halford. 2012. CNS regulation of appetite. *Neuropharmacology*. 63:3–17. doi:10.1016/j.neuropharm.2012.01.007.

Heek, M. V., D. S. Compton, C. F. France, R. P. Tedesco, A. B. Fawzi, M. P. Graziano, E. J. Sybertz, C. D. Strader, and H. R. Davis. 1997. Diet-induced obese mice develop peripheral, but not central, resistance to leptin. *J Clin Invest*. 99:385–390. doi:10.1172/JCI119171.

Hérault, F., G. Saez, E. Robert, A. A. Mohammad, S. Davail, P. Chartrin, E. Baéza, and C. Diot. 2010. Liver gene expression in relation to hepatic steatosis and lipid secretion in two duck species. *Animal Genetics*. 41:12–20. doi:10.1111/j.1365-2052.2009.01959.x.

Hermier, D., D. Rousselot-Pailley, R. Peresson, and N. Sellier. 1994. Influence of orotic acid and estrogen on hepatic lipid storage and secretion in the goose susceptible to liver steatosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*. 1211:97–106. doi:10.1016/0005-2760(94)90143-0.

Hermier, D., M. R. Salichon, G. Guy, R. Peresson, J. Mouro, and S. Lagarrigue. 1999. La stéatose hépatique des palmipèdes gavés : bases métaboliques et sensibilité génétique. *Productions Animales* 4 (12), 265-271. (1999). Available from: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR2016219329>

Horton, J. D., J. L. Goldstein, and M. S. Brown. 2002. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest*. 109:1125–1131. doi:10.1172/JCI15593.

Jahan Mihan, A. 2017. The Role of Source of Protein in Regulation of Food Intake, Satiety, Body Weight and Body Composition. *JNHFE*. 6. doi:10.15406/jnhfe.2017.06.00223. Available from: <https://medcraveonline.com/JNHFE/the-role-of-source-of-protein-in-regulation-of-food-intake-satiety-body-weight-and-body-compositionnbsp.html>

Jahan-Mihan, A., B. L. Luhovyy, D. El Khoury, and G. H. Anderson. 2011. Dietary proteins as determinants of metabolic and physiologic functions of the gastrointestinal tract. *Nutrients*. 3:574–603. doi:10.3390/nu3050574.

Karasov, W. H., C. Martínez del Rio, and E. Caviedes-Vidal. 2011. Ecological Physiology of Diet and Digestive Systems. *Annual Review of Physiology*. 73:69–93. doi:10.1146/annurev-physiol-012110-142152.

Kim, J., H. J. Lee, J. Y. Kim, M. K. Kim, and O. Kwon. 2012. Plant Proteins Differently Affect Body Fat Reduction in High-fat Fed Rats. *Prev Nutr Food Sci*. 17:223–227. doi:10.3746/pnf.2012.17.3.223.

Larbier, M., and B. Leclercq. 1992. *Nutrition et alimentation des volailles*. Institut national de la recherche agronomique.

Legrand, P. 2007. Les Acides Gras : Structures, Fonctions, Apports Nutritionnels Conseillés. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. 42:7–12. doi:10.1016/S0007-9960(07)91234-1.

Leveille, G. A., D. R. Romsos, Y.-Y. Yeh, and E. K. O’Hea. 1975. Lipid Biosynthesis in the Chick. A Consideration of Site of Synthesis, Influence of Diet and Possible Regulatory Mechanisms. *Poult Sci*. 54:1075–1093. doi:10.3382/ps.0541075.

Ley, R. E., P. J. Turnbaugh, S. Klein, and J. I. Gordon. 2006. Human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 444:1022–1023. doi:10.1038/4441022a.

Linden, A. G., S. Li, H. Y. Choi, F. Fang, M. Fukasawa, K. Uyeda, R. E. Hammer, J. D. Horton, L. J. Engelking, and G. Liang. 2018. Interplay between ChREBP and SREBP-1c coordinates postprandial glycolysis and lipogenesis in livers of mice. *J. Lipid Res*. 59:475–487. doi:10.1194/jlr.M081836.

Long, S. J., A. R. Jeffcoat, and D. J. Millward. 2000. Effect of habitual dietary-protein intake on appetite and satiety. *Appetite*. 35:79–88. doi:10.1006/appe.2000.0332.

Lu, J., U. Idris, B. Harmon, C. Hofacre, J. J. Maurer, and M. D. Lee. 2003. Diversity and Succession of the Intestinal Bacterial Community of the Maturing Broiler Chicken. *Appl. Environ. Microbiol*. 69:6816–6824. doi:10.1128/AEM.69.11.6816-6824.2003.

Martinez-Lopez, N., E. Tarabra, M. Toledo, M. Garcia-Macia, S. Sahu, L. Coletto, A. Batista-Gonzalez, N. Barzilai, J. E. Pessin, G. J. Schwartz, S. Kersten, and R. Singh. 2017. System-wide Benefits of Intermeal Fasting by Autophagy. *Cell Metabolism*. 26:856-871.e5. doi:10.1016/j.cmet.2017.09.020.

Mellor, K. M., J. R. Bell, M. J. Young, R. H. Ritchie, and L. M. D. Delbridge. 2011. Myocardial autophagy activation and suppressed survival signaling is associated with insulin resistance in fructose-fed mice. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 50:1035–1043. doi:10.1016/j.yjmcc.2011.03.002.

Moon, Y.-A., G. Liang, X. Xie, M. Frank-Kamenetsky, K. Fitzgerald, V. Kotliansky, M. S. Brown, J. L. Goldstein, and J. D. Horton. 2012. The Scap/SREBP Pathway Is Essential for Developing Diabetic Fatty Liver and Carbohydrate-Induced Hypertriglyceridemia in Animals. *Cell Metabolism*. 15:240–246. doi:10.1016/j.cmet.2011.12.017.

Mourot, J. (Institut N. de la R. A., and M. Kouba. 1999. Development of intra- and intermuscular adipose tissue in growing Large White and Meishan pigs [lipogenic enzyme, meat quality]. *Reproduction Nutrition Development* (France). Available from: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR1999001487>

Paquot épouse Negny, V. 2002. Étude comparative des différents systèmes d'alimentation au cours du gavage des canards [other]. Available from: <http://oatao.univ-toulouse.fr/957/>

Pierce, A. A., C. C. Duwaerts, R. K. Soon, K. Siao, J. P. Grenert, M. Fitch, M. K. Hellerstein, C. Beysen, S. M. Turner, and J. J. Maher. 2016. Isocaloric manipulation of macronutrients within a high-carbohydrate/moderate-fat diet induces unique effects on hepatic lipogenesis, steatosis and liver injury. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 29:12–20. doi:10.1016/j.jnutbio.2015.10.020.

Pingel, H., G. Guy, and E. Baeza. 2012. *Production de canards*. Editions Quae, Versailles (France) 978-2-7592-1791-5. Available from: <https://prodinra.inra.fr/record/179343>

Québec. 2020. Élevage d'oiseaux fermiers (canard et oie). <https://www.quebec.ca/agriculture-environnement-et-ressources-naturelles/agriculture/industrie-agricole-au-quebec/productions-agricoles/elevage-doiseaux-fermiers/> Page consultée 9-12-2020.

Ratziu, V., M. Tahiri, and L. Bonyhay. 2005. La stéatohépatite non alcoolique. *Ann. Endocrinol.* 66:1S71-80. doi:AE-04-2005-66-2-C2-0003-4266-101019-200503918.

Roblin, X., J. Pofelski, and J. P. Zarski. 2007. Steatosis, chronic hepatitis virus C infection and homocysteine. *Gastroenterol Clin Biol.* 31:415–420. doi:10.1016/S0399-8320(07)89402-4.

Rodin, J. 1991. Effects of pure sugar vs. mixed starch fructose loads on food intake. *Appetite.* 17:213–219. doi:10.1016/0195-6663(91)90023-L.

Saadoun, A., and B. Leclercq. 1987. In Vivo Lipogenesis of Genetically Lean and Fat Chickens: Effects of Nutritional State and Dietary Fat. *J Nutr.* 117:428–435. doi:10.1093/jn/117.3.428.

Saez, G., E. Baéza, S. Davail, D. Durand, D. Bauchart, and D. Gruffat. 2008. Is the hepatic metabolism of glucose and linoleic acid influenced by species in overfed ducks? *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology.* 151:576–581. doi:10.1016/j.cbpa.2008.07.015.

Salichon, M., G. Guy, D. Rousselot, and J. Blum. 1994. Composition des 3 types de foie gras: oie, canard Mulard et canard de Barbarie. *Annales de Zootechnie.* 43:213–220.

Salichon, M.-R., M. Guezal, É. Penot, B. Leclercq, G. Durand, P. Delpech, and J.-C. Blum. 1968. Note préliminaire sur l'évolution des constituants biochimiques du foie au cours du gavage de l'oie. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 8:549–556. doi:10.1051/rnd:19680407.

Samuel, V. T. 2011. Fructose induced lipogenesis: from sugar to fat to insulin resistance. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 22:60–65. doi:10.1016/j.tem.2010.10.003.

Saulnier, L. 2012. Les grains de céréales : diversité et compositions nutritionnelles. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. 47:S4–S15. doi:10.1016/S0007-9960(12)70292-4.

Sauvant, D., J.-M. Perez, and G. Tran. 2002. Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage : porcs, volailles, bovins, ovins, caprins, lapins, chevaux, poissons. INRA. Available from: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300083141>

Schwartz, M. W., and G. J. Morton. 2002. Keeping hunger at bay. *Nature*. 418:595–597. doi:10.1038/418595a.

Sturkie, P. D. 1986. Heart and Circulation: Anatomy, Hemodynamics, Blood Pressure, Blood Flow. In: P. D. Sturkie, editor. *Avian Physiology*. Springer New York, New York, NY. p. 130–166. Available from: https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4862-0_6

Taouis, M., J.-W. Chen, C. Daviaud, J. Dupont, M. Derouet, and J. Simon. 1998. Cloning the chicken leptin gene. *Gene*. 208:239–242. doi:10.1016/S0378-1119(97)00670-7.

Teff, K. L., S. S. Elliott, M. Tschöp, T. J. Kieffer, D. Rader, M. Heiman, R. R. Townsend, N. L. Keim, D. D'Alessio, and P. J. Havel. 2004. Dietary Fructose Reduces Circulating Insulin and Leptin, Attenuates Postprandial Suppression of Ghrelin, and Increases Triglycerides in Women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 89:2963–2972. doi:10.1210/jc.2003-031855.

Tetri, L. H., M. Basaranoglu, E. M. Brunt, L. M. Yerian, and B. A. Neuschwander-Tetri. 2008. Severe NAFLD with hepatic necroinflammatory changes in mice fed trans fats and a high-fructose corn syrup equivalent. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 295:G987–G995. doi:10.1152/ajpgi.90272.2008.

Tian, J., J. Wu, X. Chen, T. Guo, Z. J. Chen, J. L. Goldstein, and M. S. Brown. 2018. BHLHE40, a third transcription factor required for insulin induction of SREBP-1c mRNA in rodent liver. *eLife*. 7:e36826. doi:10.7554/eLife.36826.

Vasai, F. 2013. Étude de la composition du microbiote intestinal des canards. Impact du gavage, de l'ajout d'un probiotique (*Lactobacillus sakei*) et d'un composé organométallique (cadmium) [thesis]. Pau. Available from: <http://www.theses.fr/2013PAUU3045>

Vasai, F., K. B. Ricaud, L. Cauquil, P. Daniel, C. Peillod, K. Gontier, A. Tizaoui, O. Bouchez, S. Combes, and S. Davail. 2014. *Lactobacillus sakei* modulates mule duck microbiota in ileum and ceca during overfeeding. *Poult Sci*. 93:916–925. doi:10.3382/ps.2013-03497.

Wang, C.-Y., and J. K. Liao. 2012. A Mouse Model of Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance. *Methods Mol Biol*. 821:421–433. doi:10.1007/978-1-61779-430-8_27.

Wise, M. G., and G. R. Siragusa. 2007. Quantitative analysis of the intestinal bacterial community in one- to three-week-old commercially reared broiler chickens fed conventional or antibiotic-free vegetable-based diets. *Journal of Applied Microbiology*. 102:1138–1149. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.03153.x.

Woods, S. C., E. C. Lotter, L. D. McKay, and D. Porte. 1979. Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. *Nature*. 282:503–505. doi:10.1038/282503a0.

Zhu, X. Y., T. Zhong, Y. Pandya, and R. D. Joerger. 2002. 16S rRNA-Based Analysis of Microbiota from the Cecum of Broiler Chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:124–137. doi:10.1128/AEM.68.1.124-137.2002.

CHAPITRE 2: Article 1

Effects of short-term feeding of high-fructose, high-fat diets on performance of Mule ducks

Delprat, L.¹, Lehmann, M.¹, Lefrancois, M.¹, Rico, J.E.², Rico, D.E.^{1,3}

¹Université Laval, Québec, QC, Canada; ²University of Maryland, College Park, MD, USA; ³CRSAD, Deschambault, Canada

Résumé

Certains types de glucides et de lipides sont capables de modifier la prise alimentaire et l'adiposité chez les rongeurs. Ce type de régime alimentaire a donc été testé sur 48 canards Mulards mâles. La prise alimentaire et le poids des animaux ont été mesurés tous les 3 jours et à chaque semaine, respectivement. Après 14 jours, une partie des animaux a été aléatoirement sélectionnée pour les mesures du foie et de plasma (n=12/groupe). L'énergie ingérée tout comme la concentration lipidique des foies était plus élevée pour le groupe disposant du régime riche en fructose et en lipides. Ces résultats suggèrent une altération potentielle des signaux de satiété. Ce phénomène pourrait avoir un impact sur le poids corporel du foie dans le cadre d'un traitement plus long chez les canards destinés à la production de foie gras.

