



HAL
open science

Évaluation d'un modèle mécaniste du métabolisme hépatique chez le ruminant : FLiver

Myriam Chartoire

► **To cite this version:**

Myriam Chartoire. Évaluation d'un modèle mécaniste du métabolisme hépatique chez le ruminant : FLiver. Sciences pharmaceutiques. 2019. dumas-02152387

HAL Id: dumas-02152387

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02152387>

Submitted on 11 Jun 2019

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

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

THESE

PRESENTEE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE DEVANT LA FACULTE DE
PHARMACIE DE MARSEILLE

Le 7 Juin 2019

PAR

Melle Myriam Chartoire

Né(e) le 10 Janvier 1992 à Courcouronnes

EN VUE D'OBTENIR

LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Évaluation d'un modèle mécaniste du métabolisme hépatique chez le ruminant : FLiver

JURY :

Président et Directeur de thèse : Dr Joseph Ciccolini
Dr Florence Gattacceca

Membres : Dr Christelle Loncke
Pr Daniel Sauvant
Dr Lahlou Bahloul

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

ADMINISTRATION :

<i>Doyen :</i>	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Vice-Doyens :</i>	M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, Mme Frédérique GRIMALDI
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Jacques REYNAUD, M. Pierre TIMON-DAVID, M. Patrice VANELLE
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Jean-Pierre REYNIER, M. Henri PORTUGAL
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Bernard CRISTAU, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Florence GAUREL
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Aurélie BELENGUER
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Nathalie BESNARD

DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

PROFESSEURS

BIOPHYSIQUE	M. Vincent PEYROT M. Hervé KOVACIC
GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE	M. Christophe DUBOIS
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIQUE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETIQUE	M. Philippe PICCERELLE

MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE	M. Robert GILLI Mme Odile RIMET-GASPARINI Mme Pascale BARBIER M. François DEVRED Mme Manon CARRE M. Gilles BREUZARD Mme Alessandra PAGANO
GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE	M. Eric SEREE-PACHA Mme Véronique REY-BOURGAREL
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE	M. Pascal PRINDERRE M. Emmanuel CAUTURE Mme Véronique ANDRIEU Mme Marie-Pierre SAVELLI
NUTRITION ET DIETETIQUE	M. Léopold TCHIAKPE

A.H.U.

THERAPIE CELLULAIRE	M. Jérémy MAGALON
---------------------	-------------------

ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

ANGLAIS	Mme Angélique GOODWIN
---------	-----------------------

DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe CHARPIOT

PROFESSEURS

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	M. Philippe CHARPIOT
BIOLOGIE CELLULAIRE	M. Jean-Paul BORG
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE Mme Laurence CAMOIN-JAU Mme Florence SABATIER-MALATERRE Mme Nathalie BARDIN
MICROBIOLOGIE	M. Jean-Marc ROLAIN M. Philippe COLSON
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Nadine AZAS-KREDER

MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	Mme Dominique JOURDHEUIL-RAHMANI M. Thierry AUGIER M. Edouard LAMY Mme Alexandrine BERTAUD Mme Claire CERINI Mme Edwige TELLIER M. Stéphane POITEVIN
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Aurélie LEROYER M. Romaric LACROIX Mme Sylvie COINTE
MICROBIOLOGIE	Mme Michèle LAGET M. Michel DE MEO Mme Anne DAVIN-REGLI Mme Véronique ROUX M. Fadi BITTAR Mme Isabelle PAGNIER Mme Sophie EDOUARD M. Seydina Mouhamadou DIENE
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Carole DI GIORGIO M. Aurélien DUMETRE Mme Magali CASANOVA Mme Anita COHEN
BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne-Catherine LOUHMEAU

A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	M. Maxime LOYENS
----------------------------	------------------

DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine BADENS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Philippe GALLICE
CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE – CHIMIE THERAPEUTIQUE	M. Pascal RATHELOT M. Maxime CROZET
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE	M. Patrice VANELLE M. Thierry TERME
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE	Mme Evelyne OLLIVIER

MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. David BERGE-LEFRANC M. Pierre REBOUILLON
CHIMIE THERAPEUTIQUE	Mme Sandrine FRANCO-ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE	M. Riad ELIAS Mme Valérie MAHIOU-LEDDET Mme Sok Siya BUN Mme Béatrice BAGHDIKIAN

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Anne-Marie PENET-LOREC
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Cyril PUJOL
DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE	M. Marc LAMBERT
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA

A.H.U.

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	M. Mathieu CERINO
--	-------------------

ATER

CHIMIE ANALYTIQUE	M. Charles DESMARCHELIER
CHIMIE THERAPEUTIQUE	Mme Fanny MATHIAS

DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

PHARMACIE CLINIQUE	Mme Diane BRAGUER M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Bruno LACARELLE
TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT	Mme Frédérique GRIMALDI

MAITRES DE CONFERENCES

PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL
TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Joseph CICCOLINI Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA
TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE	M. Pierre-Henri VILLARD Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU Mme Marie-Anne ESTEVE

A.H.U.

PHARMACIE CLINIQUE	M. Florian CORREARD
PHARMACOCINETIQUE	Mme Nadège NEANT

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire
Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint
M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire
M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie
Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché
Mme TONNEAU-PFUG, Pharmacien adjoint
M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier
M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 22 février 2018

Remerciements

A Joseph Ciccolini, merci d'avoir accepté de présider ma thèse et de m'avoir fait confiance en me permettant l'accès au master pharmacocinétique.

A Florence Gattacceca, ma directrice de thèse pour son aide et son soutien, et pour m'avoir donné l'opportunité de présenter un poster aux journées du GMP 2018.

Je souhaite remercier les membres de mon jury :

Christelle Loncke pour son accompagnement, son écoute et ses enseignements.

Daniel Sauvant pour son aide, en particulier lors du développement du modèle Freetly et al, (1993), pour ses enseignements ainsi que pour ses encouragements.

A tous les deux un grand merci pour m'avoir guidé tout au long de ce travail, pour votre disponibilité, vos précieux conseils et votre gentillesse. Je tiens à vous témoigner ma reconnaissance, j'ai beaucoup appris grâce à vous.

Lahlou Bahloul pour sa précieuse collaboration en me fournissant des données et explications précises sur le modèle FLiver ainsi que sur les hépato-protecteurs, pour m'avoir permis de visiter Adisseo et pour sa participation à la correction de ma thèse.

Merci à Isabelle Ortigues-Marty et à Pierre Nozière pour leur aide, leur écoute attentive, et leurs précieux conseils.

Merci à Céline Domange pour son aide à la relecture et à la correction de ma thèse.

Merci à l'UMR MoSAR pour m'avoir si bien accueillie.

Merci à Pierre Blavy pour son aide précieuse et à Hyacinthe Adolphe pour m'avoir aidé à imprimer ma thèse.

A mes parents, merci d'être toujours là pour moi et de me soutenir dans les hauts et les bas. Je n'oublierai jamais la chance que j'ai d'avoir des parents comme vous.

Merci à toute ma famille pour leur soutien sans faille. C'est toujours un bonheur de se retrouver avec vous. Je remercie particulièrement Hamid et Amel pour toute l'aide qu'ils m'ont apportés dans le cadre de ce travail.

A mes amis. Souad et Laurie pour tous ces fous rires, ces moments de joies et votre soutien à toute épreuve depuis le début. A Amine, mon papa de pharmacie pour son écoute et sa bienveillance. A Marine pour toutes nos discussions confidences. A Tress, Pauline, Camille, Maëlle, Aurélie et Rebecca pour ces longues heures de discussion, de rire et de partage. A Jerem, Thomas, Marc et Yohan pour tous ces bons moments. A Laure, une de mes belles rencontres de pharmacie et à Lorette, ma petite poulette, pour cette cinquième année industrie que vous avez su rendre belle. A Thomas, Jawad, Rayan et Steven pour votre humour à toute épreuve et les parties de rouges ou noires et de contrée mémorables. A Nawel et Rémy, pour m'avoir toujours fait rire et pour avoir été là dans les moments moins faciles. A mes amis d'Amsterdam, en particulier Kim, Josh, Djamel, Kemal, Rasvan, Simon, Leticia, Ayse, et Giulia pour tous ces bons moments. J'espère être de retour bientôt !

A tous mes amis de Pharmacie, de lycée ou d'ailleurs pour ces années inoubliables en votre compagnie.

L'UNIVERSITE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI
IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES. CES OPINIONS
DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEURS AUTEURS

Sommaire

Liste des abréviations.....	14
Liste des Figures	17
INTRODUCTION.....	19
I. Métabolisme hépatique	24
1) Introduction.....	24
1.1. Fonctions du foie.....	24
1.2 Tissus splanchniques.....	25
2) Métabolisme azoté	27
2.1 Les AA.....	27
2.2 L'ammoniaque	27
2.3 L'uréogénèse.....	27
3) Métabolisme des glucides	29
3.1 Le glucose	29
3.2 La néoglucogénèse.....	30
3.2.1 Le propionate	30
3.2.2 Le lactate	32
3.2.3 Les AA.....	33
3.2.4 Le glycérol	33
3.3 Le glycogène	34
3.4 Régulation de la néoglucogénèse.....	34
4) Métabolisme des lipides :.....	35
4.1 Les acides gras volatils	35
4.2 Les acides gras	36
4.3 Estérfication et transports des acides gras.....	36
4.4 La β -oxydation	37
4.5 La Cétogénèse	38
5) Pathologies liées à un dysfonctionnement du métabolisme hépatique.	40
5.1 La stéatose hépatique	40
5.2 La cétose	42
II. Hépatoprotecteurs	44
1) Substances actives utilisées comme détoxifiants ammoniacaux.....	44
2) Substances actives impactant le métabolisme lipidique.....	46
2.1 Les donneurs de méthyl	46
2.1.1 Cycle de la Transméthylation	46
2.1.2 Choline.....	47
2.1.3 La méthionine	50
2.1.4 La bétaine.....	54

2.1.5 Spécialités pharmaceutiques contenant des donneurs de méthyles : Résumés des Caractéristiques du Produit (RCP) par L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES).....	55
2.2 Carnitine.....	56
2.3 L'inositol.....	58
2.4 Acide nicotique ou nicotinamide	58
III. Comparaison bibliographique du modèle de FLiver (Bahloul, 2014) et Freetly <i>et al.</i> (1993)..	61
1) Introduction.....	61
2) Modèle FLiver	62
2.1 Généralités :	62
2.2 Equations empiriques.....	64
2.4 Flux	66
2.5 Description du métabolisme.....	67
2.6 Métabolisme glucidique.....	69
2.7 Métabolisme lipidique.....	69
2.8 Métabolisme azoté	69
3) Modèle de Freetly et al (1993) :.....	70
3.1 Introduction.....	70
3.2 Compartiments :.....	70
3.3 Traceurs.....	73
3.4 Flux	73
3.5 Description du métabolisme :	74
3.5.1 Néoglucogenèse	77
3.5.2 Métabolisme lipidique.....	78
3.5.3 Métabolisme azoté	79
4) Comparaison des modèles.....	80
5) Conclusion :	85
IV. Evaluation du modèle FLiver.....	88
1) Introduction.....	88
2) Matériels et Méthodes.....	88
2.1 Impact des erreurs associées aux équations charpentes sur le modèle.....	88
2.2 Modifications des équations charpentes et optimisation.....	89
2.3 Analyse de sensibilité de FLiver.....	90
3) Résultats et discussion	91
3.1 Impact des erreurs associées aux équations charpentes sur le modèle.....	91
3.2 Optimisation des paramètres	93
3.2.1 Simulation.....	93
3.2.2 Comparaison des prédictions du modèle.....	95

3.2.3 Bilan de carbone et azote	95
3.3 Analyses de sensibilité du modèle	96
4) Conclusion	97
V. Comparaison du modèle de FLiver (Bahloul, 2014) et Freetly <i>et al.</i> (1993) : reconstruction du modèle de Freetly <i>et al.</i> (1993).....	98
1) Introduction :.....	98
2) Matériel et méthodes :.....	99
3) Quartier métabolique 1 : Métabolisme lipidique	100
3.1 Quartier métabolique 1 a) Métabolisme lipidique	101
3.2 Quartier métabolique 1 b) ; Participation du glycérol au métabolisme lipidique	102
4) Quartier métabolique 2 : Métabolisme glucidique.....	106
4.1 Quartier métabolique 2 a) : Métabolisme du glucose	106
4.2 Quartier métabolique 2 b) ; Participation du glycérol à la néoglucogenèse.....	109
4.3 Quartier métabolique 2c : Interaction du Pyruvate, de l'oxaloacétate et du malate avec la néoglucogenèse	109
4.4 Quartier métabolique 2d : Propionyl CoA et néoglucogenèse.....	112
4.5 Quartier métabolique 2° : Propionate comme précurseur de la néoglucogenèse	113
5) Quartier 3 : Cycle de Krebs.....	114
6) Quartier 4 ; Greffe des quartiers métaboliques	117
6.1 Quartier métabolique 4 a) ; Métabolisme lipidique et métabolisme du glucose	117
6.2 Quartier métabolique 4 b : Modèle de Freetly	118
7) Conclusion :	118
CONCLUSION GENERALE.....	119
BIBLIOGRAPHIE.....	122
ANNEXES.....	136

Liste des abréviations

5-Methyl-THF : Acide 5-méthyltétrahydrofolique

AA : Acides aminés

ACA : Acetyl-CoA

AcAc : Acétoacétate

AG : Acides gras

AGL : Acides gras libres

AGNE : Acides gras non estérifiés

AGP : α -glycérolphosphate

AK : α -cétoglutarate

AL : Alanine

AMPk : AMP-activated proteine kinase

AS : Aspartate

BGT1 : GABA transporter

β -OH : β -hydroxybutyrate

C2 : Acétate

C3 : Propionate

C4 : butyrate

CC : Acétyl-CoA cytoplasmique

CM : Chylomicron

CO₂ : Dioxide de carbone

CPT I : Carnitine palmitoyltransférase

CT : Citrate

DC : Oxaloacétate + malate

D-met : D-méthionine

DL-met : DL-méthionine

DL-met-cop : DL-méthionine encapsulée par un copolymère vinyle/styrène

DL-met-ec : DL-méthionine protégée par de l'éthylcellulose

eAC : Acétate

eAL : Alanine

eAS : Aspartate

eBU : Butyrate

eGL : Glucose

eGY : Glycérol

eLA : Lactate

eFF : Entrée d'acides gras libres
ePR : Propionate
eIB : Isovalérate
eVA : Valérate + 2-méthylbutyrate
eGN : Glutamine
eGU : Glutamate
EC : Esters de Cholestérol
eUL : Lipides indéfinis
FA : Acides gras libres
F-1,6-P : Fructose-1,6-Biphosphate
FP : Fructose-6-phosphate
G1P : Glucose-1-Phosphate
GP : Glucose-6-Phosphate
Glc : Glucose
Gln : Glycogène
GU : Glutamate
HDL : Lipoprotéines de hautes densités
HMTBA : Acide 2-hydroxy-4-methylthiobutanoïque
HMTBi : Isopropyl ester de méthionine
IC : Isocitrate
KB : Corps cétoniques
KMB : Acide 2-cto-4-methylthiobutanoïque
LCFA : Acides gras à longues chaînes
LDL : Lipoprotéines de faible densité
L-met : L-méthionine
Lt : Lactate
MC : Acétyl-CoA mitochondrial
MCT1 : Monocarboxylate1
MSO : Méthionine sulfoxide
NOAEL : No Observable Adverse Effect Level
NH3 : Ammoniaque
NHF : Flux d'émission hépatique
NPA : Apparition nette portale
NSR : Emission nette splanchnique
O2 : Oxygène
OA : Oxaloacétate

PCA : Pyruvate carboxylase
PCh : Phosphatidylcholine
PC : Propionyl CoA
PD : Pyruvate déshydrogénase
PE : Phosphoenolpyruvate
PI : Phosphatidylinositol
PL : Phospholipides
Prt : Protéines
PY : Pyruvate
PYR : Pyruvate
RPAA : Rumen-protected-amino-acids
RPC : Rumen-protected-choline
SAM : S-adénosyl-méthionine
AAT : Acides aminés totaux
TG : Triglycérides
TP : Glycéraldéhyde-3-phosphate + dihydroacétate
UIP : Rumen undegradable intake protein
Ur : Urée
VLDL : Lipoprotéines de très basse densité

Liste des Figures

Figure 1 : Contribution des différents organes à la masse musculaire, à la synthèse protéique et à l'utilisation de l'oxygène (Savary-Auzeloux, d'après Lobley et al., 2003).	24
Figure 2 : Vascularisation des tissus splanchniques	26
Figure 3 : Représentation schématique des vaisseaux sanguins afférents et efférents des tissus drainés par la veine porte et du foie et calcul des différents flux nets (D'après Loncke, 2009).	26
Figure 4 : Cycle de l'urée (d'après Kraft, 2009)	28
Figure 5 : La néoglucogénèse (d'après Rémésy et al., 1986)	31
Figure 6 : Mécanismes entrant en jeu dans la stéatose hépatique	41
Figure 7: Mécanismes entrant en jeu dans la cétose (d'après Loncke)	43
Figure 8 : Cycle des donneurs de méthyles (d'après Bellengeri, 2016)	47
Figure 9 a) et b) ; a) Diagramme de Forester de « FLiver » représentant les flux nets des principaux nutriments à travers le foie chez le ruminant en bilan énergétique positif. b)	62
Figure 10; Déterminations des points simulés à utiliser dans FLiver	65
Figure 11; a) Diagramme de Forester de « FLiver » représentant les flux nets des principaux nutriments à travers le foie chez le ruminant en bilan énergétique positif et b) tableau descriptif des flux dans FLiver	67
Figure 12;a) Schéma descriptif du modèle de Freetly et al. (1993) a) abrégations des métabolites et b) abrégations des substrats extracellulaires	71
Figure 13; a) Schéma descriptif du modèle de Freetly et al (1993) et b) équations associées aux flux de ce modèle	75
Figure 14; Courbe des concentrations en TAA dépendant de l'équation charpente correspondante avec ou sans erreur	92
Figure 15; Courbes de régression du glucose des valeurs observées vs. valeurs simulées par le modèle ($R^2 = 0,952$)	93
Figure 16; Boxplots des flux de sortie de NH ₃ avant et après modifications des équations charpentes.	95
Figure 17; a) Courbes d'entrée et de sortie des Carbones ($R^2= 1$; pente = 1 ± 0 ; ordonnée = 0) et b) des azotes ($R^2=1$; pente = 1 ± 0 ; ordonnée = 0) du modèle.	96
Figure 18; Schéma représentatif du quartier des lipides (Quartier 1)	100
Figure 19 a) et b) ; Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier des lipides (quartier 1 a).	101
Figure 20; Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier représentant la participation du glycérol au métabolisme des lipides (quartier 1 b)).	103
Figure 21; Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier représentant la participation du glycérol au métabolisme des lipides (quartier 1 b)).	104
Figure 22; Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier représentant le métabolisme des lipides (quartier 1 a) après modifications des paramètres V_{eAC_CC} et V_{CC_FA} .	105
Figure 23; Schéma représentatif du quartier du métabolisme glucidiques (Quartier 2)	106
Figure 24; a) et b) : Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier du métabolisme du glucose (quartier 2 a)).	107
Figure 25; Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier métabolique représentant la participation du glycérol à la néoglucogénèse (quartier 2 b)).	109

Figure 26 a) et b): Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier métabolique représentant l'interaction du pyruvate, de l'oxaloacétate et du malate avec la n	110
Figure 27; : Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier métabolique représentant la participation du Propionyl-CoA à la néoglucogénèse (quartier 2 d)).	113
Figure 28: Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier métabolique représentant la participation du propionate à la néoglucogénèse (quartier 2 e)).	113
Figure 29; ; Schéma du quartier représentant le métabolisme glucidique associé au cycle de Krebs (Quartier 3).....	115
Figure 30a) et b): Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier représentant le cycle de Krebs (quartier 3).....	115
Figure 31; ; Schéma du quartier représentant le modèle de Freetly et al (1993) au complet (Quartier 3).	117

INTRODUCTION GENERALE

Le foie joue un rôle particulièrement important dans l'allocation des nutriments chez le ruminant, comme chez les autres espèces. En effet, il constitue un maillon incontournable puisque son action se situe entre l'apparition des nutriments issus du régime en veine porte et la fourniture en nutriments pour le reste de l'organisme. La connaissance fine de son métabolisme constitue donc un challenge important. Une des solutions utilisées afin de mieux comprendre, mesurer et décrire l'allocation des nutriments chez le ruminant est la modélisation du fonctionnement hépatique.

Il y a quelques décennies, les systèmes INRA d'évaluation des aliments ont été mis en place afin de répondre aux souhaits de satisfaire l'apport de nutriments pour satisfaire le potentiel de production d'animaux de plus en plus performants. Ces systèmes sont principalement basés sur les besoins énergétique et protéique de l'animal (lactation, entretien, reproduction ...) ainsi que sur la valeur énergétique et protéique des aliments. Il existe différents systèmes cherchant à estimer la valeur nutritive des aliments. Dans ces systèmes, y compris l'ancien système INRA 2006¹, une seule valeur nutritive est attribuée à chaque aliment (= valeur table) conduisant à surestimer ou sous-estimer cette valeur. De plus les mécanismes d'absorption des nutriments et leur métabolisation au niveau du foie sont mal décrits et quantifiés.

Dans les années 90-2000 de nouveaux enjeux sont apparus incluant des objectifs de performance, une amélioration de l'efficacité et de la qualité des produits, une diminution du taux de rejet impactant l'environnement tout en respectant le bien-être et la santé des animaux. Il a donc été nécessaire de faire évoluer ces systèmes. Une des solutions possibles était de passer à un système plus physiologique, basé sur la nature des nutriments absorbés (c'est-à-dire les flux d'acétate, de propionate, butyrate, glucose etc...). Le projet « flux de nutriments » initié par l'INRA dans les années 2000 devait permettre l'optimisation des rations alimentaires c'est-à-dire donner à l'animal les nutriments nécessaires à son métabolisme en fonction de ses besoins (croissance, allaitement, lactation, vêlage, etc.). Il a donc été mis en place avec pour objectif la prédiction de la quantité et de la nature des nutriments mis à la disposition de l'animal par les tissus splanchniques et hépatiques, et leur utilisation par les tissus périphériques.

¹En 2018, l'INRA a publié un nouveau système d'évaluation des aliments et des rations. Le nouveau système intègre notamment plus d'interactions digestives et métaboliques. Il tient compte également des pratiques alimentaires et de l'évolution des performances des animaux.

Ce projet s'est articulé en deux étapes : une étape de modélisation empirique (méta-analyses) décrite dans la thèse de Christelle Loncke (2009) et étape de modélisation mécanistique décrite dans la thèse de Lahlou Bahloul (2014).

L'étape de modélisation empirique avait pour but d'établir les lois de réponse des flux sanguins de nutriments dans l'aire splanchnique aux variations d'alimentation. Il a ainsi été montré qu'il était possible d'obtenir une prédiction assez fiable de la quantité et de la nature des nutriments absorbés en veine porte et émis par le foie à partir des caractéristiques du régime et des animaux. Les contributions majeures de ce travail concernent les flux d'acides gras volatils glucogènes et céto-gènes et le glucose. Les lois de réponse obtenues sont une représentation simplifiée, mais néanmoins physiologiquement réaliste du devenir et de la partition des nutriments. Le foie est néanmoins encore considéré comme une boîte noire, et les prédictions empiriques obtenues ne tiennent pas compte des interactions métaboliques intra-hépatiques.

Il est ressorti de cette étude que la complémentarité et donc une approche combinée entre les modèles empiriques (qui identifient les grande forces motrices) et les modèles de recherche (qui explorent les facteurs de régulations identifiés *in vivo* et *in vitro*) pouvait s'avérer intéressante pour pallier aux limites respectives des modèles empiriques (faible sensibilité aux facteurs de variations et domaine de validité restreint) et mécanistes de recherche (peu précis lorsqu'ils sont appliqués à des contextes larges car ils ont été construits avec des valeurs de paramètres correspondant à des situations expérimentales particulières). La synthèse quantitative des données de la littérature qui a été réalisée a permis de dégager des modèles empiriques de réponse ou de fonctionnement relativement précis pour la plupart des scénarii alimentaires pratiqués. Il est donc apparu intéressant de concevoir une articulation entre une approche de modélisation mécaniste et les modèles empiriques mis au point dans cette première étape de travail.

Une deuxième étape de modélisation mécaniste basée sur des équations différentielles (thèse de Lahlou Bahloul, 2014) a donc été mise en place pour affiner la recherche. Ce projet de thèse avait pour objectif de proposer un modèle mécaniste du foie plus explicatif que les modèles proposés jusqu'alors, puis de compléter le travail réalisé sur les flux de nutriments dans l'aire splanchnique déjà réalisé. Il avait ainsi pour ambition d'élargir le domaine d'application des relations prédictives obtenues initialement et d'en assurer la cohérence quantitative globale en les associant au sein d'un modèle mécaniste simple. Une méthode associant modélisation mécaniste et empirique, proposée par Sauvante et Mertens (2008) pour le rumen, permettant d'ajuster le modèle mécaniste sur des données mesurées issues de différents scénarios

nutritionnels, et d'identifier les sources de biais d'ajustements éventuels a été utilisée. Ce travail a permis de proposer un modèle mécaniste du foie, dénommé FLiver (pour « Flux across the Liver »). Il a permis d'évaluer la cohérence entre les relations empiriques du transfert hépatique de nutriments et de simuler les flux internes de conversion entre ces nutriments. FLiver version 1 a été optimisé pour simuler le devenir métabolique de trois groupes de nutriments (glucogéniques, cétogéniques et azotés) chez des animaux en bilan énergétique positif, donc avec une entrée importante de nutriments issus de la digestion.

C'est dans ce contexte de poursuite du travail sur la modélisation mécaniste du métabolisme hépatique que ma thèse a été initiée. L'objectif de ce travail de thèse était d'évaluer le modèle FLiver.

Une première partie bibliographique permettra de décrire le métabolisme hépatique chez le ruminant ainsi que les différents hépato-protecteurs existants. La deuxième partie de cette thèse sera axée sur l'évaluation du modèle FLiver puis deux étapes de comparaison de ce modèle avec celui de Freetly *et al.* (1993).

PARTIE BIBLIOGRAPHIE

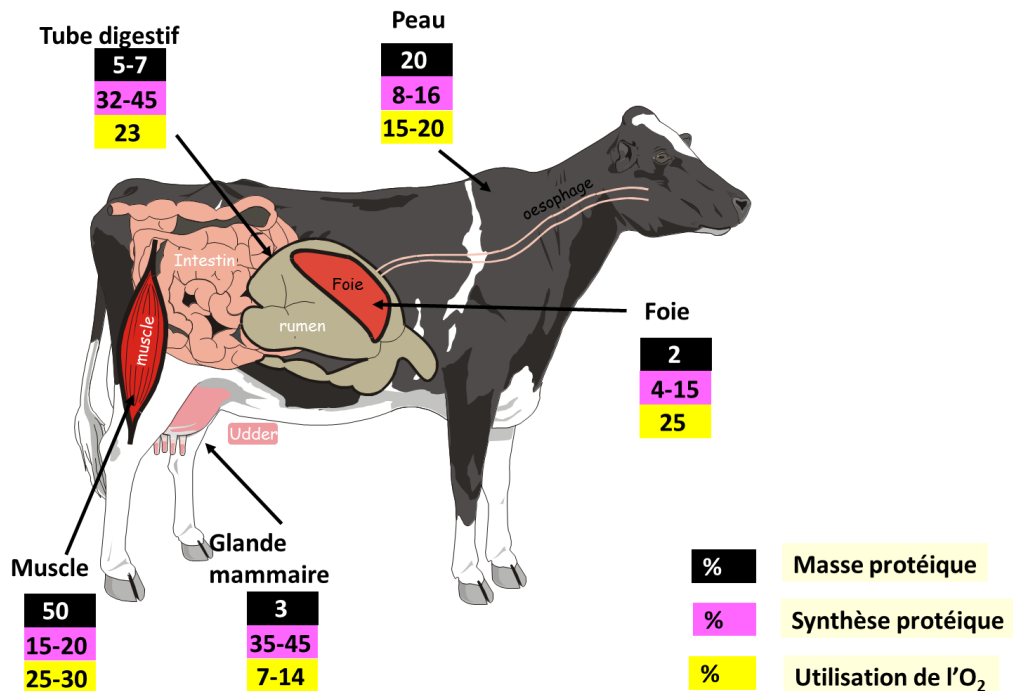
I. Métabolisme hépatique

1) Introduction

1.1. Fonctions du foie

Le foie est un organe majeur de l'organisme qui assure de multiples fonctions. Il est irrigué à la fois par du sang portal drainant les nutriments absorbés et du sang artériel qui reflète l'équilibre entre disponibilité et utilisation des nutriments par l'ensemble des tissus. Il se situe donc à l'interface métabolique entre la fourniture en nutriments et les besoins de l'animal et joue ainsi un rôle important dans la coordination entre tissus pour l'utilisation des nutriments (Ortigues-Marty *et al.*, 2003). Son poids représente environ 2% du poids de l'animal, mais il est le siège de 4 à 15% de la synthèse protéique et de 25% de l'utilisation de l'oxygène (Lobbley *et al.*, 2003 ; Figure 1), preuve de sa grande activité métabolique.

Figure 1 : Contribution des différents organes à la masse musculaire, à la synthèse protéique et à l'utilisation de l'oxygène (Savary-Auzeloux, d'après Lobbley *et al.*, 2003).



Le foie assure entre autres le métabolisme des glucides, des lipides et des protéines. Il permet une production d'énergie et métabolise un grand nombre de nutriments. Par ailleurs, le foie est un réservoir sanguin et un lieu de synthèse de protéines sanguines tel que l'albumine, les globines et les facteurs de coagulation. Il produit aussi les protéines nécessaires au métabolisme

du fer ainsi que les lipoprotéines (intervenant dans le métabolisme des lipides). Une autre de ses fonctions est le stockage de vitamines, de fer et de glycogène. De plus, il participe aux fonctions digestives de l'organisme par la production de la bile et des sels biliaires et par le stockage et la répartition des nutriments issus de la digestion. Il joue aussi un rôle très important dans la détoxification de l'organisme par dégradation des substances toxiques et métabolisation des xénobiotiques. Enfin, il prend part au contrôle du système hormonal par dégradation des hormones et des médiateurs.

1.2 Tissus splanchniques

Chez les ruminants, le tube digestif est formé en partie de 3 « pré-estomac » (le rumen, le feuillet et le réseau), de la caillette (qui est l'équivalent de l'estomac du monogastrique), de l'intestin grêle, et du tube digestif distal. Le pré-estomac le plus important est le rumen, lieu de dégradation des composées alimentaires, par fermentation anaérobie opérée par les micro-organismes ruminants.

Les tissus splanchniques quant à eux sont composés du rumen, du réseau, du feuillet, de la caillette, du duodénum, de l'iléon, du tube digestif distal et tissus adipeux associées, de la rate, du pancréas, de la rate et du foie. Les tissus drainés par la veine mésentérique sont la caillette, le duodénum et l'iléon. Le rumen, le réseau, le feuillet et le tube digestif distal sont quant à eux irrigués par la veine ruminale. La veine porte rassemble les tissus drainés par la veine ruminale et par la veine mésentérique. Les nutriments issus de la digestion sont captés par le foie à partir du sang portal et émis dans le sang artériel par la veine sus-hépatique (puis la veine cave inférieure) pour être distribué vers les tissus périphériques (Figure 2). Il est important de comprendre cette notion de tissus splanchniques afin d'appréhender le principe de flux net splanchniques et de flux d'émission nette hépatique utilisés dans cette thèse. Les flux nets portes (apparition nette portale) correspondent aux bilans nets des flux de nutriments issus de la digestion (c'est à dire les nutriments provenant de la digestion moins l'utilisation de ces mêmes nutriments par les tissus digestifs pour leurs propres besoins, ou pour le métabolisme de ces nutriments). Les flux nets hépatiques sont les flux nets d'émission ou de prélèvements des nutriments par le foie. Les flux splanchniques correspondent à la somme des flux nets portes et des flux nets hépatiques. Les bilans nets correspondent à la somme des flux sortants moins la somme des flux entrants. Ainsi, un bilan net hépatique positif correspondra à une émission nette de nutriment par le foie alors qu'un bilan net hépatique négatif correspondra à un prélèvement net (Figure 3).

Figure 2 : Vascularisation des tissus splanchniques

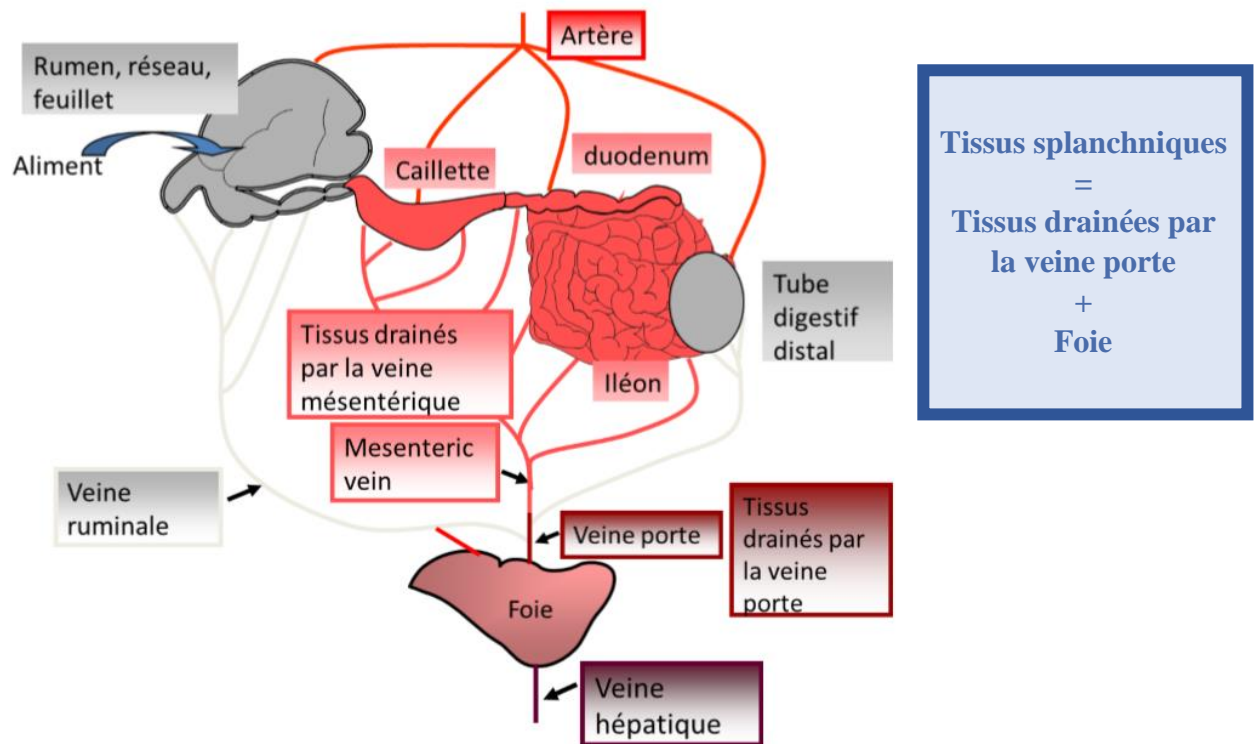
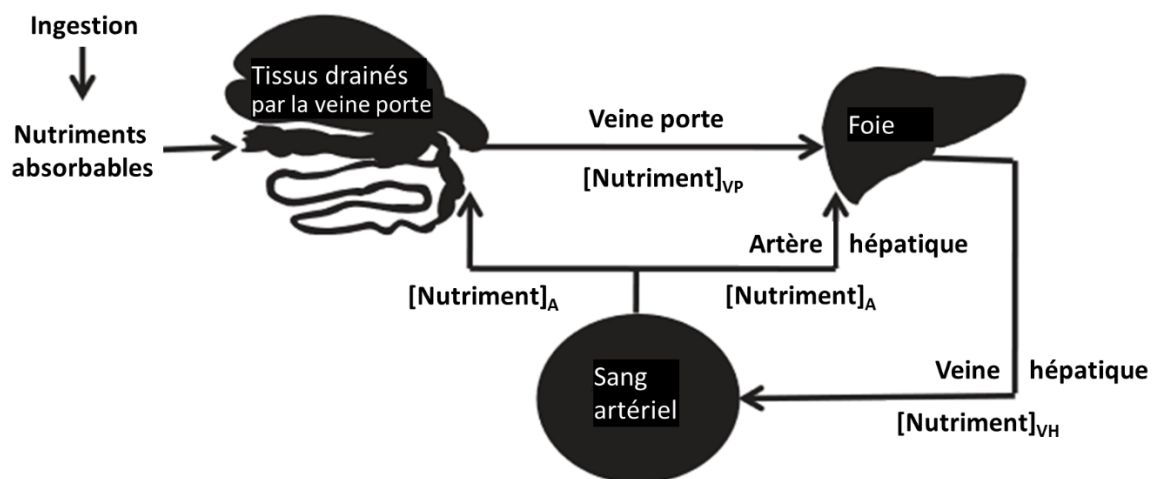


Figure 3 : Représentation schématique des vaisseaux sanguins afférents et efférents des tissus drainés par la veine porte et du foie et calcul des différents flux nets (D'après Loncke, 2009)



Apparition nette portale = débit sanguin_{VP} x ([nutriment]_{VP} - [nutriment]_A)

Flux net hépatique = (débit sanguin_{VH} x [nutriment]_{VP}) - (débit sanguin_{VP} x [nutriment]_{VP}) - (débit sanguin_{AH} x [nutriment]_A)

Flux net splanchnique = débit sanguin_{VH} x ([nutriment]_{VH} - [nutriment]_A)

Un flux net positif indique une émission nette du nutriment

Un flux net négatif indique un prélèvement net du nutriment

Dans la partie suivante le métabolisme hépatique sera présenté de façon non exhaustive.

2) Métabolisme azoté

2.1 Les AA

Chez le ruminant, les acides aminés (AA) sont d'origines alimentaires (issus de la dégradation par les bactéries ruminales des protéines ingérées par l'animal), d'origine digestive (digestion des protéines dans le tube digestif) ou d'origine endogène (liée aux catabolismes des protéines). Selon leur nature, ils participent à la synthèse de protéines (Lobley et Milano, 1997), des chaînes carbonées de glucose (Seal et Reynolds, 1993), ou de corps cétoniques (Bergman, 1971). Chez l'agneau, le mouton et la vache, 5 à 15% d'AA seraient utilisés afin de produire des protéines hépatiques (Eisemann et Nienaber, 1990 ; Lobley *et al.*, 1995).

Le prélèvement hépatique des AA est dépendant de leurs apparitions en veine porte et de leurs concentrations sanguines (Reynolds, 1995). Dans une méta-analyse, Loncke *et al.* (2019a) ont en effet montré qu'en moyenne 75% des AA totaux apparaissant en veine porte étaient prélevés par le foie.

Le catabolisme des AA par transamination ou désamination produit des molécules d'azote aminée. Celles-ci contribuent ensuite à la synthèse d'urée (Jahoor *et al.*, 1988). Les AA substrats de la synthèse de l'urée sont l'alanine, la glutamine, la sérine et la glycine (Wolf *et al.*, 1972).

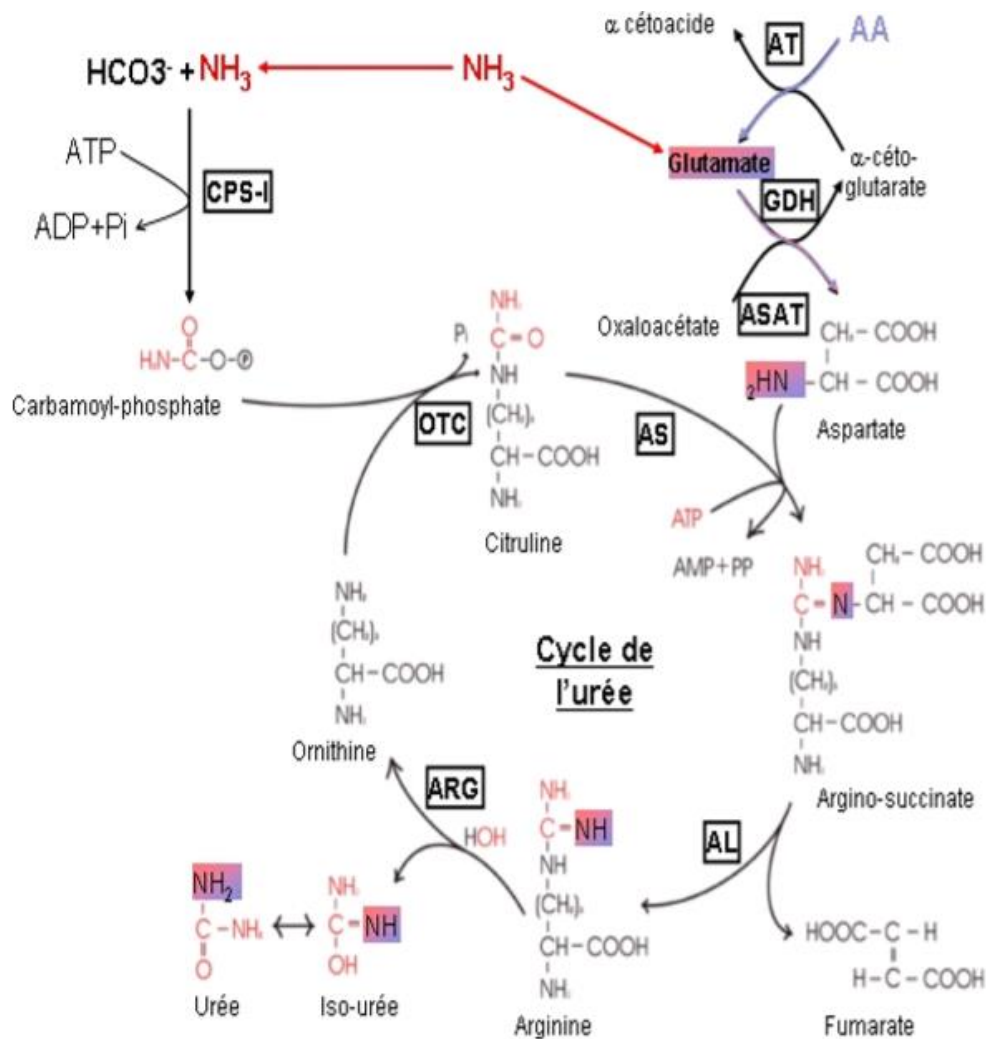
2.2 L'ammoniaque

L'ammoniaque (NH₃), qui est un composé toxique pour le système nerveux central (Lobley *et al.*, 1995), provient de la synthèse ruminale ou du catabolisme des AA, des acides nucléiques et autres composés azotés. Il traverse les membranes par diffusion passive ou par transport actif dépendant d'un gradient d'ions. Le taux d'absorption du NH₃ varierait de 35 à 65 % (Rémond *et al.*, 1993). Dans une étude par méta-analyses, Loncke *et al.* (2019b) ont montré que près de 100 % du NH₃ apparaissant en veine porte était prélevé par le foie et totalement transformé en urée lors de l'uréogénèse. Chez le rat, 10% de ce NH₃ est utilisé pour la formation de protéines (Rémésy *et al.*, 1996).

2.3 L'uréogénèse

L'uréogénèse correspond au processus de synthèse de l'urée. Elle permet de détoxifier l'organisme en éliminant les molécules de NH₃ circulantes et ainsi de conserver l'équilibre acido-basique. L'uréogénèse contribue aussi au recyclage de l'azote chez le ruminant.