Mots clés : Canards, Fructose, Stéatose hépatique, Court terme

Abstract

The type of dietary carbohydrate and lipid is known to alter feed intake and adiposity in rodents. Replacing dietary starch from corn with dietary fructose and saturated lipids may result in a similar phenotype in the duck. 48 male mule ducks of (90 d of age, 4.13 ± 0.34 kg of BW) were blocked by weight and randomly allocated to either 1) Control diet (C; 2.6% fatty acids, 1.8% fructose, and 72% starch) or 2) high-fat, high-fructose diet (FF; 9.7% fatty acids, 42.5% fructose, 27% starch) in a complete randomized block design (n=24 per group). 12 additional ducks from the same cohort were euthanized on d 0 for baseline measures. Intake was measured every 3 days and animals weighed every week. A subsample from each group (n=12 per group) was randomly selected and euthanized for liver, plasma and carcass analyses. Data were analyzed using a mixed model including the random effect of duck within block and the fixed effects of treatment, time and their interaction when appropriate. Energy intake was higher in FF on d 3 ($P = 0.001$) and tended to be higher on d 10 ($P = 0.09$). Body weight and fat content were not different between treatments and averaged 4.1 ± 0.07 kg and 26.2 ± 1.42 %, respectively. Liver weight was 24% higher in C than in FF on d 14 ($P = 0.02$), but lipid concentration was 30 % higher in FF ($P = 0.02$). Livers were less red on d 14 for the FF than for the C group (7.59 and 8.89 a* values, respectively; $P < 0.001$). Other color measures (L* and b*) were not altered by treatment. Despite its higher energy content, feed intake was not reduced by the FF diet, suggesting a potential alteration of satiety signals, which may impact body and liver weight under longer-term interventions in ducks destined to foie gras production.

Key words : Duck, Fructose, Liver steatosis

Introduction

Foie gras is a delicacy liver product characterized by its high fat content, with an average composition of 60% lipids, 30% water, and 7% protein (Salichon et al., 1994). On the contrary, a so-called “lean” liver contains around 5% lipids (Hermier et al., 1999).

Conventional foie gras production involves the gavage (esophageal force-feeding) of ducks and geese for a period of 14 days (Blum et al., 1970). The diet is mainly made up of water and corn, which allows birds to accumulate as much fat as possible in their liver. In the post-prandial state, insulin stimulates storage of glucose in the liver in the form of glycogen. The liver can also convert excess glucose into fatty acids (Browning and Horton, 2004). In hyperglycemia, insulin activates the transcription factors SREBP (Sterol Regulatory Element-Binding Protein) including SREBP-1-c contained in hepatocytes, which triggers the synthesis of fatty acids, triglycerides and cholesterol (Horton et al., 2002). Consequently, their hyperactivation of insulin signaling can promote the development of fatty liver (Moon et al., 2012).

In addition, corn is a cereal containing little choline, folic acid, methionine and no vitamin B12. In mice, diets deficient in one or more of these compounds promote fatty liver by limiting the export of VLDL (Very Low Density Lipoprotein) from the liver (Baeza et al., 2013). In agreement, the high-starch (75% starch), low-protein diet (10%) given during gavage promotes lipid synthesis in birds (Baeza et al., 2013). Importantly, high-energy, low-protein diets are known to induce fatty liver in laying hens (Rozenboim et al., 2016), whereas high protein diets have been shown to reduce hepatic steatosis and body weight in mice (Garcia Caraballo et al., 2017), which may be related to the strong satiety effects of protein (Brennan et al., 2011).

Dietary starch is digested in the intestine into glucose, which stimulates insulin secretion and satiety upon absorption. Unlike glucose, fructose does not stimulate the secretion of insulin from pancreatic cells (Rodin, 1991). Importantly, insulin is certainly one of the key elements in the reaction chain leading to the synthesis and secretion of leptin, an adipokine responsible for the feeling of satiety (Woods et al., 1979; Schwartz and Morton, 2002; Harrold et al., 2012). In addition, it has been proposed that a high-fructose diet induces leptin resistance, resulting in increased feed intake (Teff et al., 2004; Lustig, 2010). In rats, the leptin resistance favored by this type of diet, added to a diet rich in fat, promotes weight gain and contributes to the obesity phenotype (Teff et al., 2004). Indeed, impaired satiety

leads to higher levels in feed intake and consequently, to a higher flux of nutrients to be retained in body stores (Pereira-Lancha et al., 2010). Importantly, although isocaloric exchange of fructose for other carbohydrates does not induce changes in liver lipid content of healthy subjects (Chiu et al., 2014), short-term overfeeding of fructose was shown to induce dyslipidemia and insulin resistance in human subjects (Lê et al., 2009).

High-fat diets have also been shown to increase liver lipid accumulation (Westerbacka et al., 2005; van Herpen et al., 2011). In addition, feeding of essential fatty acids, such as linoleic acid (18 :2 ω 6), can promote the upregulation of genes involved in lipid metabolism (Guesnet et al., 2005). Although dietary fats contribute to the satiety response (Brennan et al., 2011), it is expected that those effects may be countered by the aforementioned impact of fructose. Indeed, short-term feeding of high-fat, high-fructose diets increased both feed intake and accumulation of liver lipids (Calvo-Ochoa et al., 2014; Sobrecases et al., 2010; Pierce et al., 2016). Fat and fructose both increase intrahepatocellular lipids in human subjects; however, when given in combination, these nutrients additively reduce lipid export from the liver in VLDL (Sobrecases et al., 2010).

Although the study of liver lipid accumulation has mostly been carried out in humans and rodents, the fatty liver phenotype shares several commonalities across mammals and birds (Leclercq et al., 1998). We anticipate a similar phenotype can be achieved in the duck through dietary manipulations capable of increasing feed intake by the aforementioned mechanisms, while providing substrates for hepatic lipogenesis (e.g. dietary fructose and fatty acids), may promote fatty liver in ducks, thus providing a possible alternative to force-feeding of animals in foie gras production.

We hypothesized that a high-fat, high-fructose diet would result in feed intake dysregulation and thus, in the development of hepatic steatosis. Therefore, the main objective of the present study was to assess the impact of a high-fructose, high-fat diet on feed intake and the concentration of lipids in the liver in mule ducks.

Materials and methods

I. Experimental design and sampling

All animal procedures were approved by the Animal Care and Use of Canada and Laval University. Twelve animals were slaughtered at the beginning and were considered

as the reference group before the experimental stimulation. Forty-eight other male mule ducks (*Anas platyrhynchos* × *Cairina moschata*) of 90-days of age (4.13 ± 0.34 kg of BW) in individual cages were used for the study. Following a 5-day acclimation, ducks were randomly assigned (n=24 ducks/group) to control (C) group (2.6% fatty acid, 1.8% fructose, 72% starch) and high-fat, high-fructose (FF) group (9.1% fat, 42.5% fructose, 27% starch). A subsample from each group (n=12 per group) was randomly selected and euthanized for liver, plasma and carcass analyses. Water and feed were freely available. BW was taken weekly. Feed intake was measured on days 0, 3, 6, 10, 14, 16, 19, 22, 27. For the totality of this essay, the duration of daylight was 12 hours, and the room temperature was 15°C.

The same procedure was applied at each slaughter. The animals were fasted twelve hours before slaughter. Blood samples were collected from the wing vein using 5 mL EDTA tubes after a 12h fast (pre-prandial samples) and 1h20 after feeding. Blood glucose concentration was measured by a hand-held glucometer (Contour Next One, Ascensia Diabetes Care, Parsippany, NJ). Collected blood was then centrifuged at 3000 x g for 10 min at 4°C and resulting plasma was stored at -20°C.

All birds were stunned with a non-perforating pistol and slaughtered by exsanguination. The carcass was eviscerated and the liver, the caecum and the ileum were carefully removed. Livers was weighed and its color was measured immediately with the chromatic CIE lab coordinates system (L^* , a^* , b^*) according to Nozière et al. (2006) with a Minolta CR-300 (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japon). The carcasses were stored at -20 ° C and then passed through a dual energy X-ray scanner (DEXA) to determine their protein, lipid and mineral contents.

II. Chemical and biochemical analyses

Feeds were analyzed for DM, CP, NDF, starch, and FA concentration and profile (Table 1). After determining the dry matter content (oven at 100 ° C for 16 hours; AOAC International, 2005; method no: 930.15), the feed samples were reduced to ash at 600 ° C for 12 h using a muffle oven. Nitrogen concentration was determined on a Thermo-Fisher EA 1110 CHNS elemental analyzer (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA) and multiplied by 6.25 to obtain CP. Determination of NDF was carried out using the Ankom A200 filter bag technique (Ankom Technology, Macedon, NY) according to Van Soest et al. (1991) using a heat-stable amylase and sodium sulfite. Metabolizable energy density of diets was calculated according to NRC (1994).

Liver FA concentration and profile were determined by GC-FID after direct methylation (Sukhija and Palmquist, 1988). Briefly, FA were acid methylated and extracted in hexane. Methyl esters were quantified by GC-FID according to (Rico et al., 2014).

Plasma samples were analyzed for NEFA with an enzymatic colorimetric method (NEFAs; Wako HR series NEFA-HR (2) Kit, FUJIFILM Wako Diagnostics USA). Intraassay variation was 28.8% and interassay variation was 5.4%.

III. Statistical analyses

Repeated measures data (body weight and feed intake) were analyzed using the MIXED procedure of SAS (version 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NY) according to the following model:

$$Y_{ijkl} = \mu + B_i + A_j(i) + D_k + T_l + B_i \times T_l + D_k \times T_l + e_{ijkl}$$

where $Y_{ijkl} = \mu$ = overall mean, B_i = fixed effect of the i th block (i.e., pair of animals; $n = 24$), $A_j(i)$ = random effect of j th animal within the i th block (i.e., error or residual term), D_k = fixed effect of the k th day, T_l = fixed effect of the l th treatment, $B_i \times T_l$ = i th block and l th treatment, $D_k \times T_l$ = k th day and l th treatment, and e_{ijkl} = residual error. A reduced model without interactions was used when found not significant.

The model for one-time measures (liver weight, trichromatic coordinates, NEFA and glucose plasma, carcass fat and FA liver), was:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + A_j(i) + T_k + B_i \times T_k + e_{ijk}$$

where $Y_{ijk} = \mu$ = overall mean, B_i = fixed effect of the i th block (i.e., group of 4 animals; $n = 24$), $A_j(i)$ = random effect of j th animal within the i th block (i.e., error or residual term), T_k = fixed effect of the l th treatment, $B_i \times T_k$ = i th block and l th treatment and e_{ijk} = residual error. A reduced model without interactions was used when found not significant.

Data with Studentized residual values > 3.0 or < -3.0 were considered outliers and removed from the analysis. Statistical significance was declared at $P \leq 0.05$ and trends at $0.05 < P \leq 0.10$. All results are expressed as $LSM \pm SEM$, unless otherwise indicated.

Results

I. Effects of diets on feed intake, body weight and carcass composition

Feed intake varied over time ($P < 0.001$, figure 1A), and although it tended to be higher in control than in FF on d 3 ($P < 0.09$, figure 1A), it was not different between diet groups overall. However, FF ducks ingested 29.6% more energy than the control group on d 6 ($P < 0.001$, figure 1B) and tended to ingest 15% more energy on d 9 ($P = 0.09$). For body weight, no difference was observed between groups averaging 4.06 kg and 4.09 kg \pm 0.08 for the FF and C groups, respectively.

No difference was detected for the proportions of lean mass, fat, and minerals and averaged 71.4% \pm 1.4, 26.2 % \pm 1.42, and 2.4% \pm 0.06, respectively (all $P > 0.30$; Figure 2).

II. Effect of diets on liver weight, adiposity and color

After 14 days, the liver weight was different between treatments. The FF ducks had a smaller liver than Control (56.94 \pm 3.26 vs 75.10 \pm 3.26; $P < 0.001$, figure 3A). Indeed, the liver weight before the experiment (D0: 57,3 \pm 9,18, figure 3A) was similar to FF values. In addition, the lipids content in the liver was 30% higher in the FF ducks compared with control (4.38 \pm 0.28% vs 3.39 \pm 0.28%; $P < 0.001$, figure 3B).

No difference was detected for concentration of fatty acids in the liver (Figure 4). Long chain fatty acids (< 16C) were the most represented (77% \pm 0,98 on average).

As the lipids content in the livers, the redness coloration (a^*) was different between groups, but no differences were detected for lightness (L^*) and yellowness (b^* ; Figure 5), however, livers from control animals exhibited higher values in the red scale ($P < 0.001$).

III. Effects of diets on plasmatic concentrations of NEFA and glucose

The concentrations of NEFA decreased following the meal ($P < 0.0001$, Figure 6A), and tended to be higher in FF than control ($P = 0.10$; Figure 6A).

No interaction between treatment and time was detected ($P = 0.67$). At pre-prandial, the glucose concentration in plasma was similar in Control and FF and averaged 126.9 \pm 5.4. After the meal, the glucose was numerically higher, but not significantly different ($P =$

0.27) and remained similar between treatments (130.6 ± 5.4 and 133.6 ± 5.44 , respectively figure 6B).

Discussion and conclusion

The present study aimed to test the short-term effects of high-fructose, high-fat diets in mule ducks fed *ad libitum* while controlling possible confounding factors such as environmental temperature and daylight length, both of which can affect intake and adiposity in web-footed animals (Guy et al., 2013). Although time-restricted feeding is traditionally used in duck foie gras production to induce higher feeding rates and thus, to help prepare the crop for the gavage phase, previous tests by our group revealed no significant advantage in terms of feed intake and liver size (Rico et al., 2020). Therefore, in the present experiment, *ad libitum* feeding was expected to maximize the possible effect of dietary nutrients on liver lipid accumulation. A high-fructose, high-fat diet (FF) was used in order to validate previous observations in mammals showing increased liver lipid concentrations and intake dysregulation (Pierce et al., 2016). The control diet was designed to emulate the composition of corn-based diets used in traditionally foie gras production, and thus was high in starch (72% of DM) and low in fat and protein (2.6% FA, and 7.2% of DM, respectively). In absence of gavage, the high-starch, low-fat diet used herein, can be considered a negative control, as no effects are expected on feed intake or liver lipid content. The FF diet was formulated to be high in carbohydrates (42.5% fructose and 29% starch), high in fat (9.7% FA of DM, from palmitic acid and safflower oil), and low in protein (9.4% of DM). The marginally lower protein content of the FF diet could have had a positive impact on feed intake, favoring control, as it has been shown in human subjects (Westerterp-Plantenga et al., 2012). Indeed, low protein diets are known to promote higher intake because of lower satiety effects (Paddon-Jones et al., 2008). However, this potential effect is confounded by design with the differences in carbohydrate composition and lipid content between the diets. In addition, the protein source used in the control diet was soybean, whereas corn gluten feed was used in the FF diet to reduce the dietary supply of choline (NRC, 1994), and thus, to maximize the potential steatosis effects of this diet by limiting hepatic VLDL export liver (Mason, 1998).

In this study, feed intake was unaffected by treatment, but it changed with time, and was lower in FF on d 3, a response which is likely due to a lag in adaptation to the sensory characteristics of this diet. Palatability or preference differences between our experimental diets were not specifically tested, and thus, it is not known whether this could have played

a role on feed intake regulation. In effect, Takayama et al. (2018) reported that geese did not discriminate between solutions varying in sucrose content (from 0.02 to 20% w/v), a response which could be similar in ducks; however, it is known that birds respond differently to sugar feeding depending on the species (Roura et al., 2013).