Figure 4 : Cycle de l'urée (d'après Kraft, 2009)



La molécule d'azote utilisée pour la synthèse de l'urée peut provenir du NH_3 ou des AA. Le NH_3 arrive directement par la veine porte ou est issu de la désamination de la glutamine, de la glycine, de la lysine, de l'asparagine ou de l'histidine (Milano, 1997). Les AA rentrent dans le cycle de l'urée par transamination en aspartate directement ou via le glutamate par l'intermédiaire de l'aspartate amino transférase (Figure 4). L'azote capté sous forme d'AA ou de NH_3 sera associée à une molécule de CO_2 afin de former le carbamyl phosphate qui sera transféré sur l'ornithine grâce à la carbamyl phosphate synthétase. Ce complexe est ensuite transformé en citrulline par l'intermédiaire de l'ornithine transcarbamylase. La citrulline est alors associée à l'aspartate qui est le deuxième donneur d'azote du cycle de l'urée. L'arginosuccinate synthétase transforme ensuite ce complexe en arginosuccinate. Cette dernière est convertie en arginine et fumarate. L'enzyme qui catalyse cette réaction est

l'arginosuccinase. L'arginine est finalement hydrolysée en urée et ornithine. L'ornithine pourra alors être recyclée pour amorcer un nouveau cycle (Figure 4; Borg et Reeber, 2008)

L'uréogénèse consomme beaucoup d'énergie. Elle nécessite en effet 4 ATP pour un cycle.

Loncke *et al.* (2019b) ont montré que 30 % de l'urée émise par le foie serait ensuite éliminée par le rein. Le restant serait recyclé à hauteur de 75 %, mais ce chiffre peut varier fortement et reste dépendant de la teneur en azote du régime et des besoins de l'animal (Loncke *et al.*, 2019b). Environ 50% participerait à la synthèse *de novo* d'AA, 40% serait réabsorbé sous forme d'Urée et 10 % serait éliminé dans les fèces (Lapierre et Lobley, 2005).

3) Métabolisme des glucides

3.1 Le glucose

Le glucose est un nutriment source d'énergie nécessaire pour les fonctions d'entretien de l'animal, pour sa croissance, pour la reproduction ou encore pour la production de lait. Il peut provenir dans une moindre mesure de l'alimentation mais aussi et surtout d'une synthèse endogène majoritairement hépatique. L'apport de glucose par l'alimentation est en effet très faible chez le ruminant. Cela est dû à la fermentation des carbohydrates dans le rumen qui se transforment en acides gras volatils (Danfaer, 1995 ; Bergman, 1971).

En 2006, Offner et Sauvart ont proposé un modèle du rumen basé sur deux approches. La première concernait la représentation de la digestion de l'amidon, expliquant la majeure partie des variations de la vitesse de digestibilité ruminale des rations. Un modèle de prédiction des flux d'amidon a ainsi été développé afin de mieux quantifier et expliquer les variations observées. La seconde approche était basée sur l'application des lois de la thermodynamique au métabolisme microbien, l'objectif étant d'améliorer la prédiction des produits terminaux des fermentations.

L'amidon échappant aux dégradations ruminales (amidon by pass ; moins de 30 %) sera transformé en glucose au niveau du duodénum par l' α -amylase pancréatique (VanVuuren *et al.*, 1999 ; Nocek et Tamminga, 1991). L'apparition nette portale de glucose est variable en fonction de la teneur en amidon digéré dans l'intestin de la ration (Loncke *et al.*, 2007). Ainsi, la réponse de l'apparition en veine porte du glucose à l'ingestion d'amidon digéré dans le duodénum était en moyenne de -23%, 19% et 22% lorsqu'on observait conjointement une augmentation de l'ingestion, du pourcentage de concentrés et de l'ingestion + du pourcentage de concentrés respectivement.

Environ 80 % du glucose serait absorbé au niveau intestinal par transport actif sodium dépendant (Kreikemeir et Harmon, 1995) ou par diffusion passive (Huntington, 1997).

L'utilisation du glucose chez le ruminant est différente, comparée à d'autres espèces telle que le rat, et les monogastriques en général. En effet, le glucose est remplacé par l'acétate comme substrat de synthèse des acides gras et son utilisation pour l'oxydation est très limitée (Danfaer *et al.*, 1995). Lors de la gestation ou de la lactation, la demande en glucose devient très forte (Danfaer, 1994). La production de glucose et son utilisation par la glande mammaire pour la synthèse du lactose pourrait dépendre de l'équilibre entre la disponibilité des nutriments glucogéniques (système push) et la demande métabolique mammaire (système pull ; Lesmoquet *et al.*, 2009).

3.2 La néoglucogenèse

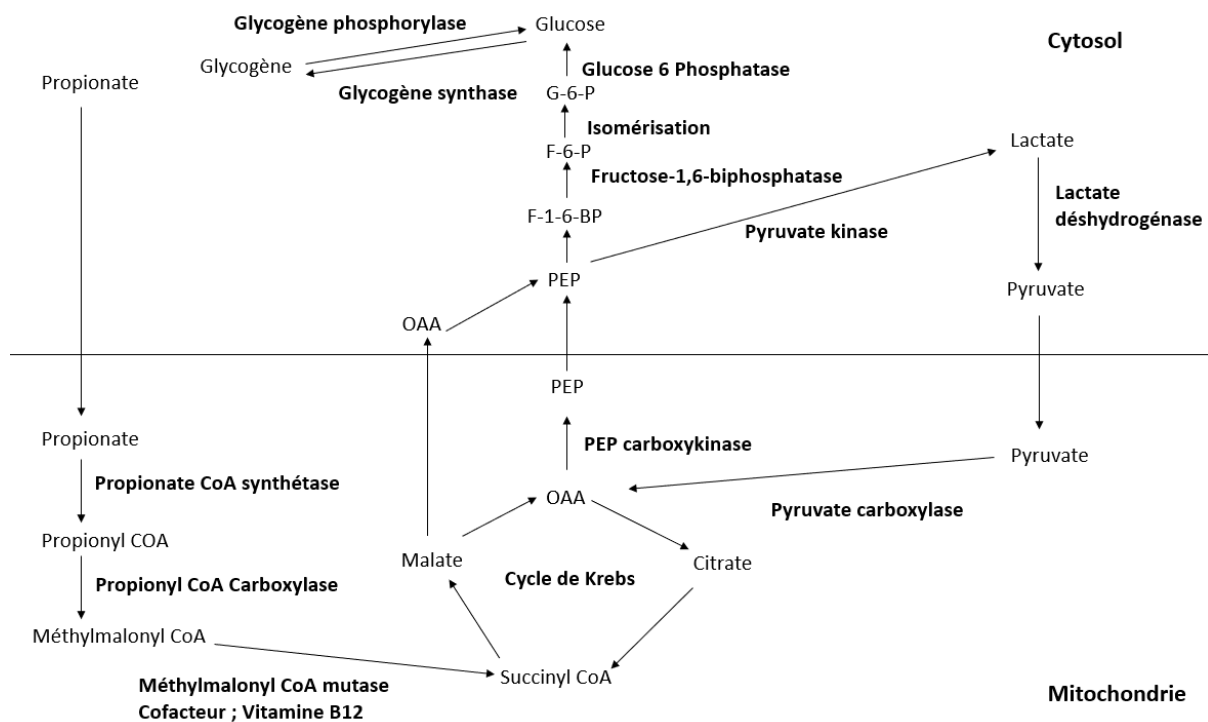
Le glucose est synthétisé majoritairement lors de la néoglucogenèse (90% ; Young, 1977) et minoritairement lors de la glycolyse. La néoglucogenèse correspond au processus de synthèse de glucose à partir de composés non glucidiques. Due à la faible absorption digestive de glucose, la néoglucogenèse chez les ruminants est très intense (Basset, 1978). Chez la vache laitière, elle permettrait de synthétiser 2 à 2,5 kg de glucose par jour (Danfaer *et al.*, 1995).

Les principaux précurseurs hépatiques de la néoglucogenèse sont le propionate (C3), les AA, le L-lactate et le glycérol. Les contributions potentielles de ces précurseurs sont variables et seront abordées en détails dans les sous-parties suivantes. Le C3 reste néanmoins le précurseur privilégié de la synthèse de glucose.

3.2.1 Le propionate

Le C3 est le seul acide gras volatil glucoformateur (Rémésy, 1986). C'est quantitativement la voie la plus importante. La contribution potentielle du propionate à la formation de glucose est d'environ 41 % chez un ruminant adulte non productif, de 66 % chez un animal en croissance, d'environ 48 % lors de la gestation et d'environ 60 % en lactation (Loncke *et al.*, 2019a). Il provient en grande partie de la fermentation ruminale des glucides alimentaires. Il peut aussi dans une moindre mesure être un produit de la fermentation caecale. Le C3 est très fortement capté par le foie (Bergman, 1975). Loncke *et al.*, (2019a) ont en effet montré qu'en moyenne 91% du propionate apparaissant en veine porte serait prélevé par le foie

Figure 5 : La néoglucogénèse (d'après Rémésy et al., 1986)



PEP : phosphoénolpyruvate, OAA : oxaloacétate, F-1,6-BP : fructose-1,6-biphosphate, F-6-P : fructose-6-phosphate, G-6-P : glucose-6-Phosphate.

Son métabolisme hépatique est décrit dans la Figure 5. Dans un premier temps le C3 est converti en propionyl CoA par une enzyme appelé le propionyl CoA synthétase. Le propionyl CoA est ensuite transformé en 2 isomères le D-méthylmalonyl COA et le L-méthylmalonyl CoA. Par la suite, le méthylmalonyl CoA mutase catalyse la réaction qui permet de transformer l'isomère lévogyre du méthyl malonyl COA en succinyl (Rémésy et al., 1995). Cette mutase a pour cofacteur la vitamine B12 ou encore appelée cobalamine. Cette vitamine est dépendante du cobalt. Un déficit en cobalt entrainerait donc un déficit en vitamine B12 qui deviendrait alors un facteur limitant à la formation de glucose (Ortigue-Marty et al., 2005).

Finalement, le succinyl CoA obtenu est un intermédiaire du cycle de Krebs qui sera oxydé ou transformé en phosphoénolpyruvate (PE). Ce PE sera transformé en Fructose-1,6-biphosphate (F-1,6-P) après plusieurs réactions intermédiaires. La F-1,6-P sera convertie en Fructose-6-Phosphate par la fructose-1,6-Phosphatase. Après isomérisation on obtiendra le Glucose-6-phosphate qui sera déphosphorylé en Glucose grâce à la glucose-6-phosphatase. Cette dernière est une enzyme clé de la néoglucogénèse. C'est la voie des pentoses (Raisonnier, 2004).

Le Lactate, le pyruvate et l'alanine pourront aussi être des produits du catabolisme du PE. La voie du C3 serait privilégiée lors de la néoglucogénèse car elle nécessite peu d'ATP pour

produire du glucose (Demigné *et al.*, 1991). De plus, à l'inverse du C3, le lactate et les AA seront métabolisés par le pyruvate carboxylase. Cette enzyme est fortement sujette aux variations d'ordre alimentaires, physiologiques et hormonales (Brockman, 1993).

Le prélèvement de C3 par le foie peut être inhibé par le taux de C4 *in vitro* (Aiello *et al.*, 1989) ainsi que par le jeûne (Bergman *et al.*, 1966). Cet effet a récemment été confirmé par méta analyses par Loncke *et al.* (2019a) qui ont montré que le prélèvement de C3 inférieur observé chez les animaux en croissance était compatible avec l'effet inhibiteur du C4 sur l'extraction du C3 (Berthelot *et al.*, 2002).

3.2.2 Le lactate

Le lactate provient d'origines variées. Il peut être issu de l'alimentation, de la synthèse ruminale par fermentation des glucides alimentaires (et notamment du C3) ou encore de la fermentation lactique musculaire. Le lactate est synthétisé au niveau du rumen par réduction du pyruvate, c'est la voie glycolytique du pyruvate. Il peut aussi provenir de la dégradation ruminale du fructose, du lactose ou du sucrose (Phillipson et MacAnally, 1942 ; Krogh, 1959). Néanmoins le lactate provenant de ces origines aura une apparition portale faible. Le plus souvent, le lactate absorbé par le foie est issu de réactions métaboliques de production d'acide lactique qui prennent place dans le tube digestif (Rémésy *et al.*, 1986 ; Ward *et al.*, 1961). Il peut aussi être synthétisé à partir de C3. Selon Loncke *et al.*, (2019a), en moyenne, 47 % du lactate apparaissant en veine porte serait prélevée par le foie.

Le lactate est absorbé au niveau ruminal ou dans l'intestin grêle (Heuter *et al.*, 1956 ; Pfauder et Harmon, 1956). Au niveau ruminal, les concentrations en lactate sont de l'ordre de 1 à 20 mM et le taux d'absorption ruminal varie linéairement en fonction de ces concentrations (Moller *et al.*, 1997). Les concentrations sanguines de lactate varieraient entre 0,5 et 2 mM. Il est prélevé par le foie grâce à un transporteur transmembranaire : la monocarboxylase transporter 1 (Kirat *et al.*, 2007).

La contribution du lactate à la néoglucogenèse est variable en fonction de l'état physiologique de l'animal. En effet, la contribution potentielle du lactate à la formation de glucose est d'environ 31,9 % chez un ruminant adulte non productif, d'environ 17 % chez un animal en croissance, d'environ 12 % lors de la période de gestation et d'environ 15% en lactation (Loncke *et al.*, 2019a). Chez la vache laitière, sa participation à la synthèse de glucose diminue lorsque les taux de C3 et d'alanine augmentent (Casse et Rulquin, 1994 ; Reynolds *et al.*, 1991)

Le lactate rentre dans la voie de la néoglucogenèse par l'intermédiaire du pyruvate (Rémésy *et al.*, 1986). Le pyruvate sera alors transformé en oxaloacétate puis en PE et enfin en glucose par la voie des pentoses (Figure 5).

3.2.3 Les AA

Les AA glucoformateurs peuvent provenir de l'alimentation, du recyclage de chaînes carbonées, de la digestion ou encore du turn-over des protéines musculaires (Rémésy *et al.*, 1986).

La contribution potentielle des AA totaux à la formation de glucose est d'environ 46 % chez un ruminant adulte non productif, de 30 % chez un animal en croissance, d'environ 19 % en gestation et d'environ 16,4% en lactation (Loncke *et al.*, 2019a). Néanmoins lors d'une diminution de la prise alimentaire, leurs participations à la synthèse de glucose augmentent (Baird *et al.*, 1983). Cet effet a été confirmé par méta analyses par Loncke *et al.* (2019a) qui ont montré que le niveau de prélèvement hépatique d'azote était modifié par la teneur en azote du régime, la disponibilité en C3 et l'émission de glucose. De plus, un régime déficitaire en azote limite significativement le prélèvement net d'AA, comme un mécanisme d'épargne, sans modifier l'émission nette de glucose (Loncke *et al.*, 2009a).

Les principaux AA utilisés lors de la synthèse du glucose sont l'alanine, la glutamine, la glutamate et la glycine, bien que tous les AA puissent potentiellement contribuer à la synthèse de glucose. L'alanine rentre dans la voie de la néoglucogenèse par le biais du pyruvate tandis que la glutamine passe par un intermédiaire du cycle de Krebs (Rémésy *et al.*, 1986). Ils sont ensuite transformés en PE et en glucose.

3.2.4 Le glycérol

Le glycérol est un substrat glucoformateur qui peut provenir des graisses alimentaires. Il peut aussi être d'origine endogène par dégradation des triglycérides lors de la lipolyse (Tao *et al.*, 1983). Le glycérol est transformé en α -glycérophosphate qui rentre ensuite dans la néoglucogenèse via les trioses-phosphates (Ndi Bualonji et Godeau, 1993). L' α -glycérophosphate est un pivot métabolique participant à la fois à la néoglucogenèse et au métabolisme lipidique (TAO *et al.*, 1983). Ainsi le glycérol est aussi utilisé pour la synthèse des triglycérides et des phospholipides (Rémésy *et al.*, 1986).

Il contribue à la synthèse de glucose lorsqu'il est sous forme libre. Chez les ruminants à l'état nourri, le glycérol est majoritairement combiné aux AG et minoritairement sous forme libre. Ainsi sa contribution potentielle maximum à la néoglucogenèse serait de 5 %

(Brockmann, 1993). En cas d'alimentation restreinte, il y a alors une mobilisation lipidique. Dans ce cas de figure, la contribution du glycérol à la synthèse de glucose est dépendante de la quantité de tissus adipeux mobilisée et peut atteindre 40 % (Bergman *et al.*, 1968). La participation du glycérol à la néoglucogenèse augmente lorsque l'apport en propionate et en AA issus de l'alimentation sont diminués (Lomax et Baird, 1983).

3.3 Le glycogène

Le glycogène est une réserve glucidique au sein de l'organisme. Le plus gros stock de glycogène est musculaire mais il reste réservé pour un usage périphérique par les muscles. Le glycogène stocké dans le foie peut, quant à lui, être utilisé rapidement lorsque la demande en glucose augmente comme par exemple en période de jeûne imposé, lors de la lactation et de la gestation. Le glucose absorbé par l'alimentation ou synthétisé au sein du foie pourra être transformé en glycogène (Bars, 1991).

Cependant une grande partie du glycogène est synthétisé à partir de substrats autres que le glucose ; c'est la néoglycogénèse. Par exemple, le C3 pourra être métabolisé en glycogène dans le foie (Bars, 1991).

Le catabolisme du glycogène produisant du glucose est appelé la glycolyse. Elle permet une mobilisation rapide du glucose et est régulée par le glucagon (Demigné *et al.*, 1986) ainsi que le glucose lui-même (Baird *et al.*, 1980). Le glycogène sera transformé en glucose-1-Phosphate (G1P) grâce à la glycogène phosphorylase qui sera isomérisé en Glucose-6-Phosphate. La glycolyse se produit lors de période de stress entraînant une sécrétion d'adrénaline par l'organisme et de glucagon par le foie. Il y aura alors une augmentation des taux hépatiques d'AMP cyclique qui entraînent une activation de protéines kinases permettant la transformation de la phosphorylase b inactive en phosphorylase a active. Cela permettra alors la formation de G1P et de glucose (Borg et Reeber, 2008).

3.4 Régulation de la néoglucogenèse

La synthèse de glucose est dépendante du statut nutritionnel et physiologique de l'animal (Reynolds, 2005). La moyenne des flux d'émission de glucose hépatique est de 0,670 mmol/kg PV par heure chez un ruminant adulte non productif, de 0,551 mmol/kg PV par heure chez un animal en croissance, de 0,340 mmol/kg PV par heure lors de la période de gestation et de 0,995 mmol/kg PV par heure lors de la période de lactation (Loncke *et al.*, 2019a).

Une alimentation riche en amidon diminue la contribution des précurseurs à la synthèse de glucose et diminue donc le flux d'émission hépatique de glucose. A contrario une alimentation

riche en précurseurs de glucose augmente le flux d'émission hépatique de glucose (Loncke *et al.*, 2019a).

Elle est aussi régulée par deux hormones : l'insuline et le glucagon. L'insuline est une hormone hypoglycémisante qui va inhiber la néoglucogenèse. Le taux d'insuline chez l'animal serait dépendant de la quantité de C3 (Casse *et al.*, 1994, Majdoub *et al.*, 2003). Le glucagon est une hormone hyperglycémisante qui accroît la quantité de précurseurs glucoformateurs ainsi que la synthèse du glucose par action sur le pyruvate carboxylase (Brockman, 1993). La sécrétion de glucagon est stimulée par le C3 et le butyrate (C4) (Harmon, 1992).

4) Métabolisme des lipides

4.1 Les acides gras volatils

4.1.1 L'acétate

L'acétate (C2) est un acide gras volatil qui est très peu prélevé par le foie, son apparition nette portale est donc faible. (Loncke, 2009). De plus, il existe une émission nette par le foie de C2 après synthèse endogène (Reynolds, 1995). La moyenne des flux hépatiques d'émission de C2 sont de 0,11 mmol/h/kg PV chez un ruminant adulte non productif, de 0,56 mmol/h/kg PV chez un animal en croissance, de 0,04 mmol/h/kg PV lors de la période de gestation et de 0,32 mmol/h/kg PV en lactation (Loncke *et al.*, 2014).

La synthèse hépatique de C2 est très mal connue (Drackley et Andersen, 2006). Plusieurs voies seraient à l'origine de cette synthèse, et ont été résumées par Loncke (2009) et Loncke *et al.* (2014). Le C2 proviendrait donc de la β -oxydation peroxysomale des acides gras (AG) longs (Van den Bosch *et al.*, 1992), d'une synthèse à partir d'acides gras (AG) longs libres ou estérifiés (Bell, 1980), d'une synthèse grâce au pool mitochondrial d'acétyl-CoA (ACA ; Knowles *et al.*, 1974), d'une synthèse à partir d'autres métabolites comme le C4 (Annison *et al.*, 1963), ou les AA (Pethick *et al.*, 1981) pouvant être utilisés en tant que précurseurs.

4.1.2 Le butyrate

Une faible quantité du butyrate (C4) provenant des tissus digestifs ou du rumen est émis en veine porte. Néanmoins environ 75 % de ce C4 apparaissant en veine porte serait prélevé par le foie (Loncke *et al.*, 2014). La moyenne des flux hépatiques de prélèvement de C4 est de 0,05 mmol/h/kg PV chez un ruminant adulte non productif, de 0,14 mmol/h/kg PV chez un animal en croissance, de 0,13 mmol/h/kg PV en gestation et de 0,19 mmol/h/kg PV en lactation (Loncke *et al.*, 2014).

Le C4 est le précurseur principal du β -hydroxybutyrate (β -OH ; Brockman, 1990). Le C4 est activé en butyryl-coA puis converti en crotonyl-coA et L-béta-hydroxybutyryl-coA qui sont ensuite transformés : soit en acétoacétate puis en C2 pour finalement former le β -OH, soit en béta-hydroxybutyrylCoA puis en β -OH.

4.2 Les acides gras

Chez les ruminants, la synthèse hépatique d'AG est faible (Bauchart *et al.*, 1996 ; Hanson et Ballard, 1969). Les AG longs seront donc principalement captés par le foie et absorbés à hauteur de 7 à 25 % (Laplaud *et al.*, 1991 ; Emery *et al.*, 1992). Ils proviennent en grande partie de la lipolyse des tissus adipeux. Cependant, un faible taux de triglycérides circulant pourra aussi être émis en veine porte (Bauchart *et al.*, 1996).

Ces AG non estérifiés (AGNE) sont activés en Acyl-CoA et pourront ensuite emprunter plusieurs voies de métabolisation. Ils peuvent ainsi être estérifiés, subir une oxydation complète ou partielle (Rémésy *et al.*, 1986 ; Bauchart, 1996 ; Cuvelier *et al.*, 2005).

4.3 Estérification et transports des acides gras

Les Acyl-CoA peuvent être estérifiés en triacylglycérols (aussi appelés triglycérides ; TG) et dans une moindre mesure en Phospholipides (PL) ou esters de Cholestérol (EC) (Bauchart, 1996 ; Rémésy *et al.*, 1986). Lors de la période de reproduction ou en début de lactation chez les vaches, il y a une mobilisation du tissu adipeux entraînant une entrée des AGNE dans le foie. Cela a pour conséquence une augmentation de l'estérification des AG (Baird, 1982 ; Herdt, 2000).

Les TG peuvent ensuite être stockés dans les cellules hépatiques ou être transportés vers les tissus périphériques grâce aux lipoprotéines. Il existe différents types de lipoprotéines :

- Les chylomicrons représentent 5% des lipoprotéines totales chez le bovin (Bauchart, 1993). Ils permettent de transporter des AG à chaînes carbonées longues (Bach *et al.*, 1996) et seront sécrétés dans la lymphe (Glickman et Serbesin, 1982 ; Hocquette et Bauchard, 1999).
- Les lipoprotéines de faible densité (LDL) sont composées majoritairement de PL et EC (Balhoul, 2014). Elles renferment un faible taux de TG.
- Les lipoprotéines de hautes densités (HDL) possèdent un taux de TG très faible (Bauchart *et al.*, 1993 ; Gruffat *et al.*, 1996) et permettent un apport de cholestérol aux tissus périphériques. Elles représentent 80 % de la totalité des lipoprotéines.

- Les lipoprotéines de très basse densité (VLDL) sont formées de TG et de phospholipides. Elles contiennent un taux très faible d'EC. Elles sont sécrétées dans la circulation lymphatique puis dans le sang (Glickman et Serbesin, 1982 ; Hocquette et Bauchard, 1999). Le transport des TG se fera majoritairement sous forme de VLDL (Glickman et Serbesin, 1982). Cependant chez le ruminant, la sécrétion des VLDL est faible (Kleepe *et al.*, 1988 ; Pullen *et al.*, 1990) : une accumulation d'AG estérifiés au sein du cytosol des cellules hépatiques peut alors survenir (Herdt, 2000).

A la surface des VLDL, on retrouve des protéines appelées ApoB qui permettent le transport de lipides au sein du VLDL et le maintien de l'intégrité structurale des VLDL.

Le métabolisme lipidique est donc finalement géré pas les protéines et le génome.

Il n'existe pas de modèle permettant de décrire le métabolisme des AGL car ceux-ci utilisent trop de transporteurs différents. De plus, ils se déplacent dans la lymphe et non le sang.

Les AG à chaînes carbonés courtes pourront aussi associer à l'albumine afin d'être transportés dans le sang (mode de transports différent par rapport aux lipoprotéines) (Bach *et al.*, 1996).

4.4 La β -oxydation

La β -oxydation correspond à la dégradation des AG en acétyl-CoA. Cette dégradation de substrat énergétique permet de synthétiser de l'ATP. En effet, la β -oxydation produit du NADH et du FADH qui participeront à la synthèse d'ATP via la chaîne respiratoire.

Les acyl-CoA peuvent entrer dans la voie de la β -oxydation. Cette β -oxydation a lieu majoritairement au niveau de la mitochondrie, ou du péroxysome (Cuvelier, 2005).

4.4.1 La β -oxydation mitochondriale

Les acyl-CoA présents dans le cytosol des cellules hépatiques sont acheminés à l'intérieur de la mitochondrie grâce à la carnitine (Nguyen et al, 2007). Pour pouvoir être transportés, les acides gras activés et la L-carnitine libre dans le cytosol sont convertis en ester de carnitine grâce à la carnitine palmitoyltransférase (CPT I) (Zammit, 1990 ; Cuvelier 2005). La CPT I est l'enzyme clé du transport mitochondrial des AG activés et sa régulation influe sur la β -oxydation (Cuvelier, 2005). Les esters de carnitine sont ensuite transportés dans la mitochondrie grâce à une carnitine : la acylcarnitine translocase (Zammit, 1990 ; Cuvelier 2005).

Ils sont par la suite transformés en acétyl-CoA qui subiront soit une oxydation complète en dans le cycle de Krebs soit une oxydation partielle lors de la cétogenèse (Bell, 1980). Dans le cycle de Krebs, ces acétyl-CoA seront totalement oxydés en Co₂ et en énergie (Cuvelier, 2005).

4.4.2 La β -oxydation peroxysomal

Cette voie est très minime. Les acyl-CoA subissent une oxydation partielle qui se traduit par un raccourcissement de leurs chaînes carbonées (Grizman et Geelen, 1993). Ils seront ensuite soit transportés vers la voie de la β -oxydation mitochondriale, soit vers la synthèse des TG (Guzman et Geelen, 1993 ; Zammit, 1999).

4.5 La Cétogenèse

La cétogenèse correspond au processus de formation de corps cétoniques. Les deux principaux corps cétoniques synthétisés dans le foie sont l'acétoacétate (AcAc) et le β -OH. Le β -OH étant quantitativement le premier (Ballard *et al.*, 1969). Le catabolisme du β -OH produit de l'acide acétoacétique puis de l'acétone. L'acétone qui se trouve en bout de chaîne n'est pas un bon prédicteur de la cétogenèse. En effet, celui-ci étant très volatil, il est très dur à doser. Les corps cétoniques sont formés en priorité à partir du C₄. Néanmoins d'autres substrats peuvent être utilisés lors de la cétogenèse comme l'Acétyl CoA provenant de la β -oxydation des AGL (Bell, 1980).

Les corps cétoniques seront ensuite relargués dans la circulation sanguine et utilisés comme source d'énergie par les tissus. La moyenne des flux hépatiques d'émission de β -OH sont de 0,27 mmol/kg*PV*h chez un ruminant adulte non productif, de 0,24 mmol/h/kg PV chez un animal en croissance, de 0,24 mmol/h/kgPV lors de la période de gestation et de 0,35 mmol/h/kgPV en lactation (Loncke *et al.*, 2014).

4.5.1 Substrat de la cétogenèse

Le premier substrat de formation des corps cétonique est l'acétyl CoA issu du cycle de Krebs. A partir de trois molécules d'acétylCoA et grâce à l'action d'une enzyme, la HMG-CoA synthétase il y aura la formation d'un composé appelé le HMG CoA. L'hydrolyse de ce composé mène à la formation de l'acétoacétate qui se transformera en partie en β -OH.

La cétogenèse peut aussi être amorcée par l'acétyl CoA obtenu lors de la métabolisation de l'acétate (C₂) dans le foie. Le C₂ sera activé dans la mitochondrie pour les bovins et dans le cytosol pour les ovins (Loncke, 2009) et sera transformé en Acétyl CoA. Cette voie est néanmoins minoritaire (Cook *et al.*, 1969 ; Ash et Baird, 1973).

Enfin le C4 reste le précurseur majoritaire dans la synthèse du β -hydroxybutyrate (β -OH; Brockman, 1990)

4.5.2 Régulation de la cétogénèse

L'acétylCoA intervient à l'interface de la formation de glucose (par transformation en pyruvate), de l'oxydation par le cycle de Krebs et de la cétogénèse. (Emery *et al.*, 1992 ; Hocquette et Bauchart, 1999).

En début de lactation, les besoins de l'animal en glucose augmentent très fortement et surpassent la production de glucose possible lors de la néoglucogénèse. Le ruminant va alors utiliser une source d'énergie alternative ; les corps cétoniques. Un déficit en glucose entraîne une augmentation de la synthèse de β -OH et d'AcAc (Baird *et al.*, 1977).

La cétogénèse varie fortement en fonction de l'alimentation des ruminants et de leurs statuts physiologiques. Afin de soutenir la production laitière, le métabolisme hépatique est orienté vers la néoglucogénèse. L'oxaloacétate et le pyruvate notamment sont préférentiellement orientés vers la production de glucose.

Le déficit énergétique entraîne une lipolyse des tissus et donc une mobilisation des AGNE. Ceux-ci sont alors captés par le foie où ils vont être activés en acyl CoA puis ils vont subir une bêta-oxydation dans les mitochondries des hépatocytes pour donner de l'acétyl coA. Le passage de la paroi mitochondriale est dépendant de l'activité d'une enzyme, la CPT1 (Cuvelier, 2005). L'activité de la CPT1 est aussi régulée par le malonyl-CoA (Zammit, 1990 ; Cuvelier ; 2005), molécule issue de la transformation du citrate, dans des conditions où beaucoup de glucose est disponible. Ainsi, en cas de bilan énergétique négatif, peu de citrate est produit, donc peu de malonyl-CoA est produit. Il en résulte une activation de la CPT1, un passage des AGNE dans la mitochondrie. Parallèlement à cela, le cycle de Krebs ne peut se fermer par déficit en Oxaloacétate. L'acétyl CoA est alors transformé en acétoacétate, métabolite instable qui va être transformé en β -OH. Le β -OH, qui ne peut être métabolisé par le foie est exporté dans la circulation sanguine où il va s'accumuler. En effet, elle dépend de la quantité d'AGL captée par le foie et donc de la mobilisation des réserves adipeuses. Loncke *et al.* (2019a) ont montré une influence de l'apparition nette portale de β -OH sur la conversion du précurseur C en glucose, ainsi qu'une influence de l'apparition nette portale de β -OH sur la conversion du C3 absorbé par voie orale et sur la libération de glucose hépatique. Ce résultat suggère des niveaux moyens plus élevés de libération de glucose lorsque les réserves corporelles sont mobilisées, comme suggéré par Loncke *et al.* (2009b). Comme une contribution accrue de précurseurs endogènes

est peu probable (Larsen et Kristensen 2013), on peut émettre l'hypothèse d'un taux de conversion accru des précurseurs en glucose.

Il existe donc chez le ruminant une interaction entre le métabolisme lipidique et glucidique qui a un impact sur la céto-genèse. Un antagonisme peut intervenir à différents niveaux. Le pyruvate peut être utilisé comme porte d'entrée de composés glucoformateurs et être métabolisé en glucose par l'intermédiaire de la pyruvate carboxylase (PCA) ou prendre part à la lipogénèse par synthèse de novo des AGL grâce à la pyruvate déshydrogénase (PD). Une activation de la PCA entraîne une inhibition de la PD et donc de la lipogénèse au profit de la néoglucogénèse (Rémésy *et al.*, 1986). A contrario une utilisation du pyruvate pour la lipogénèse réduit la néoglucogénèse.

En cas de très forte production d'acétyl CoA, le cycle de Krebs, déjà utilisateur d'oxaloacétate, sera vite saturé et les acétyl CoA seront utilisés pour la formation de corps cétoniques (Rémésy *et al.*, 1986). Le propionate quant à lui accroît la ré-estérification des AG (Lomax *et al.*, 1983).

5) Pathologies liées à un dysfonctionnement du métabolisme hépatique

Le foie joue un rôle important dans la régulation de l'allocation des nutriments chez le ruminant (Ortigue-Marty *et al.*, 2003).

Le ruminant peut être en bilan énergétique positif c'est à dire lorsqu'il a à disposition toute l'énergie nécessaire pour son entretien, ou en bilan énergétique négatif c'est à dire lorsqu'il reçoit moins d'énergie qu'il n'en consomme. C'est souvent le cas lorsque l'animal est en début de lactation ou en fin de gestation. En début de lactation, les vaches laitières sont par exemple presque toujours en balance énergétique négative (Herdt, 2000). Avec un bilan énergétique négatif, des troubles métaboliques peuvent apparaître tels que la stéatose (Herdt, 2000) ou la cétose.

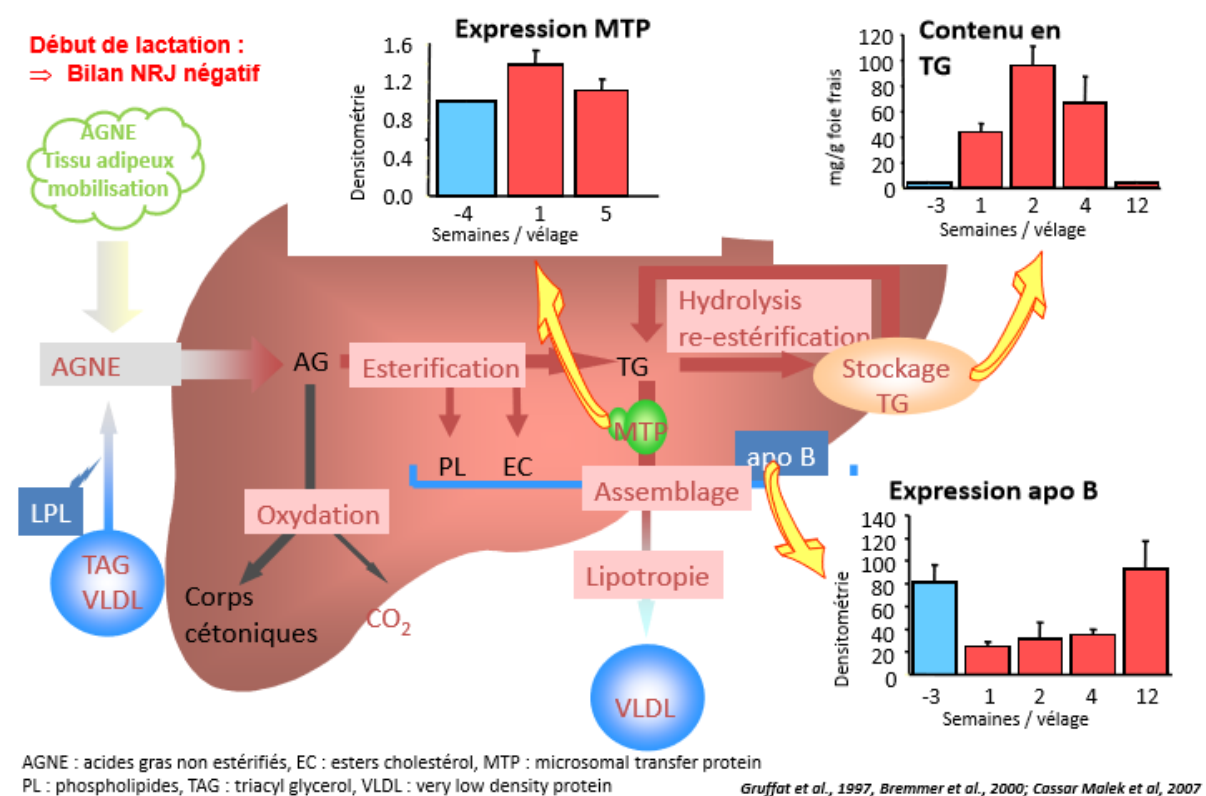
5.1 La stéatose hépatique

La stéatose est un état physiologique qui peut devenir pathologique caractérisée par l'accumulation de graisses au sein du cytosol des cellules hépatiques (Drackley, 1991). Cette maladie peut être due à une restriction de nourriture mais elle apparaît le plus souvent chez les animaux en bilan énergétique négatif (Herdt, 2000 ; Cooke *et al.*, 2007).

En fin de gestation chez les petits ruminants, et en fin de gestation et début de lactation chez les grands ruminants, il y a une augmentation des AGNE dans le sang. Cela entraîne une augmentation de leurs captations hépatiques. La néoglucogénèse continue cependant toujours

de produire du glucose. Il y aura donc un ralentissement du cycle de Krebs avec accumulation des intermédiaires du cycle à l'intérieur de la mitochondrie engendrant une forte synthèse de malonyl CoA et une inhibition de la CPT I (Zammit, 1990 ; Herdt, 2000). Il y aura alors une diminution de la cétogenèse et une augmentation de l'estérification de AG. Néanmoins les AGNE seront très fortement captés par le foie pouvant à terme dépasser les capacités hépatiques de β -oxydation et ainsi mener à l'estérification des AG. (Drackley, 1991 ; Figure 6).

Figure 6 : Mécanismes entrant en jeu dans la stéatose hépatique



De plus, la synthèse de VLDL étant faible (Kleepe, 1988 ; Pullen, 1990), ces AG estérifiés vont s'accumuler dans le foie. A cause de cette accumulation de lipides, la néoglucogenèse sera compromise, augmentant la cétogenèse pouvant créer une cétose additionnelle (Drackley, 1991 ; Herdt, 2000).

De plus, le taux de VLDL chez la vache laitière en début de lactation est fortement diminué, voire pratiquement inexistant (Marcos, 1990 ; Mazur *et al.*, 1988) prédisposant ainsi à une stéatose hépatique. Durant la phase de transition de la lactation, la forte mobilisation lipidique augmente le prélèvement des AG par le foie entraînant le développement de graisse du foie comme montré par la forte concentration en triglycérides pendant les premières semaines de lactation. Cette accumulation de lipides par le foie n'est pas la conséquence d'une diminution

de l'expression de MTP (Microsomial Triglyceride Transfert Protein ; protéines intracellulaire de transfert assurant la formation des VLDL) puisque l'expression de cette protéine est augmentée en début de lactation. A l'opposé, le gène d'expression de l'apo B diminue très fortement durant la même période indiquant que l'apo B est probablement impliquée dans la régulation de la synthèse et la sécrétion des VLDL par le foie. Il serait donc responsable de la très forte diminution du taux de VLDL.

Les ruminants peuvent développer une stéatose hépatique associée à une cétose, ce qui est notamment le cas pour les vaches en période de vêlage (Bruss, 1993 ; Grummer, 1993).

La stéatose a un impact négatif sur la santé notamment en augmentant le risque de maladies infectieuses (Drackley, 1991). Cette maladie pose aussi des problèmes de reproduction et de production de lait chez les ruminants (Jorristma, 2000).

5.2 La cétose

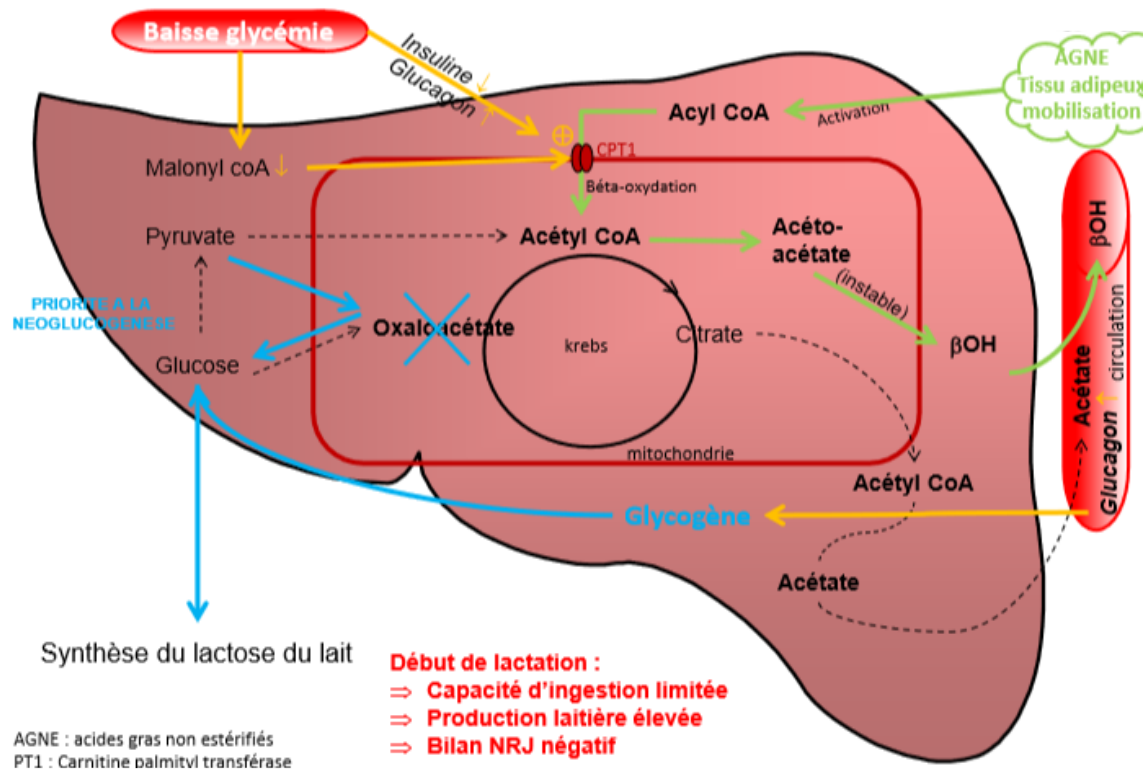
La cétose est un processus physiologique qui peut devenir pathologique caractérisée par une forte augmentation des corps cétoniques dans le sang et les tissus. Elle est due à une carence en glucose qui engendre une augmentation de la céto-genèse (Hippen, 2000 ; Démigné et Rémésy, 1988).

Chez les ruminants, elle apparaît le plus souvent en début de lactation (Emery *et al.*, 1992 ; Herdt, 2000 ; Baird, 1982). En effet, pendant cette période il y a une très forte demande en glucides afin de pouvoir créer du lactose nécessaire à la production de lait (Figure 7 ; Herdt, 2000). La cétose peut aussi se manifester pendant la gestation due à la forte demande en énergie et en glucose du fœtus.

En début de lactation, les besoins de l'animal en glucose augmentent très fortement et surpassent la production de glucose possible lors de la néoglucogenèse. Le ruminant va alors utiliser une source d'énergie alternative en mobilisant ses réserves lipidiques (Grummer, 1993). Il y aura donc une augmentation des AGNE dans le sang périphérique qui seront fortement captés par le foie. (Panda *et al.*, 2017 ; Herdt, 2000 ; Baird, 1982). De plus, une carence en glucose entraîne une accélération du cycle de Krebs (Herdt, 2000). Un des intermédiaires du cycle de Krebs, le citrate, est un substrat formateur du malonyl CoA. Ce malonyl CoA est un inhibiteur de la CPT I qui permet le transport des AG dans la mitochondrie pour la β -oxydation (Zammit, 1990 ; Cuvelier, 2005). Étant donné sa forte utilisation dans le cycle de Krebs afin de fournir de l'énergie, le taux de citrate ne permettra pas de former beaucoup de malonyl CoA. Il y aura donc une augmentation de la CPT I dans les cellules hépatiques permettant ainsi la

beta oxydation des AGNE captés par le foie. Il y aura alors une augmentation de la cétonogénèse et une diminution de l'estérification des AGNE (Figure 7 ; Baird, 1982 ; Herdt, 2000).