Dysregulation of feed intake seems to be the single most important factor in order to successfully induce fatty liver. Indeed, overfeeding ducks by gavage of a high-fructose diet favored liver steatosis by means of increased hepatic lipogenesis over a 14-d period (Davail et al., 2005). Similarly, in humans, overfeeding beyond energy requirements results in liver steatosis, regardless of whether the excess calories have been provided either as fat, sugar, or both (Parry and Hodson, 2017). Despite the potential of the hypercaloric FF diet to generate liver steatosis, the lack of a major increase in feed intake likely precluded animals from developing fatty liver. Intake dysregulation may be possible under these types of diets in longer-term interventions. Indeed, long-term intake of high-fructose, and high-fat diets perturb leptin regulation of feed intake and causes liver steatosis in rodents (Rodin, 1991; Pierce et al., 2016; Shapiro et al., 2008). Leptin plays a central role in regulating feed intake (Halford et al., 1998; Shapiro et al., 2008), and a lack of major differences in feed and energy intake suggests little to no dysregulation via leptin occurred; however, this remains speculative, as it was not determined in the present study. Others have shown insulin resistance is provoked by a chronic high-fructose diet (Teff et al., 2004; Shapiro et al., 2008) and its negative impact on satiety increases over time. It is likely that the effects of the FF diet on feed intake require longer exposure periods than those tested in the present experiment. Our data suggest that the duration of our study (2 weeks) may not have been sufficient to observe such effects. Moreover, the response of ducks to high-fructose, high-fat diets could be different from rats or humans.

Under the conditions of our experiment, the high-fructose, high-fat diet fed *ad libitum* for 14 d failed to induce major changes in liver mass and lipid concentrations. Importantly, a group of 12 animals from the same breeding cohort (i.e same age and rearing conditions previous to test) were kept at the foie gras farm, where they received the gavage treatment for 14 d and developed fatty liver (65.1% \pm 3.22 of lipids in liver). This suggests, the animals used in our study had the potential to develop fatty liver, and thus, lack of treatment effects are likely due to the inability of the FF diet to induce overfeeding. Although studies using similar diets have not been performed in ducks, geese can develop spontaneous overfeeding and fatty liver under long-term *ad libitum* feeding conditions using corn-based

diets, although variation in liver lipid content is high (Guy et al., 2013). However, the FF liver weight was similar to pre-experimental values. It is therefore likely that these types of hypercaloric, low choline diets could have a greater potential to naturally induce fatty liver in geese.

Liver composition under traditional gavage conditions differs between geese and mule ducks (Salichon et al., 1994). In mule ducks, foie gras is mainly composed of long chain fatty acids (> 16C, 66% \pm 3.4 and 16C, 33% \pm 3.3 on average) (Salichon et al., 1994). However, long-chain fatty acids concentrations were moderately higher in our experiment, although were not affected by treatment. Indeed, both diets (FF and C) were composed in majority by long chain fatty acids.

Liver color is often well correlated to changes in liver lipid content (Guy et al., 2013; Navarro-Villa et al., 2019). However, no clear relationships were observed between color measures and liver lipid content or liver weights in our experiment. Redness (a^* values) of the liver was lower in FF ducks, which had smaller liver, but with a higher lipid concentration similar to Guy et al. (2013). However, no differences were observed in liver yellowness (b^* values) or lightness (L^* values).

Lastly, the metabolic effects of dietary nutrients are often associated with weight gain and hepatic steatosis, with markers such as glucose and NEFA used to identify trajectories of metabolic disease (Oh et al., 2016). The variation of NEFA plasma tended to corroborate previous studies, as NEFA were higher in the pre-prandial period and decrease after the meal (Tavernier et al., 2018). However, NEFA concentrations were high compared to previous studies (Tavernier et al., 2017; Tavernier et al., 2018). The tendency for a higher NEFA concentration in ducks fed the high-fructose, high-fat diet suggests a potential difference in insulin action (Oh et al., 2016), although lack of effect of treatment on glucose concentrations does not support this hypothesis. Hyperinsulinemia has been observed under high-fat, high-fructose diets, and in association with higher adiposity and weight gain (Rodin, 1991; Teff et al., 2004). Insulin concentrations or sensitivity were not determined in the present experiment. However, adiposity of the carcass was around 26% in both treatment groups, which was around half of that observed in the gavage cohort (47.6 \pm 3.2% fats).

In conclusion, *Ad libitum*, short-term feeding of high-fructose, high-lipid diets do not appear to effectively induce fatty liver disease in Mule ducks. It is likely that lack of major

effects on liver and carcass adiposity are due to absence of overfeeding induction. Despite its higher energy content, feed intake was not reduced by the FF diet, suggesting a potential alteration of satiety signals. The long-term effect of chronic exposure to this type of diet remains unknown and warrants further investigation.

Littérature cited

Baeza, E., C. Marie-Etancelin, S. Davail, and C. Diot. 2013. La stéatose hépatique chez les palmipèdes. *INRA Prod. Anim.* 26:403–414.

Blum, J.-C., J.-C. Gaumeton, J.-P. Muh, and B. Leclerq. 1970. Modifications de la valeur des normes sanguines en fonction du degré de stéatose hépatique chez l'oie gavée. *Annales de Recherches Vétérinaires.* 1:167–168. doi:HAL Id: hal-00900663.

Browning, J. D., and J. D. Horton. 2004. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest.* 114:147–152. doi:10.1172/JCI200422422.

Calvo-Ochoa, E., K. Hernández-Ortega, P. Ferrera, S. Morimoto, and C. Arias. 2014. Short-Term High-Fat-and-Fructose Feeding Produces Insulin Signaling Alterations Accompanied by Neurite and Synaptic Reduction and Astroglial Activation in the Rat Hippocampus. *J Cereb Blood Flow Metab.* 34:1001–1008. doi:10.1038/jcbfm.2014.48.

Chiu, S., J. L. Sievenpiper, R. J. de Souza, A. I. Cozma, A. Mirrahimi, A. J. Carleton, V. Ha, M. Di Buono, A. L. Jenkins, L. A. Leiter, T. M. S. Wolever, A. C. Don-Wauchope, J. Beyene, C. W. C. Kendall, and D. J. A. Jenkins. 2014. Effect of fructose on markers of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a systematic review and meta-analysis of controlled feeding trials. *European Journal of Clinical Nutrition.* 68:416–423. doi:10.1038/ejcn.2014.8.

Davail, S., N. Rideau, M. D. Bernadet, J. M. André, G. Guy, and R. Hoo-Paris. 2005. Effects of Dietary Fructose on Liver Steatosis in Overfed Mule Ducks. *Horm Metab Res.* 37:32–35. doi:10.1055/s-2005-861029.

Garcia Caraballo, S. C., T. M. Comhair, C. H. C. Dejong, W. H. Lamers, and S. E. Koehler. 2017. Dietary treatment of fatty liver: High dietary protein content has an antisteatotic and antiobesogenic effect in mice. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 1863:1789–1804. doi:10.1016/j.bbadis.2017.04.022.

Guesnet, P., J.-M. Alessandri, P. Astorg, F. Pifferi, and M. Lavalie. 2005. Les rôles physiologiques majeurs exercés par les acides gras polyinsaturés (AGPI). *OCL.* 12:333–343. doi:10.1051/ocl.2005.0333.

Guy, G., L. Fortun-Lamothe, G. Bénard, and X. Fernandez. 2013. Natural induction of spontaneous liver steatosis in Greylag Landaise geese (*Anser anser*). *J Anim Sci.* 91:455–464. doi:10.2527/jas.2012-5492.

Halford, J. C. G., S. C. D. Wanninayake, and J. E. Blundell. 1998. Behavioral Satiety Sequence (BSS) for the Diagnosis of Drug Action on Food Intake. *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* 61:159–168. doi:10.1016/S0091-3057(98)00032-X.

Harrold, J. A., T. M. Dovey, J. E. Blundell, and J. C. G. Halford. 2012. CNS regulation of appetite. *Neuropharmacology.* 63:3–17. doi:10.1016/j.neuropharm.2012.01.007.

Hermier, D., M. R. Salichon, G. Guy, R. Peresson, J. Mouro, and S. Lagarrigue. 1999. La stéatose hépatique des palmipèdes gavés : bases métaboliques et sensibilité génétique. *Productions Animales* 4 (12), 265-271. (1999). Available from: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR2016219329>

van Herpen, N. A., V. B. Schrauwen-Hinderling, G. Schaart, R. P. Mensink, and P. Schrauwen. 2011. Three weeks on a high-fat diet increases intrahepatic lipid accumulation and decreases metabolic flexibility in healthy overweight men. *J Clin Endocrinol Metab.* 96:E691–E695. doi:10.1210/jc.2010-2243.

Horton, J. D., J. L. Goldstein, and M. S. Brown. 2002. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest.* 109:1125–1131. doi:10.1172/JCI15593.

Lê, K.-A., M. Ith, R. Kreis, D. Faeh, M. Bortolotti, C. Tran, C. Boesch, and L. Tappy. 2009. Fructose overconsumption causes dyslipidemia and ectopic lipid deposition in healthy subjects with and without a family history of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr.* 89:1760–1765. doi:10.3945/ajcn.2008.27336.

Lustig, R. H. 2010. Fructose: Metabolic, Hedonic, and Societal Parallels with Ethanol. *Journal of the American Dietetic Association.* 110:1307–1321. doi:10.1016/j.jada.2010.06.008.

Mason, T. M. 1998. The Role of Factors that Regulate the Synthesis and Secretion of Very-Low-Density Lipoprotein by Hepatocytes. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences.* 35:461–487. doi:10.1080/10408369891234246.

Moon, Y.-A., G. Liang, X. Xie, M. Frank-Kamenetsky, K. Fitzgerald, V. Koteliansky, M. S. Brown, J. L. Goldstein, and J. D. Horton. 2012. The Scap/SREBP Pathway Is Essential for Developing Diabetic Fatty Liver and Carbohydrate-Induced Hypertriglyceridemia in Animals. *Cell Metabolism*. 15:240–246. doi:10.1016/j.cmet.2011.12.017.

Navarro-Villa, A., J. H. Mica, J. de los Mozos, L. A. den Hartog, and A. I. García-Ruiz. 2019. Nutritional Dietary Supplements to Reduce the Incidence of Fatty Liver Syndrome in Laying Hens and the Use of Spectrophotometry to Predict Liver Fat Content. *Journal of Applied Poultry Research*. 28:435–446. doi:10.3382/japr/pfz005.

Nozière, P., P. Grolier, D. Durand, A. Ferlay, P. Pradel, and B. Martin. 2006. Variations in Carotenoids, Fat-Soluble Micronutrients, and Color in Cows' Plasma and Milk Following Changes in Forage and Feeding Level. *Journal of Dairy Science*. 89:2634–2648. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72340-2.

Oh, W., E. Kim, M. R. Castro, P. J. Caraballo, V. Kumar, M. S. Steinbach, and G. J. Simon. 2016. Type 2 Diabetes Mellitus Trajectories and Associated Risks. *Big Data*. 4:25–30. doi:10.1089/big.2015.0029.

Paddon-Jones, D., E. Westman, R. D. Mattes, R. R. Wolfe, A. Astrup, and M. Westerterp-Plantenga. 2008. Protein, weight management, and satiety. *Am J Clin Nutr*. 87:1558S-1561S. doi:10.1093/ajcn/87.5.1558S.

Parry, S. A., and L. Hodson. 2017. Influence of dietary macronutrients on liver fat accumulation and metabolism. *Journal of Investigative Medicine*. 65:1102–1115. doi:10.1136/jim-2017-000524.

Pereira-Lancha, L. O., D. F. Coelho, P. L. de Campos-Ferraz, and A. H. Lancha. 2010. Body Fat Regulation: Is It a Result of a Simple Energy Balance or a High Fat Intake? *Journal of the American College of Nutrition*. 29:343–351. doi:10.1080/07315724.2010.10719850.

Pierce, A. A., C. C. Duwaerts, R. K. Soon, K. Siao, J. P. Grenert, M. Fitch, M. K. Hellerstein, C. Beysen, S. M. Turner, and J. J. Maher. 2016. Isocaloric manipulation of macronutrients within a high-carbohydrate/moderate-fat diet induces unique effects on hepatic lipogenesis, steatosis and liver injury. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 29:12–20. doi:10.1016/j.jnutbio.2015.10.020.

Rico, D. E., Y. Ying, and K. J. Harvatine. 2014. Effect of a high-palmitic acid fat supplement on milk production and apparent total-tract digestibility in high- and low-milk yield dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 97:3739–3751. doi:10.3168/jds.2013-7341.

Rico, J. E., C. M. Perdomo, M. Lehman, L. Delprat, M. Lefrançois, and D. E. Rico. 2020. Time-restricted feeding modifies feed intake and performance of male Mulard ducks. *EAAP Book of abstracts*. 134.

Rodin, J. 1991. Effects of pure sugar vs. mixed starch fructose loads on food intake. *Appetite*. 17:213–219. doi:10.1016/0195-6663(91)90023-L.

Roura, E., M. W. Baldwin, and K. C. Klasing. 2013. The avian taste system: Potential implications in poultry nutrition. *Animal Feed Science and Technology*. 180:1–9. doi:10.1016/j.anifeedsci.2012.11.001.

Rozenboim, I., J. Mahato, N. A. Cohen, and O. Tirosh. 2016. Low protein and high-energy diet: a possible natural cause of fatty liver hemorrhagic syndrome in caged White Leghorn laying hens. *Poultry Science*. 95:612–621. doi:10.3382/ps/pev367.

Salichon, M., G. Guy, D. Rousselot, and J. Blum. 1994. Composition des 3 types de foie gras: oie, canard Mulard et canard de Barbarie. *Annales de Zootechnie*. 43:213–220.

Schwartz, M. W., and G. J. Morton. 2002. Keeping hunger at bay. *Nature*. 418:595–597. doi:10.1038/418595a.

Shapiro, A., W. Mu, C. Roncal, K.-Y. Cheng, R. J. Johnson, and P. J. Scarpace. 2008. Fructose-induced leptin resistance exacerbates weight gain in response to subsequent high-fat feeding. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 295:R1370–R1375. doi:10.1152/ajpregu.00195.2008.