Figure 7: Mécanismes entrant en jeu dans la cétose (d'après Loncke)



Les signes cliniques d'une cétose sont une perte d'appétit responsable d'une réduction de l'alimentation ingérée, une perte de poids, une humeur maussade et une baisse de la production de lait (Anderson, 1988 ; Panda *et al.*, 2017).

La cétose peut être clinique ou préclinique (Panda *et al.*, 2017). Elle est préclinique lorsqu'il y a une augmentation des concentrations de corps cétoniques dans le sang mais pas de signes cliniques. (Anderson *et al.*, 1988). En début de lactation, plus de 50 % des vaches laitières seraient sujettes à une cétose préclinique (Emery *et al.*, 1992).

II. Hépatoprotecteurs

D'après Meyer, 2019 « hépatoprotecteur » qualifie un médicament qui protège le foie, ou plutôt modifie les fonctions hépatiques. Les hépatoprotecteurs semblaient important à détailler dans cette thèse afin de faire un parallèle avec mes études de pharmacie. De plus, ceux-ci pourraient être à l'avenir implanté dans le modèle FLiver et leurs effets sur le foie pourrait être ainsi prédits.

1) **Substances actives utilisées comme détoxifiants ammoniacaux**

Les substances actives utilisées comme détoxifiants ammoniacaux chez le ruminant sont l'acide glutamique, l'acide aspartique, la citrulline, l'ornithine et l'arginine. Ce sont des AA qui proviennent de l'alimentation ou d'une synthèse endogène au sein du tractus gastro-intestinal.

Étant donné leurs rôles dans la formation d'urée ainsi que de glucose (glutamate, aspartate), ils participent à la néoglucogenèse et l'uréogenèse, permettant ainsi la formation d'énergie et la détoxification azotée (par élimination de NH₃) de l'organisme. Briggs et Freeland (1977), ont prouvé qu'une supplémentation en arginine, citrulline et ornithine permettait une augmentation de la synthèse d'urée au sein du foie de rats. La N-carbamyl-L-glutamate (enzyme permettant de synthétiser l'arginine) ainsi que la L-arginine supplémenté permettrait aussi une production accrue d'Urée (Kim *et al.*, 1972).

Les besoins en AA chez le ruminant dépendent de leurs synthèses endogènes, du taux présent dans les rations ainsi que du statut physiologique de l'animal (Kung Jr et Rode, 1996). Les AA créés par synthèse ruminale sont produits en quantité insuffisante : c'est pour cela qu'une alimentation riche en AA est nécessaire. De plus, les besoins en AA varient aussi selon les stades physiologiques du ruminant.

➤ **Les protéines utilisées comme précurseurs d'AA directement absorbables dans l'intestin.**

Dans un premier temps, les AA peuvent être apportés à l'animal sous forme de protéines à fortes valeurs nutritionnelles non (ou peu) dégradables dans le rumen appelées les UIP (rumen undegradable intake protein). Ces UIP sont présentes naturellement dans différents aliments tels que les céréales ou la farine de poisson. Administrées en fin de gestation, elles accroissent les performances de lactation (Huyler *et al.*, 1999 ; Greenfield *et al.*, 2000).

Plusieurs méthodes permettent de rendre ces UIP stables et non (ou peu) dégradables dans le rumen afin d'augmenter la biodisponibilité en AA absorbables dans le tractus intestinal (Kung Jr et Rode, 1996).

Tout d'abord, il peut y avoir un traitement par la chaleur. Les AA des protéines seront alors associés au groupe carbonyle d'un sucre (réaction de Maillard) afin d'être introduits dans les rations. Ils peuvent aussi être associés par des liens peptidiques avec la glutamine ou l'asparagine (Belitz et Grosch, 1987).

Certains aliments subissent une torréfaction et une extrusion. Benchaar *et al.* (1993) ont démontré qu'une alimentation riche en lupin extrudé augmentait le taux d'AA qui by passe le rumen, et donc présent dans le duodénum et le petit intestin Les UIP permettent donc une augmentation de la disponibilité des AA absorbables chez les ruminants.

Il n'existe néanmoins pas d'aliment contenant un profil idéal d'AA pour assurer une synthèse protéique répondant aux besoins de l'animal. Il faut ainsi équilibrer les rations pour fournir tous les nutriments nécessaires au bon fonctionnement de l'animal. De plus, une forte concentration d'AA dans les rations, entraîne une diminution de la concentration de microorganismes du rumen et réduit leurs synthèses au sein du rumen entraînant un déséquilibre de la balance des AA (Kung Jr et Rode, 1996). Il faut donc déterminer une dose optimale à administrer à l'animal.

➤ **Les AA protégés de la dégradation ruminale**

Chez les ruminants, les AA peuvent être apportés sous forme de spécialités pharmaceutiques comme solution nutritionnelle pour équilibrer les rations en termes de nutriments indispensables à l'organisme (AAE), ou d'additifs alimentaires ajoutés aux rations. Etant rapidement dégradés en chaînes carbonées et azote par le rumen, les acides aminés libres seront administrés à l'animal sous formes protégées appelées les Rumens-protected-amino-acids (RPAA) (Kung Jr et Rode, 1996). Différentes techniques de protection existent, telle que l'encapsulation qui est une protection physique. Les AA peuvent aussi subir des modifications chimiques comme la chélation afin d'augmenter leurs biodisponibilités.

L'arginine obtenue par fermentation grâce à une souche non OGM de *Corynebacterium glutamicum* (KCCM 10741P) est un AA considéré comme ne présentant pas de risque pour l'animal par l'Union européenne (EFSA FEEDAP Panel, 2017). Il est additionné à la nourriture, à l'eau de boisson ou dans les prémix destinées aux animaux (EFSA, 2019).

L'INRA a établi des recommandations de dose selon le stade physiologique de l'animal, son poids vif ainsi que la composition de la ration. Les RPAA sont préférés au UIP car administrés en plus petite quantité chez l'animal et donc plus écologique et économique (Kung Jr et Rode, 1996).

➤ **Spécialités pharmaceutiques**

Ces AA peuvent aussi être administrés comme spécialités pharmaceutiques sous forme injectable. Par exemple, ENERGHÉPA® est un médicament vétérinaire commercialisé par VIRBAC ayant obtenu son AMM en 1985. Il contient, entre autres principes actifs, de l'acide aspartique, de l'arginine et de l'acide glutamique et est indiqué chez les bovins dans le traitement adjuvant des troubles métaboliques et des affections hépatiques ou rénales.

➤ **Déficits en AA**

Les AA, s'ils sont ingérés en trop faible quantité, peuvent entraîner des signes cliniques, en premier lieu, une diminution de l'ingestion et des performances. Ces phénomènes apparaissent lors d'un déséquilibre dans la balance des AA pouvant être dû à une forte concentration alimentaire en un seul AA (EFSA, 2012).

Des études ont été faites afin de caractériser quantitativement les déficits en AA chez les ruminants (Fox *et al.*, 1990 ; Schwab *et al.*, 1993 ; Hannigan *et al.*, 2004). Néanmoins les besoins de l'animal pour chaque acide aminé sont peu connus et d'autres recherches seront nécessaires afin de créer un modèle permettant de déterminer des doses optimales d'AA.

2) Substances actives impactant le métabolisme lipidique

2.1 Les donneurs de méthyl

2.1.1 Cycle de la Transméthylation

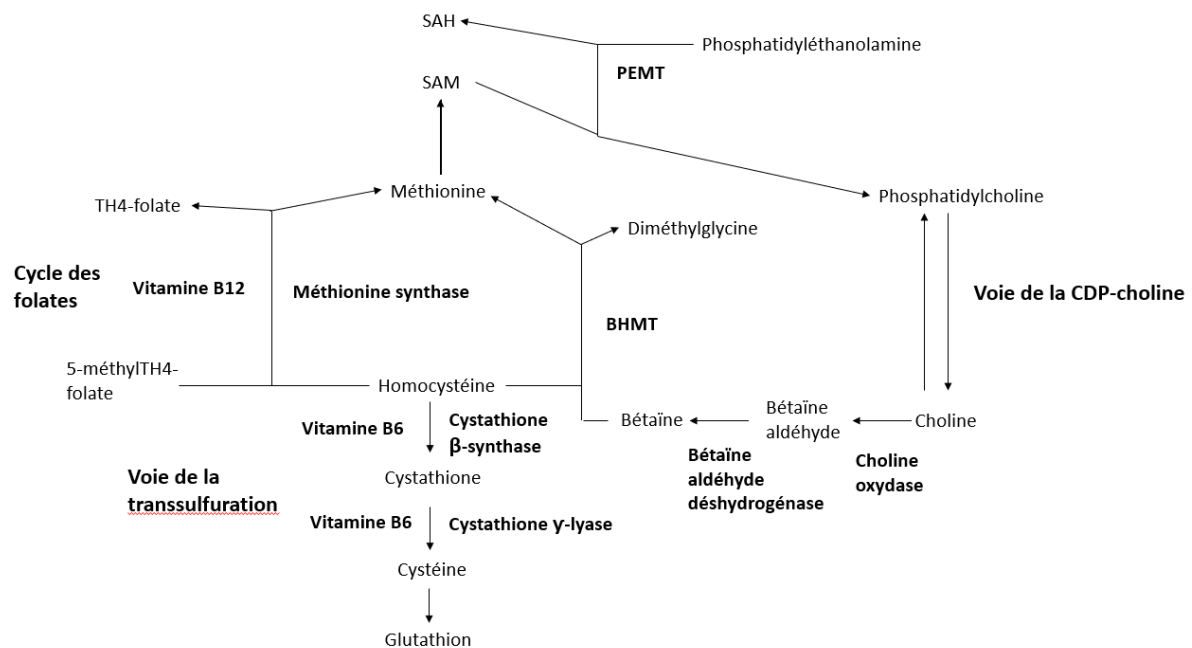
La Choline, la bétaine ainsi que la méthionine sont des composés intrinsèquement liés pouvant être issus de l'alimentation ou synthétisés, majoritairement par le foie et, dans une moindre mesure par le rein. (Niculescu *et al.*, 2002).

Ce sont des donneurs de méthyl participant au cycle de la transméthylation (Fig 8). La choline est un nutriment essentiel apporté par l'alimentation. Elle peut être synthétisée par la voie de la CDP-Choline à partir de la phosphatidyléthanolamine et grâce au groupement méthyl issu de la S-adenosyl-méthionine (SAM). Cette voie n'est cependant pas prioritaire. La choline

est ensuite oxydée en bêtaïne aldéhyde par la choline oxydase puis convertie en bêtaïne par la bêtaïne aldéhyde déshydrogénase (Batistel *et al.*, 2017). Cette dernière (bêtaïne) est impliquée dans la « Transmethylation » de l'homocystéine en méthionine grâce à la Bêtaïne homocystéine méthyl transférase. (Drucker et Rabinowitz, 2017 ; Niculescu *et al.*, 2002).

La méthionine est un AA essentiel qui peut aussi être reméthylé à partir du métabolisme des folates. Dans ce cas, l'homocystéine est « transmethylé » en méthionine grâce au 5-Méthyl-THF (Acide 5-méthyltétrahydrofolique qui est un produit du cycle des folates). Cette réaction est catalysée par la méthionine synthase (Tibbetts, 2010 ; Drucker et Rabinowitz, 2017). De plus, la méthionine est un substrat permettant de former les SAM qui sont des composés chimiques indispensables impliqués dans plus de 80 réactions métaboliques. Les composés donneurs de méthyl jouent un rôle clé dans la régulation des gènes et la synthèse des protéines (Niculescu *et al.*, 2002).

Figure 8 : Cycle des donneurs de méthyls (d'après Bellengeri, 2016)



PEMT : Phosphatidyléthanolamine N-méthyltransférase ; BHMT : Bêtaïne homocystéine méthyltransférase ; CDP : cytidine disphospho ; 5-méthylTH4-folate : 5méthyltétrahydrofolate.

2.1.2 Choline

La choline est un nutriment essentiel précurseur de nombreuses molécules comme les diacylglycérols qui sont des molécules de signalisation, substrats de la formation de l'acétylcholine. L'acétylcholine est un important neurotransmetteur (Zeisel, 2006).

La choline est aussi le précurseur de la synthèse de phosphatidylcholine (PCh). Cette PCh est formée de deux manières différentes (Figure 8) : soit à partir de la condensation de la choline avec un diacylglycérol (voie de la CDP-choline), soit lors de la méthylation de la phosphatidyléthanolamine avec un SAM. (Cooke *et al.*, 2007).

La PC est un glycérophospholipide constituant de la membrane cellulaire. Il est nécessaire pour la synthèse hépatique et la sécrétion des VLDL (Yao et Vance, 1988) qui permettent le transport des triacylglycérides (TG), phospholipides (PL) et des esters de cholestérol du foie vers la circulation sanguine. Lors de la gestation, il y a une grande absorption d'AGNE par le foie, dont une grande partie sera estérifiée. Si le taux de VLDL tend à diminuer, ces TG estérifiés vont s'accumuler dans les tissus hépatiques pouvant mener à une stéatose hépatique (Piepenbrink *et al.*, 2003).

Un déficit en choline entraîne une baisse de la sécrétion hépatique de VLDL, un stockage de TG estérifiés dans le foie (Piepenbrink *et al.*, 2003) ainsi qu'une baisse des concentrations sanguines de choline, méthionine, PC, SAM et de lipoprotéines (Pomfret *et al.*, 1990). Les signes cliniques d'un déficit en choline sont ceux d'une stéatose hépatique, une augmentation de la pression artérielle, des reins hémorragiques ainsi que des fonctions neurologiques altérées (Donkin, 2006).

La choline est naturellement présente dans les rations mais à concentrations variables. Un déficit de ce nutriment est rare chez les ruminants en bilan énergétique positif mais peut survenir lors de périodes sensibles, telle que la gestation et la période périparturiente (Cooke *et al.*, 2007).

Après administration, la choline est absorbée au niveau du duodénum par un mécanisme de transport sodium et énergie dépendant, puis elle est transportée dans la circulation lymphatique sous forme de PC lié à un chylomicron (CM) où elle sera distribuée aux tissus sous forme de PL associée à des lipoprotéines plasmatiques (McDowell, 2000).

➤ **La choline sous forme protégée**

La choline est supplémentée à l'animal sous forme d'additifs alimentaires dans les rations ou de spécialités vétérinaires par voie orale. Elle est fortement dégradée dans le rumen (Neil *et al.*, 1979 ; Sharma et Erdman, 1989). Neil *et al.* (1979), ont constaté que moins de 10 % de la choline libre échappait à la dégradation ruminale. Elle est donc administrée sous forme protégée, ou Rumen-protected-choline (RPC) en anglais, afin d'augmenter sa biodisponibilité. Cependant, des études *in vivo* et *in situ* ont démontré que le taux de dégradation de la RPC pouvait varier de 40 à 80 % (Jayaprakash *et al.*, 2016).

Le chlorure de choline est une des principales formes de RPC et est synthétisée à échelle industrielle par addition de triméthylamine, d'oxyde d'éthylène, d'acide chlorhydrique et d'un catalyseur à température, pression et pH définis (EFSA, 2011).

Plusieurs effets bénéfiques ont été démontrés chez les ruminants supplémentés en choline protégé. Chez la vache laitière en bilan énergétique négatif, la RPC permet de diminuer les concentrations sanguines en AGNE. Par conséquent, elle réduit l'accumulation hépatique des TG estérifiés (Cooke *et al.*, 2007). De plus, elle agit sur les performances en augmentant la production de lait chez la vache laitière (Sharma et Erdman, 1989 ; Pinotti *et al.*, 2006). Elle agit aussi sur la croissance ; des agneaux se nourrissant de rations supplémentées en RPC ont présenté un gain de poids de 10 % (Bryant *et al.*, 1999). Enfin, la RPC démontre un effet de prévention et de diminution de la stéatose hépatique chez les ruminants (Hartwel *et al.*, 2000 ; Cooke *et al.*, 2007 ; Zom *et al.*, 2011), notamment celle due à une restriction alimentaire (Cooke *et al.*, 2007).

Enfin supplémentation en Choline engendrerait une diminution des taux de méthionine circulant (Zhou *et al.*, 2016)

➤ Dose

Aucune dose optimale et maximale n'a été établie par la législation européenne. En effet, la supplémentation en choline dépend de différents facteurs (EFSA, 2011) :

- Sa quantité et biodisponibilité dans les rations,
- Sa synthèse endogène
- Son interaction avec les autres méthyls donneurs tels que la méthionine ou la bétaine.
- 30 % de la choline est utilisée pour la « reméthylation » de la méthionine (Erdmann, 1991), via la bétaine, et c'est aussi un substrat de la formation de carnitine et de lysine.

Des études ont tenté de déterminer les doses de RPC nécessaires en supplémentation chez le ruminant mais les résultats diffèrent fortement. Li et al (2015) n'ont pas constaté d'effets de la choline sur les taux de TG et de cholestérols chez des agneaux recevant des doses de 37 à 116 mg/Kg/BW. Chez des vaches supplémentées en RPC à hauteur de 75 mg/kg/BW, un accroissement du taux de cholestérol, une légère augmentation du taux de glucose et une baisse des taux d'AGNE ont été constatés (Pinotti *et al.*, 2006). A contrario, dans l'étude de Chung et al (2009), une dose de 73 ou 147 mg/kg/BW n'a eu aucun effet sur le taux d'AGNE et de glucose circulant des vaches traitées.

L'Union européenne recommande une dose de 4 à 6 g /jour chez la vache laitière (EFSA, 2011) et une dose de 260 mg de choline / litre de lait pour les jeunes ruminants nourris au lait.

(EFSA, 2011). Un apport en vitamine B12 est recommandé lors de la supplémentation en méthyl donneur. En effet, la vitamine B12 est un cofacteur de la transformation de l'homocystéine en méthionine dans le cycle de la transméthylation.

➤ Toxicité

Il existe peu de données concernant la toxicité de la choline, cependant un excès de RPC n'entraîne pas de bioaccumulation. De plus, celle-ci est considérée comme un additif alimentaire depuis de nombreuses années et reste bien tolérée chez les mammifères. (EFSA, 2011).

2.1.3 La méthionine

La méthionine est un AA essentiel qui est indispensable aux fonctions d'entretien, de croissance et de reproduction des ruminants (Zhang *et al.*, 2015).

Elle possède diverses fonctions métaboliques. Tout d'abord, c'est un substrat de formation de la choline et de la PC par l'intermédiaire des SAM. Auboiron *et al.* (1995) ont prouvé une augmentation de la sécrétion de VLDL chez les veaux supplémentés en méthionine. Elle participe aussi à la synthèse de protéines hépatiques et c'est un précurseur de la synthèse de taurine et de glutathion par la voie de la transsulfuration. Une supplémentation en méthionine permet une augmentation du taux d'AA présents dans le sang telles que la cystine, la taurine, l'homocystéine, la lysine, l'alanine, la citrulline et l'arginine (Zhou *et al.*, 2016). Elle agit aussi en tant qu'AA glucogénique permettant de remplacer le glucose comme énergie lors de balance énergétique négative (Zhou *et al.*, 2016).

La méthionine présente un effet bénéfique sur les fonctions du foie (Batistel *et al.*, 2017) et augmente la production de lait ainsi que le taux de protéines et lipides contenus dans le lait (Donkin *et al.*, 2006). Elle diminue le taux de cétones plasmatiques en début de lactation (Durand *et al.*, 1992), et est donc utilisée comme traitement adjuvant lors de cétose.

La méthionine provient de l'alimentation ou d'une synthèse endogène *via* le cycle des carbones. (Tibbetts, 2010, Drucker et Rabinowitz, 2017). Elle reste toutefois très limitée dans les rations (NRC 2001 ; INRA, 2018). Il est donc très important d'avoir une supplémentation en méthionine. Sa concentration dans le sang ou les tissus est fortement dépendante du régime alimentaire de l'animal ainsi que de sa forme (Tamura, 2019 ; Zhang *et al.*, 2015).

➤ **L-Méthionine et DL méthionine**

Après ingestion de ration contenant des UIP, ces protéines seront hydrolysées par des peptidases pour donner de la L-méthionine (L-met) qui sera alors absorbée à travers la paroi intestinale grâce à un système de transporteurs sodium dépendant ou sodium indépendant (EFSA, 2012).

La méthionine peut être lévogyre ou dextrogyre. La forme D-méthionine (D-met) non active sera transformée en forme lévogyre (L-met) active. Cette réaction est catalysée par une enzyme appelée la D-amino acide oxydase (Friedman et Grumbmann, 1989). La Méthionine est administrée à l'animal par voie orale, le plus souvent sous forme de mélange racémique synthétique, la DL-méthionine (DL-met) (Lapierre, 2012 ; Zhang *et al.*, 2015). Lapierre et al (2012), ont voulu comparer l'efficacité et la biodisponibilité de la D-met, L-met et DL-met. Ils ont démontré que l'efficacité de la méthionine était augmentée lors de l'administration d'un mélange D-met et DL-met comparé à la L-met seule. Chez la vache laitière, le temps de demi-vie de la D-met est de 6 à 7 fois plus grande que celle de la L-met, et sa clairance est diminuée (Lapierre, 2012), ce qui engendre une accumulation de la D-met dans le plasma (Lobley *et al.*, 2011). Ainsi la D-met pourrait être une réserve potentielle de L-met chez le ruminant.

➤ **L'acide 2-hydroxy-4-methylthiobutanoïque**

Il existe une autre forme synthétique de la méthionine, nommée l'acide 2-hydroxy-4-methylthiobutanoïque (HMTBA). Elle est obtenue par substitution de l'acide- α -aminé de la méthionine par un groupe hydroxyle (Batistel *et al.*, 2017).

La HMTBA est absorbée dans le système digestif grâce au transporteur de monocarboxylate1 (MCT1) couplé à un transporteur à activité Na⁺/H⁺ (Martin-Venegas *et al.*, 2007, 2008). Elle est ensuite transportée dans le foie pour être transformée en acide 2-cto-4-methylthiobutanoïque (KMB) par l'action d'oxydases puis transaminée en L-met (Dibner et Knight, 1984). Cette conversion hépatique est commune à tous les mammifères. Chez les ruminants, la HMTBA peut aussi être métabolisée en L-met dans les tissus digestifs par conversion directe dans le tractus gastro-intestinal (Lobley *et al.*, 2006) ou dans le rumen grâce aux microorganismes (Saunderson, 1985). Toutefois, Lobley *et al.* (2006) ont constaté qu'environ 70 % de la HBMTA absorbée sera transformée par le foie chez les agneaux. La biodisponibilité de la transformation de HMTBA en L-met est de 5% (Whitehouse *et al.*, 2017). Le HMTBA peut aussi être le substrat d'autres réactions. Elle peut par exemple être convertie en cystéine, taurine et glutathion par la voie de la transsulfuration (Lobley *et al.*, 2006).

➤ **Comparaison de la DL-met et HMTBA**

Ces deux formes sont très utilisées en nutrition animale et synthétisées à échelle industrielle par l'addition de MTPA et HCN avec un catalyseur (Kleemant *et al.*, 1985). Comparé à la DL-met, la HMTBA est plus résistante au passage ruminal car elle présente une dégradation dans le rumen plus lente que la L-méthionine (Lobley *et al.*, 2006 ; EFSA, 2012 et 2019) et présente un effet antioxydant (Tang *et al.*, 2011, Martin-Venegas *et al.*, 2013). Cependant, la HMTBA démontre une bio efficacité moindre comparée à la DL-méthionine (Whitehouse *et al.*, 2016).

➤ **Méthionine sous forme protégée**

La L-méthionine sous forme libre est rapidement dégradée dans le rumen. La HBTMA subit une dégradation ruminale plus lente que la L-méthionine.

Afin d'augmenter la biodisponibilité de la DL-méthionine et de la HBTMA chez les ruminants, celles-ci seront administrées sous forme protégée (RPM) en tant qu'additifs alimentaires dans les rations. Selon la législation européenne il existe trois formes de méthionine protégées utilisées chez les ruminants : la DL-méthionine encapsulée par un copolymère vinyle/styrène (DL-met-cop) et l'isopropyl ester de méthionine (HMTBi), utilisées comme additifs alimentaires chez les ruminants, et la DL-méthionine protégée par de l'éthylcellulose (DL-met-ec) utilisée chez tous les ruminants. (EFSA, 2012).

DL met cop : Sous cette forme, la biodisponibilité de la méthionine serait de 80% chez la vache laitière ((Graulet *et al.*, 2005 ; Whitehouse *et al.*, 2016). En effet, les taux plasmatiques de méthionine augmentent linéairement avec l'administration de DL-met-cop dans les rations (Rogers *et al.*, 1987, 1989).

HMTBi : La HMTBi est obtenue par ajout d'un groupe chimique sur l'azote alpha aminé ou par modification d'un groupement acyl (Loerch et Oke, 1989).

Environ 50 % de la HMTBi sera absorbée rapidement au niveau du tractus gastrointestinale et hydrolysée en HMTBA et isopropylalcool qui seront ensuite transformés en méthionine et acétone. (Graulet *et al.*, 2005)

DL met ec : Cette forme est utilisée chez les ruminants uniquement et non considérée comme un additif alimentaire au niveau législatif (EFSA, 2012). La DL-met-ec échappe à la dégradation ruminale si celle-ci reste moins de 6h dans le rumen (Overton *et al.*, 1996) et les taux plasmatiques de L-méthionine augmentent avec son administration (Berthiaume *et al.*, 2000). Néanmoins, la concentration plasmatique totale en AA décroît. (Berthiaume *et al.*, 2001).

La SMARTAMINE est un additif alimentaire commercialisé par Adisseo. C'est un mélange de DL-met entouré par un copolymère de vinyle/styrène qui est insoluble au pH ruminale et devient très soluble dans l'abomasum. Il est établi que la biodisponibilité de la SMARTAMINE est de 80 % et elle est utilisée comme contrôle positif lors des essais sur des molécules de RPM (Batistel *et al.*, 2017).

➤ **Catabolisme de la méthionine**

La méthionine peut emprunter la voie de la transamination afin d'être dégradée (Benevanga *et al.*, 1983). Le principal produit du catabolisme ruminal de la méthionine est le méthanethiol produit par diométhylation grâce à la méthioninase (Merricks et Salsbury, 1976). Ce composé est ensuite transformé en hydrogène sulfide et diméthylsulfures ou absorbé et oxydé en sulfate dans le foie (Salsbury *et al.*, 1971 ; Salsbury et Merricks, 1975).

La méthionine peut aussi être métabolisé en méthionine sulfoxide (MSO) (Salsbury *et al.*, 1971) ou en 2_oxobutanoate (Merricks et Salsbury, 1974,1976) qui sera quant à lui transformé en propionate (Onodera et Migita, 1984) ou à moindre mesure en acétate et butyrate (Belasco, 1980).

Finalement, la méthionine peut être convertie par la voie de la transsulfuration en cystéine, taurine et glutathion (Benevanga *et al.*, 1983 ; Lobley *et al.*, 2006).

La HMTBA sera aussi catabolisée sous forme de diméthylsulfides et d'AGL (Clarck et Salsbury, 1980).

➤ **Toxicité**

La méthionine est l'AA le plus toxique (EFSA, 2012) du fait de son catabolisme (Dever et Elfarra, 2008). En effet, la dégradation de la méthionine par la voie de la transamination produit des produits sulfures tel que le MSO, et les produits dérivés du méthanethiol présentant une forte toxicité pour le système nerveux. Une dépression respiratoire et du système nerveux central peuvent alors apparaître (Kandyliis, 1984). Chez le mouton, une supplémentation excessive en DL-méthionine par infusion ruminale ou abomasale est responsable de néphroses, d'anémies hémolytiques, de problèmes respiratoires, de faiblesses musculaires ainsi qu'une appétence (Doyle et Adams, 1980). De forts taux de HMTBA aboutissent aussi à une baisse de l'appétit chez les bovins et les moutons ainsi qu'une diminution du poids chez les moutons (Chandler *et al.*, 1976).

De plus, une forte concentration en méthionine, produit un déséquilibre dans la balance des aminoacides et a pour effet une diminution de l'appétit et de la consommation de nourriture

ainsi qu'un effet négatif sur les performances de production (EFSA, 2012).

Les AA ne nécessitent pas d'études de tolérance car ceux-ci sont déjà présents à l'état naturel dans les rations et utilisés comme additifs nutritionnels depuis de nombreuses années.

En conclusion, la méthionine est nécessaire en supplémentation de routine et indispensable lors de la lactation ou aux alentours de la période de périparturition où les taux sanguins de méthionine sont fortement baissés (Zhou *et al.*, 2016). Au regard des effets toxiques possibles, la méthionine doit être administrée à l'animal de façon à ce que la balance bénéfique/risque reste positive. Il n'existe cependant pas de dose optimale établie par la législation, celle-ci est donc dépendante du jugement de l'éleveur ou du vétérinaire.

2.1.4 La bétaine

La bétaine est un composé chimique stable et non toxique dérivé de la glycine, aussi appelée N, N, N-triméthylglycine. Elle est issue de la digestion ou d'une synthèse endogène à partir de la choline (Mitchell *et al.*, 1979).

Elle est retrouvée dans certaines céréales, dans les épinards et les crevettes. L'aliment contenant le plus fort taux de bétaine est la betterave à sucre (Day et Kempson, 2016). Après administration, elle est absorbée au niveau de l'intestin et distribuée dans les tissus par l'intermédiaire de la bétaine GABA transporter (BGT1) (Day et Kempson, 2016).

Elle est principalement métabolisée dans le foie. Elle sera ensuite déméthylée pour former la glycine (Mitchell *et al.*, 1979) qui est un AA non essentiel qui participe à de nombreuses réactions métaboliques.

La bétaine est un osmolyte permettant la protection des cellules soumises au stress oxydatif et un donneur de méthyl participant aux réactions de transméthylation (Day et Kempson, 2016). De ce fait, c'est un substrat de la formation des SAM. De plus, elle augmente l'activation de la AMP-activated protéine kinase (AMPk), qui est une enzyme contrôlant les taux de glucose hépatique et l'homéostasie lipidique (Day et Kempson, 2016).

La bétaine permet donc une action prophylactique de la stéatose hépatique (Barah *et al.*, 2003).

➤ Différentes formes de bétaine existantes

Elle est apportée chez les animaux sous deux formes : la bétaine anhydre et la bétaine chlorhydrate. Ces deux formes sont synthétisées à échelle industrielle par mélange d'acide chloroacétique et de sodium hydroxyde puis ajout de triméthylamine pour la forme anhydre et d'acide chlorhydrate pour la forme chlorhydrate (EFSA, 2012). En médecine vétérinaire, elles

sont considérées comme des hépatoprotecteurs pour les chèvres, les moutons et le bétail (EMEA, 1997). Elles ne sont néanmoins pas présentes dans la pharmacopée européenne.

La bétaine peut aussi être retrouvée sous forme de bétaine monophosphate (Eklund *et al.*, 2005).

➤ Toxicité et dose

Des études de toxicité *in vitro* et *in vivo* ont été réalisées chez le rat, mais cela n'a pas été suffisant pour prouver la sécurité d'emploi de la bétaine. En effet, il n'y a toujours pas de données disponibles concernant la toxicité de la bétaine sur la reproduction et le développement. De plus, compte tenu d'une grande variabilité interindividuelle, aucune NOAEL n'a pu être déterminée. La NOAEL (No Observable Adverse Effect Level en anglais) est la dose maximale que l'on peut administrer sans voir apparaître d'effet toxique. Ainsi la législation européenne n'admet pas de maximum de dose pour la bétaine. Cependant, elle est utilisée depuis de nombreuses années et reste très bien tolérée (à dose définie) chez les monogastriques ainsi que les ruminants.

La dose recommandée pour les vaches laitières ainsi que pour le bétail est de 50g/j, ce qui équivaut à 2000-2500 mg/kg de nourriture. La bétaine peut aussi être administrée par l'eau de boisson, dans ce cas le dosage serait de 250 mg/L pour le bétail.

2.1.5 Spécialités pharmaceutiques contenant des donneurs de méthyls : Résumés des Caractéristiques du Produit (RCP) par L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES)

La bétaine, la choline ainsi que la méthionine sont des hépatoprotecteurs indiqués dans la prévention ou le traitement de maladies métaboliques telle que la stéatose hépatique.

Certains médicaments vétérinaires contiennent les 3 substances actives lipotropes. C'est le cas du PAXOLIP® mis sur le marché en 1992 par les laboratoires BIOVE et indiqué par voie orale comme traitement adjuvant des insuffisances hépatiques chez les bovins, ovins et caprins. D'autres spécialités peuvent aussi être utilisées pour simuler l'activité hépato-digestives en cas de troubles digestifs ou hépatiques.

L'ACTILEVER B® contient de la méthionine et de la bétaine. Ce médicament est commercialisé par les laboratoires BIOVE et a obtenu son AMM (Autorisation de mise sur le marché) en 1992 (renouvelé en 2017). Il est utilisé chez les veaux par voie orale.

L'ORNIPURAL SOLUTION® est une solution injectable utilisée chez les bovins et ovins ayant obtenue son AMM en 1983 (renouvellement en 2009). Le laboratoire titulaire de l'AMM

est Vetoquinol. La bétaine est ici associée à des AA détoxifiants tel que la citrulline, l'arginine et l'ornithine.

Enfin, SEDOCHOL® est un médicament commercialisé par Merial et administré chez les bovins et ovins contenant de la choline ainsi que de la méthionine. L'addition de ces deux molécules permettrait une synergie d'action en améliorant l'appétit des animaux en bilan énergétique négatif (Sun *et al.*, 2016) et en augmentant la synthèse de SAM (Zeisel *et al.*, 2006). SEDOCHOL® est indiqué en prophylaxie ou traitement de maladies hépatiques tels que la stéatose, l'insuffisance hépatique, l'ictère ou encore les cirrhoses depuis 1992 (AMM renouvelé en 2002).

2.2 Carnitine

La carnitine est un composé permettant le transport des Acyl-CoA (acides gras activées) au travers de la membrane mitochondriale. Elle permet ainsi la β -oxydation des AGNE.

Les deux isomères de la carnitine sont présents chez l'animal, seule la L-carnitine étant active. Elle provient de l'alimentation ou d'une synthèse endogène à partir de la lysine et la méthionine (Hearn, 1989).

Après administration orale de la L-carnitine, celle-ci sera absorbée au niveau de l'intestin par un système de transporteur sodium dépendant ou par diffusion passive (Gudjonsson *et al.*, 1985). Elle sera ensuite transportée au niveau du cytosol des cellules hépatiques et éliminée au niveau des glandes mammaires dans le lait ou excrétée par le rein et réabsorbée au niveau tubulaire (Donkin, 2006).

Lors de l'administration de L-carnitine chez la vache laitière, il y a une augmentation de l'oxydation du palmitate engendrant une baisse de l'estérification des AG en TG (Drackley *et al.*, 1991). De plus, chez les moutons supplémentés en carnitine, une diminution des taux plasmatiques d'AGNE et de TG sont visibles (Harmeyer, 2003).

En début de lactation, les taux de L-carnitine sont diminués chez la vache laitière (Furll *et al.*, 1999) : une supplémentation est donc nécessaire.

➤ Protection ruminale de la carnitine

La L-carnitine libre est fortement dégradée dans le rumen (Harmeyer, 2003). Une protection ruminale augmenterait de manière significative la biodisponibilité de la carnitine (Harmeyer, 2003). Olagaray (2017) a prouvé qu'une forme protégée de la dégradation ruminale de la L-carnitine permettait d'augmenter la biodisponibilité de cette substance active chez les vaches. Pour ce faire, il a comparé des infusions abomasales et ruminales de carnitine cristalline

avec deux formes de L-carnitine encapsulée : la 40COAT (40 % d'encapsulation) et la 60COAT (60 % d'encapsulation). Les résultats ont prouvé que la concentration sanguine en L-carnitine était plus élevée chez la vache laitière traitée avec la 40COAT qu'avec la carnitine cristalline. Cependant pour les vaches traitées avec la 60COAT, il n'y a pas eu d'augmentation significative des concentrations sanguines en L-carnitine. Cela étant sûrement dû à un taux d'encapsulation trop grand qui ne permet pas la dégradation de la substance active dans le rumen et donc son absorption dans l'intestin.

A l'avenir, d'autres études seront donc nécessaires afin de déterminer le pourcentage d'encapsulation optimale de la L-carnitine.

➤ **Dose**

La carnitine est administrée à l'animal sous forme de L-carnitine, de L-carnitine chlorhydrate ou de L-carnitine L-tartare.

Au sein de l'Union européenne, elle est enregistrée comme additif alimentaire et la dose recommandée est de 10-50mg/kg de nourriture. Selon la législation européenne, elle est aussi considérée comme une substance active à effet pharmacologique en médecine vétérinaire (EFSA, 2012).

➤ **Médicament vétérinaire**

La VIGOSINE® injectable (ANSES, RCP) est un médicament vétérinaire ayant obtenu son AMM en 1987 et dont la substance active est la L-carnitine. Ce médicament est indiqué dans le traitement des pertes d'appétit lors de troubles métaboliques chez la vache laitière. Cette forte diminution de l'appétit est un effet secondaire de la stéatose hépatique. En favorisant le transport mitochondrial des AGNE, la carnitine permet d'augmenter leurs beta oxydation et ainsi de stimuler l'appétit de l'animal permettant un apport de nutriments nécessaires chez la vache laitière.

➤ **Toxicité**

Lors de son administration par voie orale chez le rat, aucune toxicité n'a pu être démontrée. Bien que peu d'informations sur la toxicité de la L-carnitine ne soit disponible, celle-ci est considérée comme sans danger pour l'animal par la législation européenne (EFSA,2012)

2.3 L'inositol

L'inositol est un composé lipotrope qui présente 9 stéréoisoméries (Holub, 1982). L'un de ces isomères, le myo-inositol est un composant des phosphatidylinositol (PI). Le PI est un phospholipide constituant des membranes cellulaires et des lipoprotéines (Chu et greyer, 1981 ; Greloff, 1986)). Il est nécessaire dans le transport des lipides (Reed *et al.*, 1968 ; Burton et Wells, 1977).

Burton et Wells, 1976 ont démontré qu'une alimentation pauvre en inositol chez le rat peut entraîner une stéatose hépatique. De plus, chez le veau atteint de stéatose hépatique on peut retrouver un taux d'inositol très faible (Greloff *et al.*, 1986).

L'inositol peut être supplémenté comme médicament vétérinaire ou par l'alimentation. L'ACTILIVER B® commercialisé par le laboratoire BIOVE contient 20 mg d'inositol par g. Il est associé à de la méthionine et à de la bêtaïne. Cette spécialité pharmaceutique est indiquée chez le veau pour simuler l'activité hépato-digestive lors d'insuffisance hépatique (ANSES, RCP).

Le myoinositol est retrouvé sous forme d'acide phytique dans l'alimentation (Gerloff, 1986). Cet acide subit une activation grâce à une enzyme, la phytase, dont les monogastriques sont dépourvues (Oatway, 2001). Chez les ruminants, cette phytase est présente dans le rumen et permet l'hydrolyse de l'acide phytique en myo-inositol et inositol-Phosphate. La biodisponibilité de cet acide dépend donc de cette enzyme.

Très peu d'études sur l'efficacité et la toxicité de l'inositol ont été réalisées chez les ruminants et les résultats correspondants ne sont pas concluants. L'étude de Gerloff (1986) ne montre pas d'action de l'inositol sur le métabolisme lipidique des vaches laitières, cela pouvant être dû au fait que les animaux utilisés lors des tests ne présentaient pas de déficit en inositol. Cela a cependant permis de démontrer qu'un surplus du taux d'inositols chez la vache laitière ne semble pas avoir d'effet toxique.

La supplémentation de l'inositol et de l'acide phytique chez les bovins et ovins est donc basée sur des études faites chez d'autres espèces, notamment le rat, le chien et le chat (EFSA, 2014).

2.4 Acide nicotique ou nicotinamide

La vitamine PP ou vitamine B3 est composé de deux molécules : la niacine (ou acide nicotinique) et de son amide, la niacinamide (ou nicotinamide). Ce sont des composants des coenzymes transportant l'hydrogène : NAD et NADP. Ils interviennent donc dans les cycles

d'oxydoréduction du métabolisme glucidique, lipidique et protéique en tant que cofacteurs et permettent les transferts d'hydrogène (Dietrich ; Panda *et al.*, 2017). Ils sont donc nécessaires au déroulement de nombreuses réactions métaboliques et catalysent des réactions de la glycolyse, du cycle de Krebs, de la synthèse et du catabolisme des AA. Au niveau du métabolisme lipidique, ils permettent entre autres l'oxydation et la synthèse des AG. Chez le ruminant, ils participent aussi à l'uréogénèse permettant ainsi l'élimination de l'ammoniac sous forme d'urée (Panda *et al.*, 2017).

La vitamine B3 peut provenir de l'alimentation ou d'une formation endogène. La niacine sera alors synthétisée à partir du tryptophane (Panda *et al.*, 2017). De plus, une synthèse microbienne ruminale permet aussi de produire de la vitamine B3 (Santschi *et al.*, 2005). Une alimentation riche en céréales, telle que le riz ou le maïs, apporte environ 35 % des apports journaliers en niacine (Panda *et al.*, 2017), le reste étant formé grâce aux synthèses microbiennes. Dans certains cas, comme celui des vaches hautement productives, le taux de niacine produit peut-être insuffisant et une supplémentation devient indispensable (McDowell, 2000).

La vitamine B3 peut être commercialisée sous sa forme acide ou sa forme amide. Les deux molécules présentent la même activité et la forme acide sera convertie en forme amide dans les tissus et le rumen (Erickson *et al.*, 1990). Après administration par voie orale, la vitamine B3 est absorbée par diffusion et transportée par les érythrocytes pour être distribuée dans les tissus. Elle sera ensuite éliminée dans les urines principalement sous forme inchangée (Panda *et al.*, 2017 ; DSM).

A cause de sa forte dégradation dans le rumen (Santschi *et al.*, 2005), la forme orale de la niacine devra être protégée avant administration (Tienken *et al.*, 2015). La biodisponibilité de la niacine sous forme protégée est fortement augmentée (Tienken *et al.*, 2015) mais reste néanmoins très variable (Morey *et al.*, 2011 ; Yuan *et al.*, 2012).

L'administration de Niacine aura pour effet de diminuer les concentrations d'AGNE dans le sang, et les concentrations de corps cétoniques et d'augmenter les performances de production chez les bovins et les agneaux (Panda *et al.*, 2017).

Elle est surtout utilisée chez les ruminants en début de lactation et en fin de gestation en prévention de la cétose et d'une carence en vitamine B3. Elle est particulièrement recommandée chez les vaches produisant une forte quantité de lait qui sont pour la plupart en déficit de niacine (Panda *et al.*, 2017).

Plusieurs produits existent sur le marché. La niacine est vendue comme compléments alimentaires ou sous formes de spécialités pharmaceutiques avec une AMM illimitée :

FERCOBSANG produit par le laboratoire Vétquinol et NUTRA B commercialisé par Zoetie France. Afin de traiter certaines carences, la nicotinamide est ici associée avec de la vitamine B6, B1, B12 ou fer (ANSES, RCP).

Selon Panda et al (2017), la dose permettant de prévenir un déficit en niacine chez les ruminants est de 2,5 mg d'acide nicotinique par L de lait, 2 fois par jour. Cette étude a aussi permis de déterminer une dose toxique qui est de 350 mg/kg*BW.

Les effets indésirables dus à la prise de vitamine B3 sont l'anorexie, l'ataxie, une forte déshydratation et une diarrhée sévère.

III. Comparaison bibliographique du modèle de FLiver (Bahloul, 2014) et Freetly *et al.* (1993)

1) **Introduction**

Il existe différents modèles hépatiques ; les modèles globaux de l'animal et les modèles foie.