Sobrecases, H., K.-A. Lê, M. Bortolotti, P. Schneiter, M. Ith, R. Kreis, C. Boesch, and L. Tappy. 2010. Effects of short-term overfeeding with fructose, fat and fructose plus fat on plasma and hepatic lipids in healthy men. *Diabetes & Metabolism*. 36:244–246. doi:10.1016/j.diabet.2010.03.003.

Takayama, K., Y. Mizoguchi, I. Oshima, and Y. Nakanishi. 2018. Behavioral Study on Taste Responses of Geese to Sweet, Salty, Sour, Bitter, and Umami Solutions. *Animal Behaviour and Management*. 54:68–74. doi:10.20652/abm.54.2_68.

Tavernier, A., S. Davail, K. Ricaud, M.-D. Bernadet, and K. Gontier. 2017. Genes involved in the establishment of hepatic steatosis in Muscovy, Pekin and mule ducks. *Mol Cell Biochem*. 424:147–161. doi:10.1007/s11010-016-2850-7.

Tavernier, A., K. Ricaud, M.-D. Bernadet, K. Gontier, and S. Davail. 2018. Pre- and post-prandial expression of genes involved in lipid metabolism at the end of the overfeeding period of mule ducks. *Mol Cell Biochem*. 438:111–121. doi:10.1007/s11010-017-3118-6.

Teff, K. L., S. S. Elliott, M. Tschöp, T. J. Kieffer, D. Rader, M. Heiman, R. R. Townsend, N. L. Keim, D. D'Alessio, and P. J. Havel. 2004. Dietary Fructose Reduces Circulating Insulin and Leptin, Attenuates Postprandial Suppression of Ghrelin, and Increases Triglycerides in Women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 89:2963–2972. doi:10.1210/jc.2003-031855.

Westerbacka, J., K. Lammi, A.-M. Häkkinen, A. Rissanen, I. Salminen, A. Aro, and H. Yki-Järvinen. 2005. Dietary fat content modifies liver fat in overweight nondiabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 90:2804–2809. doi:10.1210/jc.2004-1983.

Westerterp-Plantenga, M. S., S. G. Lemmens, and K. R. Westerterp. 2012. Dietary protein – its role in satiety, energetics, weight loss and health. *British Journal of Nutrition*. 108:S105–S112. doi:10.1017/S0007114512002589.

Woods, S. C., E. C. Lotter, L. D. McKay, and D. Porte. 1979. Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. *Nature*. 282:503–505. doi:10.1038/282503a0.

Table 1 Ingredient and chemical composition of experimental duck diets: control and High-fat, High-fructose (FF)

Item	Control	FF
Ingredient (%DM)		
Ground corn	79.50	19.50
Corn gluten	-	10.00
Ground wheat	7.50	5.50
Cristalline fructose ¹	-	42.00
Binding agent ²	0.50	0.50
Mineral and vitamin premix ³	12.50	12.50
Palmitic acid ⁴	-	5.00
Safflower oil	-	5.00
Chemical composition (% of dry matter)		
Dry matter	89.60	90.82
Crude protein	7.18	9.45
Starch	71.12	28.6
Fructose	1.75	42.5
Neutral detergent fiber	15.80	3.73
Total Fatty acids	2.63	9.68
Ash	5.5	5.1
Energy (Mcal of ME/kg DM) ⁵	3.764	4.250
Fatty acid (g/100 of fatty acids)		
16:0	12.1	52.4
18:1 <i>cis</i> -9	26.9	31.2
18:2 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	56.0	13.3

¹CornSweet® Crystalline Fructose, 99.9% Fructose, Archer Daniels Midland Company, Decatur, IL

²Lignosol AR, LignoTech USA, Inc., Rothschild, Wisconsin

³Ground corn used as carrier. Contained (DM basis): 6.8% Ca, 2.8% P, 2.4% Mg, 1.3% Na, 1% K, 55 mg/kg Zn, 55mg/kg Mn, 35mg/kg Fe, 4.5mg/kg Cu, 32 kIU/ kg vitamin A, 7.2 kIU/ kg vitamin D3, 80 IU/kg vitamin E, 12 mg/kg vitamin K, 12 mg/kg vitamin B₂, 24 mg/kg, vitamin B₆, 80 mg/kg vitamin B₁₂, 440 mg/kg vitamin B₃, 88 mg/kg vitamin B₅.

⁴As free fatty acids. Contained 85% 16:0. JeFo Nutrition Inc, Sainte Hyacinthe, QC.

⁵Metabolizable energy for birds (NRC, 1994).

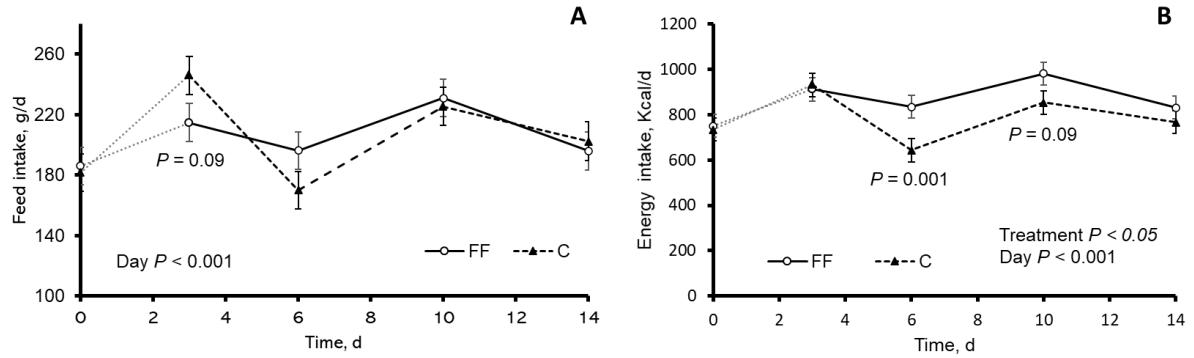


Figure 1: Effects of diets differing in energy density on feed intake (Panel A) and energy intake (Panel B). 1) Control diet (C; 2.6% fatty acids 71% starch); 2) high-fat, high-fructose diet (FF; 9.7% fatty acids, 43% fructose, 27% starch).

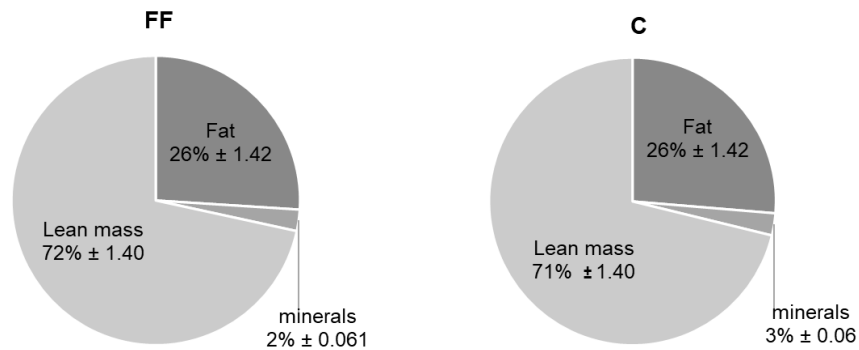


Figure 2: Effects of diets differing in energy density on carcass composition. 1) Control diet (C; 2.6% fatty acids 71% starch); 2) high-fat, high-fructose diet (FF; 9.7% fatty acids, 43% fructose, 27% starch).

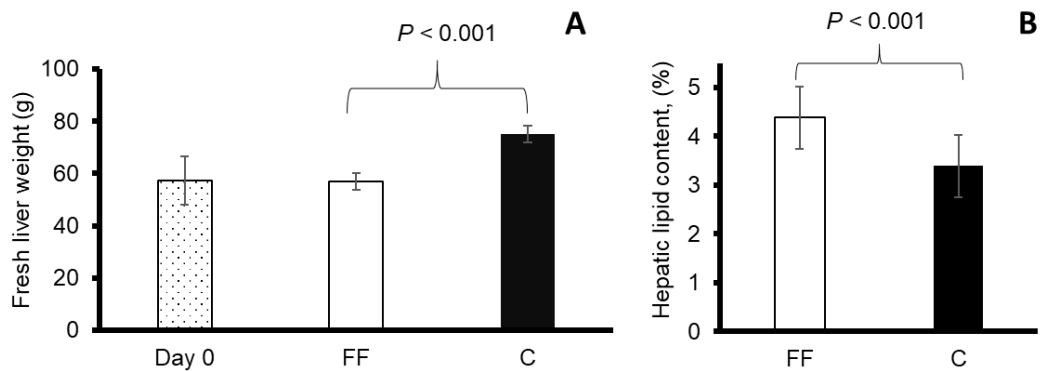


Figure 3: Effects of diets differing in energy density on liver (Panel A : liver weight (g); Panel B : Hepatic lipid content (%)). 1) Control diet (C; 2.6% fatty acids 71% starch); 2) high-fat, high-fructose diet (FF; 9.7% fatty acids, 43% fructose, 27% starch).

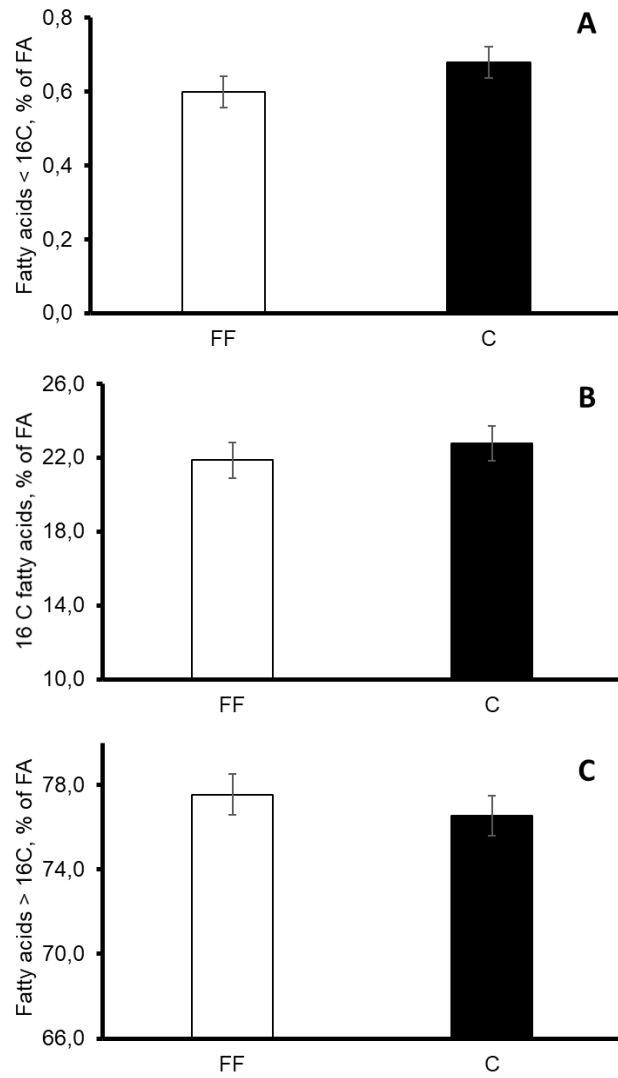


Figure 4: Effects of diets differing in energy density on main fatty acid (FA) groups in the liver of ducks (Panel A: de novo synthesized FA; Panel B: mixed origin FA; Panel C: preformed FA). 1) Control diet (C; 2.6% fatty acids 71% starch); 2) high-fat, high-fructose diet (FF; 9.7% fatty acids, 43% fructose, 27% starch).

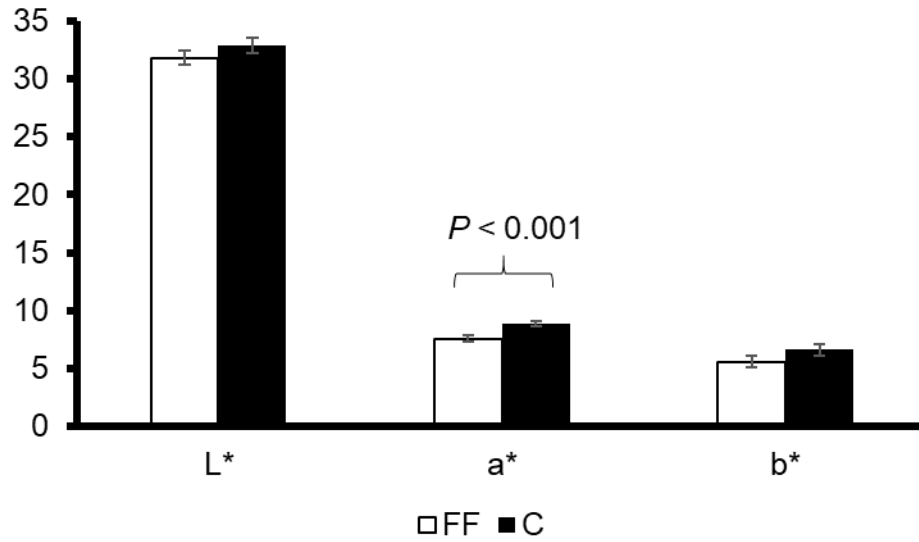


Figure 5: Effects of diets differing in energy density on trichromatic coordinates of livers. 1) Control diet (C; 2.6% fatty acids 71% starch); 2) high-fat, high-fructose diet (FF; 9.7% fatty acids, 43% fructose, 27% starch). L * determines intensity in the white-black color scale (+ = lighter, - = darker). a* determines the intensity in the green-red color scale (+ = more red, - = more green). b * determines intensity in the yellow-blue colorimetric scale (+ = more yellow, - = more blue).

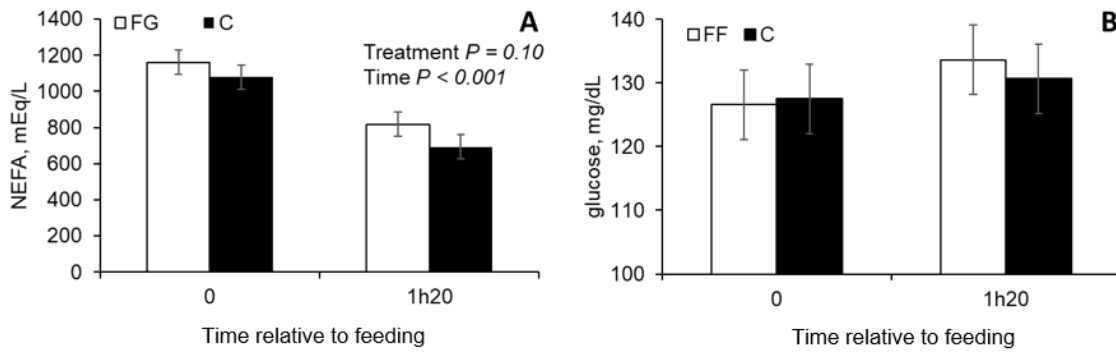


Figure 6: Effects of diets differing in energy density on plasma NEFA and glucose concentration pre-prandial (0) and post-prandial (1h20) (Panel A: NEFA concentration; Panel B: glucose concentration). 1) Control diet (C; 2.6% fatty acids 71% starch); 2) high-fat, high-fructose diet (FF; 9.7% fatty acids, 43% fructose, 27% starch).

CHAPITRE III: Article 2

Effects of high energy diets and fructose supplementation in the drinking water on duck performance

Delprat, L.¹, Lehmann, M.¹, Lefrancois, M.¹, Rico, J.E.², Rico, D.E.^{1,3}

1Université Laval, Québec, QC, Canada; 2University of Maryland, College Park, MD, USA;
3CRSAD, Deschambault, Canada²

Résumé

À long terme, les régimes alimentaires riches en graisses et en fructose modifient la prise alimentaire et provoquent une stéatose hépatique chez les rongeurs. Additionnée d'eau supplémentée en HFCS-55 elles peuvent entraîner un phénotype similaire chez les canards. Au total, 48 canards Mulards ont été bloqués en poids et répartis au hasard dans 1) régime témoin (C); 2) témoin et eau sucrée (CSW); 3) régime riche en graisses, riche en fructose (FF) ou 4) régime riche en matières grasses, riche en fructose et eau sucrée (FFSW). Après 92 jours, leur foie a été collecté. Les animaux ont été pesés chaque semaine et la prise alimentaire mesurée tous les 5 jours. Les aliments à base de fructose ainsi que l'eau supplémentée ont diminué la prise alimentaire. Aucune différence n'a été constatée pour le poids et la concentration lipidique des foies. Ce type de régime à volonté ne semble donc pas favoriser la stéatose hépatique chez les canards.

Mots clés : Canards, Fructose, HFCS, Stéatose hépatique, Long-terme

Abstract

Long-term feeding of high-fat, high-fructose diets has been shown to alter feed intake and cause fatty liver in rodents. Such diets in combination with the addition of high fructose corn syrup (HFCS) in the drinking water may result in a similar phenotype in ducks used for foie gras production. Forty-eight male mule ducks (66 d of age, 4.16 kg \pm 0.37 of BW) housed in individual cages were blocked by weight and randomly allocated (n=12 per group) to 1) Control diet (C; 75% starch); 2) Control diet and sugar-rich water (CSW); 3) high-fat, high-fructose diet (FF; 12% fatty acids, 42% fructose, 26% starch) or 4) high-fat, high-fructose diet and sugar-rich water (FFSW) during 92 d. Animals were weighed weekly and feed intake measured every 5 d. 55% HFCS was mixed with tap water (13% w/v) and provided *ad libitum* to the CSW and FFSW groups. Livers were harvested on d 92. Liver color was evaluated using a chromameter to determine variation in the green-red (a^*), white-black (L^*), and yellow-blue (b^*) scales. Data were analyzed using a mixed model including the random effect of duck within blocks and the fixed effects of treatment, time and their interaction when appropriate. There was a treatment x time interaction ($P < 0.05$) for feed intake as CSW and FFSW exhibited lower values relative to C and FF (32% reduction on average from d 5 to 90; $P < 0.05$). A treatment x time interaction was observed for body weight with higher values for C compared to all other treatments from d 7 to 90 ($P < 0.05$). Liver weight was not affected by treatment and averaged 63.5 \pm 3.2 g. However, livers were more yellow in FFSW than in CSW (b scale; $P < 0.05$), and not different between F, FFSW and C. Long-term feeding of high-fat, high-fructose diets did not reduce feed intake overall, however, provision of HFCS rapidly reduces feed intake, regardless of basal diet composition. Under the conditions of the present trial, high-fat, high-fructose diets seem to have a limited potential in foie gras production using Mule ducks.

Key words: Duck, Fructose, Liver steatosis

Introduction

Foie gras is a delicacy liver product characterized by its high fat content (approximately 60% by weight), and it is mainly produced by gavage (esophageal force-feeding) of ducks and geese for a period of 14 days using high-starch diets based on corn (Blum et al., 1970). Advantageously, relative to mammals, these birds have a unique capacity to accumulate very high levels of hepatic lipids (Pullen et al., 1990). However, although the study of liver lipid accumulation has mostly been carried out in humans and rodents, the fatty liver phenotype shares several commonalities across mammals and birds (Leclercq et al., 1998), and dietary interventions shown to induce fatty liver in mammals are expected to have similar effects in ducks.

Despite being a simple sugar of equivalent mass to glucose (derived from dietary starch), the metabolic effects of fructose are markedly different. Relative to glucose, fructose does not induce pancreatic insulin secretion (Rodin, 1991), and it reduces circulating leptin concentrations (Woods et al., 1979; Rodin, 1991), which in turn may decrease in the feeling of satiety (Woods et al., 1979; Schwartz and Morton, 2002; Harrold et al., 2012). In agreement, experiments in humans and rodents demonstrate that fructose consumption can promote increased energy intake and weight gain by promoting dysregulation of the appetite-controlling signals from ghrelin and leptin (Huang et al., 2004; Teff et al., 2004; Stanhope et al., 2009). The inhibition of satiety results in higher feed intake and, therefore, greater lipid accumulation across tissues, including the liver (Huang et al., 2004; Teff et al., 2004; Stanhope et al., 2009).

Beyond its effects on satiety, fructose is metabolized differently from glucose as it is mainly utilized in the liver, where it can enter the glycolysis pathway and serve as a substrate for lipogenesis (Lustig, 2010; Tappy and Lê, 2010). Furthermore, when administered in excess (i.e. as gavage) to ducks, fructose is more steatotic than glucose (Davail et al., 2005). In contrast to mammals (Sobrecases et al., 2010), fructose does not markedly increase liver VLDL secretion in ducks, which favors the accumulation of lipids in the liver (Davail et al., 2005). Furthermore, some evidence suggests that adding high-fructose corn syrup (HFCS-55; 55% fructose, 45% glucose) to drinking water can cause hepatic steatosis in rodents (Figlewicz et al., 2009; Ko et al., 2017; Mock et al., 2017). Such a means of administration could then be a promising way to increase fructose intake and induce fatty liver in ducks.

On the other hand, dietary long-chain fatty acids influx to the liver will provide a lipidic substrate, which depending on export capacity and oxidation, can accumulate in the liver (Geng et al., 2016; Pierce et al., 2016). Therefore, it could be expected that a combination of both, increased dietary fructose and lipids, would simultaneously increase hepatic lipid accumulation from *de novo* (i.e. liver synthesized) and preformed (i.e. from circulation) sources. It has also been shown in rats, that diets rich in both fructose and lipids can cause fatty liver (Calvo-Ochoa et al., 2014; Pierce et al., 2016). However, although short-term feeding (14-days) of this type of diet did not induce fatty liver in ducks (Chapter 2), long-term effects of high-fructose, high-fat diets on feeding intake regulation and liver lipid concentrations in ducks are currently not known. A long-term (i.e. 12-week) dietary intervention comparing the effects of starch or sucrose in combination with oleic or palmitic acid showed that a combination of sucrose and palmitic acid was the most effective in inducing hepatic steatosis in mice (Pierce et al., 2016).

We hypothesize that long-term *ad libitum* feeding of a high-fructose, high-palmitic acid diet in combination with HCFS-55 in the drinking water will result in increased feed intake and hepatic lipid concentrations in ducks.

The objective of this study was to evaluate the impact of a high-fructose, high-palmitic acid diet and of HFCS-55 in the drinking water on feed intake regulation, body weight and liver accumulation of lipids using mule ducks.

Materials and Methods

I. Experimental design and sampling

All animal procedures were approved by the Animal Care and Use of Canada and Laval University. Forty-eight male mule ducks (*Anas platyrhynchos* × *Cairina moschata*) of 66-days of age (4.16 kg ± 0.37 of BW) in individual cages were used for the study. Following a 12-day acclimation, ducks were blocked by body weight and randomly assigned to treatment (n=12 ducks/group) to 1) Control diet (C; 75% starch); 2) Control diet and sugar-rich water (CSW); 3) high-fat, high-fructose diet (FF; 12% fat, 42% fructose, 26% starch) or 4) high-fat, high-fructose diet and sugar-rich water (FFSW) during 92 d. Water was mixed with IsoClear® 55% High Fructose Corn Syrup (Cargil Inc., Minneapolis, MN; 55% fructose,

42% dextrose, 2% maltose, 2% other saccharides) for a final concentration of 13% HFCS (w/v). The sugar-rich water was provided *ad libitum* to the CSW and FFSW groups daily, except once per week, when regular water was provided to allow animals to clean their feathers. Water and feed were freely available. BW was taken weekly. Feed intake was measured on days 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 45, 50, 56, 62, 65, 70, 75, 80, 89. For the totality of this essay, the photoperiod was 12 hours, and ambient temperature was kept at 15°C.

Given the cleanliness of ducks in the sugar-rich groups could have been affected, the condition of the feathers was scored subjectively using a 5-point scale, by assessing plumage color, stickiness and coverage of the back, breast, rump, belly, and wings: 1 (normal, white and non-sticky feathers), 2 (some change in coloration), 3 (yellow tone and slight stickiness), 4 (dark brown and sticky feathers), 5 (lack of feather coverage, skin visible, very sticky).

The animals were fasted twelve hours before slaughter. Blood samples were collected using 5 mL EDTA tubes from the wing vein after a 12h fast (pre-prandial samples) and 1h20 after feeding. Collected blood was then centrifuged at 3000 x g for 10 min at 4°C and resulting plasma was stored at -20°C.

All birds were stunned with a non-perforating pistol and slaughtered by exsanguination. The carcass was eviscerated and the liver, the caecum and the ileum were carefully removed. Livers was weighed and its color was measured immediately with the chromatic CIE lab coordinates system (L*, a*, b*) according to Nozière et al. (2006) with Minolta CR-300 (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japon).

II. Chemical and biochemical analyses

Feeds were analyzed for DM, CP, NDF, starch, and FA concentration and profiles (Table 1). After determining the dry matter content (oven at 100 ° C for 16 hours; AOAC International, 2005; method no: 930.15) the feed samples were reduced to ash at 600 ° C for 12 h using a muffle oven. Nitrogen concentration was determined on a Thermo-Fisher EA 1110 CHNS elemental analyzer (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA) and multiplied by 6.25 to obtain CP. Determination of NDF was carried out using the Ankom A200 filter bag technique (Ankom Technology, Macedon, NY) according to Van Soest et al.

(1991) using a heat-stable amylase and sodium sulfite. Metabolizable energy density of diets was calculated according to NRC (1994).

Liver FA concentration and profiles were determined by GC-FID after direct methylation (Sukhija and Palmquist, 1988). Briefly, FA were acid methylated and extracted in hexane. Methyl esters were quantified by GC-FID according to Rico et al. (2014).

Plasma samples were analyzed for NEFA with an enzymatic colorimetric method (NEFAs; Wako HR series NEFA-HR (2) Kit, FUJIFILM Wako Diagnostics USA). Intraassay variation was 14.2% and interassay variation was 5.4%.

III. Statistical analyses

Repeated measures data (body weight, feed intake) were analyzed using the MIXED procedure of SAS (version 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NY) according to the following model:

$$Y_{ijkl} = \mu + B_i + A_j(i) + D_k + T_l + B_i \times T_l + D_k \times T_l + e_{ijkl}$$

where $Y_{ijkl} = \mu$ = overall mean, B_i = fixed effect of the i th block (i.e., pair of animals; $n = 24$), $A_j(i)$ = random effect of j th animal within the i th block (i.e., error or residual term), D_k = fixed effect of the k th day, T_l = fixed effect of the l th treatment, $B_i \times T_l$ = i th block and l th treatment, $D_k \times T_l$ = k th day and l th treatment, and e_{ijkl} = residual error. A reduced model without interactions was used when found not significant.

The model for one-time measures (liver weight, trichromatic coordinates, NEFA plasma, carcass fat and FA liver), was:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + A_j(i) + T_k + B_i \times T_k + e_{ijk}$$

where $Y_{ijk} = \mu$ = overall mean, B_i = fixed effect of the i th block (i.e., group of 4 animals; $n = 24$), $A_j(i)$ = random effect of j th animal within the i th block (i.e., error or residual term), T_k = fixed effect of the l th treatment, $B_i \times T_k$ = i th block and l th treatment and e_{ijk} = residual error. A reduced model without interactions was used when found not significant.

Data with Studentized residual values > 3.0 or < -3.0 were considered outliers and removed from the analysis. Statistical significance was declared at $P \leq 0.05$ and trends at $0.05 < P \leq 0.10$. All results are expressed as $LSM \pm SEM$, unless otherwise indicated.

Results

I. Effects of treatments on plumage cleanliness, feed intake and body weight

The cleanliness and overall status of the plumage were not affected by diet, but was significantly reduced by supplementation with HFCS-55 in the drinking water ($P < 0.01$, figure 1). Feed intake was influenced by dietary treatment, type of drink and time (Figure 2). Overall, the C group exhibited higher feed intake than FF ($P < 0.05$), however, this was dependent on time (Diet x time $P < 0.001$), as the FF group progressively reduced its feed intake. Regardless of diet, consumption was lower with HFCS water supplementation (SW groups; $P < 0.001$).

There was a significant diet x time interaction for body weight, as both FF groups were lighter than Control, and CSW slightly increase over time ($P < 0.05$; Figure 3). Additionally, drink type independently affected body weight, as both HFCS groups exhibited lower values overall during the 13 weeks period, 4.60, 4.37, 4.24, and 4.22 kg \pm 0.06 for the C, CSW, FF, and FFSW, respectively). No difference between weights of ducks in the FFSW and FF treatments was observed at any time point.

II. Effects of treatments on liver weight, lipid content, fatty acid composition and color

After 13 weeks, the liver weight and the lipid concentration were not different between groups (53.54 \pm 10.68 g and 5.32 \pm 0.60%, Figure 4). On average, the concentration of lipids the control diet groups tended to be higher than in the FF groups (5.76 vs 4.88 \pm 0.06%, $P = 0.10$).