Dans les modèles globaux, le foie est considéré comme un sous-modèle de l'animal entier. Ils ont à ce jour, à ma connaissance, au nombre de trois ; le modèle de Baldwin *et al.*, (1987), le modèle de Danfaer (1990), et le modèle de Martin et Sauvant (2007). Ces modèles considèrent le foie comme une boîte noire : les réactions de conversion métabolique et de transferts à l'intérieur du foie sont mal définies et mal connues. En effet, seules les principales voies métaboliques du foie sont représentées. On ne peut donc pas les comparer avec le modèle FLiver (Bahloul, 2014) qui est un modèle foie qui lui décrit les réactions de conversion métabolique et de transferts à l'intérieur du foie.

Les modèle foie sont au nombre de quatre, en comptant le modèle de FLiver (Bahloul, 2014) ; le modèle de Waghorn (1982), le modèle de Freetly *et al.*, (1993), et le modèle de Hannigan *et al.*, (2004). Ce sont des modèles mécanistes du métabolisme hépatique où le foie est considéré comme un compartiment à part entière. Contrairement aux modèles globaux, les modèles foie sont plus représentatifs du métabolisme hépatique. Le modèle de Waghorn (1982) prend en compte le métabolisme mammaire. De plus, il se focalise en particulier sur la synthèse d'urée et de protéines. Le Modèle de Hannigan *et al.*, (2004) se focalise sur le métabolisme hépatique des AA. On ne peut donc pas comparer ces deux modèles avec celui de FLiver (Bahloul, 2014). Le modèle de Freetly *et al.*, (1993) semblait assez proche du modèle FLiver (Bahloul, 2014), il a donc été décidé de les comparer.

L'objectif de cette comparaison est de déterminer l'apport du modèle FLiver (Bahloul, 2014) par confrontation à un ancien modèle foie (Freetly *et al.*, 1993).

Dans cette partie nous nous attellerons à comparer le modèle FLiver (Bahloul, 2014) et Freetly *et al.*, (1993) quant à la construction du modèle. Cette première étape de la comparaison des modèles a pour but de vérifier dans quelle mesure les modèles étaient comparables.

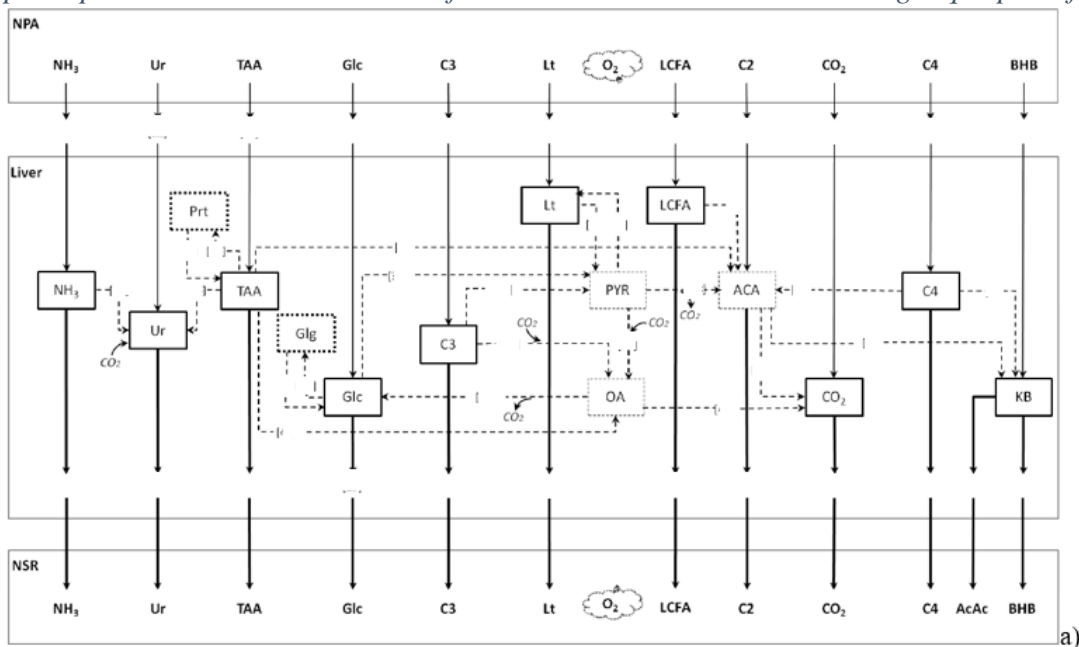
La comparaison des résultats ainsi que les analyses du comportement ces deux modèles seront abordées dans la partie recherche de cette thèse.

2) Modèle FLiver

2.1 Généralités :

FLiver (Bahloul, 2014) est un modèle mécaniste (il décrit le métabolisme des différents nutriments au sein du système « foie »), statique (ce qui fait varier les sorties du modèle sont les niveaux d'entrée des différents nutriments, et non pas le temps) et déterministe (l'état du système est déterminé de manière prévisible et unique à partir des valeurs des variables d'entrée). C'est un modèle à compartiments. Il décrit les différents flux des principaux nutriments (Figure 9 b)) dans le foie et les réactions métaboliques entre ces nutriments (fig 9 a)).

Figure 9 a) et b) : a) Diagramme de Forester de « FLiver » représentant les flux nets des principaux nutriments à travers le foie chez le ruminant en bilan énergétique positif. b)



Symbole	Description
ACA	Acétyl-CoA
AcAc	Acétoacétate
BHB	β -hydroxybutyrate
C2	Acétate
C3	Propionate
C4	Butyrate
CO2	Dioxyde de carbone
Glc	Glucose
Glg	Glycogène
KB	Corps cétoniques
LCFA	Acides gras à chaînes longues
Lt	Lactate
NH3	Ammoniaque
OA	Oxaloacétate
O2	Oxygène
PYR	Pyruvate
Prt	Protéines
TAA	Acides aminés totaux
Ur	Urée
NPA	Apparition nette portale
NSR	Libération nette splanchnique

b)

Nutriments considérés dans le modèle et abréviations utilisées.

Ce schéma très simplifié du modèle de FLiver représente le foie avec les différents compartiments de pools hépatiques de nutriments (carrés pleins), les carrés pointillés représentant les compartiments associés au cycle de Krebs. Les flèches pleines représentent les flux d'apparition nette portale (entrée des nutriments), les lignes pleines grasses représentent les flux d'émission hépatique des nutriments (sorties du modèle), les lignes en pointillés, les réactions métaboliques entre les différents nutriments. Les échanges de CO₂ associés au cycle de Krebs sont représentés par des flèches curvilinéaires.

La base de données FLORA (Fluxes of nutrients across Organs and tissues in Ruminant Animals ; Vernet and Ortigues-Marty, 2006) a été utilisée pour déterminer les valeurs des pools des compartiments ainsi que les valeurs des inputs. Cette base de données exhaustive rassemble l'ensemble des données issues des publications internationales concernant les flux de nutriment dans l'aire splanchnique chez les ruminants. Ces données prennent en compte les différents statuts physiologiques de l'animal ainsi les situations nutritionnelles. De plus, ces données sont multi espèces.

Dans ce modèle les différentes réactions métaboliques hépatiques ont été représentées :

- Le cycle de Krebs
- Le métabolisme du glucose
- Le métabolisme des nutriments azotés
- Le métabolisme lipidique incluant la cétogenèse

Par ailleurs, il permet de tester différents scénarii d'apport en nutriments. Ce sont les steady-state ou états d'équilibre, ainsi les courbes de réponse du modèle sont présentées 'en marches d'escalier ' et permettent donc de tester différents jeux de données d'entrée en même temps.

2.2 Equations empiriques

Les équations obtenues par méta analyse lors de la première étape du projet « Flux de nutriments » ont été utilisées pour calibrer FLiver. Ces équations charpentes représentent soit des flux nets hépatiques (NHF), c'est-à-dire des flux de nutriments émis ou prélevés par le foie, soit des flux nets d'émission splanchnique (NSR). Les équations empiriques sont appelées ici « équations charpentes » (Tableau 1). Ces équations charpentes font partie du modèle sous forme de variables de calcul. Ainsi, les paramètres ont été ajustés de manière que les résultats simulés par le modèle convergent au mieux avec les valeurs prédites par les relations empiriques pour prédire la conversion quantitative des nutriments.

Tableau 1 : Equations charpentes d'origine du modèle FLiver.

Item	Number ¹				Equation	Adjustment ²	
	n	n _{ei}	n _r	n _r		RMSE	R ² _{adj}
NHF, mmol C × h ⁻¹ × kg BW ⁻¹							
C3	28	5	69	3	0.01 ± 0.07 ^{NS} - 0.91 ± 0.03 ^{***} × NPA-C3	0.08	0.99
Glc	39	14	89	6	- 0.71 ± 0.72 ^{NS} + 0.81 ± 0.11 ^{***} × NPA-prec ³	0.42	0.89
Lt	26	14	66	9	- 0.45 ± 0.13 ^{***} - 0.47 ± 0.12 [*] × NPA-Lt	0.20	0.89
NHF, mmol N × h ⁻¹ × kg BW ⁻¹							
N-NH ₃	21	8	51	1	- 0.01 ± 0.01 ^{NS} - 1.01 ± 0.02 ^{***} × NPA-NH ₃	0.02	0.99
N-Ur	13	7	32	3	0.08 ± 0.03 [*] + 1.05 ± 0.12 ^{***} × NPA-NH ₃ + 0.48 ± 0.09 ^{***} × NPA-α-amino-N	0.14	0.94
NSR, mmol C × h ⁻¹ × kg BW ⁻¹							
BHB	20	6	51	2	0.99 ± 0.37 ^{**} + 0.99 ± 0.31 ^{**} × NPA-BHB	0.35	0.85
C2	22	12	53	4	0.34 ± 0.31 ^{NS} + 1.02 ± 0.07 ^{***} × NPA-C2	0.36	0.96
C4	20	7	49	5	- 0.07 ± 0.03 [*] + 0.32 ± 0.04 ^{***} × NPA-C4	0.03	0.92
TAA	29	12	75	2	0.10 ± 0.19 ^{NS} + 0.27 ± 0.06 ^{***} × NPA-TAA	0.34	0.84
NSR, mmol × h ⁻¹ × kg BW ⁻¹							
O ₂	31	10	86	4	- 1.48 ± 0.34 ^{***} + 1.60 ± 0.09 ^{***} × NPA-O ₂	0.40	0.95

NHF : flux net hepatique, NSR : émission nette splanchnique release, NPA : apparition nette portale, C3 : propionate, Glc : Glucose, Lt : lactate, BHB : betahydroxybutyrate, C2 : Acetate, C4 : Butyrate, TAA : acides aminés totaux, N-NH₃ : azote amoniacal, N-Ur : azote de l'Urée, RMSE : residual mean square error, prec : précurseurs du glucose.

Les équations charpentes « contraignent » et calibrent le modèle, c'est à dire qu'elles imposent à FLiver des points simulés (valeurs simulées par les équations pour un temps donné). Les points simulés devront se rapprocher au plus près de ces observations, dites réelles. Les nouvelles données (points simulés) ont été obtenues pour des temps allant de 1 à 16000 secondes. Pour choisir quels points simulés par le modèle prendre en compte il faut se référer aux travaux de Loncke *et al.* (2009) et Bahloul (2014).

Les nutriments ont été divisés en trois groupes en fonction de leur nombre de carbones (C) ou d'azotes (N) :

-Groupe 1 à 2C : C2, C4, BHB, AG à chaîne longues (LCFA)

- Groupe 2 à 3C : C3, Lt, nutriments glycogéniques

- Groupe 3 avec N : TAA, NH₃, Ur

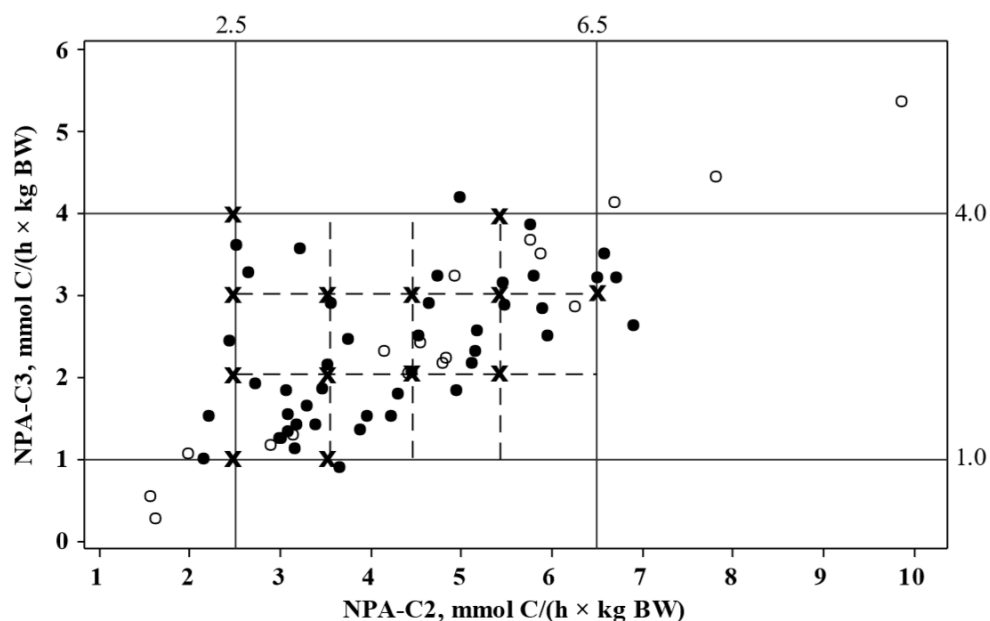
A l'aide de l'analyse de données déjà existantes (« flux en bilan énergétique positif », 36 publications), les différents niveaux de variations des flux d'entrée des nutriments ont été définis. Pour exemple voici les différents niveaux pour le groupe 1 et le groupe 2 :

- Apparition nette portale de C2 (valable aussi pour tous les nutriments du groupe 1) : 2,5 ; 3,5 ; 4,5 ; 5,5 ; 6,5 mmolC / (h x kg BW)

- Apparition nette portale de C3 (valable aussi pour tous les nutriments du groupe 2) : 1, 2, 3, 4 mmol C / (h x kg BW)

Ces niveaux sont représentés sur la figure 10 par des lignes pleines ou en pointillées déterminant un quadrillage. Les points des données simulées qui sont à l'intérieur de ce quadrillage sont ceux utilisés par FLiver.

Figure 10 : Déterminations des points simulés à utiliser dans FLiver



NPA-C3 : Apparition nette en veine porte de propionate, NPA-C2 : apparition nette en veine porte d'acétate, BW : poids vif.

FLiver a été calibré avec les équations empiriques obtenues par Loncke (2009) et Loncke *et al.* (2009) décrites dans le tableau 2. Entre temps, 4 de ces équations ont subi quelques modifications (Loncke et al., 2015 et 2018) dans le but de les améliorer. Le tableau 3 montre les 4 nouvelles équations qui ont été implantées dans le modèle. Ce travail de master (Chartoire, 2018) montre que les modifications des équations n'ont que peu d'impact sur la structure du modèle (exceptées pour le lactate). Cette partie bibliographique se base sur la description de la construction du modèle FLiver et la comparaison de ce modèle avec celui de Freetly.

Tableau 2 : Nouvelles équations charpentes dans FLiver (Loncke et al., 2015, Loncke et al., 2019b)

	Anciennes équations charpentes	Nouvelles équations charpentes
NSR-C2	$0.34 \pm 0.31 + 1.02 \pm 0.07 * \text{NPA-C2}$	$0.977 \pm 0.175 + 1.033 \pm 0.077 * \text{NPA-C2}$
NHF-C3	$0.01 \pm 0.07 - 0.91 \pm 0.03 * \text{NPA-C3}$	$0.0032 \pm 0.022 - 0.910 \pm 0.028 * \text{NPA-C3}$
NHF-Glc	$-0.71 \pm 0.72 + 0.81 \pm 0.11 * \text{NPA-Prec}$	$-0.708 \pm 0.727 + 0.809 \pm 0.112 * \text{NPA-Prec}$
NHF-Lt	$-0.45 \pm 0.13 - 0.47 \pm 0.12 * \text{NPA-Lt}$	$-0.2195 \pm 0.0621 + 0.218 \pm 0.080 * \text{NPA-C3} - 1.029 \pm 0.096 * \text{NPA-L-Lactate}$

NSR : flux net d'émission splanchnique, NHF : flux nets hépatiques, C2 : acétate, C3 : propionate, Glc : glucose, Lt : lactate

La valeur d'un compartiment décrit la quantité qui y est contenue. Cette quantité est calculée par une équation différentielle qui indique le taux de changement de cette valeur, en fonction des flux d'entrée et de sortie du compartiment.

2.4 Flux

FLiver contient 11 inputs : Le NH₃, l'Urée, les TAA, le C3, le Lt, les LCFA, le C2, le CO₂, le C4 et le BHB. Ces nutriments sont considérés comme traversant le foie avec un flux de sortie net pour chaque nutriment entrant excepté pour le flux de LCFA et le flux de BHB qui se divise en 2 flux distincts ; le BHB et l'AcAc. Les inputs sont caractérisés par l'apparition nette portale (NPA) en nutriments issue des données disponibles dans la base de données FLORA. Les outputs du modèle exceptés LCFA sont définis par l'évacuation nette splanchnique de nutriment et sont déterminés pour chaque combinaison de nutriments grâce aux équations empiriques associées aux NPA. Chaque flux de nutriment est calibré par une équation empirique. Concernant les AG libres (LCFA), dû à un manque de données, on considère la concentration absorbée par le foie au lieu du NPA. Les AG libres sont donc représentés par une fonction de BW¹ et ne sont pas calibrés par une équation empirique.

Les équations représentant les réactions métaboliques dans le modèle de FLiver sont de type loi d'action de masse. Ce sont des équations simples associant un paramètre avec une concentration en nutriment :

$$L_{\text{nutrient-1}} - L_{\text{nutrient-2}} = K_{\text{nutrient-1, nutrient-2}} * [\text{nutrient1}]$$

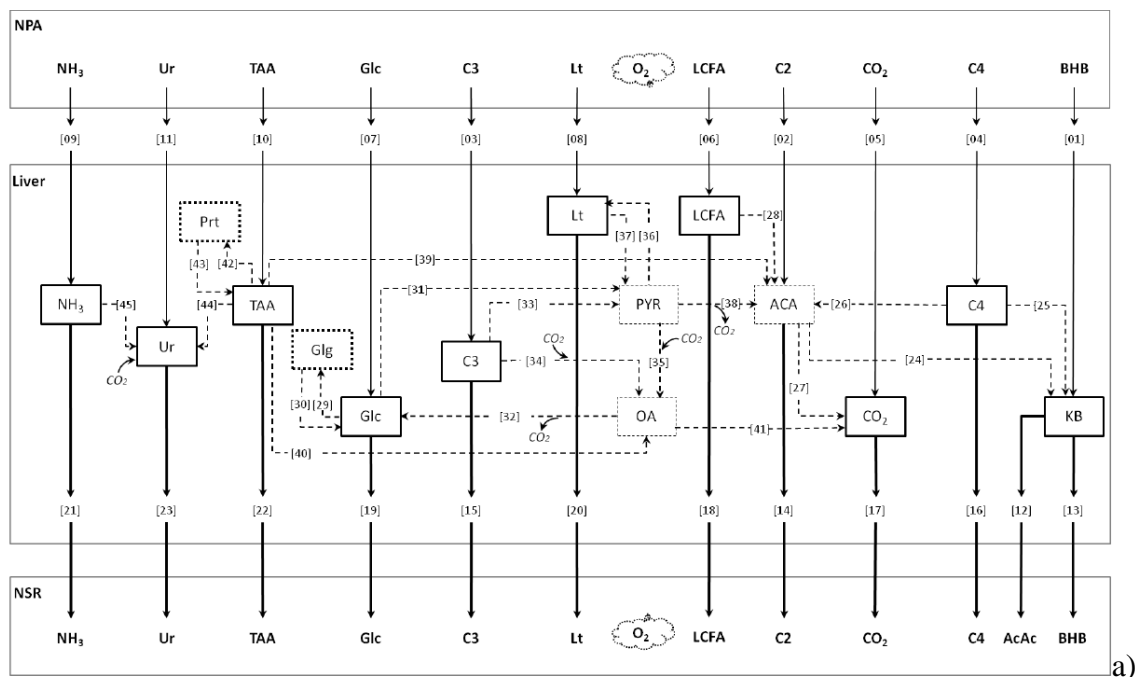
Où $L_{\text{nutrient-1}} - L_{\text{nutrient-2}}$ représente le flux allant du compartiment 1 au compartiment 2 (en mmol C \times h⁻¹ \times kg BW⁻¹ sauf pour le compartiment NH₃ et O₂ qui seront exprimé en mmol N \times h⁻¹ \times kg BW⁻¹ et mmol \times h⁻¹ \times kg BW⁻¹), $K_{\text{nutrient-1, nutrient-2}}$ le coefficient de conversion du nutriment

1 en nutriment 2 (h^{-1}), et [nutriment1] représente le pool de nutriment 1 du compartiment 1 (en $mmol\ C\ or\ N \times kg\ BW^{-1}$)

Les paramètres du modèle (en h^{-1}) sont obtenus par optimisation grâce à la méthode du Simplex. Le processus d'optimisation se déroule sur des périodes de temps théoriques de 200h afin de permettre au modèle d'atteindre l'état d'équilibre pour chaque combinaison de NPA. Les équations empiriques de chaque nutriment sont utilisées pour calibrer les paramètres.

2.5 Description du métabolisme

Figure 11 : a) Diagramme de Forester de « FLiver » représentant les flux nets des principaux nutriments à travers le foie chez le ruminant en bilan énergétique positif et b) tableau descriptif des flux dans FLiver



Numéro de flux	Dénomination	Equation associée
1	$NPA_{BHB-L_{KB}}$	
2	$NPA_{C2-L_{ACA}}$	
3	$NPA_{C3-L_{C3}}$	
4	$NPA_{C4-L_{C4}}$	
5	$NPA_{CO2-L_{CO2}}$	
6	$NPA_{LCFA-L_{LCFA}}$	
7	$NPA_{Glc-L_{Glc}}$	
8	$NPA_{Lt-L_{Lt}}$	
9	$NPA_{NH3-L_{NH3}}$	
10	$NPA_{TAA-L_{TAA}}$	
11	$NPA_{Ur-L_{Ur}}$	
12	$L_{KB-NSR_{AcAc}}$	$K_{AcAc} \times [KB]$

13	$L_{KB-NSR_{BHB}}$	$K_{BHB} \times [KB]$
14	$L_{ACA-NSR_{C2}}$	$K_{C2} \times [ACA]$
15	$L_{C3-NSR_{C3}}$	$K_{C3} \times [C3]$
16	$L_{C4-NSR_{C4}}$	$K_{C4} \times [C4]$
17	$L_{CO2-NSR_{CO2}}$	$K_{CO2} \times [CO_2]$
18	$L_{LCFA-NSR_{LCFA}}$	$K_{LCFA} \times [LCFA]$
19	$L_{Glc-NSR_{Glc}}$	$K_{Glc} \times [Glc]$
20	$L_{Lt-NSR_{Lt}}$	$K_{Lt} \times [Lt]$
21	$L_{NH3-NSR_{NH3}}$	$K_{NH3} \times [NH_3]$
22	$L_{TAA-NSR_{TAA}}$	$K_{TAA} \times [TAA]$
23	$L_{Ur-NSR_{Ur}}$	$K_{Ur} \times [Ur]$
24	$L_{ACA-L_{KB}}$	$K_{ACA-KB} * (1 / (1 + (L_{OA-L_{CO2}} / K_{ACA}))) * [ACA]$
25	$L_{C4-L_{KB}}$	$K_{C4-KB} * [C4]$
26	$L_{C4-L_{ACA}}$	$K_{C4-ACA} * [C4]$
27	$L_{ACA-L_{CO2}}$	$K_{ACA-CO2} * [ACA]$
28	$L_{LCFA-L_{ACA}}$	$K_{LCFA-ACA} * [LCFA]$
29	$L_{Glc-L_{Glg}}$	$K_{Glc-Glg} * [Glc]$
30	$L_{Glg-L_{Glc}}$	$K_{Glg-Glc} * [Glg]$
31	$L_{Glc-L_{PYR}}$	$K_{Glc-PYR} * [Glc]$
32	$L_{OA-L_{Glc}}$	$K_{OA-Glc} * [OA]$
33	$L_{C3-L_{PYR}}$	$K_{C3-PYR} * [C3]$
34	$L_{C3-L_{OA}}$	$K_{C3-OA} * [C3]$
35	$L_{PYR-L_{OA}}$	$K_{PYR-OA} * [PYR]$
36	$L_{PYR-L_{Lt}}$	$K_{PYR-Lt} * [PYR]$
37	$L_{Lt-L_{PYR}}$	$K_{Lt-PYR} * [Lt]$
38	$L_{PYR-L_{ACA}}$	$K_{PYR-ACA} * [PYR]$
39	$L_{TAA-L_{ACA}}$	$K_{déamination} * (1 - K_{partition}) * [TAA]$
40	$L_{TAA-L_{OA}}$	$K_{déamination} * K_{partition} * [TAA]$
41	$L_{OA-L_{CO2}}$	$K_{OA-CO2} \times [OA]$
42	$L_{TAA-L_{Prt}}$	$K_{TAA-Prt} * [TAA]$
43	$L_{Prt-L_{TAA}}$	$K_{Prt-TAA} * [TAA]$
44	$L_{TAA-L_{Ur}}$	$([L_{TAA-L_{ACA}}] + [L_{TAA-L_{OA}}]) / 4 / 1.396$
45	$L_{NH3-L_{Ur}}$	$K_{NH3-Ur} * [NH_3]$

NHF : flux net hepatic, NSR : émission nette splanchnique, NPA : apparition nette portale, C3 : propionate, Glc : Glucose, Lt : lactate, BHB : betahydroxybutyrate, C2 : Acetate, C4 : Butyrate, TAA : acides aminés totaux, N-NH3 : azote amoniacal, N-Ur : azote de l'urée, RMSE : residual mean square error, prec: précurseurs du glucose, [A] : concentration de A, K : paramètres associés aux flux.

2.6 Métabolisme glucidique

Dans le modèle de FLiver, le propionate est métabolisé en OA (le flux 34 ; Figure 11) représente toutes les étapes de métabolisation de ce propionate), pour ensuite participer à la néoglucogenèse via ce compartiment OA (flux 32 ; Figure 11).

Le lactate est considéré comme un input et output. Le pool de ce nutriment est représenté par un compartiment reliant le compartiment pyruvate par deux flux inverses. (Équation 12 et 13 ; Figure 11; flux 37 et 36 ; Figure 11)

En revanche, FLiver ne considère pas le glycérol comme un input du modèle. Le glycogène est représenté comme un compartiment de stockage permettant d'équilibrer le nombre de carbone au sein du modèle. Ce choix a été fait dans un but de simplification du modèle car le rôle du glycérol dans la néoglucogenèse est considéré comme négligeable (Brockman, 1993).

2.7 Métabolisme lipidique

Fliver prend en compte les AG à longues chaînes comme entrées et sorties du modèle (flux 6 et 18 ; Figure 11) mais ceci ne sont pas définis par des flux nets avec une NPA et un NSR. Ces AG sont ensuite transformés en ACA puis en C2 (flux 14 ; figure 11) ou redirigés vers la synthèse de corps cétoniques (flux 24 ; Figure 11).

Dans le modèle de Fliver le C2 est directement transformé en ACA (agrégation du pool mitochondriale et cytoplasmique pour simplification) pour ensuite être transformé en Corps cétonique (flux 2 et 24 ; figure 11) ;

Le butyrate est un nutriment important métaboliquement dans Fliver et il sera transformé en grande majorité directement en Corps cétoniques (flux 25 ; Figure 11). Il peut aussi se transformer en ACA (flux 26 ; Figure 11) participant ainsi, dans une mesure bien moindre, à la synthèse des corps cétoniques via l'ACA (flux 24 ; Figure 11), à la formation d'acétate (flux 14 ; Figure 11) ou à l'oxydation complète des nutriments par le cycle de Krebs (flux 27 ; Figure 11). De plus le bêta-hydroxybutyrate est aussi représenté comme flux d'entrée dans le modèle puis en flux de sortie majoritaire car c'est le premier corps cétonique crée par le foie. Son flux net est bien défini dans le modèle (flux 13 ; Figure 11) et s'il y a un excès de β -OH on aura alors un flux de AcAc pour prendre la relève (flux 12 ; Figure 11).

2.8 Métabolisme azoté

Fliver ne prend pas en compte le métabolisme des AA individuels. Après déamination l'azote α -aminée (α -amino-N) est orienté vers l'uréogénèse (flux 44 ; Figure 11) et le carbone de la déamination est orienté vers le cycle de Krebs via l'ACA (flux 39 ; Figure 11) ou via

l'OA (flux 40 ; Figure 11). Les carbones issus de TAA et participant aux cycle de Krebs via OA peuvent être orientés pour prendre part à la néoglucogénèse. Une contrainte stœchiométrique a été ajoutée au flux 44 (Figure 11) afin d'établir un nombre d'azote cohérent participant à l'uréogénèse. L'équation du flux 44 est donc de la forme $L_{TAA-L_{Ur}} = ([flux\ 39] + [flux\ 40])/4/1,396$. Ce flux est donc dépendant du flux 39 et 40 (Figure 11) qui, pour rappel, représente le C de la déamination des TAA participant au cycle de Krebs via ACA et OA. Une contrainte a été introduite concernant ces flux. En effet, des paramètres de partition ont été instaurés. $K_{partition}$ représente la proportion de Carbone orienté vers le cycle de Krebs via OA et $(1-K_{partition})$ décrit la proportion de carbone orienté vers le cycle de Krebs via ACA. $K_{déamination}$ est le coefficient de déamination des TAA en α -amino-N. De plus, un compartiment de stockage a été introduit dans le but d'équilibrer le modèle en carbone et azote. Le flux 42 représente la synthèse des protéines à partir de TAA et le flux 43 la protéolyse de ces protéines (Figure 11). L'Uréogénèse est représentée par le flux 45 (Figure 11).

3) Modèle de Freetly et al (1993) :

3.1 Introduction

Le modèle développé par Freetly *et al.* en 1993 est un modèle foie mécaniste, déterministe et dynamique qui simule le devenir des nutriments au sein du foie chez la vache laitière. C'est un modèle à compartiment qui permet de décrire le métabolisme hépatique et prédit l'utilisation en nutriments. Il a été développé selon une approche bottom-up.

Il exploite les données d'environ 40 publications traitées sur une base de bibliographie classique (sans modèle de quantification associé) afin d'estimer les concentrations en nutriments et enzymes. Ces données sont obtenues soit *in vivo*, soit *in vitro* sur cellules hépatiques isolées. Ainsi les auteurs observent parfois des contradictions entre les différentes publications mais aucune explication a cela n'a été trouvé.

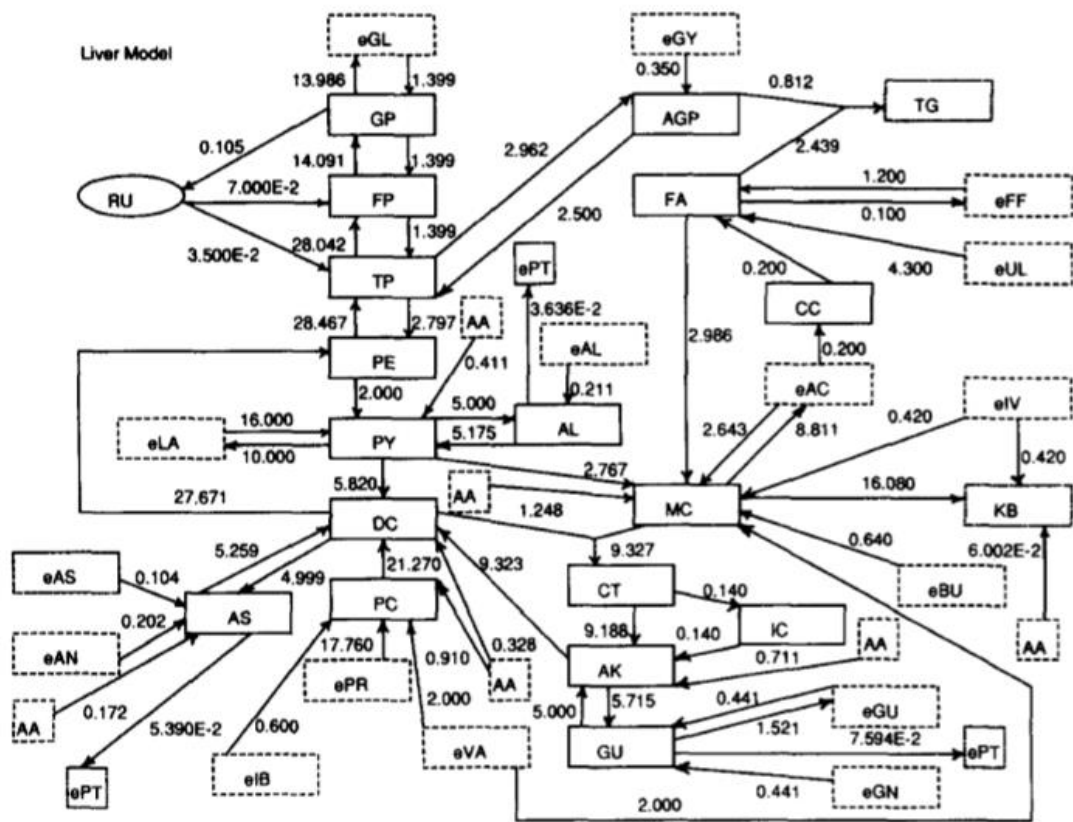
3.2 Compartiments :

Les compartiments représentent des variables d'état qui sont décrits par des équations différentielles. Ces variables d'état varient quantitativement en fonction des flux entrants et sortants de ces compartiments. Les pools des compartiments sont en mol/ L et sous la forme :

$$d(\text{pool}) / d(t) = \text{entrées} - \text{sorties}$$

où les entrées sont des métabolites et effecteurs permettant de déterminer la valeur des flux et les sorties sont les métabolites formés. Le temps est représenté par t, et est exprimé en jours.

Figure 12 : a) Schéma descriptif du modèle de Freetly et al. (1993) b) abrégations des métabolites, c) abrégations des Coenzymes d) abrégations des substrats extracellulaires



a)

Symbole	Description
Métabolites	
AGP	α -glycérol phosphate
AK	α -cétoglutarate
AL	Alanine
AS	Aspartate
CC	Acétyl-CoA cytoplasmique
CT	Citrate
DC	Oxaloacétate + malate
FA	Acides gras libres
FP	Fructose-6-phosphate
GP	Glucose-6-Phosphate
GU	Glutamate
IC	Isocitrate
MC	Acétyl-CoA mitochondriale
nC	Dioxyde de carbone
PC	Propionyl-CoA
PE	Phosphoénolpyruvate
PY	Pyruvate
TP	Glyceraldehyde-3-Phosphate + Dihydroxyacétone phosphate
Co-enzymes	
AD	ADP
AT	ATP
Cs	CoASH
FD	FAD
FDH	FADH
ND	NAD
NDH	NADH
NP	NADP
NPH	NADPH

b)

Symbole	Description
eAC	Acétate
eAL	Alanine
eAS	Aspartate
eBNH 3	Ammoniaque
eBU	Butyrate
eFF	Acides gras libre
eGL	Glucose
eGN	Glutamine
eGU	Glutamate
eGY	Glycérol
eIB	Isobutyrate
eIV	Isovalérate
eLA	Lactate
ePR	Propionate
eUL	Lipides (indéfinie)
eVA	Valérate + 2-Méthylbutyrate

c)

Les inputs et outputs du modèle sont décrits par des carrés en pointillés (Figure 12). Les inputs du modèle sont : le glucose (eGL), le glycérol (eGY), le lactate (eLA), les AA (comprenant l'alanine (eAL), l'asparagine (eAS), le glutamate (eGU)), le CO₂, les AGL (eFF) et les AGV majeurs (l'acétate (eAC), le butyrate (eBU), le propionate (ePR)) et mineurs (isovalérate (eIB), valérate et 2-méthylbutyrate (eVA)) ainsi que l'iso-butyrate et le 2-méthylbutyrate et une source de protéines exogènes indéterminée.

Les outputs du modèle sont l'acétate, les corps cétoniques (KB), le lactate, le glucose, le Glycérol, le CO₂, les AGL, les Triglycérides (TG), ou protéines.

Ce modèle dépeint plusieurs voies de métabolisation tel que la néoglucogénèse, le cycle de Krebs, le métabolisme lipidique avec la cétogénèse et le métabolisme azoté.

Les coenzymes sont utilisées dans Freetly *et al.* (1993) afin de participer aux différentes réactions métaboliques. Ces coenzymes sont le NADH, le NAD⁺, le NADP, le NADPH, le FADH, le FAD⁺, l'ADP et l'ATP. La taille des pools caractérisant ces Coenzymes sont très petits avec un fort turnover. Le NADP est un produit de la synthèse des AG utilisées comme catalyseur dans certaines réactions de la néoglucogénèse et de la transformation de l'isocitrate (IC) en α -cétoglutarate (AK). A l'inverse, NADPH est un coenzyme nécessaire à la synthèse des AG. L'oxydation de NADH en NAD⁺ forme de l'ATP qui est requis pour le déroulement de nombreuses réactions métaboliques tel que les réactions de phosphorylation, de carboxylation ou mettant en jeu des thiokinases.

La Coenzyme CoASH (Cs) cytoplasmique et mitochondriale est agrégée en un seul pool. Elle intervient dans de nombreuses réactions métaboliques et permet 'l'activation' de multiples métabolites tel que le propionyl CoA ou l'acétyl CoA.

2.3 Traceurs

Le modèle de Freetly *et al.* (1993) inclut aussi une étude du devenir des carbones de chaque nutriment. Il permet ainsi de prédire l'évolution d'éléments chimiques associés à des traceurs. Le traceur utilisé ici est le carbone 14 (^{14}C). En effet, un traceur est associé à chaque carbone et une équation différentielle est dédiée à chacun de ces carbones. Les entrées et sorties des radiotraceurs sont fonction de l'activité spécifique du pool précurseurs multiplié par le flux correspondant.

Ce processus permet de suivre le devenir de chaque carbone au sein des réactions métaboliques et permet donc d'obtenir une vision accrue du véritable devenir des substrats. Des données plus justes concernant le devenir métabolique des nutriments sont donc acquises. L'utilisation de ce traceur permet aussi de connaître précisément l'équilibre en carbone au sein du foie.

3.4 Flux

Tableau 3 : Type d'équations utilisées pour décrire les flux de réactions métaboliques dans Freetly *et al.* (1993).

Flux	Equations associées
(1)	$U_{A,B} = K_{A,B} \times S_1$
(2)	$U_{A,B} = K_{A,B} \times S_1 \times (S_2/C)$
(3)	$U_{A,B} = K_{A,B} \times S_1 \times (C/S_2)$
(4)	$U_{A,B} = K_{A,B} \times S_1 \times (S_2/C)^e$
(5)	$U_{A,B} = K_{A,B} \times S_1 \times A^e$
(6)	$U_{A,B} = V_{A,B} / (1 + k_1 / [S_1])$
(7)	$U_{A,B} = V_{A,B} / (1 + k_1 / [S_1] + k_2 / [S_2])$
(8)	$U_{A,B} = V_{A,B} / (1 + k_1 / [S_1] + k_2 / [S_2] + k_3 / [S_3])$
(9)	$U_{A,B} = V_{A,B} / (1 + k_1 / [S_1] + k_2 / [S_2] + k_3 / [S_3] + k_4 / [S_4])$
(10)	$U_{A,B} = V_{A,B} / (1 + k_1 / [S_1] + k_2 / [S_2] + (k_3 / [S_3])^e)$
(11)	$U_{A,B} = V_{A,B} / (1 + k_1 \times A^e / [S_1])$
(12)	$U_{A,B} = V_{A,B} / (1 + k_1 \times A^e / [S_1] + k_2 / [S_2])$
(13)	$U_{A,B} = V_{A,B} \times A^e / (1 + k_1 / [S_1])$
(14)	$U_{A,B} = V_{A,B} \times (S_1 / k_1)^e / (1 + k_2 / [S_2] + k_3 / [S_3])$
(15)	$U_{A,B} = V_{A,B} / (1 + k_1 / [S_1] \times [S_2] / j_2)$
(16)	$U_{A,B} = V_{A,B} / (1 + k_1 / [S_1] + (k_2 / [S_2])^e + [S_3] / j_3)$
(17)	$U_{A,B} = V_{A,B} / (1 + k_1 / [S_1] + k_2 / [S_2] + k_3 / [S_3] + [S_4] / j_4 + [S_5] / j_5)$

Dans le modèle de Freetly *et al.* (1993), les flux de nutriments suivent des lois d'actions de masse (équations 1 à 5 ; Tableau 3) ou sont décrits par une cinétique de saturation (équations 6 à 17 ; Tableau 3) le plus souvent de type Michaelis-Menten. Les équations 10 à 16 (Tableau

3) sont de type sigmoïde. $U_{A,B}$ représente le flux de conversion du métabolite A en B. Concernant les lois d'actions de masse $K_{A,B}$ (j^{-1}) représente la constante de vitesse fractionnaire et C ((mol /L)) la concentration initiale du deuxième substrat (S2). Ces lois d'actions de masse peuvent être utilisées pour décrire des fonctions hyperboliques lorsque les concentrations des substrats (A) sont faibles. Pour les autres équations représentatives de cinétique de saturation les paramètres utilisés sont ; $V_{A,B}$ (mol /j) qui décrit les capacités métaboliques maximum du flux concerné, K_n (mol /L) qui est la constante d'affinité pour le substrat S_n et j_n qui est la constante représentant les inhibiteurs compétitifs. Lorsque les données in vivo n'étaient pas disponibles pour décrire les constantes d'affinité (S_n) et d'inhibition (j_n), celle-ci ont été considérées comme égales à la concentration à l'équilibre de chaque métabolite. Les paramètres $V_{A,B}$ ont été calculés grâce aux concentrations à l'équilibre des flux ainsi qu'aux constantes d'affinités. Lorsqu'une réaction n'est décrite que par une seule enzyme, l'équation de ce flux sera alors représentative du comportement de cette enzyme. Dans le cas où plusieurs enzymes sont combinées et représentées en un seul flux, l'équation décrivant cette réaction représente le comportement de l'enzyme limitante. De plus il existe une équation pour décrire l'oxydation du NADH en NAD^+ et une pour l'oxydation du FADH. Le produit de ces deux réactions étant l'ATP. Ces équations sont résolues grâce à la méthode de Runge-Kutta d'ordre 4.