The overall fatty acid profile of the liver was also affected by dietary treatments (Figure 5). There was a diet x drink interaction for liver *de novo* synthesized FA (FA < 16C; Figure 5a), as addition of HFCS-55 resulted in no difference between the control diet groups, but it increased this FA group by 37% in FFSW relative to FFA ($P < 0.05$). A diet effect was detected for mixed origin FA (16C FA), as they were increased by 9% in the FF diet groups relative to the control diet groups (Figure 5b). In contrast, the concentration of preformed FA (FA > 16C) in the liver was reduced in the FF diet groups relative to control by 4% ($P < 0.001$; Figure 5c).

As for the lipid color of the liver, a difference between diets was detected for b^* values (yellowness), as it was higher in the FF diet groups ($P < 0.05$; Figure 6). In contrast, L^* (lightness) and a^* (redness) values were not affected diet or drink type.

III. Effect on plasma non-esterified fatty acid

There was no significant three-way interaction for plasma NEFA ($P > 0.80$, figure 7). A tendency for a diet x time interaction was detected, however, the reduction in NEFA caused by feeding, was similar between the FF and the control diet groups ($P = 0.07$; 64% and 63%, respectively). In agreement, there was a significant effect of time ($P < 0.001$). Supplementation of HFCS-55 in the drinking water reduced NEFA concentrations by 25% (Drink $P < 0.001$).

Discussion and conclusion

This experiment was conceived to test the long-term effects of high-fructose, high-fat diets and of supplemental sugar-rich water in Mule ducks fed *Ad libitum*, while controlling for possible confounding factors, such as environmental temperature and daylight length, both of which can affect intake and adiposity in web-footed animals (Guy et al., 2013). The high-fat, high-fructose diet contained 42.5% pure fructose, which replaced dietary starch in the control diet, based on previous studies showing higher potential of steatosis development (Davail et al., 2005). Palmitic acid (16:0) was selected as the main source of supplemental fat, since it has been shown to be more effective in inducing hepatic steatosis compared with other lipids, such as oleic acid (18:1 cis-9; Pierce et al., 2016). Diets were formulated to be isonitrogenous, thus removing variation due to protein satiety effects, which have also been shown to influence the incidence of fatty liver (Garcia Caraballo et al., 2017; Navarro-Villa et al., 2019).

In mule ducks, 14-days overfeeding high-fructose diets by gavage induced a more pronounced liver steatosis compared to overfeeding of a starch-based diet (Davail et al., 2005). In contrast, strategies able to induce liver steatosis by *ad libitum* feeding further rely on dysregulation of feed intake signals. As shown in chapter two, short-term (14-d) *ad libitum* feeding of high-fat, high-fructose diets had no major impact on feed intake and liver lipid content of ducks. However, metabolizable energy intake was moderately increased (Figure 1b; Chapter 2), suggesting potential in longer-term interventions to induce the fatty liver phenotype using similar diets, as it has been shown in rodents (Pierce et al., 2016). Indeed,

such observations were the basis for our current working hypothesis that in contrast to short-term feeding, chronic exposure to these types of diets would result in dysregulation of intake and thus increased body weight, liver weight and liver lipid accumulation. This effect was expected to be mediated by reduced satiety through leptin resistance, and by increased hunger from higher ghrelin concentrations, as shown in previous experiments in mammals (Teff et al., 2004; Stanhope et al., 2009; Lustig, 2010).

Ad libitum access to a diet rich in fats causes in mice: obesity, insulin resistance, fatty liver, hypercholesterolemia and dyslipidemia (Wang and Liao, 2012). On the other hand, *ad libitum* access to a diet rich in fructose does not lead to a large increase in adiposity, but leads to an intolerance to glucose coincident with hyperglycemia and steatosis (Tetri et al., 2008; Mellor et al., 2011; Samuel, 2011). Importantly, it has been previously shown that fatty liver development is dependent on overfeeding beyond requirements (Lê et al., 2009; Parry and Hodson, 2017). Although fructose may be more steatogenic than glucose (Lustig, 2010; DiNicolantonio et al., 2018) the effects of carbon sources for lipogenesis may be overridden by overfeeding, where steatosis can be induced regardless of the source of excess calories, be it glucose, fructose or fat (Ngo Sock et al., 2010; Lecoultre et al., 2013; Parry and Hodson, 2017). In the present experiment HFCS-55 decreased feed intake, despite long exposure periods, an effect that was observed rapidly and was maintained throughout the experiment, which in contrast to previous studies in mammals, where fructose decreases satiety leading to voluntary increase in feed intake (Woods et al., 1979; Schwartz and Morton, 2002; Harrold et al., 2012). In agreement, with our observations, Mock et al. (2017) reported that rats drinking water enriched with HFCS-55 or sucrose consumed reduced their feed intake relative to those provided regular water. Such feed intake depression effects seemed to have been limited to fructose provision in the drinking water, as overall, the C and FF groups had similar levels of feed intake. Whether the sugar-rich water caused feed intake reductions through hormonal regulation of hunger or satiety signals, such as ghrelin, insulin and leptin, is unknown in the present experiment, but such an effect of fructose has been previously reported (Rodin, 1991; Teff et al., 2004). However, it is likely that the glucose contained in HFCS-55 could have contributed to feed intake reduction through an insulin response as an anorexigenic signal in the brain (Mock et al., 2017). In support of an insulin response to glucose contained in HFCS, both fasting and post-prandial plasma NEFA were decreased in the sugar-rich water groups, but were similar to previous reports in Mule ducks (Tavernier et al., 2017). Importantly, the overall effect of

HFCS-55 addition on energy balance is unknown, the significant reduction in body weight in both sugar-rich water groups suggests, energy ingestion from this source was insufficient for growth. Unexpectedly, although the Control and FF groups receiving regular water exhibited similar levels of feed intake throughout the experiment, body weight was consistently lower in the FF group. This is particularly surprising since the energy density of the FF diet was significantly higher than control (4,280 vs. 3,649 Mcal of ME/kg DM, respectively), and suggests energy expenditure may have been increased by this high-fructose, high-fat diet, however, possible reasons for such increase remain unclear.

De novo lipogenesis (i.e. lipid synthesis from non-lipid precursors) has been proposed as a possible mechanism by which fructose feeding may enhance liver lipid accumulation (Schwarz et al., 2015; DiNicolantonio et al., 2018). Indeed, bypassing the main rate-limiting step of glycolysis (phosphofructokinase), fructose can increase *de novo* lipogenesis through higher flux of a lipogenic substrate (Lustig, 2010) and additionally by activating sterol response element-binding protein 1-c (SREBP-1c), a master regulator of lipogenic genes such as acetyl-CoA carboxylase and fatty acid synthase (DiNicolantonio et al., 2018; Zhu et al., 2019). In addition, fructose feeding has also been shown to upregulate other transcription factors able to upregulate lipogenesis, such as carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) in rats (Rodríguez-Calvo et al., 2009). In our experiment, the supplementation of sugar-rich water seemed to have an additive effect with the FF diet, as liver *de novo* synthesized FA was increased by this treatment combination. Stanhope et al. (2009) previously reported that fructose-sweetened drinks increased visceral adiposity in humans, whereas glucose-sweetening did not. Our results are also in contrast with studies in rodents, where despite reductions in feed intake induced by fructose-rich beverages, significant intrahepatic accumulation of lipids was reported (Jürgens et al., 2005; Mock et al., 2017).

Previously, Stanley et al., (2016) showed that a combination of fructose and palmitic acid was more effective for steatosis induction than other carbohydrate-lipid combinations. Thus, palmitic acid (16:0) was selected in the present study as the main source of supplemental lipids in the FF diet. It is likely that the observed increase in hepatic concentrations of 16C FA in the FF diet groups is due to increased dietary supply. Therefore, the increase in the proportions of *de novo* and 16C FA was likely associated with substrate provision from the FF diet, although it did not result in increased liver lipid accumulation, likely because of the lack of overfeeding induction.

Lastly, liver color is often well correlated to changes in liver lipid content (Guy et al., 2013; Navarro-Villa et al., 2019). At the end of the experimental period, the yellowness (b*) of liver was higher in FF ducks, similar to Guy et al. (2013), but no differences were observed for redness (a*) and lightness (L*) unlike in their studies. This difference could be explained by the diet composition. Indeed, FF diet had a large quantity of carotenoids, from corn gluten and ground corn (Scott and Eldridge, 2005), which likely were transferred to the liver and given it a yellower liver (Spada et al., 2016).

Under the conditions the present study, long-term feeding of high-fat, high-fructose diets failed to increase overfeeding and to induce liver steatosis. Satiety effects may have played a role in the observed reductions of feed intake by HFCS supplementation in the drinking water. However discrepancies relative to rodent studies may be related to the effects of these interventions on feed intake regulation signals, such as insulin, leptin and ghrelin, which warrants further investigation.

Littérature cited

Blum, J.-C., J.-C. Gaumeton, J.-P. Muh, and B. Leclerq. 1970. Modifications de la valeur des normes sanguines en fonction du degré de stéatose hépatique chez l'oie gavée. *Annales de Recherches Vétérinaires*. 1:167–168. doi:HAL Id: hal-00900663.

Calvo-Ochoa, E., K. Hernández-Ortega, P. Ferrera, S. Morimoto, and C. Arias. 2014. Short-Term High-Fat-and-Fructose Feeding Produces Insulin Signaling Alterations Accompanied by Neurite and Synaptic Reduction and Astroglial Activation in the Rat Hippocampus. *J Cereb Blood Flow Metab*. 34:1001–1008. doi:10.1038/jcbfm.2014.48.

Davail, S., N. Rideau, M. D. Bernadet, J. M. André, G. Guy, and R. Hoo-Paris. 2005. Effects of Dietary Fructose on Liver Steatosis in Overfed Mule Ducks. *Horm Metab Res*. 37:32–35. doi:10.1055/s-2005-861029.

DiNicolantonio, J. J., D. Mangan, and J. H. O'Keefe. 2018. The fructose–copper connection : added sugars induce fatty liver and insulin resistance via copper deficiency: original research. *Journal of Insulin Resistance*. 3:1–3. doi:10.4102/jir.v3i1.43.

Figlewicz, D. P., G. Ioannou, J. B. Jay, S. Kittleson, C. Savard, and C. L. Roth. 2009. Effect of moderate intake of sweeteners on metabolic health in the rat. *Physiol Behav*. 98:618–624. doi:10.1016/j.physbeh.2009.09.016.

Garcia Caraballo, S. C., T. M. Comhair, C. H. C. Dejong, W. H. Lamers, and S. E. Koehler. 2017. Dietary treatment of fatty liver: High dietary protein content has an antisteatotic and antiobesogenic effect in mice. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 1863:1789–1804. doi:10.1016/j.bbadis.2017.04.022.

Geng, S., W. Zhu, C. Xie, X. Li, J. Wu, Z. Liang, W. Xie, J. Zhu, C. Huang, M. Zhu, R. Wu, and C. Zhong. 2016. Medium-chain triglyceride ameliorates insulin resistance and inflammation in high fat diet-induced obese mice. *Eur J Nutr*. 55:931–940. doi:10.1007/s00394-015-0907-0.

Guy, G., L. Fortun-Lamothe, G. Bénard, and X. Fernandez. 2013. Natural induction of spontaneous liver steatosis in Greylag Landaise geese (*Anser anser*). *J Anim Sci*. 91:455–464. doi:10.2527/jas.2012-5492.

Harrold, J. A., T. M. Dovey, J. E. Blundell, and J. C. G. Halford. 2012. CNS regulation of appetite. *Neuropharmacology*. 63:3–17. doi:10.1016/j.neuropharm.2012.01.007.

Huang, B.-W., M.-T. Chiang, H.-T. Yao, and W. Chiang. 2004. The effect of high-fat and high-fructose diets on glucose tolerance and plasma lipid and leptin levels in rats. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 6:120–126. doi:10.1111/j.1462-8902.2004.00323.x.

Jürgens, H., W. Haass, T. R. Castañeda, A. Schürmann, C. Koebnick, F. Dombrowski, B. Otto, A. R. Nawrocki, P. E. Scherer, J. Spranger, M. Ristow, H.-G. Joost, P. J. Havel, and M. H. Tschöp. 2005. Consuming Fructose-sweetened Beverages Increases Body Adiposity in Mice. *Obesity Research*. 13:1146–1156. doi:10.1038/oby.2005.136.

Ko, E.-A., H.-R. Kim, Y.-B. Kim, H.-S. Kim, and S.-H. Lee. 2017. Effect of High Fructose Corn Syrup (HFCS) Intake on the Female Reproductive Organs and Lipid Accumulation in Adult Rats. *Dev Reprod*. 21:151–156. doi:10.12717/DR.2017.21.2.151.

Lê, K.-A., M. Ith, R. Kreis, D. Faeh, M. Bortolotti, C. Tran, C. Boesch, and L. Tappy. 2009. Fructose overconsumption causes dyslipidemia and ectopic lipid deposition in healthy subjects with and without a family history of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr*. 89:1760–1765. doi:10.3945/ajcn.2008.27336.

Leclercq, I., Y. Horsmans, J.-P. Desager, N. Delzenne, and A.-P. Geubel. 1998. Reduction in hepatic cytochrome P-450 is correlated to the degree of liver fat content in animal models of steatosis in the absence of inflammation. *Journal of Hepatology*. 28:410–416. doi:10.1016/S0168-8278(98)80314-0.

Lecoultre, V., L. Egli, G. Carrel, F. Theytaz, R. Kreis, P. Schneiter, A. Boss, K. Zwyzgart, K.-A. Lê, M. Bortolotti, C. Boesch, and L. Tappy. 2013. Effects of fructose and glucose overfeeding on hepatic insulin sensitivity and intrahepatic lipids in healthy humans. *Obesity (Silver Spring)*. 21:782–785. doi:10.1002/oby.20377.

Lustig, R. H. 2010. Fructose: Metabolic, Hedonic, and Societal Parallels with Ethanol. *Journal of the American Dietetic Association*. 110:1307–1321. doi:10.1016/j.jada.2010.06.008.

Mellor, K. M., J. R. Bell, M. J. Young, R. H. Ritchie, and L. M. D. Delbridge. 2011. Myocardial autophagy activation and suppressed survival signaling is associated with insulin resistance in fructose-fed mice. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 50:1035–1043. doi:10.1016/j.yjmcc.2011.03.002.

Mock, K., S. Lateef, V. A. Benedito, and J. C. Tou. 2017. High-fructose corn syrup-55 consumption alters hepatic lipid metabolism and promotes triglyceride accumulation. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 39:32–39. doi:10.1016/j.jnutbio.2016.09.010.

Navarro-Villa, A., J. H. Mica, J. de los Mozos, L. A. den Hartog, and A. I. García-Ruiz. 2019. Nutritional Dietary Supplements to Reduce the Incidence of Fatty Liver Syndrome in Laying Hens and the Use of Spectrophotometry to Predict Liver Fat Content. *Journal of Applied Poultry Research*. 28:435–446. doi:10.3382/japr/pfz005.

Ngo Sock, E. T., K.-A. Lê, M. Ith, R. Kreis, C. Boesch, and L. Tappy. 2010. Effects of a short-term overfeeding with fructose or glucose in healthy young males. *Br J Nutr*. 103:939–943. doi:10.1017/S0007114509992819.

Nozière, P., P. Grolier, D. Durand, A. Ferlay, P. Pradel, and B. Martin. 2006. Variations in Carotenoids, Fat-Soluble Micronutrients, and Color in Cows' Plasma and Milk Following Changes in Forage and Feeding Level. *Journal of Dairy Science*. 89:2634–2648. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72340-2.

Parry, S. A., and L. Hodson. 2017. Influence of dietary macronutrients on liver fat accumulation and metabolism. *Journal of Investigative Medicine*. 65:1102–1115. doi:10.1136/jim-2017-000524.

Pierce, A. A., C. C. Duwaerts, R. K. Soon, K. Siao, J. P. Grenert, M. Fitch, M. K. Hellerstein, C. Beysen, S. M. Turner, and J. J. Maher. 2016. Isocaloric manipulation of macronutrients within a high-carbohydrate/moderate-fat diet induces unique effects on hepatic lipogenesis, steatosis and liver injury. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 29:12–20. doi:10.1016/j.jnutbio.2015.10.020.

Pullen, D. L., J. S. Liesman, and R. S. Emery. 1990. A species comparison of liver slice synthesis and secretion of triacylglycerol from nonesterified fatty acids in media. *Journal of Animal Science*. 68:1395. doi:10.2527/1990.6851395x.

Rico, D. E., Y. Ying, and K. J. Harvatine. 2014. Effect of a high-palmitic acid fat supplement on milk production and apparent total-tract digestibility in high- and low-milk yield dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 97:3739–3751. doi:10.3168/jds.2013-7341.

Rodin, J. 1991. Effects of pure sugar vs. mixed starch fructose loads on food intake. *Appetite*. 17:213–219. doi:10.1016/0195-6663(91)90023-L.

Rodríguez-Calvo, R., E. Barroso, L. Serrano, T. Coll, R. M. Sánchez, M. Merlos, X. Palomer, J. C. Laguna, and M. Vázquez-Carrera. 2009. Atorvastatin prevents carbohydrate response element binding protein activation in the fructose-fed rat by activating protein kinase A. *Hepatology*. 49:106–115. doi:https://doi.org/10.1002/hep.22570.

Samuel, V. T. 2011. Fructose induced lipogenesis: from sugar to fat to insulin resistance. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 22:60–65. doi:10.1016/j.tem.2010.10.003.

Schwartz, M. W., and G. J. Morton. 2002. Keeping hunger at bay. *Nature*. 418:595–597. doi:10.1038/418595a.

Schwarz, J.-M., S. M. Noworolski, M. J. Wen, A. Dyachenko, J. L. Prior, M. E. Weinberg, L. A. Herraiz, V. W. Tai, N. Bergeron, T. P. Bersot, M. N. Rao, M. Schambelan, and K. Mulligan. 2015. Effect of a High-Fructose Weight-Maintaining Diet on Lipogenesis and Liver Fat. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 100:2434–2442. doi:10.1210/jc.2014-3678.

Scott, C. E., and A. L. Eldridge. 2005. Comparison of carotenoid content in fresh, frozen and canned corn. *Journal of Food Composition and Analysis*. 18:551–559. doi:10.1016/j.jfca.2004.04.001.

Sobrecases, H., K.-A. Lê, M. Bortolotti, P. Schneiter, M. Ith, R. Kreis, C. Boesch, and L. Tappy. 2010. Effects of short-term overfeeding with fructose, fat and fructose plus fat on plasma and hepatic lipids in healthy men. *Diabetes & Metabolism*. 36:244–246. doi:10.1016/j.diabet.2010.03.003.

Spada, F. P., M. M. Selani, A. A. D. Coelho, V. J. M. Savino, A. A. Rodella, M. C. Souza, F. S. Fischer, D. E. A. Lemes, S. G. Canniatti-Brazaca, F. P. Spada, M. M. Selani, A. A. D. Coelho, V. J. M. Savino, A. A. Rodella, M. C. Souza, F. S. Fischer, D. E. A. Lemes, and S. G. Canniatti-Brazaca. 2016. Influence of natural and synthetic carotenoids on the color of egg yolk. *Scientia Agricola*. 73:234–242. doi:10.1590/0103-9016-2014-0337.

Stanhope, K. L., J. M. Schwarz, N. L. Keim, S. C. Griffen, A. A. Bremer, J. L. Graham, B. Hatcher, C. L. Cox, A. Dyachenko, W. Zhang, J. P. McGahan, A. Seibert, R. M. Krauss, S. Chiu, E. J. Schaefer, M. Ai, S. Otokozawa, K. Nakajima, T. Nakano, C. Beysen, M. K. Hellerstein, L. Berglund, and P. J. Havel. 2009. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J Clin Invest*. 119:1322–1334. doi:10.1172/JCI37385.

Tappy, L., and K.-A. Lê. 2010. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol Rev*. 90:23–46. doi:10.1152/physrev.00019.2009.

Tavernier, A., S. Davail, K. Ricaud, M.-D. Bernadet, and K. Gontier. 2017. Genes involved in the establishment of hepatic steatosis in Muscovy, Pekin and mule ducks. *Mol Cell Biochem*. 424:147–161. doi:10.1007/s11010-016-2850-7.

Teff, K. L., S. S. Elliott, M. Tschöp, T. J. Kieffer, D. Rader, M. Heiman, R. R. Townsend, N. L. Keim, D. D'Alessio, and P. J. Havel. 2004. Dietary Fructose Reduces Circulating Insulin and Leptin, Attenuates Postprandial Suppression of Ghrelin, and Increases Triglycerides in Women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 89:2963–2972. doi:10.1210/jc.2003-031855.

Tetri, L. H., M. Basaranoglu, E. M. Brunt, L. M. Yerian, and B. A. Neuschwander-Tetri. 2008. Severe NAFLD with hepatic necroinflammatory changes in mice fed trans fats and a high-fructose corn syrup equivalent. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 295:G987–G995. doi:10.1152/ajpgi.90272.2008.

Wang, C.-Y., and J. K. Liao. 2012. A Mouse Model of Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance. *Methods Mol Biol*. 821:421–433. doi:10.1007/978-1-61779-430-8_27.

Woods, S. C., E. C. Lotter, L. D. McKay, and D. Porte. 1979. Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. *Nature*. 282:503–505. doi:10.1038/282503a0.

Zhu, L., W. Du, Y. Liu, M. Cheng, X. Wang, C. Zhang, X. Lv, F. Li, S. Zhao, and J. Hao. 2019. Prolonged high-glucose exposure decreased SREBP-1/FASN/ACC in Schwann cells of diabetic mice via blocking PI3K/Akt pathway. *Journal of Cellular Biochemistry*. 120:5777–5789. doi:https://doi.org/10.1002/jcb.27864.

Table 5 Ingredient and chemical composition of experimental duck diets: control (C), High-fat, high-fructose (FF).

Item	C	FF
Ingredient (%DM)		
Soy bean Meal	9.50	-
Ground corn	70.00	13.43
Corn gluten	-	16.35
Ground wheat	7.50	7.38
Cristalline fructose ¹	-	39.74
Binding agent ²	0.50	0.50
Mineral and vitamin premix ³	12.50	13.13
Palmitic acid ⁴	-	9.46
Chemical composition (% of dry matter)		
Dry matter	88.76	90.74
Crude protein	12.59	13.67
Starch		
Fructose		
Neutral detergent fiber	9.90	3.98
Total Fatty acids	2.74	9.57
Ash	5.7	5.2
Energy (Mcal of ME/kg DM) ⁵	3,649	4,280

¹CornSweet® Crystalline Fructose, 99.9% Fructose, Archer Daniels Midland Company, Decatur, IL

²Lignosol AR, LignoTech USA, Inc., Rothschild, Wisconsin

³Ground corn used as carrier. Contained (DM basis): 6.8% Ca, 2.8% P, 2.4% Mg, 1.3% Na, 1% K, 55 mg/kg Zn, 55mg/kg Mn, 35mg/kg Fe, 4.5mg/kg Cu, 32 kIU/ kg vitamin A, 7.2 kIU/ kg vitamin D3, 80 IU/kg vitamin E, 12 mg/kg vitamin K, 12 mg/kg vitamin B₂, 24 mg/kg, vitamin B₆, 80 mg/kg vitamin B₁₂, 440 mg/kg vitamin B₃, 88 mg/kg vitamin B₅.

⁴As free fatty acids. Contained 85% 16:0. JeFo Nutrition Inc, Sainte Hyacinthe, QC.

⁵Metabolizable energy for birds (NRC, 1994).

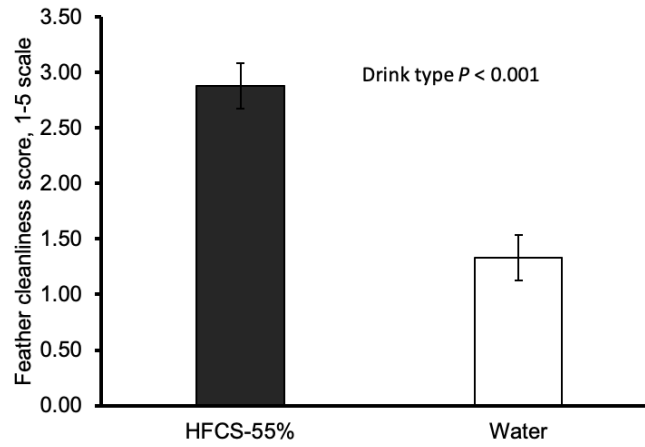


Figure 1. Effect of supplementation of high-fructose corn syrup (HFCS-55) in the drinking water for 13 weeks on feather cleanliness scores of Mule ducks. Subjective scores are on a 1- to 5-point scale and assessed plumage color, stickiness and coverage of the back, breast, rump, belly, and wings (1: Normal; 5: visible deteriorated plumage).

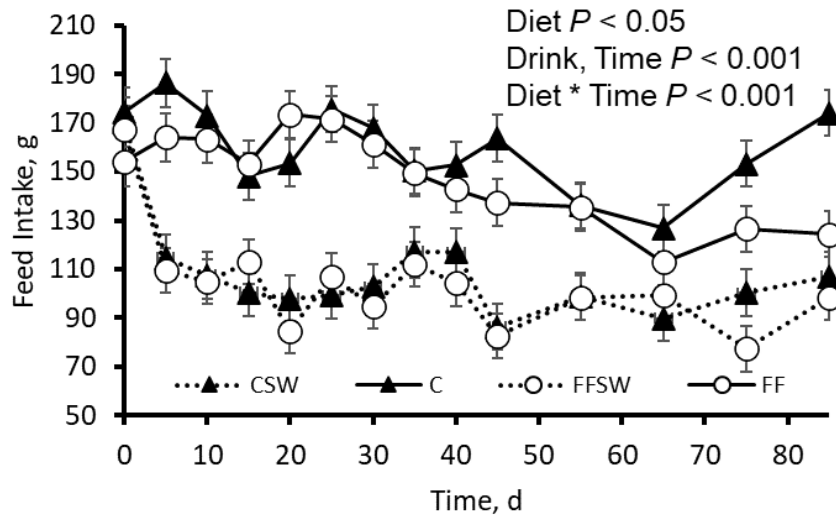


Figure 2. Effects of diets differing in energy density and of the supplementation of high-fructose corn syrup (HFCS) in the drinking water on feed intake of Mule ducks. Control diet (C; 2.7% fatty acids 75% starch); 2) Control diet and sugar-rich water (CSW; 13% HFCS w/v); 3) high-fat, high-fructose diet (FF; 9.6% fatty acids, 42% fructose, 26% starch) or 4) high-fat, high-fructose diet and sugar-rich water (FFSW).

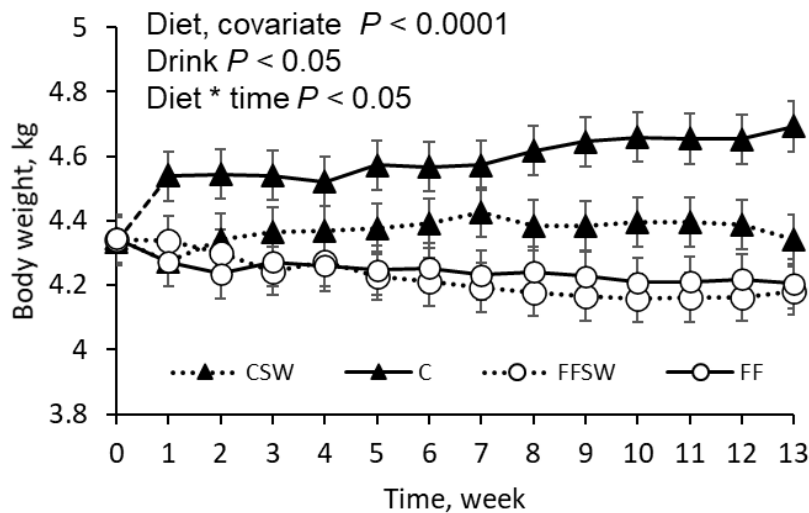


Figure 3. Effects of diets differing in energy density and of the supplementation of high-fructose corn syrup (HFCS) in the drinking water on body weight of Mule ducks. Control diet (C; 2.7% fatty acids 75% starch); 2) Control diet and sugar-rich water (CSW; 13% HFCS w/v); 3) high-fat, high-fructose diet (FF; 9.6% fatty acids, 42% fructose, 26% starch) or 4) high-fat, high-fructose diet and sugar-rich water (FFSW).