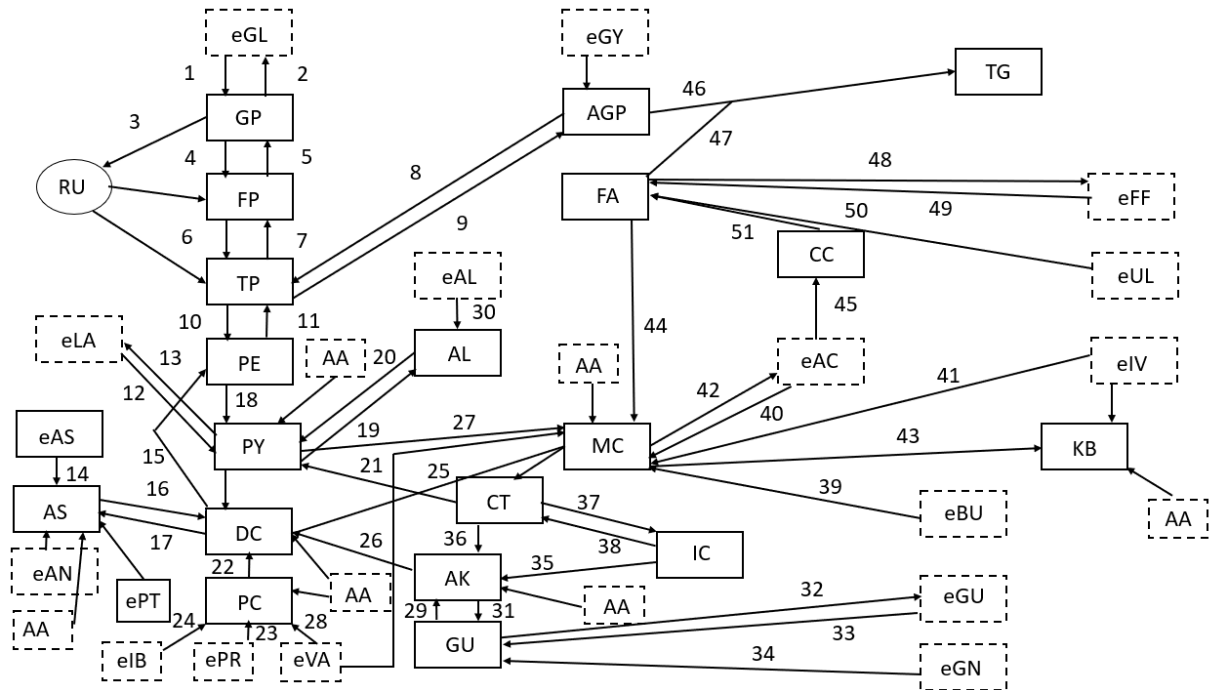
Afin de déterminer la valeur des différents paramètres Freetly *et al.*, (1993) a fixé les valeurs des flux et des compartiments afin d'ajuster la valeur des paramètres à ces derniers. En association à cela, la valeur des paramètres a aussi été fixée grâce aux données issues de la bibliographie. Ce modèle est sur-paramétré (156 paramètres) engendrant ainsi une augmentation de l'erreur de prédiction et donc une diminution de la justesse des prédictions (Sholler, 2018).

3.5 Description du métabolisme :

La Figure 13 rapporte la description du métabolisme dans le modèle de Freetly *et al.* (1993).

Figure 13 : a) Schéma descriptif du modèle de Freetly et al (1993) et b) équations associées aux flux de ce modèle

a)



b)

Numéro de l'équation	équations
1	$U_{eGL_GP} = V_{eGL_GP} / (1 + (K_{eGL} / [eGL]))$
2	$U_{GP_eGL} = K_{GP_eGL} / [GP]$
3	$U_{GP_RU} = K_{GP_RU} * [GP] * ([RU] / C)^e$
4	$U_{GP_FP} = K_{GP_FP} * [GP]$
5	$U_{FP_GP} = K_{FP_GP} * [FP]$
6	$U_{FP_TP} = V_{FP_TP} / (1 + (K_{FP} * A^e / [FP]) + (K_{AD} / [AD]))$
7	$U_{TP_FP} = V_{TP_FP} / (1 + K_{TP} * A^e / [TP])$
8	$U_{AGP_TP} = K_{AGP_TP} * [AGP] * ([NDH] / C)$
9	$U_{TP_AGP} = K_{TP_AGP} * [TP] * ([NDH] / C)$
10	$U_{TP_PE} = V_{TP_PE} / (1 + (K_{TP} / [TP]) + (K_{AD} / [AD]) + (K_{ND} / [ND]))$
11	$U_{PE_TP} = V_{PE_TP} / (1 + (K_{PE} / [PE]) + (K_{NDH} / [NDH]) + (K_{AT} / [AT]))$
12	$U_{eLA_PY} = V_{eLA_PY} / (1 + (K_{eLA} / [eLA]) + (K_{ND} / [ND]))$
13	$U_{PY_eLA} = V_{PY_eLA} / (1 + (K_{PY} / [PY]) + (K_{NDH} / [NDH]))$
14	$U_{eAS_AS} = V_{eAS_AS} / (1 + (K_{AS} / [AS]) * ([eAS] / j_{eAS}))$
15	$U_{DC_PE} = K_{DC_PE} * [DC] * A^e$
16	$U_{AS_DC} = K_{AS_DC} * [AS] * ([ND] / C)$
17	$U_{DC_AS} = K_{DC_AS} * [DC] * ([NDH] / C)$
18	$U_{PE_PY} = V_{PE_PY} / (1 + K_{PE} * A^e / [PE]) + (K_{AD} / [AD]))$
19	$U_{PY_AL} = K_{PY_AL} * [PY] * ([ND] / C)$
20	$U_{AL_PY} = K_{AL_PY} * [AL] * ([NDH] / C)$

21	$U_{CT_PY} = K_{CT_PY} * [CT] * (C/[NDH])$
22	$U_{PC_DC} = K_{PC_DC} * [PC] * ([AT]/C)$
23	$U_{ePR_PC} = V_{ePR_PC} / (1 + (K_{ePR}/[ePR]) + (K_{Cs}/[Cs]) + (K_{AT}/[AT]))$
24	$U_{eIB_PC} = V_{eIB_PC} / (1 + (K_{eIB}/[eIB]) + (K_{Cs}/[Cs]) + (K_{AT}/[AT]))$
25	$U_{DC_CT} = V_{DC_CT} / (1 + (K_{DC}/[DC]) + ([CT]/j_{CT}))$
26	$U_{AK_DC} = V_{AK_DC} / (1 + (K_{AK}/[AK]) + (K_{ND}/[ND]) + (K_{Cs}/[Cs]))$
27	$U_{PY_MC} = V_{PY_MC} / (1 + (K_{PY}/[PY]) + (K_{Cs}/[Cs]) + (K_{ND}/[ND]) + ([MC]/j_{MC}) + ([NDH]/j_{NDH}))$
28	$U_{eVA_PC} = V_{eVA_PC} / (1 + (K_{eVA}/[eVA]) + (K_{Cs}/[Cs]) + (K_{AT}/[AT]))$
29	$U_{GU_AK} = K_{GU_AK} * [GU] * ([ND]/C)$
30	$U_{eAL_AL} = V_{eAL_AL} / (1 + (K_{AL}/[AL]) * ([eAL]/j_{eAL}))$
31	$U_{AK_GU} = K_{AK_GU} * [AK] * ([ND]/C)$
32	$U_{GU_eGU} = V_{GU_eGU} / (1 + K_{GU}/[GU])$
33	$U_{eGU_GU} = V_{eGU_GU} / (1 + K_{eGU}/[eGU])$
34	$U_{eGN_GU} = V_{eGN_GU} / (1 + K_{eGN}/[eGN])$
35	$U_{IC_AK} = K_{IC_AK} * [IC] * ([NP]/C)$
36	$U_{CT_AK} = V_{CT_AK} / (1 + (K_{CT}/[CT]) + (K_{AD}/[AD])^e * ([NDH]/j_{NDH}))$
37	$U_{CT_IC} = K_{CT_IC} * [CT]$
38	$U_{IC_CT} = K_{IC_CT} * [IC]$
39	$U_{eBU_MC} = V_{eBU_MC} / (1 + (K_{eBU}/[eBU]) + (K_{Cs}/[Cs]) + (K_{AT}/[AT]) + (K_{ND}/[ND]))$
40	$U_{eAC_MC} = V_{eAC_MC} / (1 + (K_{eAC}/[eAC]) + (K_{Cs}/[Cs]) + (K_{AT}/[AT])^e)$
41	$U_{eIV_MC} = V_{eIV_MC} / (1 + (K_{eIV}/[eIV]) + (K_{Cs}/[Cs]) + (K_{AT}/[AT]) + (K_{ND}/[ND]))$
42	$U_{MC_eAC} = K_{MC_eAC} * [MC]$
43	$U_{MC_KB} = K_{MC_KB} * [MC] * ([NDH]/C)$
44	$U_{FA_MC} = V_{FA_MC} / (1 + (K_{FA}/[FA]) + (K_{Cs}/[Cs]) + (K_{AT}/[AT]) + (K_{ND}/[ND]))$
45	$U_{eAC_CC} = V_{eAC_CC} / (1 + (K_{eAC}/[eAC]) + (K_{Cs}/[Cs]) + (K_{AT}/[AT])^e)$
46	$U_{eGY_AGP} = V_{eGY_AGP} / (1 + (K_{eGY}/[eGY]) + (K_{AT}/[AT]))$
47	$U_{FA_TG} = K_{FA_TG} * [FA]$
48	$U_{FA_eFF} = K_{FA_eFF} * [FA]$
49	$U_{eFF_FA} = V_{eFF_FA} / (1 + (K_{eFF}/[eFF]) + (K_{AT}/[AT]) + (K_{Cs}/[Cs]))$
50	$U_{eUL_FA} = V_{eUL_FA} / (1 + (K_{eUL}/[eUL]) + (K_{AT}/[AT]) + (K_{Cs}/[Cs]))$
51	$U_{CC_FA} = V_{CC_FA} * A^e / (1 + (K_{CC}/[CC]))$

eGY ; Glycérol, AGP ; αglycérolphosphate, TG ; Triacylglycérines ; eFF ; Entrée d'AG libres, eUL ; Lipides indéfinis, FA ; AG libres, CC ; Acétyl-CoA cytoplasmique, eAC ; Acétate, MC ; acétyl-CoA mitochondrial, eGL ; Glucose, GP ; Glucose-6-Phosphate, FP ; Fructose-6-phosphate, TP ; glycéraldéhyde-3-phosphate + dihydroacétate, PE ; Phosphoénolpyruvate, DC ; Oxaloacétate + malate, PY ; pyruvate, eLA ; lactate, PC ; Propionyl-CoA, ePR ; propionate, eIV ; Isovalérate, eBU ; Butyrate, eIB ; Isobutyrate, eVA ; Valérate + 2-méthylbutyrate, U_A_B ; flux de conversion du compartiment A au compartiment B, Ka_b et Va_b : paramètres du modèle

3.5.1 Néoglucogenèse

La néoglucogenèse est très détaillée dans le modèle de Freetly *et al.* (1993) et met en jeu de nombreux intermédiaires.

Tout d'abord nous nous intéresseront aux cycles des pentoses. La réaction réversible permettant de transformer le glucose en glucose-6-phosphate est représenté par une cinétique de saturation (équation 1 ; Figure 13). La réaction U_{GP_GL} représente l'efflux de glucose. (Équation 2 ; Figure 13). La constante d'affinité de cette réaction K_{GP_eGL} est caractéristique de glucokinase. La réaction inverse représentant l'entrée de glucose dans le foie est caractérisé in vivo par l'hexokinase. Néanmoins, dans ce modèle, la constante d'affinité de la réaction $U_{eGL;GP}$ n'est pas caractérisée par l'hexokinase car la quantité de glucose entrant dans le foie est très minime chez les ruminants et les données de la littérature à ce sujet sont très clairsemées. Le glucose-6-phosphate sera ensuite transformé en Fructose-6-phosphate par une réaction réversible (équation 4 ; Figure 13). Un équilibre chimique intervient entre ces 2 réactions inverses, les flux de ces réactions (équation 4 et 5 ; Figure 13) sont donc définis ici par des lois d'action de masse simple. Le fructose-6-phosphate peut ensuite être transformée en TP (équation 6 ; Figure 13). Le compartiment TP représente les pools de glycéraldéhyde-3-phosphate et de dihydroacétate. Ces deux nutriments sont agrégés en un seul compartiment dans le modèle car ils sont en équilibre chimique et isotopique in-vivo. Le flux de transformation du fructose-6-phosphate en TP ($U_{FP;TP}$) (équation 7 ; Figure 13) est très minime comparée au flux contraire ($U_{TP;FP}$). Le TP peut ensuite être transformé en phosphoénolpyruvate (équation 10 ; Figure 13). L'équation inverse (numéro 11 ; Figure 13) représente un certain nombre de conversion intra-hépatique mettant en jeu les enzymes suivants ; le glycéraldéhyde-3-phosphatase déshydrogénase, le 3 phosphoglycérate kinase, le 2 phosphoglycérate phosphatase et l'énolase. Afin d'obtenir des résultats stables, une cinétique de saturation est utilisée pour définir ce flux.

La glycolyse est minime chez le ruminant car peu de glucose est absorbé par le foie. Cela est représenté par la valeur des flux aux steady-states. En effet, la concentration à l'équilibre des flux de la glycolyse ont des valeurs faibles de l'ordre de 1 à 3 mol/j tandis que les flux inverses représentant la néoglucogenèse présente des valeurs très élevées allant de 13,986 à 28,467 mol/j (Tableau 4).

Le ribulose-5-Phosphate est implanté dans le modèle Freetly *et al.* (1993) comme un régulateur de la néoglucogenèse. Il interagit avec les compartiments glucose-6-phosphate (équation 3 ; Figure 13), fructose-6-phosphate ($U_{RU_FP} = U_{GP_RU} * 0,667$), TP (dihydroacétate +

glycéraldéhyde-3-phosphate ; $U_{RU_TP} = U_{GP_RU} * 0,333$). C'est la voie des pentoses-phosphates. En fonction de la concentration en glucose-6-phosphate dans le modèle, le ribulose-5-Phosphate va réguler les concentrations en TP (dihydroacétate + glycéraldéhyde-3-phosphate) et en fructose-6-phosphate.

Tableau 4 : Concentrations à l'équilibre des flux de la néoglucogenèse et de la glycolyse dans Freetly et al (1993).

Glycolyse		Néoglucogenèse	
Symbole	Concentration (mole/j)	Symbole	Concentration (mole/j)
UeGL-GP	1.399	UGP-eGL	13.986
UGP-FP	1.399	UFP-GP	14.091
UFP-TP	1.399	UTP-FP	28.042
UTP-PE	2.797	UPE-TP	28.467

Freetly *et al.* (1993) admet en plus les AG mineurs ainsi que le glycérol comme précurseurs potentiel même si ceux-ci n'ont qu'un effet négligeable sur la néoglucogenèse. En effet les concentrations des flux d'entrées d'Isobutyrate (eIB ; équation 24 ; Figure 13), de valérate et de 2 méthylbutyrate (eVA ; equation 28 ; Figure 13) sont respectivement de 0,6 et de 2 mol/j. Dans ce même modèle, le propionate est transformé en propionyl CoA (équation 23 ; Figure 13) avant de participer à la néoglucogenèse via le cycle de Krebs (équation 22 et 15 ; Figure 5). Le C3 est le principal substrat de la formation de Glucose (Bruckental et al, 1980 ; Lomax et Baird, 1983). Cette participation est bien représentée dans Freetly *et al.* (1993) par les concentrations à l'équilibre des flux U_{ePR_PC} , U_{PC_DC} et U_{DC_PE} qui sont respectivement de 17,76 ; 21,27 et 27,67 mol/j (Figure 13).

Le lactate est considéré comme un input et output. Le pool de ce nutriment est représenté par un compartiment reliant le compartiment pyruvate par deux flux inverses (flux 37 et 36 ; Figure 13).

Dans Freetly *et al.* (1993) le glycérol est considéré comme un input du modèle, sa participation au métabolisme hépatique (glucidique et lipidique) reste très faible avec une concentration à l'équilibre du flux de glycérol entrant dans le foie de 0,35 mol/j.

3.5.2 Métabolisme lipidique

Le glycérol se transforme en alpha-glycérolphosphate par une réaction catalysée par le glycérol kinase (équation 46 ; Figure 13). Ce flux est défini par une cinétique de saturation.

L'alpha-glycérolphosphate participe ensuite à la néoglucogenèse en se transformant en TP (équation 8 ; Figure 13) ou au métabolisme des lipides par synthèse des triacylglycérides ($UAGP_TG = UFA_TG * 0.333$).

Dans le modèle de Freetly *et al.* (1993), il existe deux compartiments d'AG libres ; les AG libres extracellulaire (eFF) considérés comme inputs et outputs dans le modèle et les AG libres (FA) issus principalement de la synthèse de novo à partir de l'acétyl CoA cytoplasmiques (équation 51 ; Figure 13). Les AG libres de ce dernier compartiment sont soit transformés en triacylglycérides (équation 47 ; Figure 13), soit libérés dans la circulation sanguine (équation 48 ; figure 13), soit oxydés en Acétyl-CoA mitochondrial (équation 44 ; Figure 13). De plus un pool d'inputs de lipides a été ajouté dans le but d'équilibrer le modèle en AG (compartiment eUL).

Dans Freetly *et al.* (1993), l'acétate est transformé en acétyl-CoA mitochondriale participant ainsi à la formation de corps cétoniques (équation 43 ; Figure 13) ainsi qu'en acétyl-CoA cytoplasmique permettant la synthèse de novo des AG (équation 51 ; Figure 13). La concentration à l'équilibre du flux représentant cette synthèse de novo est de 0,200 mole/j ce qui exprime bien une activité faible de la lipogenèse hépatique chez les ruminants.

Freetly *et al.* (1993) considère le butyrate uniquement comme un input se déversant dans le compartiment MC (acétylCoA mitochondrial ; équation 39 ; Figure 13). Les corps cétoniques ne sont donc pas directement synthétisés à partir du butyrate.

3.5.3 Métabolisme azoté

Dans le modèle de Freetly *et al.* (1993), le métabolisme azoté est moins bien défini. Tout d'abord, il n'y avait pas de données disponibles pour paramétrer le modèle quant à la synthèse et au métabolisme des protéines. Néanmoins la description de ces réactions reste nécessaire dans un modèle du foie chez la vache laitière. Ainsi des relations et estimations ont été établies afin de définir l'export et l'import en protéines, mettant en jeu l'albumine, les globulines, le fibrinogène ainsi que la synthèse et le métabolisme des protéines par incorporation de données du métabolisme du nitrogène. Ces protéines étant dégradées en AA, les compartiments AA ont pu être définis grâce à ce travail sur les protéines. Les AA participant aux réactions métaboliques dans Freetly *et al.* (1993) sont définis par les AA issus du sang plus les AA issus de la dégradation protéique moins les AA utilisées pour la synthèse des protéines (ePT) ; c'est le flux U_{AA_CAT} (flux 1 ; Tableau 5). Les AA entrent dans le modèle via les pools de pyruvate (flux 2 ; Tableau 5), d'oxaloacétate et de malate (flux 3 ; Tableau 5), d'alpha-cétoglutarate (flux 4 ; Tableau 5), d'acétylCoA mitochondrial (flux 6 ; Tableau 5) représentant le cycle de

Krebs, via le pool de propionylCoA (flux 5 ; Tableau 5) ou via le pool de corps cétoniques (flux 7 ; Tableau 5). En plus des AA de manière générale, l’alanine, l’aspartate, le glutamate et la glutamine sont détaillés dans ce modèle. L’alanine rentre dans le modèle au niveau du pyruvate, l’aspartate au niveau du compartiment oxaloacétate + malate, la glutamine et la glutamate au niveau de l’alphacétoglutarate. Elles participent toutes à la synthèse de protéines (flux 9,10,11 ; Tableau 5). L’uréogénèse se fait par catabolisme des AA via l’ammoniaque (flux 8 ; Tableau 5) ou par métabolisme de l’Arginine (flux 19 ; Tableau 5). S_{AR_UR} représente la proportion d’arginine présente dans le taux d’AA hépatique totaux.

Tableau 5 : Equations des flux du métabolisme azoté dans Freetly et al (1993).

Numéro de flux	Dénomination	Equation associée
1	U_{AA_CAT}	$U_{AA_UP} + U_{PT_AA} - U_{AA_PT} - U_{AA_ePT}$
2	U_{AA_PY}	$(0.133 * U_{AA_CAT}) - U_{AL_CAT}$
3	U_{AA_DC}	$(0.133 * U_{AA_CAT}) - U_{AS_CAT} - U_{AN_CAT}$
4	U_{AA_AK}	$(0.133 * U_{AA_CAT}) - U_{GN_CAT} - U_{GU_CAT}$
5	U_{AA_PC}	$(0.206 * U_{AA_CAT})$
6	U_{AA_MC}	$(0.283 * U_{AA_CAT})$
7	U_{AA_KB}	$(0.012 * U_{AA_CAT})$
8	U_{AA_NH3}	$(1.2105 * U_{AA_CAT}) - U_{GU_eGU}$
9	U_{AL_ePT}	$S_{AL_PT} * U_{AA_ePT}$
10	U_{AS_ePT}	$S_{AS_PT} * U_{AA_ePT}$
11	U_{GU_ePT}	$S_{GU_PT} * U_{AA_ePT}$
12	U_{ARG_UR}	$S_{AR_UR} * U_{AA_CAT}$

SA_B représente l’activité spécifique du pool précurseur. U_{AA_UP} est le taux d’AA provenant du sang. CAT ; catabolisme, DC : oxaloacétate+malate, PY : pyruvate, AK : alphacétoglutarate, UR ; Urée, ARG ; arginine, GU ; glutamine, eGU ; 14C-glutamine ; ePT ; 14C-proteines, PT ; protéine, GN ; glutamate, MC ; acétylCoA mitochondrial, AS ; asparagine, NH3 ; ammoniaque.

4) Comparaison des modèles

Les modèles de Freetly *et al.* (1993) et FLiver (Bahloul, 2014) sont tous les deux des modèles foie, déterministe et mécaniste ayant pour but de décrire et simuler le métabolisme hépatique chez tout ou partie des ruminants. En effet, le modèle de FLiver (Bahloul, 2014) prend en compte tous les ruminants, tandis que le modèle de Freetly *et al.* (1993) se concentre sur les vaches Holstein. De plus, Freetly *et al.* (1993) est un modèle dynamique tandis que FLiver apparait comme un modèle statique. Enfin, Freetly *et al.* (1993) est un modèle construit selon une approche bottom-up tandis que FLiver (Bahloul, 2014) est construit selon une approche top-down. Cela est important car la première approche cherche à décrire une propriété tandis que le deuxième approche citée cherche à faire émerger une propriété.

Les données permettant de créer ces modèles proviennent de différentes sources : la base de données exhaustive FLORA (Fluxes of nutrients across Organs and tissues in Ruminant

Animals ; Vernet and Ortigues-Marty, 2006) a été utilisée pour le modèle de FLiver (Bahloul, 2014). Les équations charpentes qui sont établis grâce à cette base de données contribuent à la validation des flux de sortie du modèle.

Environ 40 publications ont été utilisées dans la construction du modèle de Freetly *et al.* (1993).

Enfin, ces deux modèles ont été créés grâce à 2 logiciels différents : Model Maker version 3 pour FLiver (Bahloul, 2014) et ACSL (SIMUSOLVE) pour Freetly *et al.* (1993).

Dans les deux modèles, les nutriments sont représentés par des compartiments et définis par des équations différentielles. Certains de ces nutriments sont les inputs et outputs du modèle. Un ensemble de 11 inputs a été défini dans FLiver (Bahloul, 2014) et 15 dans Freetly *et al.* (1993). Parmi eux 10 sont en communs : le glucose, le lactate, le propionate, le butyrate, l'acétate, le CO₂, les AG (uniquement à chaînes longues dans FLiver version 1), les AA totaux pour FLiver (Bahloul, 2014) et comprenant l'alanine, l'aspartate, le glutamate dans Freetly *et al.* (1993). Pour 4 des inputs restant de Freetly *et al.* (1993) il s'agit des AGV mineurs et peuvent être considérés comme négligeable. Un ensemble de 11 outputs a été défini dans FLiver (Bahloul, 2014) et 9 dans Freetly *et al.* (1993). Parmi eux 6 sont en communs ; le glucose, le lactate, le CO₂, les corps cétoniques, les AG (les AG (uniquement à chaînes longues dans FLiver version 1), et l'acétate.

Les flux de nutriments sont exprimés différemment entre les deux modèles et la représentation de ces flux diverge par leurs natures ainsi que les équations permettant de les décrire.

Les principaux nutriments représentés dans les 2 modèles sont le glucose, le glycogène, le lactate, le C₃, le butyrate, l'acétate, l'acétoacétate, l'ammoniaque, l'urée, le pyruvate, l'oxaloacétate et les corps cétoniques. FLiver (Bahloul, 2014) considère en plus de ces nutriments, le β -OH dans sa représentation du métabolisme hépatique chez les ruminants.

Freetly *et al.* (1993) apparait comme un modèle très détaillé se concentrant sur la description fine des réactions enzymatiques au sein des cellules hépatiques.

FLiver (Bahloul, 2014) a pour objectif de déterminer des flux de nutriments traversant le foie à l'échelle de l'animal. Par conséquent, il décrit le métabolisme de manière plus synthétique, en se concentrant sur les réactions qui déterminent les flux.

- **Métabolisme glucidique**

Tout d'abord, concernant le métabolisme glucidique, Freetly *et al.* (1993) définit plus d'intermédiaires pour décrire la néoglucogenèse ainsi que la glycolyse. On retrouve une

description détaillée du cycle des pentoses avec les compartiments G6P, FP, TP, PE, RU. En plus du propionate les AGV mineurs et le propionyl CoA ainsi que l' α -cétoglutarate sont aussi décrits dans Freetly. Les deux modèles considèrent le propionate, le lactate et les AA comme précurseurs de la néoglucogenèse. Freetly *et al.* (1993) admet en plus les AG mineurs ainsi que le glycérol comme précurseurs potentiel même si ceux-ci n'ont qu'un effet négligeable sur la néoglucogenèse. Dans les deux modèles, le lactate est considéré comme un input et output.

- **Cycle de Krebs**

Dans les deux modèles, les intermédiaires du cycle de Krebs : le succinyl CoA, l'oxaloacétate, le malate, ainsi que le fumarate, sont condensés en un seul compartiment. Il s'agit du compartiment OA (Oxaloacétate) pour FLiver (Bahloul, 2014) et du compartiment DC (oxaloacétate + malate) pour Freetly *et al.* (1993). Ces intermédiaires du cycle de Krebs ont pu être agrégés en un seul compartiment car les réactions entrant en jeu entre ces différents médiateurs sont considérées comme rapides et facilement équilibrées. De plus, Freetly *et al.* (1993) ne possédaient pas les données quantitatives nécessaires sur le fumarate, le succinate et le succinyl CoA pour les insérer dans le modèle. Ainsi le compartiment DC représente la somme des concentrations en Oxaloacétate et malate. Freetly *et al.* (1993) considère l'acétyl-CoA mitochondrial et cytoplasmique, contrairement à FLiver qui, dans un but de simplification agrège les 2 en un seul compartiment (ACA).

- **Métabolisme lipidique**

FLiver (Bahloul, 2014) prend en compte les AG à longues chaînes comme entrées et sorties du modèle mais ceci ne sont pas définis par des flux nets avec une NPA et un NSR. Freetly *et al.* (1993) décrit la synthèse et le catabolisme des AG et définit une entrée d'AG libre, et de lipides indéfinis ainsi qu'une sortie d'AG libres et de triacylglycérides.

Freetly *et al.* (1993) considère le butyrate uniquement comme un input se déversant dans le compartiment AcétylCoA mitochondrial. Les corps cétoniques ne sont donc pas directement synthétisés à partir du butyrate. A contrario le butyrate est un nutriment important métaboliquement dans FLiver (Bahloul, 2014) et il sera transformé en grande majorité directement en corps cétoniques. De plus le β -OH est aussi représenté comme flux d'entrée dans le modèle puis en flux de sortie majoritaire car c'est le premier corps cétonique créé par le foie. Son flux net est bien défini dans le modèle.

Le β -OH n'est pas considéré dans le modèle de Freetly *et al.* (1993). Par ailleurs, Freetly *et al.* (1993) utilise aussi un input en isovalérate qui est un AG mineur afin de représenter la synthèse des corps cétoniques.

- **Métabolisme azoté**

Les AA sont représentés de manière générale dans FLiver (Bahloul, 2014) tandis que Freetly *et al.*, (1993) admet plusieurs compartiments représentant les AA de manière générale ou plus précise avec un compartiment alanine, un aspartate, un glutamate, et un glutamine. Dans le modèle de FLiver (Bahloul, 2014) les TAA sont représentés par un seul compartiment participant aux réactions de cétogenèse, de néoglucogénèse ainsi que d'uréogénèse alors que Freetly *et al.* (1993) détaille ces AA en différents nutriments représentés par des compartiments dispersés dans le modèle. Les AA sont représentés par un compartiment alanine, une aspartate, un glutamate, une glutamine, et 5 compartiments plus généraux appelés AA.

Tableau 6 : Synthèse de la comparaison des modèles

	FLiver	Freetly
Auteurs	L. Bahloul, D. Sauvant, J. Vernet, H. Lapierre, P. Nozière and I. Ortigues-Marty	H. C. Freetly, J. R. Knapp, C. C. Calvert & R. L Baldwin
Année de publication	2014	1993
Quelques spécificités	-modèle statique -Approche top-down - Association d'un modèle empiriques à un modèle mécaniste	-modèle dynamique -Approche bottom-up -Traceurs ^{14}C
Programme informatique	ModelMaker	ACSL
Intégration Temps de simulation	Runge Kutta ordre 4 16000h	Runge Kutta ordre 4 Journée
Animaux	Ruminants	Vaches Holstein
Type de données utilisés	Base de données exhaustives FLORA	Base de bibliographie classique (40 publications)
Validation	Externe (intégrée par les équations charpentes)	Externe (incomplète)

Nombre de compartiments (variables d'états)	18	15
Inputs	11 inputs : Glucose Ammoniaque Urée AA totaux Propionate Lactate Acétate Acides gras à chaînes longues CO ₂ Butyrate β-hydroxybutyrate	15 inputs : Glucose Glycérol Lactate AA : alanine, asparagine, glutamate CO ₂ AG libres AGV majeurs : acétate, butyrate, propionate AGV mineurs : isovalérate, valérate et 2-méthylbutyrate, iso-butyrate 2_méthylbutyrate Source de protéines exogènes indéterminée.
Outputs	11 outputs : Ammoniaque Urée AA totaux Propionate Lactate Acétate Acides gras à chaînes longues CO ₂ Butyrate β-hydroxybutyrate	9 outputs : Acétate Corps cétoniques Lactate Glucose Glycérol CO ₂ AGL Triglycérides Protéines
Cinétique des flux	Type loi d'action de masse Flux de métabolisation	Type loi d'action de masse ou cinétique de saturation (Michaelienne) Réactions enzymatiques
Métabolisme lipidique	Entrée d'AG à chaînes longues	Deux compartiments d'entrée : AG libres et lipides indéfinis

	Flux de sortie de corps cétonique, d'acétate, de butyrate et d'AG à chaînes longues Cétogenèse bien décrite	Flux de sortie de corps cétoniques, et de Triacylglycérides et d'AG libres Contribution du glycérol Synthèse et catabolisme des acides gras bien décrit
Métabolisme glucidique	Flux d'entrée et de sortie des précurseurs de la néoglucogenèse : Glucose Lactate Propionate Compartiment de stockage : glycogène	Flux d'entrée des précurseurs de la néoglucogenèse : Glucose Lactate Propionate AGV mineurs Flux de sortie des précurseurs de la néoglucogenèse : Glucose Lactate Cycle des pentoses Contribution du Glycérol
Métabolisme azoté	Flux d'entrée et de sortie d'AA totaux AA totaux en un compartiment participant à la néoglucogenèse, l'Uréogenèse et à la céto-genèse Compartiment de stockage associée : compartiment protéines Uréogenèse décrite Compartiment NH3 et Urée	Flux d'entrée : Alanine, Aspartate, glutamine, glutamate Pas de flux de sortie Plusieurs petit compartiment AA (indéfinis) Compartiment Alanine, Aspartate, glutamine, glutamate Uréogenèse mal définit Pas de compartiment NH3 ou Urée

5) Conclusion :

La description minutieuse des conversions intra-hépatique et l'utilisation de traceurs ¹⁴C permettent d'avoir une vision très détaillée du métabolisme hépatique de la vache laitière dans le modèle de Freetly. Néanmoins ce modèle reste très spécifique et ne peut être utilisé pour tous les ruminants. De plus, certaines données utilisées pour créer le modèle sont incomplètes ou ne permettent pas une description toujours juste du métabolisme. Par ailleurs, ce modèle

étant sur-paramétré et les données utilisées lors de sa construction étant issues de seulement une 40^{ème} de publications, les prédictions du modèle apparaissent donc comme moins fiables que celles de FLiver.

Contrairement à Freetly, FLiver est un modèle qui se veut plus général, proposant une vision plus globale et agrégée du métabolisme hépatique. C'est un modèle d'une nouvelle génération, associant des équations empiriques à un modèle mécaniste en tirant partie des forces de chaque méthode. Du fait de l'utilisation de données complètes issues de la base de données FLORA, il permet la description des fonctions hépatiques de tous les ruminants à divers stades physiologiques ainsi qu'une validation du modèle. Il permet aussi de tester différents scénarii nutritionnels.

PARTIE RECHERCHE

IV. Evaluation du modèle FLiver

1) Introduction

L'évaluation de FLiver a été initiée à l'occasion de mon stage de master de 5^{ème} année industrie au sein de l'UMR Inra- AgroParisTech MOSAR. Les méthodes et résultats de cette première partie sont détaillés dans ce document (Chartoire, 2018). Brièvement, FLiver a été calibré avec les équations empiriques obtenues par Loncke (2009) et Loncke *et al.* (2009). Entre temps, certaines équations ont subi quelques actualisations mineures (Loncke *et al.*, 2015 et 2019b) dans le but de les améliorer. Mon stage avait donc pour but d'évaluer le comportement de FLiver développé par Bahloul (2014) à travers les objectifs fixés, à savoir, déterminer l'impact des erreurs liées aux équations charpentes, tester l'impact des modifications des équations charpentes du modèle ainsi que réaliser des analyses de sensibilité des paramètres après modification des équations charpentes. Suite à ces premières analyses, un certain nombre de questions ont été soulevées et la nécessité d'analyses complémentaires a été mise en évidence.

La première partie de mon travail de thèse a donc consisté à poursuivre et compléter cette première étape d'évaluation de FLiver.

2) Matériels et Méthodes

FLiver (Bahlou, 2014), a été développé à l'aide du logiciel informatique ModelMaker version 3 (Modelkinetix, Oxford). J'ai donc utilisé également ce logiciel pour mon travail. Les analyses statistiques ont été réalisées avec les logiciels R et Minitab (version 17).

2.1 Impact des erreurs associées aux équations charpentes sur le modèle

Comme décrit précédemment, FLiver (Bahloul, 2014) a été calibré en utilisant des équations empiriques (équations charpentes ; Tableau 1) proposées par Loncke (2009) et Loncke *et al.* (2009). Ces équations présentent donc des erreurs associées (RMSE, écart types sur les paramètres en particulier). L'impact de ces erreurs associées aux modèles n'a pas été évalué en détail. Il a donc été décidé de mesurer l'impact des erreurs associées aux équations charpentes d'origine, avant de les modifier. Dans cette partie nous nous sommes donc intéressés aux erreurs suivantes :

- Le RMSE (Root Mean Square Error) : C'est l'erreur résiduelle du modèle. Elle est très importante à considérer et elle doit être la plus faible possible.

Dans le présent document on parle du RMSE des équations charpentes (du modèle de variance covariance en méta-analyse) et non du modèle mécaniste.

- Les erreurs sur l'ordonnée à l'origine α et sur la pente β des équations charpentes qui sont des erreurs paramétriques.

L'objectif de ces tests était de déterminer l'impact des erreurs associées (RMSE, écarts types sur les paramètres) aux équations charpentes sur le modèle. Pour chaque équation charpente du modèle, le RMSE et les écarts types sur la pente et l'ordonnée à l'origine ont été évalués. Les erreurs associées aux équations ont donc été introduites dans les équations initiales (Tableau 7). Ces erreurs sont toujours considérées positives dans ce travail.

Tableau 7 : Equations charpentes et erreurs

	Equations charpentes sans erreur	Equations charpentes avec ajout du RMSE	Equations charpentes avec ajout de l'erreur sur la pente et l'intercept
	NHF	NHF	NHF
C3	0.01-0.91*NPA_C3	0.01-0.91*NPA_C3 ± 0.08	(0.01+0.07)-((0.91+0.03)*NPA_C3)
Glc	- 0.71+0.81× NPA-prec ³	- 0.71+0.81× NPA-prec ³ ± 0.42	(- 0.71 \pm 0.72)+ (0.81 \pm 0.11)× NPA-prec ³)
Lt	- 0.45 -0.47 × NPA-Lt	- 0.45 -0.47 × NPA-Lt ± 0.20	(- 0.45 \pm 0.13) – (0.47 \pm 0.12) × NPA-Lt)
N-NH3	- 0.01 - 1.01 × NPA-NH ₃	- 0.01 - 1.01 × NPA-NH ₃ ± 0.02	(- 0.01 \pm 0.01)– (1.01 \pm 0.02) × NPA-NH ₃)
N-Ur	0.08+ 1.05× NPA-NH ₃ + 0.48 × NPA- α -amino-N	0.08+ 1.05× NPA-NH ₃ + 0.48 × NPA- α -amino-N ± 0.14	((0.08 \pm 0.03) + (1.05 \pm 0.12) × NPA-NH ₃) + ((0.48 \pm 0.09) × NPA- α -amino-N)
	NSR	NSR	NSR
BOH	0.99 + 0.99 × NPA-BHB	0.99 + 0.99 × NPA-BHB ± 0.35	(0.99 \pm 0.37) + ((0.99 \pm 0.31) × NPA-BHB)
C2	0.34 + 1.02 × NPA-C2	0.34 + 1.02 × NPA-C2 ± 0.36	(0.34 \pm 0.31) + ((1.02 \pm 0.07) × NPA-C2)
C4	- 0.07 + 0.32 × NPA-C4	- 0.07 + 0.32 × NPA-C4 ± 0.03	(- 0.07 \pm 0.03) + ((0.32 \pm 0.04) × NPA-C4)
AAT	0.10 + 0.27 × NPA-TAA	0.10 + 0.27 × NPA-TAA ± 0.34	(0.10 \pm 0.19)+ ((0.27 \pm 0.06) × NPA-TAA)
O2	- 1.48 + 1.60 × NPA-O ₂	- 1.48 + 1.60 × NPA-O ₂ ± 0.40	(- 1.48 \pm 0.34)+ ((1.60 \pm 0.09) × NPA-O ₂)

En bleu : erreur sur la pente et l'ordonnée à l'origine, En rouge : RMSE.

Il est très important de connaître l'impact de ces erreurs sur les équations charpentes afin de déterminer leurs incidences sur le modèle.

2.2 Modifications des équations charpentes et optimisation

Un modèle est défini par sa structure et ses paramètres. Lors de la création d'un modèle ou lorsqu'un changement apparaît dans un modèle (aussi minime soit-il), les paramètres varient pour permettre aux prédictions de s'ajuster au mieux avec les observations réelles. Ces variations sont des optimisations des paramètres. On utilise pour ce faire une fonction d'optimisation, qui grâce à des itérations permettra de trouver la valeur optimale de chaque paramètre.

Une modification des équations charpentes et l'optimisation des paramètres du modèle ont été effectuées.

Dans un premier temps, certaines équations charpentes du modèle ont été remplacées par les nouvelles équations charpentes (Tableau 8) proposées par Loncke *et al* (2015, 2018).

Tableau 8 : Rappel des nouvelles équations charpentes à implanter dans FLiver

	Anciennes équations charpentes	Nouvelles équations charpentes
NSR-C2	$0.34 \pm 0.31 + 1.02 \pm 0.07 * \text{NPA-C2}$	$0.977 \pm 0.175 + 1.033 \pm 0.077 * \text{NPA-C2}$
NHF-C3	$0.01 \pm 0.07 - 0.91 \pm 0.03 * \text{NPA-C3}$	$0.0032 \pm 0.022 - 0.910 \pm 0.028 * \text{NPA-C3}$
NHF-Glc	$-0.71 \pm 0.72 + 0.81 \pm 0.11 * \text{NPAprec3}$	$-0.708 \pm 0.727 + 0.809 \pm 0.112 * \text{NPAprec3}$
NHF-Lt	$-0.45 \pm 0.13 - 0.47 \pm 0.12 * \text{NPA-Lt}$	$-0.2195 \pm 0.0621 + 0.218 \pm 0.080 * \text{NPA-C3} - 1.029 \pm 0.096 * \text{NPA-L-Lactate}$

NSR : flux net d'émission splanchnique et NHF : flux nets hépatiques, Glc ; glucose, C2 ; acétate, C3 ; propionate, Lt ; Lactate.

Dans un deuxième temps, les paramètres de FLiver ont été optimisés grâce à la fonction Simplex. Pour ce faire les paramètres ont été réinitialisés, c'est-à-dire qu'une valeur arbitraire de 0,1 a été définie comme valeur initiale. Cela permet au logiciel de pouvoir faire son optimisation. Ces paramètres ont tout d'abord été optimisés par quartier puis tous ensemble. Les quartiers correspondent aux grandes zones métaboliques :

- le quartier du glucose prenant en compte la néoglucogenèse ainsi que le cycle de Krebs,
- le quartier des composés azotés prenant en compte l'uréogénèse,
- Le quartier des cétoniques prenant en compte la cétogénèse

Après optimisation des paramètres, l'ajustement du modèle c'est-à-dire l'adéquation entre les valeurs prédites par le modèle et les valeurs observées a été étudiées.

2.3 Analyse de sensibilité de FLiver

L'analyse de sensibilité d'un modèle permet d'évaluer l'importance des paramètres du modèle c'est-à-dire d'identifier l'influence des paramètres et variables d'entrées sur les sorties du modèle. En faisant varier la valeur de chaque paramètre on définit l'impact de ceux-ci sur le modèle. Une analyse de sensibilité permet d'étudier le comportement général d'un modèle.

Si un paramètre n'a pas d'impact sur les flux du modèle alors il sera éliminé à moins qu'il ne soit nécessaire dans la description de processus biologique. Si au contraire le modèle est sensible à un paramètre cela montre l'importance d'estimer avec précision ce paramètre (Bahloul, 2014).

Nous avons analysé la sensibilité du modèle aux variations des paramètres faisant partie des différents flux. Ainsi, nous sommes partis de la valeur ajustée de tous les paramètres, que nous avons fait varier de 20%. Les prédictions du modèle ont ensuite été comparées en fonction du paramètre choisi. Pour ce faire j'ai défini quel paramètre impacte quel flux de sortie du modèle (Tableau 9).

Nous avons ainsi étudié l'effet des variations notamment sur : a) les flux de sortie de nutriments depuis les compartiments d'origine et de destination du flux affecté directement par le paramètre ; b) d'autres flux de sortie affectés indirectement par le paramètre en question.

Tableau 9 : Paramètres du modèle et les flux sur lesquels ils impactent.

Paramètres	Explications	Flux de sortie impactés
KACA-KB	Synthèse des corps cétoniques à partir d'ACA	CO2, C2, AcAc, BOH
KC4-KB	Synthèse des corps cétoniques à partir de C4	AcAc, BOH, C4
KC4-ACA	Métabolisme du C4 via l'ACA	AcAc, BOH, C4, CO2, C2
KLCFA-ACA	Métabolisme des LCFA via ACA	CO2, C2, AcAc, BOH, LCFA
KGlc-Glg	Glycogénèse à partir du glycogène	Glucose, C3, TAA
KGlg-Glc	Glycogénolyse	Glucose, C3, TAA
KGlc-PYR	Métabolisme du glucose via le PYR	Glucose, CO2, C2
KOA-Glc	Néoglucogénèse à partir de OA	Glucose, CO2, C3, Lt, TAA
KC3-PYR	Métabolisme du C3 via PYR	Glucose, CO2, C2, C3, Lt
KC3-OA	Métabolisme du C3 via OA	Glucose, CO2, Lt
KPYR-OA	Carboxylation du PYR en OA	Glucose, CO2, C2, C3
KPYR-Lt	Transformation du PYR en Lt	Glucose, CO2, C2, Lt
KLt-PYR	Transformation du Lt en PYR	Glucose, CO2, C2
KPYR-ACA	Décarboxylation du PYR en ACA	CO2, C2, AcAc, BOH
Kdéamination	Déamination des TAA via ACA	Glucose, CO2, C2, AcAc, BOH
KOA-CO2	Oxydation complète des nutriments par le cycle de Krebs via OA	Glucose, CO2, C3
KTAA-Prt	Synthèse protéique à partir des TAA	TAA
KPrt-TAA	Protéolyse	TAA
KNH3-Ur	Uréogénèse	NH3, Ur

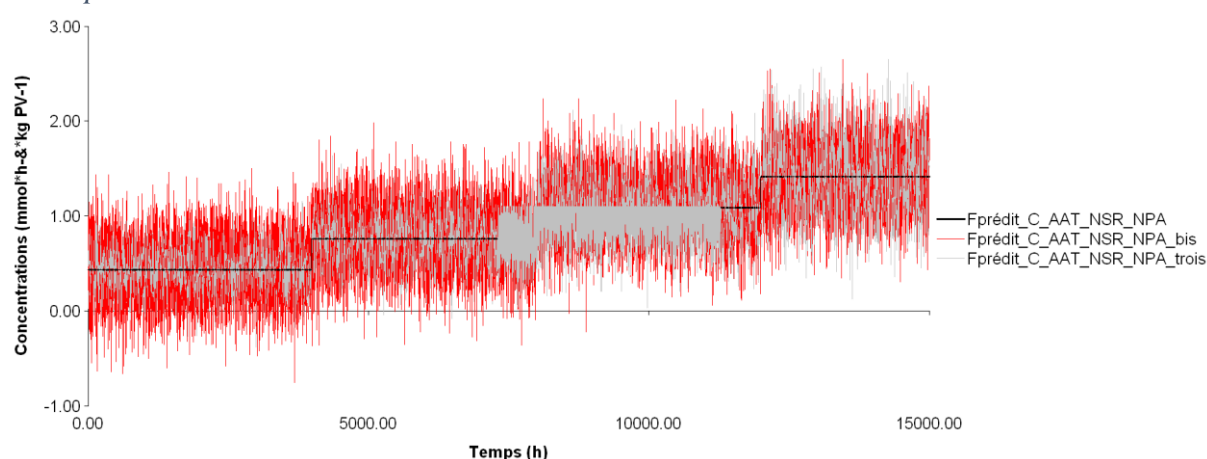
Voir tableau 9b) pour les abréviations utilisées.

3) Résultats et discussion

3.1 Impact des erreurs associées aux équations charpentes sur le modèle

Des courbes de comparaison des valeurs observées calculées grâce aux équations charpentes avec ou sans erreurs ont été obtenues pour chaque équation et chaque nutriment (Figure 14).

Figure 14 : Courbe des concentrations en TAA dépendant de l'équation charpente correspondante avec ou sans erreur



Le « bruit » dû à l'erreur sur la pente et l'ordonnée à l'origine est représenté en argenté (Fprédit_C_AAT_NSR_NPA_trois). Le « bruit » dû aux RMSE est représenté en rouge (Fprédit_C_AAT_NSR_NPA_bis). La courbe (Fprédit_C_AAT_NSR_NPA) représente les valeurs observées calibrées par l'équation charpente sans erreur. On peut aussi apercevoir sur cette courbe les différents steady-state.

Tableau 10 : Evaluation de l'impact des erreurs sur les équations charpentes.

	RMSE	% de l'erreur ramené à la valeur moyenne des flux		Ecarts-types	Coefficient de variation (%)
Valeurs moyennes des flux (mmolC/kg PV/h)					
AA totaux	0,924	0,34	36,80	0,0062	0,67
Glucose	4,37	0,424	9,70	0,3	6,86
Lactate	0,822	0,2	24,33	0,0095	1,16
Propionate	2,27	0,084	3,70	0,00094	0,04
Acétate	4,93	0,36	7,30	0,059	1,20
Butyrate	0,11	0,03	27,27	0,005	4,55
β-OH	2,11	0,35	16,59	0,036	1,71
Valeurs moyennes des flux (mmol N/kgPV/h)					
NH3	0,55	0,02	3,63	0,003	0,54
Urée	0,89	0,014	1,57	0	0

Le RMSE représente 1,5 % de la valeur du flux d'Urée moyen, environ 4% de la valeur du flux de NH3 moyen, environ 3 % de la valeur du flux de propionate moyen, environ 7 % de la valeur du flux d'Acétate moyen, environ 10% de la valeur du flux de glucose moyen et 16% de la valeur du flux de β-hydroxybutyrate (Tableau 10). Le RMSE n'a donc que peu d'impact sur ces flux. Ces résultats sont donc satisfaisants et le RMSE liées à ces équations charpentes ne semblent pas avoir d'incidence sur le modèle.

Le RMSE représente une part plus importante pour le flux d'AA totaux moyen, pour le flux de lactate moyen ainsi que pour le flux de butyrate moyen (Tableau 10). Concernant le flux de lactate et de butyrate ces résultats étaient attendus car les émissions nettes de β-OH et de lactate sont mal prédites à partir de leurs apparitions nettes en veine porte. Les AA totaux ont l'erreur

la plus forte et ce résultats restent surprenant. Ces données seront donc à prendre en compte lors de l'utilisation du modèle.

Les coefficients de variations liées aux écarts-types sur la pente et l'ordonnée à l'origine des équations charpentes sont tous très faible, celui de l'urée étant même nul. On peut donc en conclure que ces écarts-types n'impacterons pas le modèle.

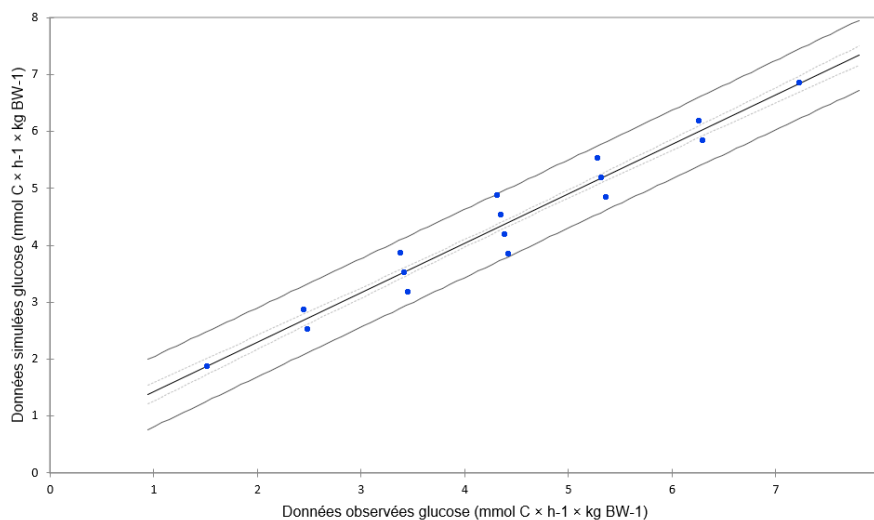
3.2 Optimisation des paramètres

Les nouvelles équations charpentes (Loncke *et al.*, 2015 ; 2019b) ont été entrées dans le modèle, en remplacement des précédentes équations (Loncke, 2009). Les étapes d'optimisation ont donc été réalisées afin de générer de nouveaux paramètres. Ces paramètres sont très différents des anciens paramètres, ce qui peut paraître un résultat étonnant. En effet, compte tenu des faibles différences entre les anciennes et les nouvelles équations charpentes, il n'était pas attendu de modifications importantes des paramètres. Ils se sont cependant réajustés au mieux en fonction des changements engendrés par la modification des équations charpentes.

3.2.1 Simulation

Des simulations ont été réalisées afin de comparer les prédictions du modèle avec les données observées (obtenues par calcul à partir des équations charpentes). Les résultats obtenus montrent que, pour tous les nutriments, il y a une très forte corrélation entre les données simulées par le modèle et les données observées c'est-à-dire calculées par les équations charpentes à partir des apparitions nette portale (Figure 15). Les coefficients de détermination calculés sont, pour tous les nutriments, compris entre 0,95 et 1 ($P < 0,05$).

Figure 15 : Courbes de régression du glucose des valeurs observées vs. valeurs simulées par le modèle ($R^2 = 0,952$)



Cependant, les pentes et ordonnées à l'origine de toutes les courbes de régression étaient différents de 1 et 0 respectivement.

En effet, concernant les nutriments cétogéniques, il y a une sous-estimation significative des variations de l'émission nette splanchnique d'acétate (pente = $0,89 \pm 0,001$; $P < 0,001$) et une forte sous-estimation des variations de l'émission nette splanchnique de C4 (pente = $0,14 \pm 0,000057$; $P < 0,001$). Les variations de l'émission nette splanchnique de β -OH sont les moins bien simulées. En effet, elles sont très fortement surestimées (pente = $2,03 \pm 0,001$; $P < 0,001$). Ce résultat était attendu. En effet, l'émission nette de β -OH est mal prédite à partir de son apparition nette en veine porte. La meilleure prédiction de l'émission nette de β -OH est obtenue à partir de l'alimentation et du statut physiologique des animaux (Loncke *et al.*, 2015; ingestion de matière organique fermentée dans le rumen et bilan énergétique des animaux). Cette équation n'a pas été retenue dans ce travail car les flux d'entrées sont indexés sur les apparitions nettes en veine porte. La prise en compte simultanée de l'apparition nette en veine porte de butyrate et du bilan énergétique des animaux permet d'améliorer la prédiction de l'émission nette splanchnique de β -OH mais il n'est pas possible d'intégrer le bilan énergétique dans ce travail. Une des solutions envisagées serait de mieux prendre en compte les acides gras (dont le bilan énergétique est un reflet). Ce travail est en cours pour la version 2 de FLiver (Bilan énergétique négatif; Bahloul, 2014).

Concernant les nutriments glucogéniques, il y a une sous-estimation significative des variations du flux net hépatique de glucose (pente = $1,1 \pm 0,002$; $P < 0,001$; figure 11). Cependant, les variations du flux net hépatique de glucose sont parmi les mieux simulées. Ce résultat est très intéressant et montrent que l'équation charpente du glucose a été relativement bien ajustée. Il y a une légère surestimation du flux net hépatique de C3 (pente = $1,01 \pm 0,004$; $P = 25$), les variations de ce nutriment restent néanmoins bien simulées.

Enfin, les variations de l'émission nette splanchnique de AAT et les variations du flux net hépatique de NH₃ sont sous-estimées (pente = $0,97 \pm 0,0002$; $P < 0,001$ et $0,96 \pm 0,00009$; $P < 0,001$ respectivement).

Les variations du flux net hépatique de Lt sont surestimées (pente = $-1,4 \pm 0,003$; $P < 0,001$). Cette variation présente une pente négative ce qui n'est pas cohérent avec les données des flux de sortie de Lactate que l'on devrait obtenir. Ce problème pourrait être due à la nouvelle équation du lactate qui rajoute de l'erreur. En effet, afin d'être plus physiologique, on a modifié l'ancienne équation du lactate qui était défini par l'apparition nette portale de lactate par une équation prenant en compte l'apparition nette portale de lactate et du C3 (Tableau 8).

De plus, ce problème pourrait être résolu en définissant une contrainte sur les flux associés au lactate.

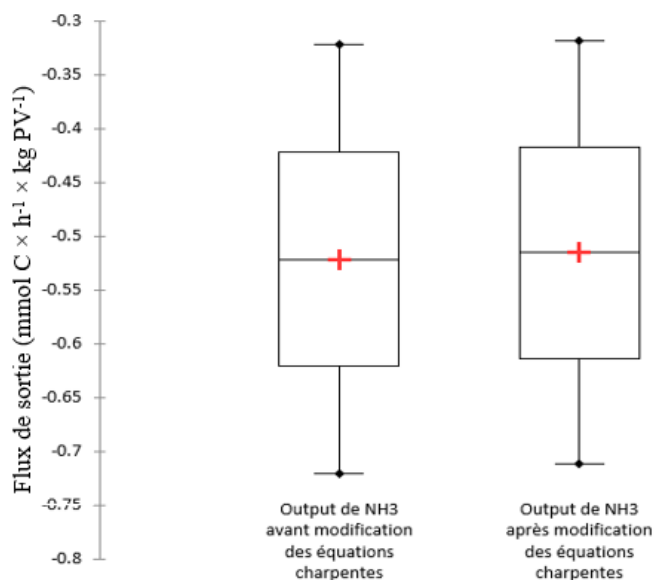
Il serait donc pertinent de faire une analyse de la sortie de lactate en fonction de l'apparition en veine porte de C3 et de lactate afin de déterminer si ce problème provient de la nouvelle équation ou du fait qu'il n'y ait pas de contraintes associées au lactate.

3.2.2 Comparaison des prédictions du modèle

Les prédictions du modèle avant et après optimisation des paramètres ont ensuite été comparées statistiquement grâce à des tests de t appariés. La Figure 16, montre les boxplots représentant les concentrations des flux de sortie de NH₃ avant et après optimisation des paramètres. On observe une distribution normale des données. Les moyennes associées aux deux séries de données sont très proches : -0,515 et -0,521 mmol C × h⁻¹ × kg PV⁻¹. Les écarts types associés sont respectivement de 0,148 et 0,149. Les flux de sortie de NH₃ avant et après optimisation des paramètres sont néanmoins significativement différents.

Toutes les prédictions du modèle avant et après optimisation sont significativement différentes ($P < 0,05$). Cela est dû au fait que les paramètres ont été modifiés. Par conséquent, les flux de sorties du modèle diffèrent.

Figure 16 : Flux de sortie de NH₃ avant et après modifications des équations charpentes.

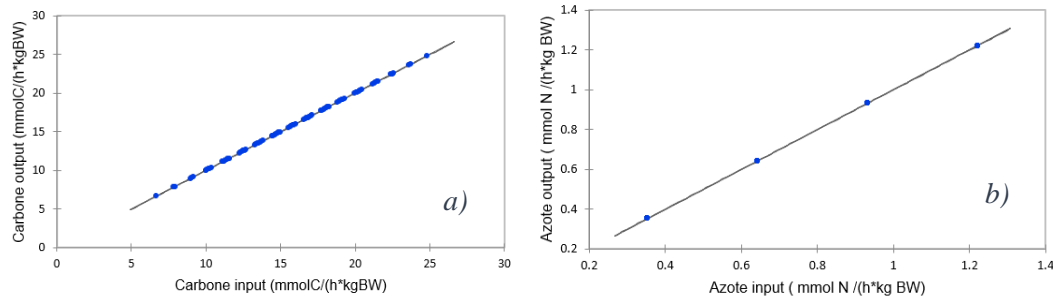


3.2.3 Bilan de carbone et azote

Pour simuler le métabolisme hépatique, des compartiments de stockage pour le glycogène (compartiment C) et les protéines (compartiment azote N) ont été inclus. Il est donc nécessaire de vérifier les variations de taille de ces 2 compartiments, qui ne devraient pas varier fortement

(pas de stockage excessif ni de carence). Les courbes représentant l'entrée et la sortie des C et des N totaux du modèle ont donc été définies (Figure 17 a et b).

Figure 17 : a) Courbes d'entrée et de sortie des Carbones ($R^2=1$; pente = 1 ± 0 ; ordonnée = 0) et b) des azotes ($R^2=1$; pente = 1 ± 0 ; ordonnée = 0) du modèle.



Les résultats montrent que les sorties de C et N ne sont pas quantitativement éloignées des entrées. Cela indique qu'il n'y a pas d'accumulation de C et d'N dans un compartiment. Ce résultat est particulièrement intéressant, et représente une avancée importante dans la proposition d'un modèle de fonctionnement hépatique. En effet, à notre connaissance, les autres modèles existants à ce jour ne vérifient pas ces conditions (Bahloul, 2014).

3.3 Analyses de sensibilité du modèle

Les analyses de sensibilité ont permis de déterminer quel paramètre du modèle était particulièrement sensible. Elles mettent en lumière les paramètres et flux de sortie auxquels il faut porter une attention particulière lors de l'utilisation du modèle.

Ainsi, K_s _déamination (paramètre de la déamination des AAT en acétyl-CoA) impacte les flux de glucose, d'AAT, de C02, de β -OH. De même, K_s _C4_ CC (paramètre de la synthèse de corps cétonique à partir du butyrate) impacte les flux de β -OH et de C4. Le K_s _ACA_ CC (paramètre de la synthèse de corps cétonique à partir de l'acétyl-CoA) impacte le flux d'acéto-acétate, de β -OH et de C2. Le K_s _C3_ OAA (paramètre du métabolisme du propionate via l'oxaloacétate) impacte le flux de glucose. Le K_s _Lt_ PYR (paramètre de la transformation du lactate en pyruvate) impacte le flux de glucose. Le K_s _NH3_ NUr (paramètre de l'uréogénèse) impacte le flux d'ammoniaque.

4) Conclusion

Les résultats obtenus ont permis de prouver que pour certaines équations charpentes les erreurs associées sont suffisamment faibles et que leurs impacts sur FLiver est donc négligeable. Tandis que d'autres erreurs doivent être prise en compte lors de l'interprétation des résultats de FLiver.

L'optimisation a permis de déterminer de nouvelles valeurs de paramètres qui permettent de prouver que FLiver est identifiable, ce qui est très important voire nécessaire dans un modèle mathématique. De plus les données observées et prédite par le modèle sont en adéquation.

En outre, un autre point très important a été mis en avant dans ces résultats ; il n'y a pas de stockage de carbones ou d'azotes au sein des compartiments du modèle. A ce jour, c'est le premier modèle hépatique ayant obtenu ce résultat.

Enfin, les tests de sensibilité ont permis de définir les paramètres sensibles c'est-à-dire les paramètres impactant les flux de sorties de FLiver. Ces résultats permettent d'acquérir des informations sur l'incertitude associée aux prédictions du modèle et permettront d'optimiser certaines variables décisionnelles.

V. Comparaison du modèle de FLiver (Bahloul, 2014) et Freetly *et al.* (1993) : reconstruction du modèle de Freetly *et al.* (1993).

1) **Introduction :**

La première étape de cette comparaison de modèles était bibliographique, celle-ci a été décrite dans la partie III. Cette étude a permis de vérifier dans quelle mesure les modèles étaient comparables. Rappelons par ailleurs que Freetly est construit sur une approche de type bottom-up tandis que FLiver relève d'une approche top-down qui s'appuie sur des équations charpentes.

Brièvement, Freetly *et al.* (1993) et FLiver (Bahloul, 2014) partagent environ 60 % de compartiment en commun. Tous les métabolites essentiels à la description du métabolisme hépatique des ruminants sont présents dans les deux modèles.

Freetly *et al.* (1993) étant plus détaillé que FLiver (Bahloul, 2014), ce modèle prend en compte différents facteurs de différenciation tandis que FLiver (Bahloul, 2014) donne une représentation agrégée et plus globale des différentes réactions biochimiques mise en jeu (pour exemple ; cycle des pentoses)

La représentation des flux de conversion diverge de par leurs natures ainsi que les équations permettant de les décrire. En effet, les équations représentant les réactions métaboliques dans le modèle de FLiver (Bahloul, 2014) sont de type « loi d'action de masse » (processus du premier ordre) alors que dans Freetly *et al.* (1993), les flux de nutriments suivent différentes lois, des 'lois d'actions de masse' ou la plupart du temps des cinétiques de saturation (loi Michaelienne). Cela est dû au fait que le modèle de Freetly *et al.* (1993) définit plus de métabolites et prend en compte des réactions enzymatiques détaillées. Il semble donc normal que les équations de flux diffèrent afin de s'adapter au mieux aux objectifs des deux modèles.

Les sorties et entrées sont très similaires entre les deux modèles. Un ensemble de 11 inputs a été défini dans FLiver (Bahloul, 2014) et 15 dans Freetly *et al.* (1993). Parmi eux 10 sont en communs : le glucose, le lactate, le C3, le butyrate, l'acétate, le CO₂, les AG (uniquement à chaînes longues dans FLiver version 1), les AA totaux pour FLiver (Bahloul, 2014) et comprenant l'alanine, l'aspartate, le glutamate dans Freetly *et al.* (1993). Pour 4 des inputs restant de Freetly *et al.* (1993) il s'agit des acides gras volatils mineurs et peuvent être considérés comme négligeables. Un ensemble de 11 outputs a été défini dans FLiver (Bahloul, 2014) et 9 dans Freetly *et al.* (1993). Parmi eux 6 sont en communs : le glucose, le lactate, le CO₂, les corps cétoniques, les AG (uniquement à chaînes longues dans FLiver version 1), et l'acétate. De plus, la sortie de butyrate est définie dans FLiver (2014) mais pas dans Freetly *et*

al. (1993). Néanmoins celle-ci peut être considérée « englobée » dans la sortie de corps cétoniques de Freetly *et al.* (1993). Par construction, Fliver définit des réactions métaboliques globales (flux) tandis que Freetly *et al.* (1993) définit des réactions métaboliques sous-jacentes.

En conclusion, Freetly *et al.* (1993) et FLiver (Bahloul, 2014) sont des modèles assez proches pour pouvoir être comparés.

La deuxième étape de ce projet, décrite dans cette partie, a consisté en une reconstruction du modèle de Freetly *et al.* (1993) en se basant sur les données de la publication dans le but de le comparer quantitativement avec FLiver (Bahloul, 2014).

2) Matériel et méthodes :

FLiver (Bhaloul, 2004), a été développé à l'aide du logiciel informatique ModelMaker version 3 (Modelkinetix, Oxford). Le même logiciel a été réutilisé pour implémenter le modèle Freetly *et al.* (1993) dans le but de pouvoir comparer les deux modèles.

Dans un premier temps le modèle de Freetly *et al.* (1993) a été reconstruit dans sa totalité, c'est-à-dire que chaque compartiment et flux ont été réécrits dans le logiciel Model Maker. Les concentrations à l'équilibre des compartiments et flux ainsi que les différents paramètres du modèle ont ensuite été implantés comme valeurs initiales dans le logiciel.

- **Unités**

Dans la publication Freetly *et al.* (1993), l'unité de temps utilisée est le jour et l'unité de la quantité de matière était la mole. Ces unités sont trop grande comparées aux temps de réponses des processus biochimiques in-vivo. En effet, ces unités ne sont pas en accord avec le pas de temps de calcul. Le temps a donc été exprimé en minutes. La mole a donc été convertie en mmol. Les concentrations ont été exprimées en mmol/L. Les flux en mmol/min. Les paramètres des équations de flux ont aussi été modifiés ; les capacités maximum des flux de conversion de A en B (V_{A_B}) ont été exprimées en mmol/min, les constantes d'affinité pour chaque substrat en mmol/L et les constantes représentatives des inhibiteurs compétitifs en mmol/L.

Une fois le modèle obtenu nous l'avons testé dans le but d'obtenir un modèle viable et conforme au modèle d'origine.

- **Découpage en quartiers**

Dans un premier temps, le modèle a été divisé en différents quartiers métaboliques homogènes. Chaque quartier représente une ou plusieurs fonctions métaboliques hépatiques. Sans ce principe de découpage, le modèle entier ne fonctionnerait pas ou présenterait un comportement explosif. Cette démarche de modélisation est donc nécessaire lors de la création

ou la reconstruction d'un modèle. Les quartiers ont été étudiés séparément afin de tester leur comportement et surtout leur cohérence interne. Il s'agit aussi d'établir si les résultats étaient conformes aux processus biochimiques observés *in vivo* et afin de mettre en lumière les flux, paramètres ou compartiments à surveiller lors de l'utilisation du modèle.

Pour chaque quartier métabolique, un ou plusieurs input de métabolites ou substrat extracellulaire a été ajouté. Cette entrée est une injection périodique par pulses apparaissant toutes les 20 min et démarrant à 50 min ou une injection périodique par pulses (quantité de substance qu'on injecte pendant une durée dt qui est un pas de temps) dont le démarrage débute au bout de 20 min avec une période de 50 min. La période interpulses doit permettre le retour à l'équilibre des compartiments étudiés.

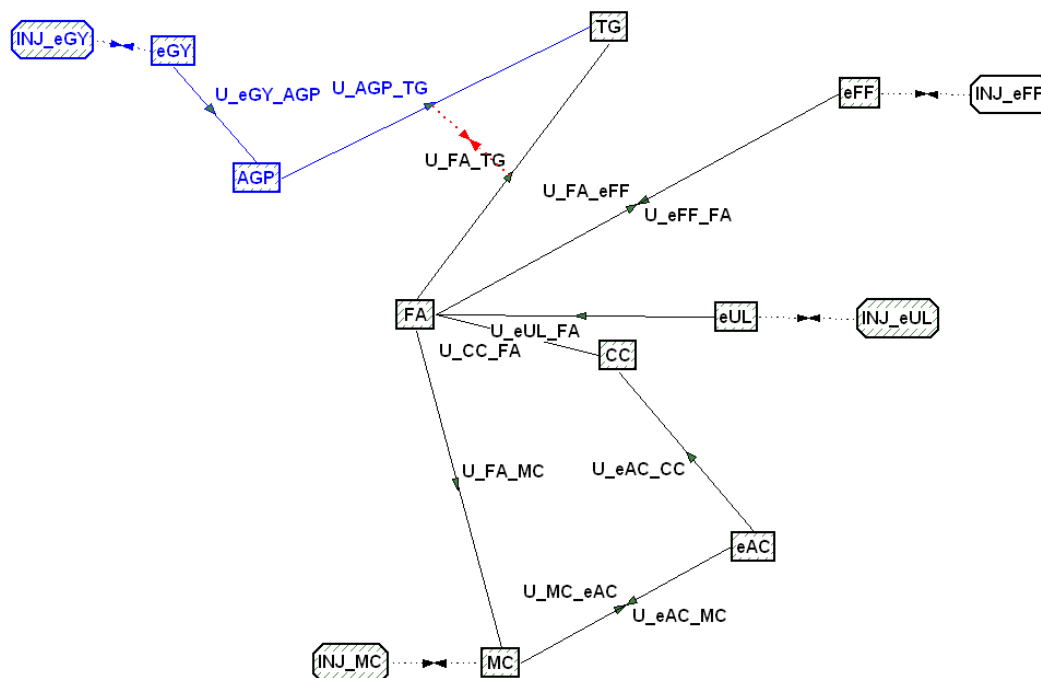
Cette injection périodique est régie par l'équation :

$$[\text{Nutriments}] = [\text{Nutriments}] + 1 ; \text{ avec } [\text{Nutriments}] \text{ en mmol/L}$$

Lorsque l'on parle de compartiments et flux associés pour la création d'un quartier, on prend en compte les paramètres et données relatives à ces compartiments et flux. Cela vaut pour toute cette partie recherche.

3) Quartier métabolique 1 : Métabolisme lipidique

Figure 18 : Quartier des lipides (Quartier 1)



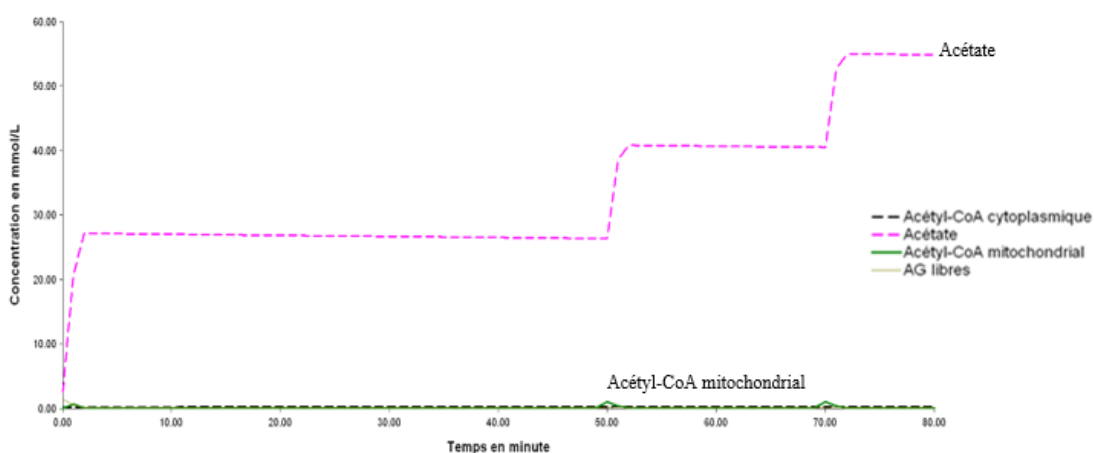
eGY : Glycérol, AGP : αglycérolphosphate, TG : Triglycérides ; eFF : Entrée d'AG libres, eUL ; Lipides indéfinis, FA : AG libres, CC : Acétyl-CoA cytoplasmique, eAC : Acétate, MC : acétyl-CoA mitochondrial, INJ_eGY : injection de glycérol, INJ_MC : injection d'acétyl-CoA mitochondrial, INJ_eFF : injection d'AG libres, INJ_eUL : injection de lipides indéfinis, U_A_B : flux de conversion du compartiment A au compartiment B. En noir : quartier 1 a) En bleu : rajout du quartier 1 b)

3.1 Quartier métabolique 1 a) Métabolisme lipidique

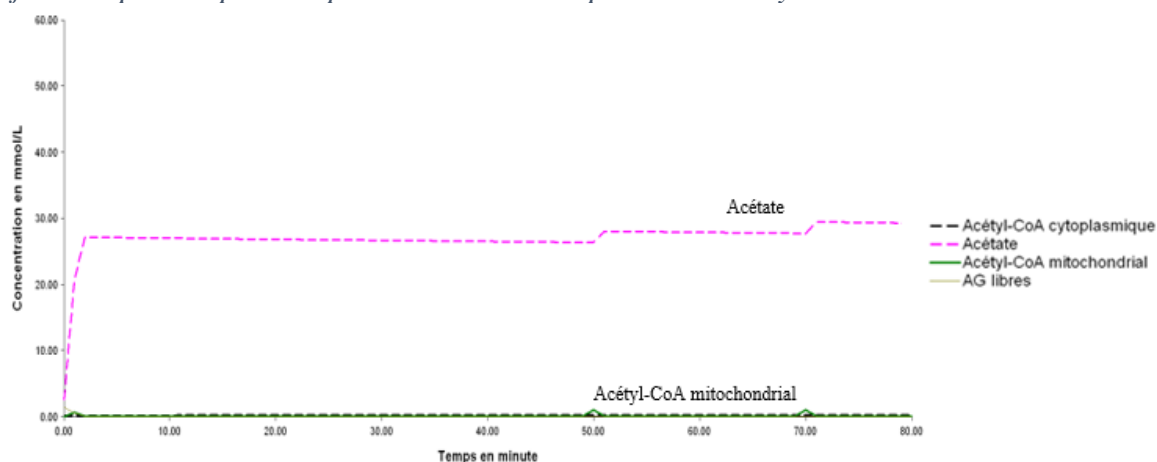
Ce quartier comprend les compartiments et flux relatifs au métabolisme des lipides. La lipolyse (transformation des AG libres (FA) en Acétyl CoA mitochondriale (MC) et la synthèse d'AG (transformation de l'Acétate (eAC) en AG libres via l'acétyl CoA cytoplasmique (CC)) sont pris en compte (Figure 18 ; compartiments et flux de couleur noire). Le comportement de ce quartier 1a) a été étudié par ajout d'injections périodiques d'entrées de composées dans les compartiments lipides indéfinis (eUL), AG libres (eFF) et Acétyl-CoA mitochondrial (MC) (Figure 18).

Figure 19 a) et b) : Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier des lipides (quartier 1 a)).

a) Avec injections périodiques dans les compartiments Acides gras libres (eFF), Lipides indéfinis (eUL) et AcétylCoA mitochondrial (MC)



b) Injections périodiques uniquement dans le compartiment Acétyl-CoA mitochondrial.



Les concentrations en acétate étant très élevées comparées aux concentrations en acétyl-CoA mitochondrial, en lipides indéfinis et en AG libres, la courbe représentant les

concentrations au sein du compartiment de l'acétate est bien visible sur les graphes de la Figure 19 a et b contrairement aux autres métabolites. On peut cependant observer un léger pic d'acétyl-CoA mitochondrial. Les résultats montrent qu'une impulsion en lipides (INJ_eUL), en AG libres (INJ_eFF) et en acétyl-CoA mitochondrial (INJ_MC) combinées entraînent un pic de concentration en AG libres, en lipides et en acétyl-CoA mitochondrial.

A $t = 0$, on voit apparaître un pic de concentration en acétyl-CoA mitochondrial de 0,75 mmol/L engendrant un pic de 8 mmol/min du flux représentatif du déversement de l'acétyl-CoA mitochondrial dans le compartiment acétate. A $t = 50$, on voit apparaître un pic de concentration en acétyl-CoA mitochondrial de 1 mmol/L engendrant un pic de 15 mmol/min du flux représentatif du déversement de l'acétyl-CoA mitochondrial dans le compartiment de l'acétate (résultats non visible sur les Figures 19 a et b). De plus on observe une très forte accumulation dans le compartiment acétate avec une augmentation des concentrations d'environ 12 mmol/L à chaque pic d'entrée de lipides (eUL), d'AG libres (eFF) et d'acétyl-CoA mitochondrial (MC ; Figure 19 a). On observe également une légère accumulation dans le compartiment triacylglycérides avec une augmentation des concentrations de 0,2 mmol/L à chaque pic d'entrée d'acides gras libres, de lipides indéfinis et d'acétyl-CoA mitochondrial.

On constate que l'accumulation dans le compartiment acétate (eAC) est diminuée de 93% lorsqu'on enlève les impulsions d'entrées en acides gras libres (eFF) et en lipides indéfinis (eUL) (Figure 19 b)). Ces résultats sont cohérents et peuvent s'expliquer par un déséquilibre des entrées comparé aux sorties dans ce quartier. Une injection en acides gras libres et en lipides indéfinis entraîne une très forte entrée de lipides qui seront convertis en acétyl-CoA mitochondrial (U_FA_MC). Si l'on additionne à ces deux injections une entrée d'acétyl-CoA mitochondrial, trop de précurseurs de la synthèse des AG seront produits et cela se traduit par une accumulation importante en acétate dans ce modèle. Ainsi afin de représenter au mieux les réactions se manifestant in vivo, il ne faut pas cumuler les pulses d'entrée car cela n'est pas représentatif de la réalité biochimique.

Une accumulation non négligeable en acétate est néanmoins toujours présente lors du retrait des entrées d'acides gras libres et de lipides. Cela peut être dû au fait que le compartiment acétyl-CoA mitochondrial n'est pas relié au reste du modèle dans ce quartier et ne peut donc pas se vider correctement. Cela reste à confirmer lors de l'évaluation du modèle complet.

3.2 Quartier métabolique 1 b) ; Participation du glycérol au métabolisme lipidique

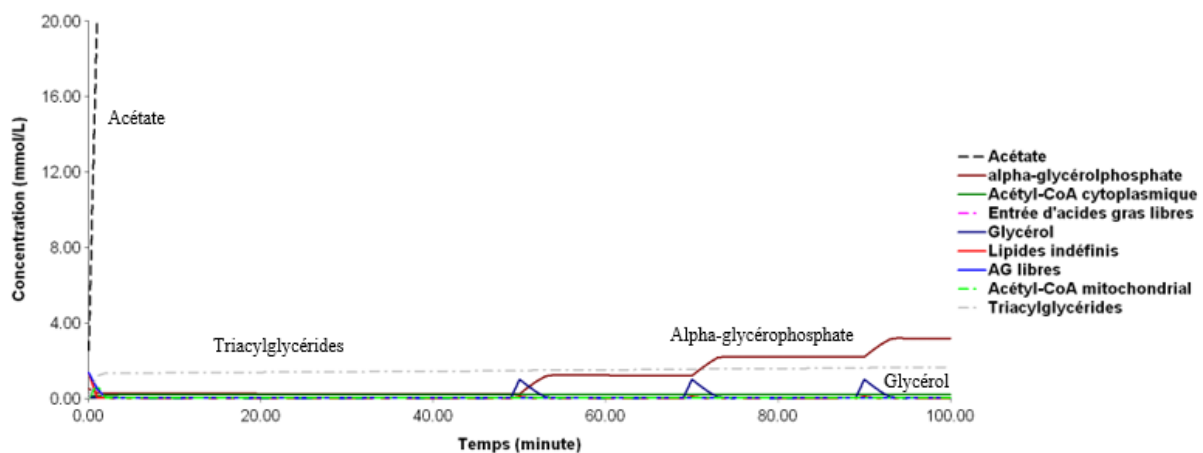
Dans cette partie, on a rajouté le compartiment alpha-glycérolphosphate (AGP) et glycérol (eGY et flux associés) au quartier 1a) pour évaluer la participation du glycérol au métabolisme

lipidique. Par conséquent, on ajoute une entrée de glycérol (figure 18). Le flux de conversion de l'alpha-glycérolphosphate en Triacylglycérides (U_AGP_TG) est défini par ;

$$U_AGP_TG = 0,333*U_FA_TG$$

Où U_FA_TG est le flux de formation des triacylglycérides à partir de l'alpha-glycérolphosphate. Un flux d'information a donc été ajouté lors de la création de ce quartier (Figure 18 ; flèches rouges).

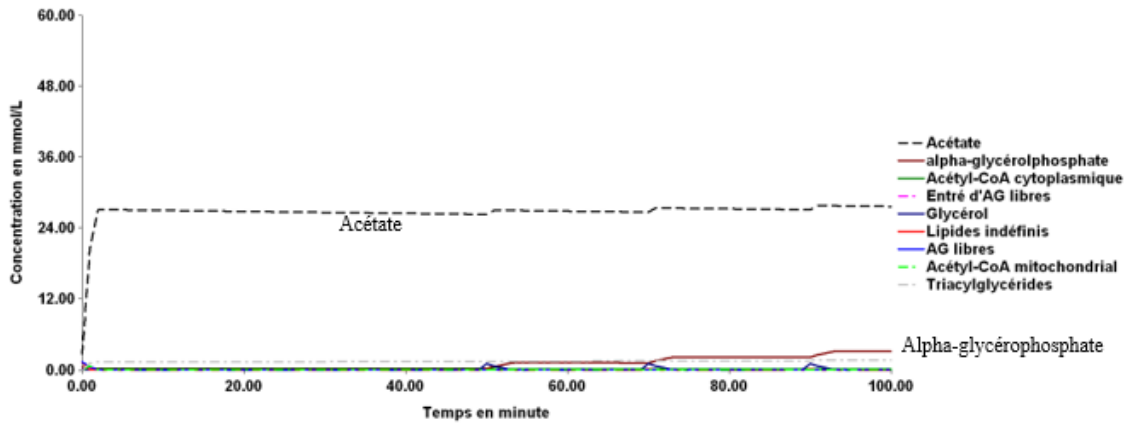
Figure 20 : Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier représentant la participation du glycérol au métabolisme des lipides (quartier 1 b).



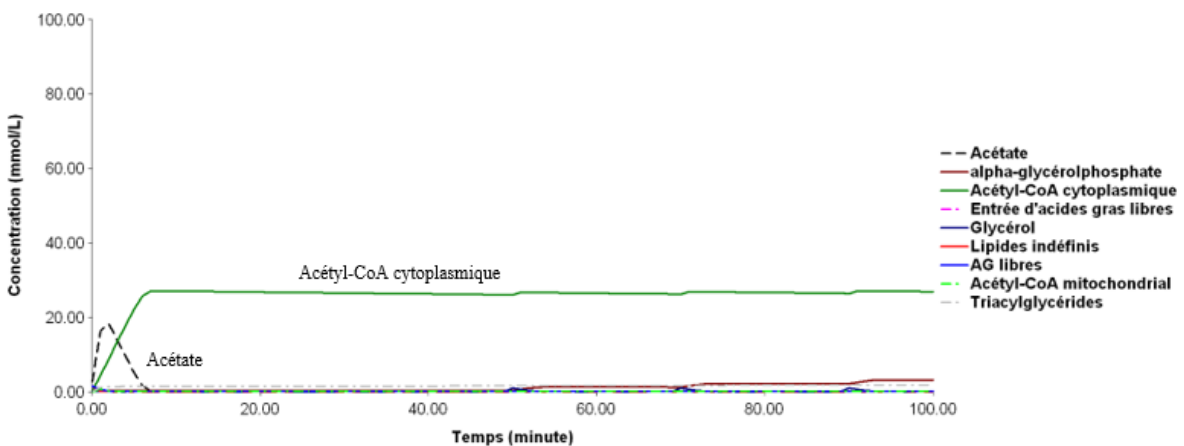
On peut observer une légère accumulation (de 1 mmol/L à chaque pic de eGY ; Figure 20) dans le compartiment alpha-glycérolphosphate, possiblement due au fait que l'alpha-glycérolphosphate n'est pas relié au compartiment TP (glycéraldéhyde-3-phosphate + dihydroacétate) et ne prend donc pas part à la néoglucogenèse. Une autre hypothèse peut être émise ; l'accumulation de l'alpha-glycérolphosphate peut être dû à la structure du modèle. En effet, le flux U_AGP_TG est lié à U_FA_TG par un flux d'information et n'est pas directement défini par la concentration en alpha-glycérolphosphate (Figure 18). Ces hypothèses restent à confirmer lors des tests sur le modèle complet.

Figure 21 : Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier représentant la participation du glycérol au métabolisme des lipides (quartier 1 b).

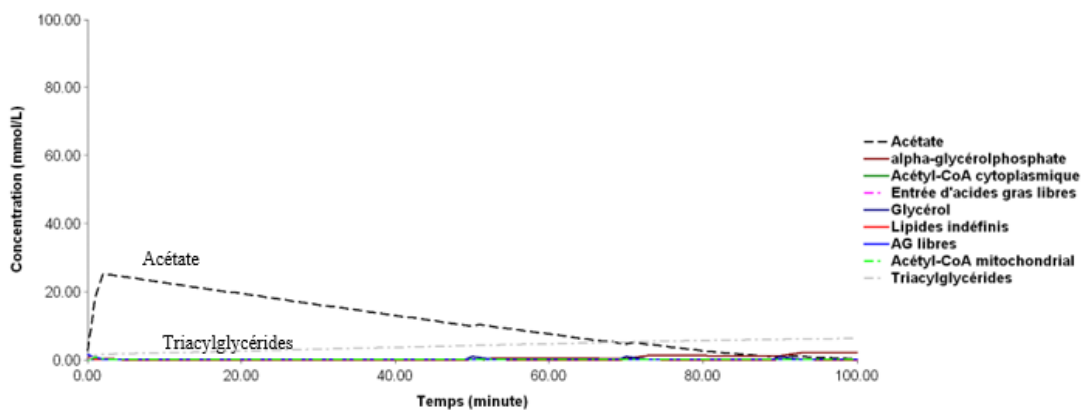
a) Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments sans modifications des paramètres de flux existant.



b) Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments après modification du paramètre V_{eAC_CC}

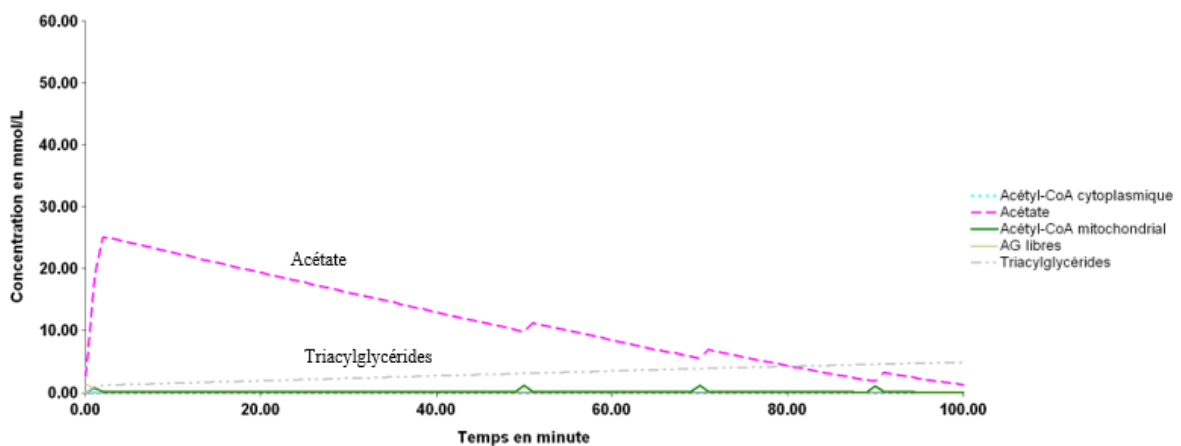


c) Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments après modification des paramètres V_{eAC_CC} et V_{CC_FA}



Les résultats montrent toujours une accumulation très légère d'acétate croissant de 0,5 mmol/L à chaque pic de Glycérol (Figure 21 a). *In vivo*, le glycérol n'est pas censé impacter directement les concentrations d'acétate. Ces résultats ainsi que ceux du quartier précédant indique que cette accumulation est intrinsèquement liée à la structure du modèle en lui-même. L'accumulation de l'acétate indique que très peu d'acétate sera converti en Acétyl-CoA cytoplasmique, le flux de conversion associé à cette réaction (U_eAC_CC ; Figure 18) a donc été étudié. Le paramètre de la capacité maximum du flux V_eAC_CC était défini à 0,55 mmol/min ce qui est très faible comparé aux valeurs des flux du métabolisme des AG (flux de conversion des acides gras libres en acétyl-CoA mitochondrial U_FA_MC et flux de conversion de l'Acétyl-CoA mitochondrial en acétate U_MC_eAC). La valeur de V_eAC_CC a donc été établie arbitrairement à 10 mmol/min. On remarque alors que le compartiment acétate se remplit puis se vide dans le compartiment de l'acétyl-CoA cytoplasmique, qui lui commence à s'accumuler (Figure 21 b). Cela indique que la synthèse des acides gras à partir de l'acétyl-CoA cytoplasmique *in-vivo* n'est pas quantifiable dans le modèle en l'état. Le flux de conversion représentant cette réaction (U_CC_FA ; Figure 18) a donc été analysé. Le paramètre de la capacité maximum du flux V_CC_FA était défini à 0,28 mmol/min et a été arbitrairement modifié à 20 mmol/min. On remarque alors qu'il n'y a plus d'accumulation dans les compartiments étudiés et que la quantité de triacylglycérol produite augmente doucement. Néanmoins l'acétate met très longtemps à revenir à sa valeur initiale.