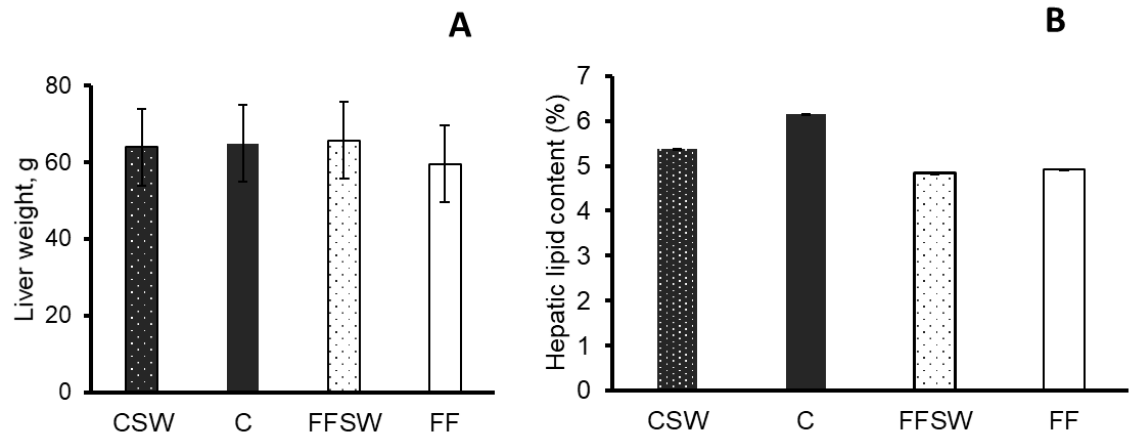


Figure 4. Effects of diets differing in energy density and of the supplementation of high-fructose corn syrup (HFCS) in the drinking water on liver weight (Panel A; g) and lipid content (Panel B; % total lipids) of Mule ducks. Control diet (C; 2.7% fatty acids 75% starch); 2) Control diet and sugar-rich water (CSW; 13% HFCS w/v); 3) high-fat, high-fructose diet (FF; 9.6% fatty acids, 42% fructose, 26% starch) or 4) high-fat, high-fructose diet and sugar-rich water (FFSW).

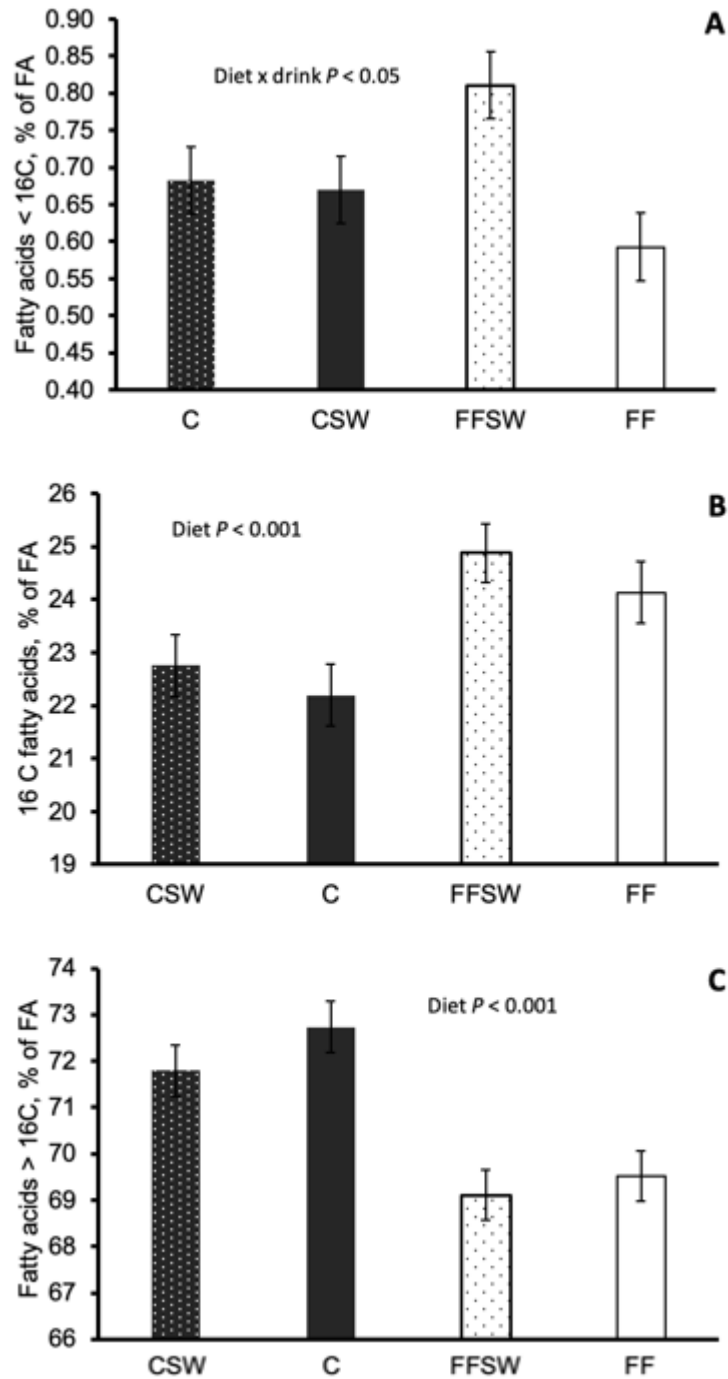


Figure 5. Effects of diets differing in energy density and of the supplementation of high-fructose corn syrup (HFCS) in the drinking water on main fatty acid (FA) groups in the liver of Mule ducks (Panel A: de novo synthesized FA; Panel B: mixed origin FA; Panel C: preformed FA). Control diet (C; 2.7% fatty acids, 75% starch); 2) Control diet and sugar-rich water (CSW; 13% HFCS w/v); 3) high-fat, high-fructose diet (FF; 9.6% fatty acids, 42% fructose, 26% starch) or 4) high-fat, high-fructose diet and sugar water (FFSW).

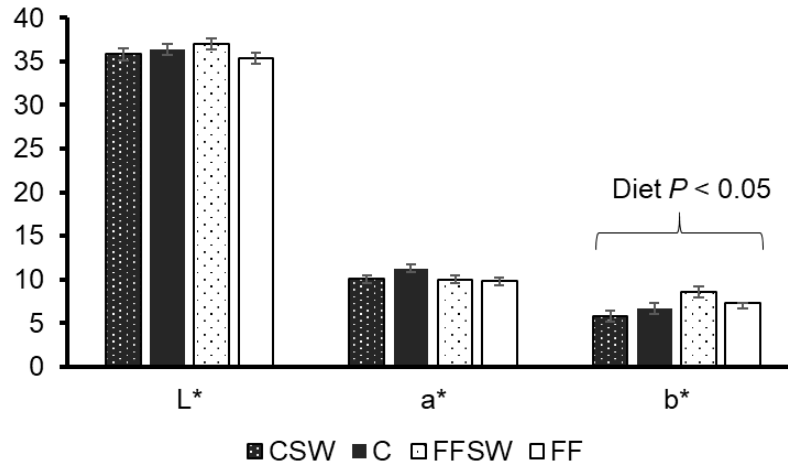


Figure 6 Effects of diets differing in energy density and of the supplementation of high-fructose corn syrup (HFCS) in the drinking water on main fatty acid (FA) groups in the trichromatic liver coordinates of Mule ducks. Control diet (C; 2.7% fatty acids, 75% starch); 2) Control diet and sugar-rich water (CSW; 13% HFCS w/v); 3) high-fat, high-fructose diet (FF; 9.6% fatty acids, 42% fructose, 26% starch) or 4) high-fat, high-fructose diet and sugar-rich water (FFSW). L * determines intensity in the white-black color scale (+ = lighter, - = darker). a* determines the intensity in the green-red color scale (+ = more red, - = more green). b * determines intensity in the yellow-blue colorimetric scale (+ = more yellow, - = more blue).

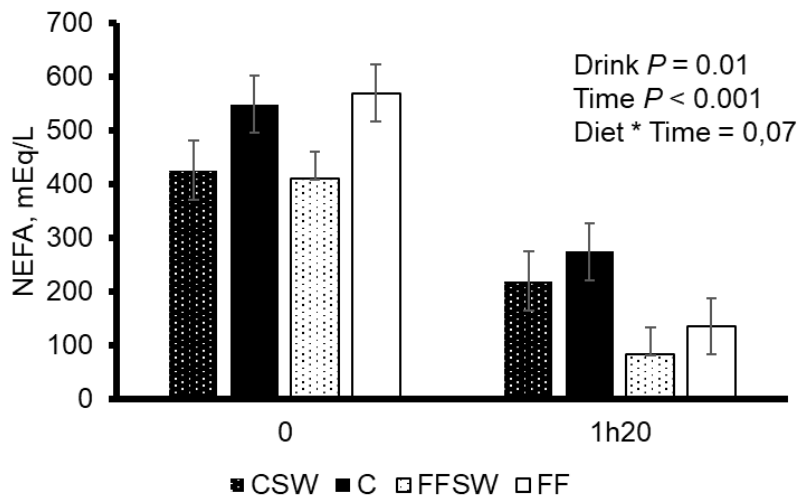


Figure 7 Effects of diets differing in energy density and of the supplementation of high-fructose corn syrup (HFCS) in the drinking water on main fatty acid (FA) groups in the plasma NEFA concentration of ducks on pre-prandial (0) and post-prandial(1h20). Control diet (C; 2.7% fatty acids, 75% starch); 2) Control diet and sugar-rich water (CSW; 13% HFCS w/v); 3) high-fat, high-fructose diet (FF; 9.6% fatty acids, 42% fructose, 26% starch) or 4) high-fat, high-fructose diet and sugar-rich water (FFSW).

CONCLUSION GÉNÉRALE

La production de foie gras est aujourd'hui de plus en plus controversée à cause du gavage forcé des animaux. Cependant, cette pratique existe depuis des millénaires et fait aujourd'hui partie de notre patrimoine (Farrell, 2004) . Enfin, il est bon de rappeler que le déclenchement de la stéatose hépatique est un phénomène naturel est réversible qui a lieu chez les palmipèdes au moment de la migration. En effet, cela leur permet de stocker l'énergie nécessaire pour la réalisation de leur périple. Chez les rongeurs et les humains, le fructose est connu pour engendrer une hyperinsulinémie qui provoque une résistance à l'hormone de la satiété et donc favorise l'hyperphagie ainsi que la stéatose hépatique (Woods et al., 1979; Rodin, 1991; Halford et al., 1998). D'autre part, les lipides alimentaires favorisent le stockage des graisses dans le foie et les tissus (Geng et al., 2016; Pierce et al., 2016). En sens, le but de ces études était de déterminer pour la première fois l'impact d'un régime alimentaire chronique (à court et long terme) en fructose et en lipides sur la prise alimentaire et le foie chez les canards Mulards. Pour l'étude la plus longue, l'impact du fructose dans l'eau de boisson a également été analysé.

Dans la première étude qui s'est déroulée pendant deux semaines, les canards nourris à volonté avec le régime riche en fructose et en lipides ont ingéré plus d'énergie que les canards témoins. Cependant, l'ingestion n'a pas semblé suffisante pour déclencher une stéatose hépatique. Dans le groupe fructose, le poids des foies était plus faible que chez les contrôles, mais ils étaient moins rouges et leur concentration en lipides était plus élevée. Enfin, les NEFA avaient tendance à être plus élevés chez le groupe soumis au régime FF ce qui pourrait s'expliquer par l'insulino-résistance provoquée par le régime alimentaire riche en fructose et en lipides. En outre, cette étude a permis de montrer que sur une plus longue période ce type de régime pourrait éventuellement amener au déclenchement de la stéatose hépatique chez les canards Mulards.

Pour la deuxième étude qui s'est déroulée sur une plus longue période (13 semaines), le même type de régime alimentaire a été utilisé. La moitié de chaque groupe était abreuvé avec l'eau supplémentée en HFCS-55. Contrairement à la première étude, une baisse significative de la consommation a été observée pour les canards disposant du régime riche en fructose et en lipides comparé à ceux ayant la nourriture témoin. De plus, ce phénomène a été amplifié par la consommation d'eau supplémentée. Il a également été observé que les animaux (tous groupes confondus) consommaient en général moins que dans la première étude. Ce phénomène pourrait s'expliquer par la plus grande quantité de protéine présente dans la ration et par le jeune âge des animaux utilisés. La prise alimentaire

étant plus faible qu'espérée et n'ayant pas augmenté durant l'expérience, aucune stéatose hépatique n'a été observée sur les animaux. Le poids des était plus faible pour le régime à haute teneur en fructose et en lipides (supplémentée ou non) ce qui montre que le fructose n'a pas provoqué l'hyperinsulinémie, de résistance à la leptine et donc d'hyperphagie. En ce qui concerne le poids ou la concentration lipidique des foies, aucune différence entre les traitements n'a été constatée.

Ce travail de maitrise a donc permis de voir que les canards Mulards ne réagissent pas exactement comme les humains ou les rongeurs vis-à-vis du fructose bien que le phénotype de leur foie soit ressemblant et qu'ils répondent positivement lors gavage à base de fructose. Il est nécessaire de réussir à inhiber la sensation de satiété pour envisager de produire du foie gras de canards Mulard avec un régime alimentaire riche en fructose et en graisse. Afin de mieux comprendre le mécanisme du foie de canard, il serait donc intéressant de diminuer le taux protéique des rations ainsi que de voir le potentiel *in vitro* des foies vis-à-vis du manque de choline ou des différents types de lipides.

Références bibliographiques

Farrell, D. 2004. Management, nutrition and products of domestic geese: a review. Proceedings of the 16th Australian Poultry Science Symposium, Sydney, New South Wales, Australia, 9-11 February 2004. 139–144.

Geng, S., W. Zhu, C. Xie, X. Li, J. Wu, Z. Liang, W. Xie, J. Zhu, C. Huang, M. Zhu, R. Wu, and C. Zhong. 2016. Medium-chain triglyceride ameliorates insulin resistance and inflammation in high fat diet-induced obese mice. *Eur J Nutr.* 55:931–940. doi:10.1007/s00394-015-0907-0.

Halford, J. C. G., S. C. D. Wanninayake, and J. E. Blundell. 1998. Behavioral Satiety Sequence (BSS) for the Diagnosis of Drug Action on Food Intake. *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* 61:159–168. doi:10.1016/S0091-3057(98)00032-X.

Pierce, A. A., C. C. Duwaerts, R. K. Soon, K. Siao, J. P. Grenert, M. Fitch, M. K. Hellerstein, C. Beysen, S. M. Turner, and J. J. Maher. 2016. Isocaloric manipulation of macronutrients within a high-carbohydrate/moderate-fat diet induces unique effects on hepatic lipogenesis, steatosis and liver injury. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* 29:12–20. doi:10.1016/j.jnutbio.2015.10.020.

Rodin, J. 1991. Effects of pure sugar vs. mixed starch fructose loads on food intake. *Appetite.* 17:213–219. doi:10.1016/0195-6663(91)90023-L.

Woods, S. C., E. C. Lotter, L. D. McKay, and D. Porte. 1979. Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. *Nature.* 282:503–505. doi:10.1038/282503a0.