Figure 22 : Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier représentant le métabolisme des lipides (quartier 1 a)) après modifications des paramètres V_eAC_CC et V_CC_FA



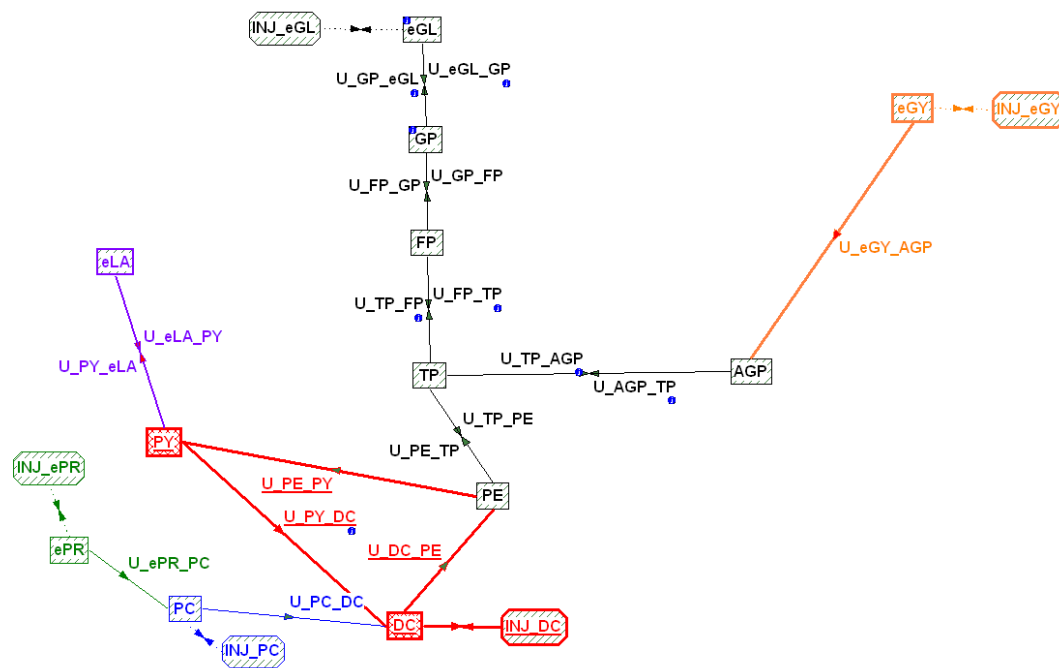
Le quartier des lipides (quartier 1a) a été retesté en prenant en compte ces nouveaux paramètres et les résultats sont en accord avec ceux obtenus dans ce quartier (Figure 22). Le

taux de triglycérides formés augmente tandis que le compartiment acétate se vide lentement (20 min).

Ainsi un point sensible du modèle a été mis en lumière et à priori corrigé. Il convient cependant de tester à nouveau ce quartier une fois que le modèle Freetly *et al.* (1993) sera reconstruit dans sa totalité.

4) Quartier métabolique 2 : Métabolisme glucidique

Figure 23 : Quartier du métabolisme glucidiques (Quartier 2)



eGY ; Glycérol, **AGP** ; α glycérophosphate, **eGL** ; Glucose, **GP** ; Glucose-6-Phosphate, **FP** ; Fructose-6-phosphate, **TP** ; glycéraldéhyde-3-phosphate + dihydroacétate, **PE** ; Phosphoénolpyruvate, **DC** ; Oxaloacétate + malate, **PY** ; pyruvate, **eLA** ; lactate, **PC** ; Propionyl-CoA, **ePR** ; propionate, **INJ_eGY** ; injection de glycérol, **INJ_eGL** ; injection de glucose, **INJ_DC** ; injection d'oxaloacétate et de malate, **INJ_PC** ; injection de propionyl-CoA, **INJ_ePR** ; injection de propionate, **U_A_B** ; flux de conversion du compartiment A au compartiment B. **En noir** ; quartier 2 a) **En orange** ; rajout du quartier 2 b), **En rouge et violet** ; rajout du quartier 1 c), **En bleu** ; rajout du quartier 2 d), **En vert** ; rajout du quartier 2 e)

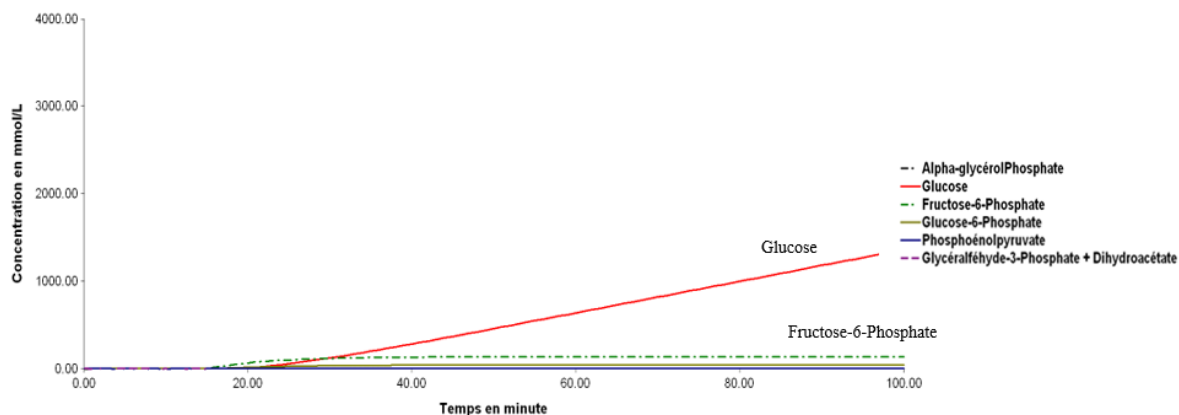
4.1 Quartier métabolique 2 a) : Métabolisme du glucose

Ce quartier comprend le compartiment glucose (eGL), Glucose-6-Phosphate (GP), Fructose-6-Phosphate (FP), phosphoénolpyruvate (PE), glycéraldéhyde3phosphate et dihydroacétate (TP) et le compartiment alpha-glycérophosphate (AGP) ainsi que les flux associés à ces compartiments. On a défini un pulse périodique de glucose (INJ-eGL ; figure 23) afin d'évaluer son effet sur la néoglucogenèse et la glycolyse et de déterminer le comportement du modèle concernant le métabolisme du glucose. Une période de 20 min avec une injection initiale de glucose démarrant à 50 min a ainsi été appliquée. En effet, cette période

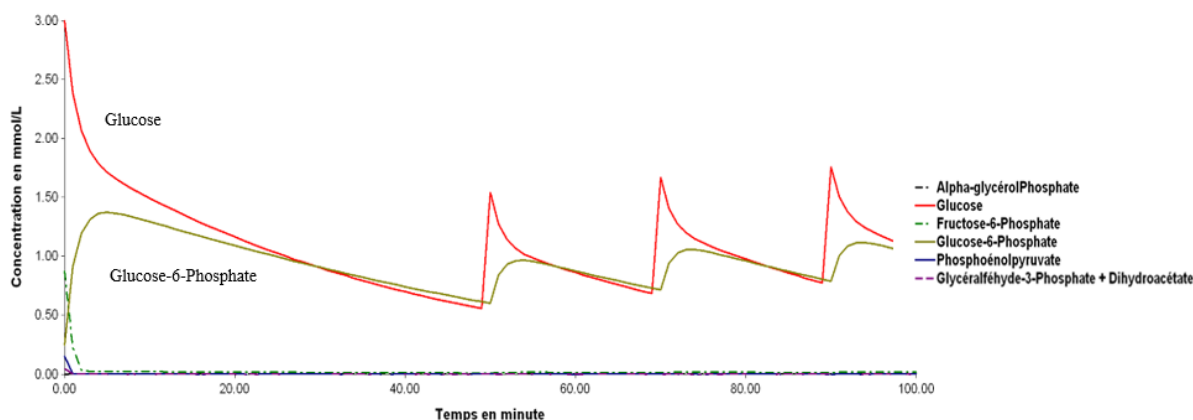
laisse le temps d'appréhender le comportement des compartiments glucose (eGL) et Glucose-6-Phosphate (GP) sans ajout de glucose.

Figure 24 : a) et b) : Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier du métabolisme du glucose (quartier 2 a).

a) Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments sans modifications de paramètre de flux existant.



b) Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments après modifications du paramètre V_PE_TP



Dans un premier temps, les résultats n'étaient pas en adéquation avec les phénomènes biochimiques de la néoglucogenèse. Le modèle présentait un comportement explosif (Figure 24 a). De plus, bien que les injections périodiques d'entrée de glucose eussent été configurées dans le logiciel les résultats démontrent que celles-ci n'étaient pas prise en compte. Il existait un problème de paramétrage. La capacité maximale du flux de conversion du phosphoénolpyruvate en glycéraldéhyde-3-phosphate et dihydroacétate (V_PE_TP) était égale à 79 mmol/min. Cette valeur semblait bien trop élevée comparée aux valeurs des flux et aux

concentrations des compartiments avoisinants. Ce paramètre a donc été modifié ($V_{PE_TP} = 0,079$ mmol/min) de manière arbitraire. Une analyse de sensibilité a été menée (pour le quartier du métabolisme du glucose uniquement) sur ce paramètre et il a été montré que celui-ci avait un impact fort sur le flux de conversion du glycéraldéhyde3phosphate et dihydroacétate en fructose-6-Phosphate (U_{TP_FP} ; Figure 23). Ainsi le fait de modifier ce paramètre pourrait avoir des répercussions fortes sur les résultats obtenus.

Après résolution du problème de paramétrage, le modèle a arrêté de se comporter de manière explosive. De 0 à 50 minutes on peut observer la courbe représentant le compartiment glucose décroître de sa valeur de concentration initiale de 3 mmol/L à une valeur inférieure à 1 mmol/L (Figure 24 b). Pendant ce temps le compartiment du glucose-6-phosphate se remplit puis décroît à son tour. A partir de 50 min, on peut apercevoir un pic apparaissant toutes les 20 minutes correspondant à une entrée d'environ 1 mmol/L de glucose. A chaque pic, une augmentation de 0,3 mmol/L de la concentration du compartiment GP apparaît. Cette augmentation de la concentration dans ce compartiment dure 8 minutes (Figure 24 b).

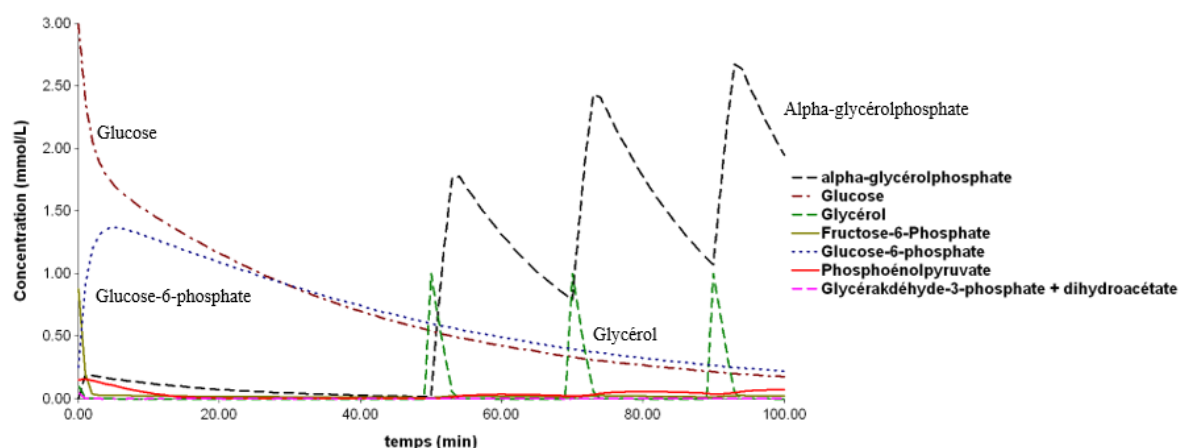
Les flux de conversion réversibles entrant ou sortant des compartiments du glucose et du glucose-6-phosphate semblaient donc important à étudier. Le flux d'entrée du glucose (U_{eGL_GP} ; Figure 24) augmente de 0,3 mmol/min lors de ce pic tandis que le flux de conversion du glucose-6-phosphate en fructose-6-phosphate (U_{GP_FP} ; Figure 23) augmente seulement de 0,02 mmol/min. Ainsi des analyses de sensibilité ont été faites sur les différents paramètres contenus dans l'équation de ces flux. Cette analyse a porté sur les constantes d'affinité associées à l'entrée de glucose (K_{GP_eGL}), à la conversion du glucose-6-phosphate en fructose-6-phosphate (K_{GP_FP}), et à la conversion de fructose-6-phosphate en glucose-6-phosphate (K_{FP_GP}) ainsi que sur la capacité maximale du flux d'entrée de glucose (V_{eGL_GP}). La constante d'affinité associée à la conversion du glucose-6-phosphate en fructose-6-phosphate (K_{GP_FP}) impacte le flux de sortie (U_{GP_eGL}) et d'entrée (U_{eGL_GP}) de glucose. La constante d'affinité associée à l'équation du flux de sortie de glucose (K_{GP_eGL}) impacte fortement le flux d'entrée de glucose ainsi que les flux réversibles de transformation du glucose-6-phosphate en fructose-6-phosphate. Enfin, la capacité maximale du flux d'entrée de glucose (V_{eGL_GP}) influe sur le flux de conversion de TP (glycéraldéhyde-3-phosphate + dihydroacétate) en fructose-6-phosphate (U_{TP_FP}).

Finalement, le temps de relargage de glucose et de glucose-6-phosphate est long (20 min) mais les compartiments se vident de manière cohérente et ces résultats restent en adéquation avec ceux obtenus lorsqu'il n'y a pas d'injection de glucose dans le modèle (Figure 24 b, Courbes de 0 à 50 min). Ces résultats confirment donc les réactions biochimiques in vivo.

4.2 Quartier métabolique 2 b) ; Participation du glycérol à la néoglucogénèse

Pour créer le quartier 2b, le compartiment glycérol (eGY) a été rajouté au quartier 2a (Figure 23 ; flux et compartiments de couleur orange). Cela dans le but d'étudier la participation du glycérol à la néoglucogénèse. Une injection périodique de ce composé chimique a été ajoutée au niveau du compartiment glycérol (INJ-eGY ; Figure 23).

Figure 25 : Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly *et al.* (1993) pour le quartier métabolique représentant la participation du glycérol à la néoglucogénèse (quartier 2 b).



La Figure 19 montre un pic de concentration de 1,75 mmol/L en α -glycérolphosphate lors des pulses périodiques de 1,2 mmol/L de glycérol. La concentration initiale d' α -glycérolphosphate augmente à chaque injection de glycérol dans le modèle. Le relargage du compartiment α -glycérolphosphate est très lent (plus de 20 minutes) comparé au compartiment glycérol qui se vide rapidement (10 min). Cela entraîne un déséquilibre des concentrations au sein des compartiments et une légère accumulation dans AGP lorsque $t > 100$ min. Ces résultats proviennent peut-être en partie du fait que l' α -glycérolphosphate peut aussi être transformé en triacylglycérides (voir quartier 1b) dans le modèle de Freetly *et al.* (1993) et que ce flux n'est pas pris en compte dans ce quartier. Il faudra donc attendre de rassembler les quartiers entre eux avant de conclure

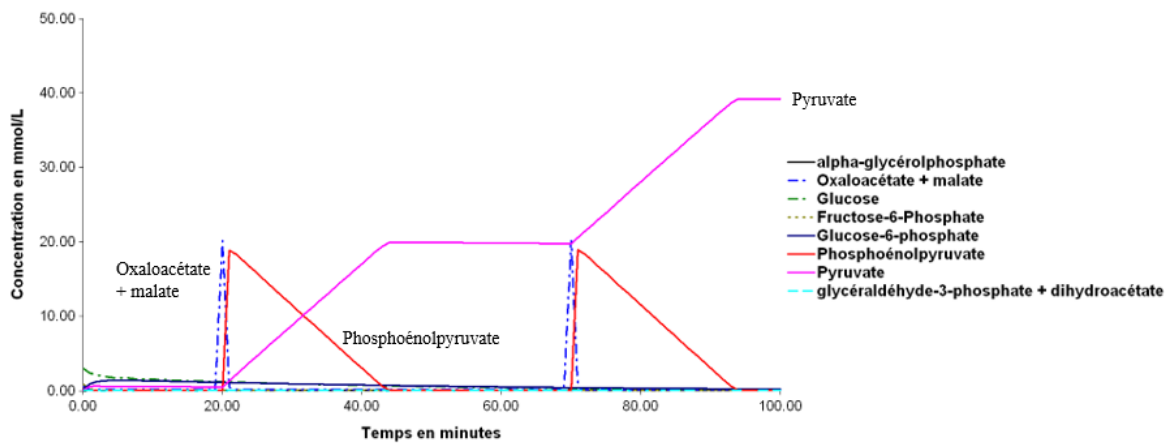
4.3 Quartier métabolique 2c : Interaction du Pyruvate, de l'oxaloacétate et du malate avec la néoglucogénèse

Ce quartier est identique au quartier du métabolisme du glucose (quartier 2 a) avec ajout des compartiments phosphoénolpyruvate (PE), pyruvate (PY) et oxaloacétate + malate (DC) ainsi que les flux associés à ces compartiments. Le pyruvate est un métabolite clé participant à la

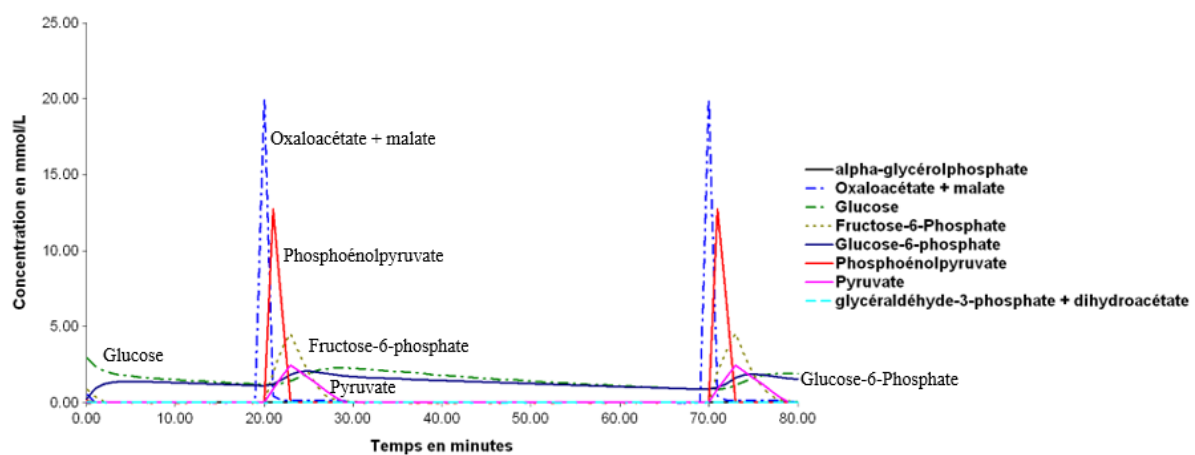
glycolyse, à la néoglucogenèse et au cycle de Krebs. Il est très important de bien étudier son effet sur le modèle et d'évaluer la justesse de la modélisation de ce carrefour métabolique. De plus, on a souhaité voir l'effet de DC (Oxaloacétate + malate) sur la néoglucogenèse et son interaction avec le pyruvate lorsqu'il n'est pas relié aux autres composants du cycle de Krebs. En effet, les seuls intermédiaires du cycle de Krebs participant directement à la néoglucogenèse sont ici l'oxaloacétate et le malate (compartiment DC) via le flux de conversion de l'oxaloacétate et du malate en phosphoénolpyruvate (U_DC_PE ; Figure 23).

Figure 26 a) et b) : Courbes des concentrations en nutriments ou composés chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier métabolique représentant l'interaction du pyruvate, de l'oxaloacétate et du malate avec la n

a) Avant changement du paramètre V_PE_TP



b) Après modification du paramètre V_PE_TP



Les pics d'entrées de DC (Oxaloacétate + malate) de 20 mmol/L entraînent une augmentation de la concentration en phosphoénolpyruvate de 18 mmol/L (Figure 26 a). Ce résultat est cohérent avec la réaction biochimique associée. De plus la courbe représentant le

compartiment glucose décroît passant de sa valeur initiale de 3 mmol/L à une valeur inférieure à 1 mmol/L. Pendant ce temps le compartiment glucose-6-phosphate se remplit puis décroît à son tour. Ainsi le pull de DC (Oxaloacétate + malate) n'a pas d'impact sur la néoglucogenèse, le compartiment phosphoénolpyruvate se déversant presque totalement dans celui du pyruvate. Ce résultat est préoccupant car, dans le modèle de Freetly *et al.* (1993), le DC (Oxaloacétate + malate) est le compartiment clé de la néoglucogenèse et tous les précurseurs de la formation de glucose (excepté le glycérol) sont convertis en oxaloacétate et malate.

Enfin le phosphoénolpyruvate présente un temps de relargage long (environ 15 min ; Figure 26 a).

Sur la Figure 26a on remarque aussi une forte accumulation au sein du compartiment pyruvate, qui s'accroît de 20 mmol/L à chaque pic de concentration d'oxaloacétate et de malate. Ce résultat n'est pas physiologiquement juste, il n'y a pas d'accumulation de pyruvate au sein des cellules hépatiques du ruminant. Deux hypothèses peuvent être émises afin d'expliquer ce phénomène. Cette accumulation peut être liée au fait que le pyruvate est normalement relié à d'autres compartiments tel que celui de l'acétyl-CoA mitochondrial au sein du modèle Freetly *et al.* (1993). Ou cette accumulation peut être toute ou en partie dû à une erreur dans la valeur des paramètres du modèle. En effet, les résultats obtenus ne montrent pas de participation du pyruvate à la néoglucogenèse ce qui est biochimiquement erroné et pourrait expliquer l'accumulation de pyruvate. Concernant la première hypothèse il faudra attendre la greffe des quartiers afin de pouvoir y répondre. Concernant ce quartier, seule la deuxième hypothèse a donc été étudiée.

La capacité maximale du flux de conversion du phosphoénolpyruvate en glycéraldéhyde-3-phosphate et dihydroacétate (V_PE_TP) avait été modifiée dans le quartier 1, il était alors égal à 0,079 mmol/min. Une nouvelle analyse de sensibilité a été faite et les résultats obtenus démontrent que ce paramètre impacte le flux de conversion du phosphoénolpyruvate en pyruvate (U_PE_PY). Une modification de ce paramètre a été faite afin de permettre au phosphoénolpyruvate de se déverser dans le compartiment TP (glycéraldéhyde-3-phosphate + dihydroacétate) et ainsi de participer à la néoglucogenèse. La valeur finale de V_PE_TP a été établie arbitrairement à 9 mmol/min.

Après modification de ce paramètre l'accumulation du pyruvate est corrigée (Figure 26 b). On observe une diminution d'environ 17 min du temps de relargage de phosphoénolpyruvate. A la fin de chaque pic de concentration de DC (oxaloacétate + malate) un pic de concentration de 4 mmol/L de Fructose-6-Phosphate apparaît ainsi qu'une augmentation d'environ 1 mmol/L de glucose et de Glucose-6-Phosphate (Figure 26 b). Le quartier 3 a aussi été testé avec cette

nouvelle valeur de paramètre et les résultats demeurent identiques à ceux obtenus précédemment.

En résumé, après modification du paramètre V_PE_TP, l'oxaloacétate et le malate participent à la formation de glucose via le phosphoénolpyruvate. Celui-ci ne s'accumule plus dans le compartiment pyruvate. Ainsi le quartier semble fonctionner correctement et les fonctions métaboliques semblent être respectées.

Dans un deuxième temps le compartiment lactate (eLA) a été ajouté afin d'évaluer la participation de ce nutriment à la néoglucogenèse (Figure 23 ; Flux et compartiments de couleur violette). Les résultats observés ne démontrent aucun effet du lactate sur la néoglucogenèse, ce qui ne représente pas la réalité biochimique. En effet, *in vivo* le lactate est un des précurseurs de la néoglucogenèse et un apport en lactate devrait ainsi augmenter la synthèse de glucose. Cela se traduirait dans le modèle par une augmentation des concentrations des compartiments du cycle des pentoses ainsi qu'une augmentation non négligeable du flux de sortie de glucose dû au pulse de lactate. Les paramètres des flux réversibles entre le compartiment lactate et pyruvate ont été étudiés. Aucune modification de ces paramètres n'a pu engendrer un changement dans les résultats observés.

4.4 Quartier métabolique 2d : Propionyl CoA et néoglucogenèse

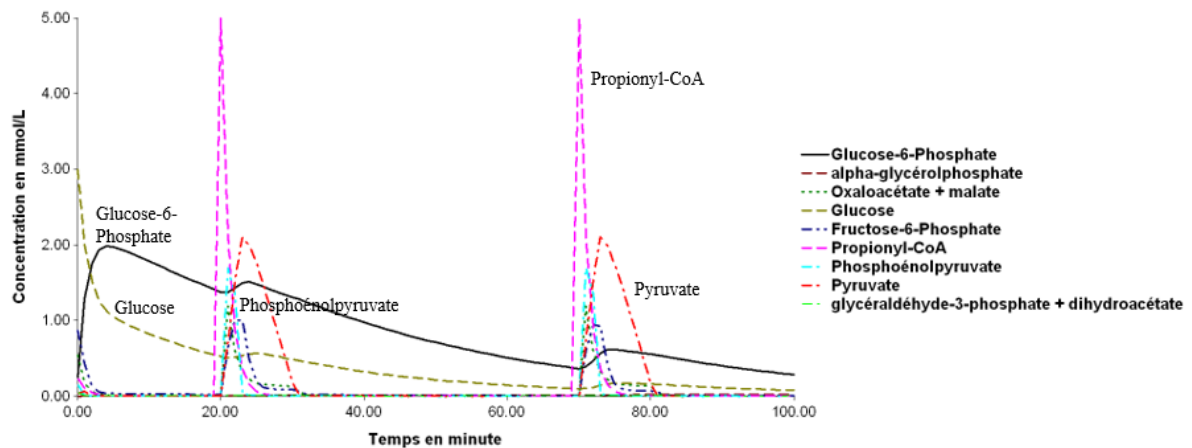
Le quartier 2d est formé par ajout du compartiment PC (propionyl-CoA) et flux U_PC_DC au quartier 2c (Figure 23). Le propionyl COA est l'intermédiaire du propionate et la participation de celui-ci à la néoglucogenèse peut être conséquente. Un pulse périodique de ce thioester a été rattachée au compartiment PC afin de tester son effet sur la néoglucogenèse.

Chaque impulsion de concentration de 5 mmol/L de propionyl-CoA est suivie d'une augmentation de 2 mmol/L des concentrations en phosphoénolpyruvate (Figure 27) et d'une augmentation plus légère des concentrations d'oxaloacétate et de malate (1 mmol/L). Le compartiment propionyl-CoA se déverse donc dans le compartiment phosphoénolpyruvate via le compartiment DC (Oxaloacétate + malate). Le flux de conversion de l'oxaloacétate et du malate en phosphoénolpyruvate U_DC_PE semble donc correct. On remarque également une légère augmentation des concentrations de glucose et de glucose-6-Phosphate à la fin de chaque pic de propionyl_CoA (Figure 27).

Le C3 est le principal précurseur de la néoglucogenèse et le propionylCoA est le produit de la métabolisation du C3. Pour être cohérent avec les réalités *in vivo* un pulse de propionylCoA doit entraîner une augmentation des concentrations des compartiments du cycle des pentoses

ainsi qu'une augmentation du flux de sortie de glucose. Les résultats obtenus sont donc biochimiquement cohérents et ce quartier semble donc bien fonctionner

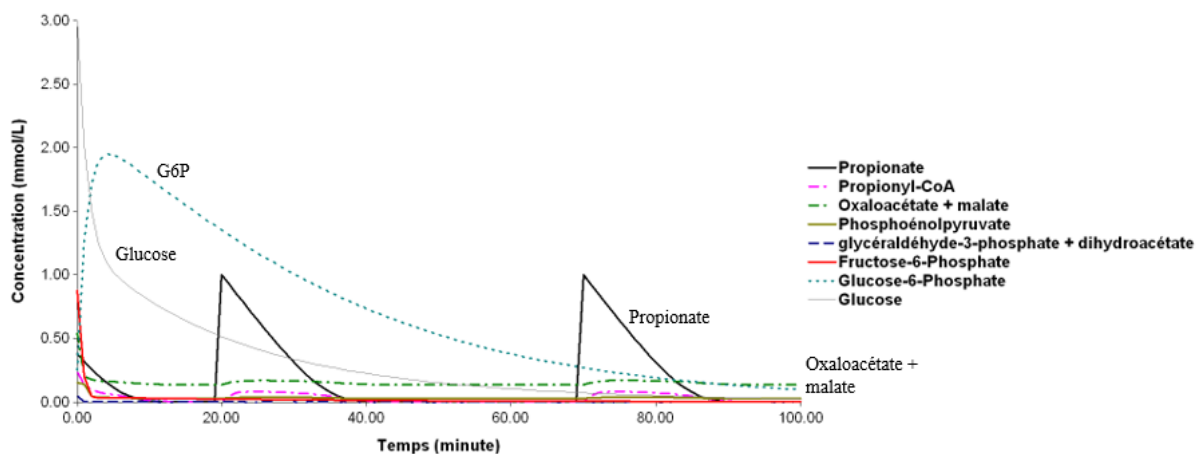
Figure 27 : Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier métabolique représentant la participation du Propionyl-CoA à la néoglucogénèse (quartier 2 d).



4.5 Quartier métabolique 2^e : Propionate comme précurseur de la néoglucogénèse

Le compartiment du C3 (ePR) ainsi que le flux U_ePR_PC ont été ajoutés au quartier représentant la participation du propionyl-CoA à la néoglucogénèse (quartier 2 d) dans le but de tester l'effet d'une injection de propionate sur la néoglucogénèse (Figure 23). L'isobutyrate (eIB), le valérate et le 2-méthylbutyrate (eVA) n'ont pas été testés ici car leur participation à la néoglucogénèse est négligeable comparée au C3.

Figure 28: Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier métabolique représentant la participation du propionate à la néoglucogénèse (quartier 2 e).



Il n'était pas possible de faire tourner le modèle lors de l'ajout du compartiment ePR (C3). Un problème de paramétrage a ainsi été suspecté. En effet, la capacité maximal du flux d'entrée de propionate (V_{ePR_PC}) était égal à 49 mmol/min. Cette valeur était trop élevée entraînant une valeur du flux d'entrée de propionate (U_{ePR_PC}) élevé. Le compartiment propionate se vidait donc trop vite dans le compartiment propionyl-CoA entraînant une impossibilité de fonctionnement du modèle. Dans un premier temps la valeur de ce paramètre a été établit à 1 mmol/min. Le modèle a montré alors un comportement explosif. Cette valeur a ensuite été abaissée à 0,25 mmol/min.

Après résolution de l'erreur de paramétrage, on constate un temps de relargage long du compartiment ePR. Ce compartiment met environ 20 min pour se vider (Figure 28). Il faudra donc porter attention à ce compartiment lors de l'utilisation du modèle de Freetly *et al.* (1993) complet.

Chez les animaux à l'entretien, le C3 participerait à hauteur de 50 % à la formation de glucose. Dans ce modèle, le flux de sortie de glucose ainsi que les concentrations des compartiments du cycle des pentoses en fonction de chaque pulse de C3 sont assez faibles et devraient donc être plus élevés pour représenter la néoglucogenèse *in vivo*.

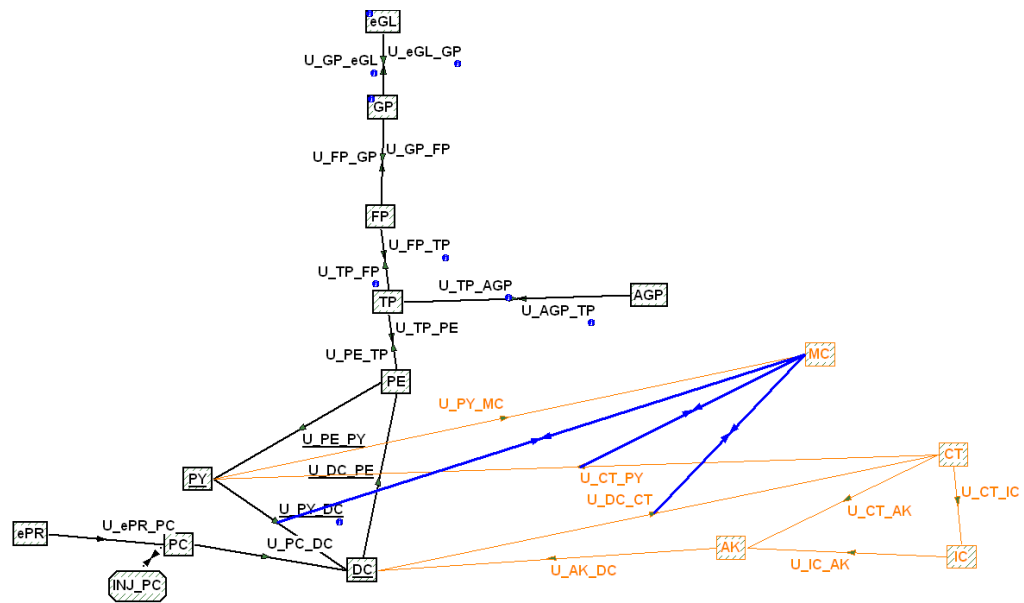
5) Quartier 3 : Cycle de Krebs

Le quartier 3 prend en compte la néoglucogenèse, le métabolisme du C3 ainsi que tous les intermédiaires du cycle de Krebs. Comparé au quartier 2e, on a rajouté le compartiment α -cétooglutarate (AK), Isocitrate (IC), acétyl-CoA mitochondrial (MC) et citrate (CT) ainsi que les flux associés (Figure 23).

Le compartiment de l'acétyl-CoA mitochondrial est défini en partie par le flux de conversion U_{DC_CT} , et les flux U_{CT_PY} et U_{PY_DC} prennent en compte le compartiment de l'acétyl-CoA mitochondrial dans leurs équations respectives (Figure 29). Ainsi des flux d'information sont représentés en bleu sur la Figure 29.

Dans ce quartier un pulse de propionyl-CoA a été établi. Il a été préférable d'injecter du propionyl-CoA plutôt que du propionate car le quartier représentant la participation du propionyl-CoA à la néoglucogenèse (quartier 2 d) montre de très bons résultats.

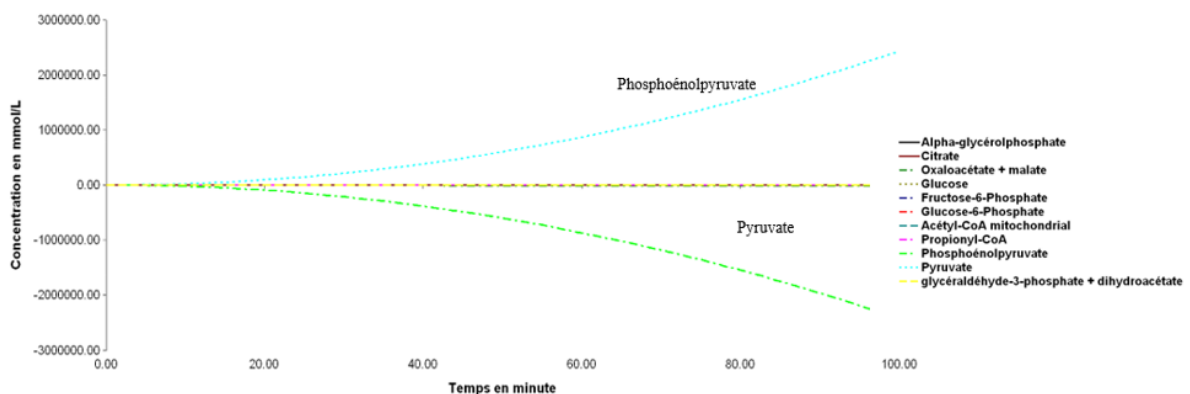
Figure 29 : Quartier du le métabolisme glucidique associé au cycle de Krebs (Quartier 3)



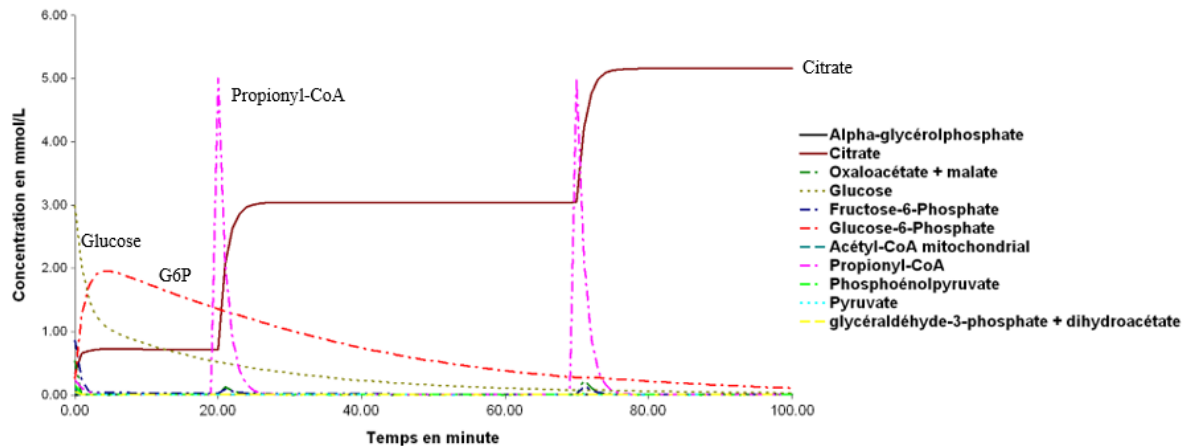
AGP ; α glycérolphosphate, **eGL** ; Glucose, **GP** ; Glucose-6-Phosphate, **FP** ; Fructose-6-phosphate, **TP** ; glycéraldéhyde-3-phosphate + dihydroacétate, **PE** ; Phosphoenolpyruvate, **DC** ;Oxaloacétate + malate, **PY** ; pyruvate, **PC** ; Propionyl-CoA, **ePR** ; propionate, **MC** ; acétyl-CoA mitochondrial, **CT** ; citrate, **IC** ; isocitrate, **AK** ; alpha-cétoglutarate, **INJ_ePR** ;injection de propionate, **U_A_B** ; flux de conversion du compartiment A au compartiment B. **En noir** ; quartier 2 e), **En orange** ; rajout du quartier 3), **En bleu** ; Flux d'information

Figure 30 a) et b): Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier représentant le cycle de Krebs (quartier 3).

a) Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier représentant le cycle de Krebs au complet



b) Courbes des concentrations en nutriments ou composées chimiques au sein des différents compartiments du modèle Freetly et al. (1993) pour le quartier représentant le cycle de Krebs sans les compartiments Isocitrate et α -cétoglutarate



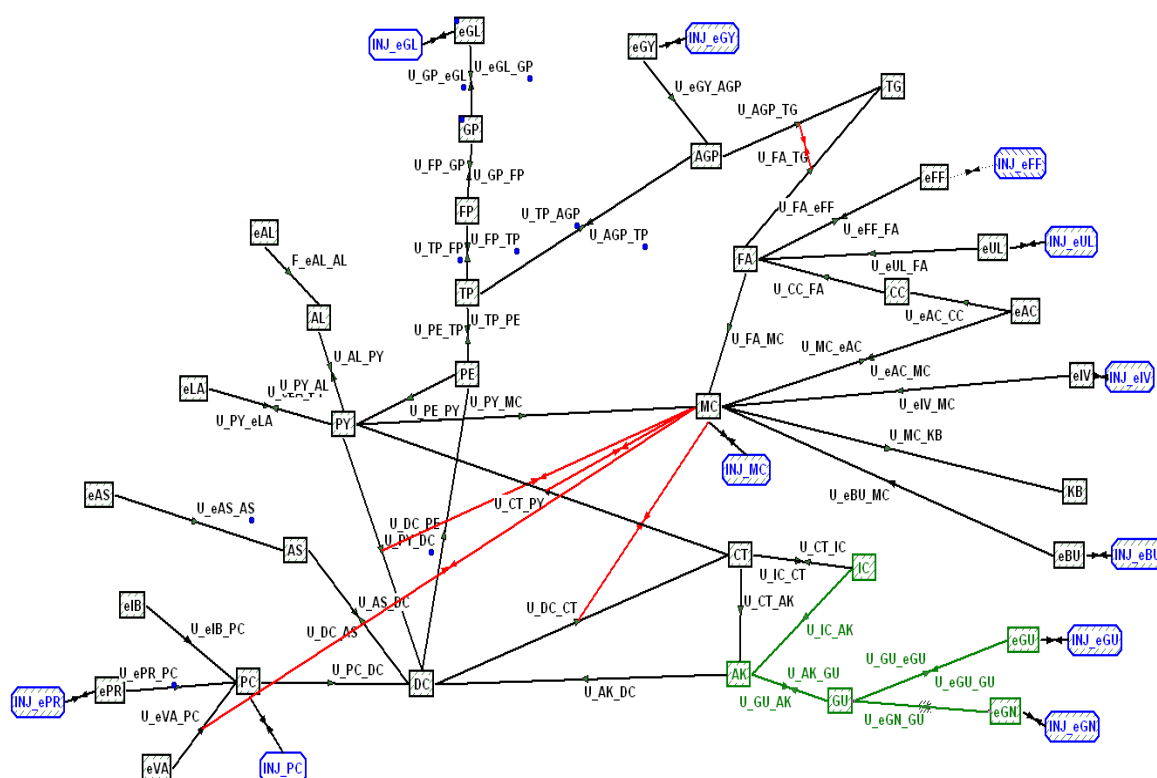
Le modèle présentait un comportement explosif (Figure 30a). Une augmentation des concentrations de pyruvate et des concentrations décroissantes et négatives en Phosphoénolpyruvate était observée, ce qui n'est pas cohérent avec l'*in vivo*. Ces résultats démontrent une impossibilité du modèle à évaluer les concentrations justes en nutriments.

Après avoir retiré les compartiments isocitrate et α -cétoglutarate ainsi que les flux associés, le modèle ne montrait plus de comportement explosif (Figure 30 b). L'accumulation dans le compartiment pyruvate a été corrigée dans le quartier 2c. Il existe néanmoins une accumulation dans le compartiment citrate qui s'accroît de 2,5 mmol/L à chaque injection de 5 mmol/L de propionyl-CoA.

Les résultats obtenus permettent de conclure qu'il existe probablement un problème structurel ou de paramétrage relatif aux compartiments α -cétoglutarate, isocitrate ou à l'un des flux associés à ces compartiments. Les différents paramètres associés à ces flux ont été évalués et modifiés. Aucun changement réalisé n'a néanmoins modifié les résultats obtenus.

6) Quartier 4 ; Greffe des quartiers métaboliques

Figure 31 : Quartier représentant le modèle de Freetly et al. (1993) au complet (Quartier 3).



eGY ; Glycérol, **AGP** ; α glycérolphosphate, **TG** ; Triacylglycérides ; **eFF** ; Entrée d'AG libres, **eUL** ; Lipides indéfinis, **FA** ; AG libres, **CC** ; Acétyl-CoA cytoplasmique, **eAC** ; Acétate, **MC** ; acétyl-CoA mitochondrial, **eGL** ; Glucose , **GP** ; Glucose-6-Phosphate, **FP** ; Fructose-6-phosphate, **TP** ; glycaldéhyde-3-phosphate + dihydroacétate, **PE** ; Phosphoénolpyruvate, **DC** ; Oxaloacétate + malate, **PY** ; pyruvate, **eLA** ; lactate, **PC** ; Propionyl-CoA , **ePR** ; propionate, **eIV** ; Isovalérate, **eBU** ; Butyrate, **eIB** ; Isobutyrate, **eVA** ; Valérate + 2-méthylbutyrate, **CT** ; citrate, **IC** ; isocitrate, **AK** ; alpha-cétoglutarate **INJ_eGY** ; injection de glycérol, **KB** ; Corps cétoniques, **eGU** ; entrée de glutamate, **eGN** ; glutamine, **INJ_eGL** ; injection de glucose, **INJ_DC** ; injection d'oxaloacétate et de malate, **INJ_PC** ; injection de propionyl-CoA, **INJ_eGN** ; injection de glutamate, **INJ_eGN** ; injection de glutamine, **INJ_eIV** ; injection d'isovalérate, **INJ_eBU** ; injection de butyrate, **INJ_ePR** ; injection de propionate, **INJ_MC** ; injection d'acétyl-CoA mitochondrial, **INJ_eFF** ; injection d'AG libres, **INJ_eUL** ; injection de lipides indéfinis **U_A_B** ; flux de conversion du compartiment A au compartiment B, **En rouge** ; Flux d'information , **En bleu** ; injections, **En vert** ; quartier rajouté dans un deuxième temps, **U_A_B** ; flux de conversion du compartiment A au compartiment B.

6.1 Quartier métabolique 4 a) ; Métabolisme lipidique et métabolisme du glucose

Dans un premier temps, tous les quartiers étudiés ont été réunis exception faite des compartiments alpha-glycérophosphate (AK), Isocitrate (IC), entrée de glutamate (eGU), glutamine (eGN) et glutamate (GU) ainsi que les flux qui leurs sont associés. Des pulses de glucose (INJ-eGL), de propionate (INJ-ePR), d'acétyl-CoA mitochondrial (INJ-MC) ainsi que de AG libres (INJ-eFF) ont été définis (Figure 31). L'accumulation au sein des compartiments α -glycérolphosphate et citrate subsiste. On observe également une accumulation en

triglycérides ce qui n'est pas gênant étant donné que le compartiment triglycérides est un compartiment de sortie du modèle.

Les résultats sont identiques à ceux des quartiers précédents et l'agrégation de ces quartiers n'a donc pas permis de résoudre les problèmes rencontrés.

6.2 Quartier métabolique 4 b : Modèle de Freetly

Dans un deuxième temps la totalité du modèle de Freetly *et al.* (1993) a été testé (Figure 31). Le modèle montre un comportement explosif identique à celui du quartier 3 avec des concentrations en phosphoénolpyruvate négatives et une impossibilité du modèle à évaluer et quantifier les différentes réactions biochimiques hépatiques représentées.

7) Conclusion :

La comparaison de modèles n'a pas pu aboutir en raison du comportement explosif du modèle de Freetly *et al.* (1993). Ce comportement semble dû à une erreur structurelle de la construction du modèle liée au fait que le compartiment MC est défini en partie par le flux U_DC_CT, et que les flux U_CT_PY et U_PY_DC prennent en compte le compartiment MC dans leurs équations respectives. Ces erreurs influent ainsi sur les compartiments α -cétoglutarate, isocitrate ou sur l'un des flux associé à ces compartiments. Par la suite une analyse approfondie sera nécessaire pour résoudre ce problème.

De plus, de nombreuses erreurs sur les paramètres ont été trouvées ce qui est étonnant venant d'un article scientifique publié. Des erreurs paramétriques ont ainsi été corrigées. Néanmoins certains quartiers présentent des comportements erronés qui n'ont pu être rectifiés. C'est le cas pour le lactate par exemple. Ces problèmes devront être résolus afin d'obtenir des prédictions justes lors de l'utilisation du modèle complet.

Enfin, cette étude a permis de mettre en lumière les compartiments avec un temps de relargage long et/ou les paramètres impactant les flux du modèle afin d'établir les points sensibles de ce dernier. Une forte attention devra être, par exemple, portée au propionate lors de l'utilisation futur du modèle.

CONCLUSION GENERALE

L'objectif de ce travail était d'évaluer le modèle hépatique (FLiver), proposé par Bahloul (2014).

Dans un premier temps, les résultats de cette évaluation étaient en accord avec les travaux de Bahloul (2014) et ont montré que la première version de FLiver (animaux en bilan énergétique positif) était un modèle bien calibré et stable qui permet une vision relativement réaliste du métabolisme hépatique chez des ruminants en bilan énergétique positif. Ce modèle est, en outre, bien partitionné en azote et en carbone.

De plus, cette évaluation a permis de mettre en évidence certains « points d'attention » du modèle qui seront à modifier à l'avenir. Ces points semblent néanmoins minimes et facilement modifiables. Les simulations ont notamment montré qu'il serait pertinent de rajouter une régulation sur les flux métaboliques liés au lactate afin de mieux prédire le flux de sortie de celui-ci.

Les analyses de sensibilité ont permis de rechercher les paramètres sensibles du modèle qui seront à prendre en compte lors de l'utilisation futur de FLiver (Bahloul, 2014).

Enfin, la comparaison de FLiver (Bahloul, 2014) avec le modèle proposé par Freetly *et al.* (1993) n'a pu aboutir totalement. En effet, l'implémentation du modèle de Freetly *et al.* (1993) dans le logiciel Model Maker a montré qu'en l'état (paramètres, compartiments et flux issus de la publication), il n'était pas possible de le faire fonctionner correctement. Son comportement peut être qualifié ici d'explosif dans le sens où les réactions métaboliques sont inexistantes, exceptés pour le pyruvate et le phosphoénolpyruvate. Les concentrations de ces composées varient soudainement et le pyruvate présente des concentrations négatives. De plus, certaines voies métaboliques semblent mal décrites dans la publication et des modifications des paramètres seront sûrement nécessaires à l'avenir. Par exemple, les contributions des précurseurs dans la néoglucogenèse ne sont pas réalistes et suggèrent un défaut dans la modélisation de cette voie.

Par la suite, et après résolution des problèmes cités ci-dessus, il sera possible de comparer quantitativement les modèles de Freetly *et al.* (1993) et FLiver (Bahloul, 2014). Pour ce faire, un même jeu de données devra être injecté dans les deux modèles. Ce jeu de données sera constitué des concentrations à l'équilibre des apparitions nettes portales en nutriments obtenues grâce aux études de méta-analyses (Loncke, 2009).

L'objectif de cette version 1 de FLiver était de proposer une méthode de construction d'un modèle de foie de ruminant de type Top-down, tout en s'assurant de sa cohérence globale avec les principales lois physiologiques et le métabolisme hépatique. Cette première étape a permis la mise en place du modèle et de ses paramètres sans toutefois prendre en compte la totalité des

aspects physiologiques du foie. Il a en effet été choisi de mettre en place un modèle de base solide avant de pouvoir prendre en compte les adaptations du métabolisme suite à un bilan énergétique négatif. La version 2 de FLiver intégrant le bilan énergétique négatif est en cours de développement et une première version est disponible (Bahloul, 2014). Celui-ci incorpore les principales voies du métabolisme des AG longs. Il est important de bien décrire ce métabolisme qui intervient notamment dans les phénomènes de stéatose et de cétose chez le ruminant (cf. partie bibliographie).

Plusieurs perspectives peuvent être émises concernant le futur du modèle FLiver (Bahloul, 2014). Dans un premier temps il serait bon de finir de développer FLiver version 2 afin d'avoir une bonne prise en compte du AG libres et des AGNE. FLiver qui est un modèle statique devra aussi être traduit en modèle dynamique afin de pouvoir l'utiliser plus systématiquement en pratique.

Il faudrait aussi tester le comportement de FLiver lorsque celui-ci est associé avec le nouveau système d'alimentation proposé par l'INRA (2018). Le projet associé à ce travail (Systali, 2018) a en effet permis une rénovation des tables d'alimentation INRA, alors que les équations charpentes utilisées ici sont définies dans le système d'évaluation des aliments INRA 2007. Ce nouveau système permet une optimisation des valeurs des aliments dans les tables ainsi que dans les rations grâce à un modèle plus mécaniste du tube digestif (Sauvant *et al.*, 2013).

D'autre part, FLiver (Bahloul, 2014) pourrait être utilisé afin de déterminer l'effet des hépatoprotecteurs sur le foie du ruminant. Une première ébauche de ce travail a été réalisée par Bahloul (2014).

En conclusion, le modèle de FLiver (Bahloul, 2014) pourrait être utilisé en pratique afin de répondre à différentes questions d'ordre métabolique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aiello, R. J., and L. E. Armentano. 1987. Gluconeogenesis in goat hepatocytes is affected by calcium, ammonia and other key metabolites but not primarily through cytosolic redox state. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 88B: 193-201.
- Andersson, L. 1988. Subclinical Ketosis in Dairy Cows, *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 4: 233-251.
- Annison, E. F., R. A. Leng, D. B. Lindsay, and R. R. White. 1963. The metabolism of acetic acid, propionic acid and butyric acid in sheep *Biochem. J.* 88: 248-252.
- Ash, R., and G. D. Baird. 1973. Activation of volatile fatty acids in bovine liver and rumen epithelium. Evidence for control by autoregulation. *Biochem. J.* 136:311-319.
- Bach, A. C., Y. Ingenbleek, and A. Frey. 1996. The usefulness of dietary medium-chain triglycerides in body weight control: fact or fancy? *J. Lipid Res.* 37: 708-726.
- Bahloul, L. 2014. Modélisation mécaniste de l'émission splanchnique de nutriments énergétiques chez le ruminants. . PhD Diss. AgroParisTech, Saint Genès Champanelle.
- Baldwin, R. L., J. France, and M. Gill. 1987. Metabolism of the lactating cow. I. Animal elements of a mechanistic model. *J. Dairy Res.* 54: 77-105.
- Ballard, F. J., R. W. Hanson, and D. S. Kronfeld. 1969. Gluconeogenesis and lipogenesis in tissues from ruminant and non-ruminant animals. *Fed. Proc.* 28: 218-231.
- Baird, G. D. 1977. Aspects of ruminant intermediary metabolism in relation to ketosis. *Biochem. Soc. Trans.* 5: 819-827.
- Baird, G. D., M. A. Lomax, H. W. Symonds, and S. R. Shaw. 1980. Net hepatic and splanchnic metabolism of lactate, pyruvate and propionate in dairy cows in vivo in relation to lactation and nutrient supply. *Biochem. J.* 186: 47-57.
- Baird, G. D. 1982. Primary ketosis in the high-producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. *J Dairy Sci.* 65: 1-10.
- Baird, G. D., J. G. van der Walt, and E. N. Bergman. 1983. Whole-body metabolism of glucose and lactate in productive sheep and cows. *The British journal of nutrition* 50: 249-265.
- Batistel, F, J. M. Arroyo, A. Bellingeri, L. Wang, B. Saremi, C. Parys, E. Trevisi, F. C. Cardoso, J. J. Looor. 2017. Ethyl-cellulose rumen-protected methionine enhances performance during the periparturient period and early lactation in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science.* 100: 7455-7467.
- Bars, H. L. 1991. Interrelations entre glycogénèse et lipogénèse chez les ruminants. *Bull. Acad. Vét. de France.* 64: 193-206.
- Basset, J. M. 1978. Endocrine factors in the control of nutrient utilization : ruminants. *Proc. Nutr. Soc.* 37: 273-279.
- Bauchart, D. 1993. Lipid absorption and transport in ruminants. *Journal of dairy science.* 76: 3864-3881.
- Bauchart, D., D. D. Gruffat, and D. Durand. 1996. Lipid absorption and hepatic metabolism in ruminants. *Proceedings of the Nutrition Society.* 55(1B): 39-47.
- Belitz, H. D. and W. Grosch. 1987. Reaction involved in food chemistry. *Food Chemistry.* Springer-Berlag, Berlin, Germany. p. 53-75.

- Bell, A. W. 1980. Lipid metabolism in liver and selected tissues and in the whole body of ruminant animals. *Prog Lipid Res.* 18: 117-164.
- Batistel, F., J. M. Arroyo, A. Bellingeri, L. Wang, B. Saremi, C. Parys, E. Trevisi, F. C. Cardoso, and J. J. Loor. Ethyl-cellulose rumen-protected methionine enhances performance during the periparturient period and early lactation in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science.* 100: 7455-7467.
- Benchaar, C., R. Moncoulon, C. Bayourthe and C. Vemay. 1993. Effects of a supply of raw or extruded white lupin seeds on protein digestion and amino acid absorption in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 72: 492-501.
- Bergman, E. N., D. J. Starr and S. S. Ruelins. 1968. Glycerol metabolism and gluconeogenesis in the normal and hypoglycaemic ketotic sheep. *Am. J. Physiol.* 215: 874-880.
- Bergman, E. N., W. E. Roe and K. Kon. 1966. Quantitative aspects of propionate metabolism and gluconeogenesis in sheep. *Am. J. Physiol.* 211: 793-799.
- Bergman, E. N., and J. E. Wolff. 1971. Metabolism of volatile fatty acids by liver and portal drained viscera in sheep. *Am. J. Physiol.* 221: 586-592.
- Bergman, E. N. 1975. Production and utilization of metabolites by the alimentary tract as measured in portal and hepatic blood. *Proc. 4th International Symposium on Ruminant Physiology, Armidale, NSW.* p1992-1305.
- Berthelot, V., S. G. Pierzynowski, D. Sauvant and N. B. Kristensen. 2002. Hepatic metabolism of propionate and methylmalonate in growing lambs. *Livest. Prod. Sci.* 74: 33-43.
- Borg, J., A. Reeber and C. Andrès. 2008. *Biochimie métabolique.* Ellipses Marketing. ISBN-10: 2729839720.
- Bryant, T. C., J. D. Rivera, M.L. Galyean, G. C. Duff, D. M. Hallford, T. H. Montgomery. 1999. Effects of dietary level of ruminally protected choline on performance and carcass characteristics of finishing beef steers and on growth and serum metabolites in lambs. *Journal of Animal Science.* 77: 2893–2903.
- Brindle, P. J., V. A. Zammit and C. L. Pogson. 1985. Inhibition of sheep liver carnitine palmitoyltransferase by methylmalonyl CoA. *Biochem. Soc. Trans.* 13: 880-881.
- Brockman, R. P. 1990. Effect of insulin on the utilization of propionate in gluconeogenesis in sheep. *The British journal of nutrition.* 64: 95-101.
- Brockman, R. P. 1993. Glucose and short chain fatty acid metabolism. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. J. M. Forbes and J. France, ed. CAB international, Cambridge. p249-265.
- Brockman, R. P. 1993. Roles for Insulin and Glucagon in the Development of Ruminant Ketosis A Review. *Can. vet. J.* 20: 121-126.
- Bruss, M. L. 1993. Metabolic fatty liver of ruminants. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 37: 417-449.
- Campbell, J. M., M. R. Murphy, R.A. Christensen and T. R. Overton. 1994. Kinetics of niacin supplements in lactating Dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77: 566-575.
- Casse, E. A., H. Rulquin and G. B. Huntington. 1994. Effect of mesenteric vein infusion of propionate on splanchnic metabolism in primiparous holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77: 3296-3303.

- Chandler, P. T., C. A. Brown, R. P. Johnston, G. K. MacLeod, R. D. MacCarthy, B. R. Moss, A. H. Rakes and L. D. Satter. 1976. Protein and methionine hydroxy analog for lactating cows. *J. Dairy Sci.* 59: 1897-1909.
- Chung, Y. H., N. E. Brown, C. M. Martinez, T. W. Cassidy, G. A. Varga. 2009. Effects of rumen-protected choline and dry propylene glycol on feed intake and blood parameters for Holstein dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Science.* 92: 2729 – 2736.
- Cook, R. M., S. C. C. Liu and S. Quraishi. 1969. Utilization of volatile fatty acids in ruminants. Iii. Comparison of mitochondrial acyl coenzyme a synthetase activity and substrate specificity in different tissues. *Biochemistry.* 8: 2966-2969.
- Cooke, R. F., N. S. Del Rio, D. Z. Caraviello, S. J. Bertics, M. H. Ramos, R. R. Grummer. 2007. Supplemental choline for prevention and alleviation of fatty liver in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 90: 2413–2418.
- Cuvelier, C., J. F. Cabaraux, I. Dufrasne, L. Istasse, J. L. Hornick. 2005. Production, digestion et absorption des acides gras chez le ruminant. *Annales Medecine Veterinaire.* 149 : 49-50.
- Danfaer, A. 1994. Nutrient metabolism and utilization in the liver. *Livest. Prod. Sci.* 39: 115-127.
- Danfaer, A., V. Tetens and N. Agergaard. 1995. Review and an experimental study on the physiological and quantitative aspects of gluconeogenesis in lactating ruminants. *Comparative Biochemistry and Physiology part B.* 111: 201-210.
- Danfaer, A. 1990. A dynamic model of nutrient digestion and metabolism in lactating dairy cows. PhD Diss. National Institute of Animal Science, Foulum, Denmark.
- Day, C. R., S. A. Kempson. 2016. Betaine chemistry, roles, and potential use in liver disease. *Biochim Biophys Acta.* 1860: 1098-106.
- Demigné, C., P. Fournoux, C. Rémésy and C. Yacoub. 1986. Utilisation des substrats glucoformateurs par les hépatocytes isolés de mouton. *Reprod. Nutr. Dev.* 26: 369370.
- Demigné, C., C. Yacoub, C. Morand, C. Rémésy. 1988. Les orientations du métabolisme intermédiaire chez les ruminants. *Reprod Nutr Dev.* 28: 1-17.
- Demigné, C., C. Yacoub, C. Morand, and C. Rémésy. 1991. Interaction between propionate and amino acid metabolism in isolated sheep hepatocytes. *The British journal of nutrition.* 65: 301-317.
- Dever, J. T. and A. A. Elfarra. 2008. L-methionine-dl-sulfoxide metabolism and toxicity in freshly isolated mouse hepatocytes: gender differences and inhibition with aminooxyacetic acid. *Drug Metab Dispos.* 36: 2252–2260.
- Dibner, J. J. and C. D. Knight. 1984. Conversion of 2-Hydroxy-4-(Methylthio) butanoic Acid to L-Methionine in the Chick: A Stereospecific Pathway, *The Journal of Nutrition.* 114: 1716–1723.
- Dietrich, L. S. 1971. Regulation of nicotinamide metabolism, *The American Journal of Clinical Nutrition.* 24: 800–804.
- Donkin, S. S., G. A. Varga, T. F. Sweeney, L. D. Muller. 1989. Rumen protected methionine and lysine : Effects on animal performance, with protein yield and physiological measures. *J. Dairy Sci.* 72: 1484-1491.

- Donkin, S. S., L. E. Armentano and S. J. Bertics. 1991. Gluconeogenesis from propionate, lactate and glycerol in bovine hepatocytes: Insulin and glucagon effects. *FASEB J.* 5:757 (Abstr.).
- Donkin, S. S. 2002. Rumen-protected choline: potential for improving health and production in dairy cows. *Tri-State Nutrition Conference.* p55–65.
- Doyle, P. T., N. R. Adams. 1980. Toxic effects of large amounts of dl-methionine infused into the rumen of sheep. *Australian Veterinary Journal.* 56: 331-334.
- Drackley, J. K., D. C. Beitz, J. W. Young. 1991. Regulation of In Vitro Metabolism of Palmitate by Carnitine and Propionate in Liver from Dairy Cows. *Journal of Dairy Science.* 74: 3014-3024.
- Drackley, J. K. and J. B. Andersen. 2006. Splanchnic metabolism of long-chain fatty acids in ruminants. *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism and Impact of Nutrition on Gene Expression, Immunology and Stress.* Wageningen Academic Publishers. p199-224.
- Ducker, G. S. and J. D. Rabinowitz. 2017. One-carbon metabolism in health and disease. *Cell Metab.* 25: 27–42.
- Durand, D., Y. Chilliard, D. Bauchart. 1992. Effects of lysine and methionine on in vivo hepatic secretion of VLDL in the high-yielding dairy cow. *J Dairy Sci.* 75: 279 (abstr).
- EFSA Journal 2011. Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). Scientific Opinion on safety and efficacy of choline chloride as a feed additive for all animal species. 9: 2353.
- EFSA, Journal 2012. Scientific Opinion on DL-methionine, DL-methionine sodium salt, the hydroxy analogue of methionine and the calcium salt of methionine hydroxy analogue in all animal species; on the isopropyl ester of methionine hydroxy analogue and DL-methionine technically pure protected with copolymer vinylpyridine/styrene in dairy cows; and on DL-methionine technically pure protected with ethylcellulose in ruminants. 10: 2623.
- EFSA Journal 2014. Scientific Opinion on the safety and efficacy of inositol as a feed additive for fish, dogs and cats. 12: 3671.
- EFSA. Journal 2017. Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP) Safety and efficacy of l-arginine produced by *Corynebacterium glutamicum* KCCM 80099 for all animal species. 15: 4858.
- EFSA Journal 2019. Safety and efficacy of l-arginine produced by fermentation with *Corynebacterium glutamicum* KCCM 80182 for all animal species. 17: 5696.
- Eisemann, J. H., and J. A. Nienaber. 1990. Tissue and whole-body oxygen uptake in fed and fasted steers. *Br. J. Nutr.* 64: 399-411.
- Eklund, M., E. Bauer, J. Wamatu, and R. Mosenthin. 2005. Potential nutritional and physiological functions of betaine in livestock. *Nutr. Res. Rev.* 18: 31–48.
- Ellinger, P. and M. M. Kader. 1949. Nicotinamide metabolism in mammals. *The Biochemical journal.* 44: 77-87.
- Emery, R. S., J. S. Liesman and T. H. Herdt. 1992. Metabolism of long chain fatty acids by ruminant liver. *J. Nutr.* 122: 832-837.
- Erdman, R. A. and B. K. Sharma. 1991. Effect of dietary rumen-protected choline in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74: 1641–1647.

- Erickson, P. S., A. M. Trusk and M. R. Murphy. 1990. Effects of niacin source on epinephrine stimulation of plasma nonesterified fatty acid and glucose concentrations, on diet digestibility and on rumen protozoal numbers in lactating dairy cows. *J. Nutr.* 120: 1648.
- Fox, D. G., C. J. Sniffen, J. D. O'Conner, J. B. Russell and P. J. Van Soest. 1990. The Cornell net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. *Agriculture*. 34: 7-83.
- Freetly, H. C., J. R. Knapp, C. C. Calvert and R. L. Baldwin. 1993. Development of a mechanistic model of liver-metabolism in the lactating cow. *Agric. Sys.* 41: 157-195.
- Gerloff B. J., T. H. Herdt, W. W. Wells, J. S. Liesman and R. S. Emery. 1986. Inositol and hepatic lipidosis. I. Effect of inositol supplementation and time from parturition on liver and serum lipids in dairy cattle. *J Anim Sci.* 62: 1682-92.
- Greenfield R. B., M. J. Cecava, T. R. Johnson and S. S. Donkin. 2000. Impact of Dietary Protein Amount and Rumen Undegradability on Intake, Peripartum Liver Triglyceride, Plasma Metabolites, and Milk Production in Transition Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science.* 83: 703-710.
- Glickman, R. M. and S. M. Sabesin. 1982. Lipoprotein metabolism. In: I. M. Arias, H. Popper, D. Schachter and D. A. Shfritz (eds.) *The liver: Biology and pathobiology.* Raven Press. New York, USA. p. 123-167.
- Graulet, B., C. Richard, J. C. Robert. 2005. Methionine Availability in Plasma of Dairy Cows Supplemented with Methionine Hydroxy Analog Isopropyl Ester. *Journal of Dairy Science.* 88: 3640 – 3649.
- Gruffat, D., D. Durand, B. Graulet, and D. Bauchart. 1996. Regulation of VLDL synthesis and secretion in the liver. *Reprod. Nutr. Dev.* 36: 375-389.
- Grummer, R. R. 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76: 3882-3896.
- Gudjonsson H., B. U. K. Li, A. L. Shug. 1985. Studies of carnitine metabolism in relation to intestinal absorption. *Amer. J. Physiol.* 248: 313-319.
- Guzman, M. and M. J. H. Geelen. 1993. Regulation of fatty acid oxidation in mammalian liver. *Biochim. Biophys. Acta.* 1167: 227-241.
- Hanigan, M. D., L. A. Crompton, C. K. Reynolds, D. Wray-Cahen, M. A. Lomax and J. France. 2004. An integrative model of amino acid metabolism in the liver of the lactating dairy cow. *J. Theor. Biol.* 228: 271-289.
- Harmeyer, J. and H. P. Sporleder. 2003. Interactions of the rumen with l-carnitine when used as a feed supplement. *Acta Vet. Scand.* 44:14.
- Harmon, D. L. 1992. Impact of nutrition on pancreatic exocrine and endocrine secretion in ruminants: A review. *J. Anim. Sci.* 70: 1290-1301.
- Harmon, D. L., K. L. Gross, C. R. Krehbiel, K. K. Kreikemeier, M. L. Bauer and R. A. Britton. 1991. Influence of dietary forage and energy intake on metabolism and acylCoA synthetase activity in bovine ruminal epithelial tissue. *J. Anim. Sci.* 69: 41174127.
- Hearn, T. J., A. E. Coleman, J. C. Lai, O. W. Griffith and Cooper A. J. 1989. Effect of orally administered L-carnitine on blood ammonia and L-carnitine concentrations in portacaval-shunted rats. *Hepatology.* 10: 822-828.

- Hocquette, J. F. and D. Bauchart. 1999. Intestinal absorption, blood transport and hepatic and muscle metabolism of fatty acids in preruminant and ruminant animals. *Reprod. Nutr. Dev.* 39: 27-48.
- Huntington, G. B., 1997. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *J. Anim. Sci.* 75:852-867
- Herd, T. H. 2000. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 16: 215-30, v. Review.
- Heuter, P. G., J. C. Shaw and R. N. Doetsch. 1956. Absorption and dissimilation of lactates added to the bovine rumen and the resulting effects on blood glucose. *J. Dairy Sci.* 39: 1430-1437.
- Hippen, A. R. 2000. Glucagon as a potential therapy for ketosis and fatty liver. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* 16: 267-282.
- Huyler, M. T., R. L. Kincaid and D. F. Dostal. 1999. Metabolic and Yield Responses of Multiparous Holstein Cows to Prepartum Rumen-Undegradable Protein, *Journal of Dairy Science.* 82: 527-536.
- Illiadis, A. 2017. Cours de modélisation. Master Pharmacocinétique. Faculté de Pharmacie de Marseille.
- INRA 2018. Inra Feeding System for ruminants. 640p. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherland.
- Jahoor, F., A. A. Jackson and M. H. Golden. 1988. In vivo metabolism of nitrogen precursors for urea synthesis in the postprandial rat. *Ann. Nutr. Metab.* 32: 240-244.
- Jayaprakash, G., M. Sathiyabarathi, M. A. Robert and T. Tamilmani. 2016. Rumen-protected choline: A significance effect on dairy cattle nutrition. *Veterinary world.* 9: 837-841.
- Jorritsma, R. 2000. Relationships between fatty liver and fertility and some periparturient diseases in commercial Dutch dairy herds. *Theriogenology.* 54: 1065-1074.
- Kandyli, K. 1984. Toxicology of Sulfur in Ruminants: Review. *J Dairy Sci.* 67: 2179-87.
- Kanyinji, F., H. Kumagai, T. Maeda, S. Kaneshima, D. Yokoi. 2009. Effects of supplementary inosine on nutrient digestibility, ruminal fermentation and nitrogen balance in goats fed high amount of concentrate. *Animal Feed Science and Technology.* 152: 12-20.
- Kleppe, B. B., R. J. Aiello, R. R. Grummer, et al. 1988. Triglyceride accumulation and very low density lipoprotein secretion by rat and goat hepatocytes in vitro. *J Dairy Sci.* 71: 1813.
- Kleemann A., W. Leuchtenberger, B. Hoppe and H. Tanner. 1985. Amino acids. *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry.* A2: 57-97.
- Kim, S., W. K. Paik and P. P. Cohen. 1972. Ammonia Intoxication in Rats: Protection by N-Carbamoyl-L-Glutamate Plus L-Arginine. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 69: 3530-3533.
- Kirata, D., Y. Matsudab, N. Yamashikib, H. Hayashia and S. Kato. 2007. Expression, cellular localization, and functional role of monocarboxylate transporter 4 (MCT4) in the gastrointestinal tract of ruminants. *Gene.* 391: 140-149.
- Knowles, S. E., I. G. Jarrett, O. H. Filsell and F. J. Ballard. 1974. Production and utilization of acetate in mammals. *Biochem. J.* 142: 401-411.

- Kreikemeier, K. K. and D. L. Harmon. 1995. Abomasal glucose, maize starch and maize dextrin infusions in cattle - small-intestinal disappearance, net portal glucose flux and ileal oligosaccharide flow. *The British journal of nutrition*. 73: 763-772.
- Kristensen, N. B. and D. L. Harmon. 2004. Splanchnic metabolism of volatile fatty acids absorbed from the washed reticulorumen of steers. *J. Anim. Sci.* 82: 2033-2042.
- Kristensen, N. B. and Larsen M. 2013. Precursors for liver gluconeogenesis in periparturient dairy cows. *Animal*. 7: 1640-50.
- Krogh, N. 1959. Studies on alterations in the rumen fluid of sheep, especially concerning the microbial composition, when readily available carbohydrates are added to the food Sucrose. *Acta Vet Scand.* 1: 74.
- Kung, Jr. L. and Rode L. M. 1996. Amino acid metabolism in ruminants. *Animal Feed Science Technology*. 59: 167- 172.
- Laplaud, P. M., D. Bauchart, D. Durand, L. Beaubatie and M. J. Chapman. 1991. Intestinal lymph and plasma lipoproteins in the preruminant calf: partial resolution of particle heterogeneity in the 1.040-1.090 g/ml interval. *J. Lipid Res.* 32: 1429-1439.
- Lapierre, H., R. Berthiaume, G. Raggio, M.C. Thivierge, L. Doepel, D. Pacheaco, P. Dubreuil and G.E. Lobley. 2005. The route of absorbed nitrogen into milk protein. *Anim. Sci.* 80: 11-22.
- Lapierre, H., G. Holtrop, A. G. Calder, J. Renaud, and G. E. Lobley. 2012. Is D-methionine bioavailable to the dairy cow? *J. Dairy Sci.* 95: 353-362.
- Larsen, M. and N. B. Kristensen. 2013. Precursors for liver gluconeogenesis in periparturient dairy cows. *J. Anim. Sci.* 7: 1640-1650.
- Li H., H. Wang, L. Yu, M. Wang, S. Liu, L. Sun and C. Qing. 2015. Effects of supplementation of rumen-protected choline on growth performance, meat quality and gene expression in *longissimus dorsi* muscle of lambs, *Archives of Animal Nutrition*. 69: 340-350.
- Lobley, G. E. and G. D. Milano. 1997. Regulation of hepatic nitrogen metabolism in ruminants. *Proc. Nutr. Soc.* 56: 547-563.
- Lobley, G. E. 2003. Protein turnover – what does it mean for animal production? *Can. J. Anim. Sci.* 83: 327–340.
- Lobley, G. E., T. J. Wester, G. Holtrop, J. J. Dibner, D. S. Parker and M. Vazquez-Anon. 2006. Absorption and digestive tract metabolism of 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid in lambs. *J Dairy Sci.* 89: 3508-21.
- Lobley, G. E., T. J. Wester, A. G. Calder, D. S. Parker, J. J. Dibner and M. Vázquez-Añón. 2006. Absorption of 2-Hydroxy-4-Methylthiobutyrate and Conversion to Methionine in Lambs. *Journal of Dairy Science*. 89: 1072-1080.
- Loerch, S. C. and B. O. Oke. 1989. Rumen protected amino acids in ruminant nutrition. *Absorption and utilization of amino acids*. CRC Press. 3: 187-200.
- Löffler, M., E. A. Carrey and E. Zameitat. 2018. New perspectives on the roles of pyrimidines in the central nervous system. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*. 37: 290-306.
- Lomax, M. A. and G. D. Baird. 1983. Blood flow and nutrient exchange across the liver and gut of the dairy cow. Effects of lactation and fasting. *The British journal of nutrition*. 49: 481-496.

- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapiere, D. Sauvant and P. Nozière. 2007. Assessment of duodenal starch as a predictor of portal absorption of glucose in ruminants. ISEP.
- Loncke, C. 2009. Modélisation des relations entre l'alimentation et les flux splanchniques de nutriments énergétiques chez le ruminant. PhD Diss. AgroParisTech, INRA, Theix.
- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapiere, D. Sauvant and P. Nozière. 2009. Empirical prediction of net portal appearance of volatile fatty acids, glucose, and their secondary metabolites (beta-hydroxybutyrate, lactate) from dietary characteristics in ruminants: A meta-analysis approach. *J. Anim. Sci.* 87: 253-268.
- Loncke, C., P. Nozière, L. Bahloul, J. Vernet, H. Lapiere, D. Sauvant and I. Ortigues. 2014. Empirical prediction of net splanchnic release of ketogenic nutrients, acetate, butyrate and β -hydroxybutyrate in ruminants: a meta-analysis. *Anim. Sci.*: "in press".
- Loncke, C., I. Ortigues-Marty, J. Vernet, H. Lapiere, D. Sauvant and P. Nozière. 2015. Empirical prediction of splanchnic release of acetate, butyrate and beta hydroxybutyrate in ruminants: a meta-analysis. *Animal*. 9: 449-463.
- Loncke, C., P. Nozière, J. Vernet, H. Lapiere, L. Bahloul, M. Al-Jammas, D. Sauvant and I. Ortigues-Marty. 2019a. Net hepatic release of glucose from precursor supply in ruminants : a meta-analysis. En préparation pour *Animal*.
- Loncke C., D. Sauvant, I. Ortigues-Marty, P. Nozière, J. Vernet and L. Bahloul. 2019b. Net hepatic fluxes of urea and ammoniac in ruminants : a meta-analyses approach. ISEP.
- Lozano, O., C. B. Theurer, A. Alio, J. T. Huber, A. Delgado-Elorduy, P. Cuneo, D. DeYoung, M. Sadik and R. S. Swingle. 2000. Net absorption and hepatic metabolism of glucose, l-lactate, and volatile fatty acids by steers fed diets containing sorghum grain processed as dry-rolled or steam-flaked at different densities. *J. Anim. Sci.* 78:1364-1371.
- Majdoub, L. 2002. Orientation propionique du profil fermentaire ruminal : Conséquence sur le métabolisme splanchnique des nutriments énergétiques et sur la fourniture et l'utilisation du glucose par le muscle chez l'agneau recevant du fourrage vert. PhD Diss. ENSAR, Rennes.
- Majdoub, L., M. Vermorel and I. Ortigues-Marty. 2003. Ryegrass-based diet and barley supplementation: Partition of energy-yielding nutrients among splanchnic tissues and hind limbs in finishing lambs. *J. Anim. Sci.* 81: 1068-1079.
- Marcos, E., A. Mazur, P. Cardot and Y. Rayssiguier. 1990. The effect of pregnancy and lactation on serum lipid and apolipoprotein B and A-I levels in dairy cows. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 64: 133-138.
- Martin, O. and D. Sauvant. 2007. Dynamic model of the lactating dairy cow metabolism. *J. Anim. Sci.* 1: 1143-1166.
- Martin-Venegas, R., M. J. Rodriguez-Lagunas, P. A. Geraert and R. Ferrer. 2007. Monocarboxylate transporter 1 mediates DL-2-Hydroxy-(4methylthio) butanoic acid transport across the apical membrane of Caco-2 cell monolayers. *J Nutr.* 137: 49-54.
- Martin-Venegas, R., P. A. Geraert and R. Ferrer. 2008. Partial Na⁺ dependence of DL-2hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid uptake in the chicken small intestine. *Poult Sci.* 87 :1392-1394.

- Mazur, A., E. Gueux, Y. Chilliard and Y. Rayguissier. 1986. Évolution des lipides et lipoprotéines plasmatiques chez la vache en début de lactation. *Repro. nutr. dévelop.* 26: 357-358.
- Niculescu, M. D., Zeisel S. H. 2002. Diet, methyl donors and DNA methylation: interactions between dietary folate, methionine and choline. *J Nutr.* 132:2333S-2335S.
- Milano, G. D. 1997. Liver nitrogen transactions in sheep (*Ovis aries*). PhD Diss. Aberdeen, Ecosse.
- Mitchell, A. D., A. Chappell and K. L. Knox. 1979. Metabolism of Betaine in the Ruminant. *J Anim Sci.* 49:764-774.
- Moller, P. D., L. Diernaes, J. Sehested, J. Hyldgaard-Jensen and E. Skadhauge. 1997. Lactate transport across bovine rumen epithelium in vitro. *Journal of Veterinary Medicine.* 44: 31-38.
- Ndi Bualonji, B. B. and J. M. Godeau. 1993. La néoglucogénèse et les acides aminés chez les ruminants. *Revue. Ann. Med. Vet.* 137: 537-554.
- Nocek, J. E. and S. Tamminga. 1991. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *J Dairy Sci.* 74: 3598-3629.
- NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Oatway, L., T. Vasanthan and J. H. Helm. 2001. Phytic Acid. *Food Reviews International.* 17: 419-431.
- Offner, A. and D. Sauvant. 2004. Prediction of in vivo starch digestion in cattle from in situ data. *Animal Feed Science and Technology.* 111: 41-56.
- Offner, A. and Sauvant D. 2006. Thermodynamic modeling of ruminal fermentations. *Anim. Res.* 55: 343-365.
- Olagaray, K. E., J. E. Shaffer, C. K. Armendariz, A. Bellamine, S. Jacobs, E. C. Titgemeyer and B. J. Bradford. 2017. Relative bioavailability of carnitine delivered by ruminal or abomasal infusion or by encapsulation in dairy cattle. *Journal of Dairy Science.* 101: 2060-2071.
- Onodera, R. and R. Migita. 1984. Metabolism of threonine, methionine and the related compounds in mixed rumen ciliate protozoa. *J Protozool.* 32: 326-330.
- Ortigue-Marty, I., D. Dardevet and I. Savary-Auzeloux. 2003. Role of the liver in the regulation of energy and protein status. *Progress in research on energy and protein metabolism, Rostock-Warnemünde, Allemagne.* p83-98.
- Ortigue-Marty, I., D. Micol, S. Prache, D. Dozias, D. and C.L. Girard. 2005. Nutritional value of meat: influence of nutrition and physical activity on vitamin B12 concentrations in ruminant tissues. *Reprod. Nutr. Dev.* 45: 453-467.
- Panda, S., N. Panda, K. K. Panigrahy, S. K. Gupta, S.P. Mishra and M. Laishram. 2017. Role of niacin supplementation in dairy cattle: A review. *Asian J. Dairy & Food Res.* 36: 93-99.
- Pethick, D. W., D. B. Lindsay, P. J. Barker and A. J. Northrop. 1981. Acetate supply and utilization by the tissues of sheep in vivo. *Br. J. Nutr.* 46: 97-110.

- Pfauder, W. H., W. C. Ellis, G. B. Garner and M. E. Muhrer. 1956. The absorption of glucose, lactic acid, potassium nitrate, and potassium nitrite from the rumen of mature wethers. *J. Anim. Sci.* 15: 1292 (Abstr.).
- Phillipson, A. T. and R. A. McAnally. 1942. Studies on the fate of carbohydrate in the rumen of the sheep. *J. Exp. Biol.* 19: 199-214.
- Pinotti, L. and A. Baldi. 2006. Choline metabolism in high-producing dairy cows: Metabolic and nutritional basis. *Canadian Journal of Animal Science.* 86: 207-212.
- Piepenbrink, M. S. and T. R. Overton. 2003. Liver metabolism and production of cows fed increasing amounts of rumen protected choline during the periparturient period. *J Dairy Sci* 86: 1722–1733.
- Pomfret, E. A., K. A. DaCosta, L. L. Schurman and S. H. Zeisel. 1989. Measurement of choline and choline metabolite concentrations using high-pressure liquid chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical Biochemistry.* 180: 85-90.
- 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.* Volume 68: 1395-1399.
- Raisonnier, A, 2003-2004. Réserves Energétiques. *Biochimie PCEM2 Biochimie métabolique et Régulations C1.* Consulté sur <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/REbioch/POLY.TDM.html>.
- Rémésy, C., Y. Chilliard, Y. Rayssiguier, A. Mazur and C. Demigné. 1986. Liver metabolism of carbohydrates and lipids in ruminants: Principal interaction during gestation and lactation. *Reprod. Nutr. Dev.* 26: 205-226.
- Rémésy, C., C. Demigné and C. Morand. 1995. Metabolism of short chain fatty acids in the liver. *Physiological and clinical aspects of short chain fatty acids.* J. H. Cummings, J. L. Rombeau and T. Sakata, ed. Univ. Press, Cambridge, U.K. p 171.
- Remond, D., J. P. Chaise, E. Delval and C. Poncet. 1993. Net flux of metabolites across the ruminal wall of sheep fed twice a day with orchardgrass hay. *J. Anim. Sci.* 71: 2529-2538.
- Reynolds, C. K., H. F. Tyrrell and P. J. Reynolds. 1991. Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: Whole body energy and nitrogen balance and visceral heat production. *J. Nutr.* 121: 1004-1015.
- Reynolds, C. K., H. Lapierre, H. F. Tyrrell, T. H. Elsasser, R. C. Staples, P. Gaudreau and P. Brazeau. 1992. Effects of growth hormone-releasing factor and feed intake on energy metabolism in growing beef steers: Net nutrient metabolism by portal-drained viscera and liver. *J. Anim. Sci.* 70: 752-763.
- Reynolds, C. K. 1995. Quantitative aspects of liver metabolism in ruminants. *Ruminant physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction.* W. Engelhardt, S. Leonhard-Marek, G. Breves and D. Giesecke, ed. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, Germany. p351-371.
- Reynolds, C.K. 2005. Glucose balance in cattle. *Proc. 17th Annual Meeting of the 5 Florida Ruminant Nutrition Conference, Gainesville, Florida.* p143-154.

- Rogers, J. A., U. K. Krishnamoorthy and C. J. Sniffen. 1987. Plasma amino acids and milk protein production by cows fed rumen-protected methionine and lysine. *J. Dairy Sci.* 70: 789-798.
- Rogers, J. A., S. B. Pierce-Sandner, A. M. Papas, C. E. Polan, C. J. Sniffen, T. V. Muscato, C. R. Staples and J. H. Clark. 1989. Production responses of dairy cows fed various amounts of rumen protected methionine and lysine. *J. Dairy Sci.* 72: 1800-1817.
- Roy, S. E., J. S. Liesman and T. H. Herdt. 1992. Metabolism of Long Chain Fatty Acids by Ruminant Liver. *The Journal of Nutrition.* 122: 832–837.
- Saunderson, C. L. 1985. Comparative metabolism of L-methionine, DL-methionine and DL-2-hydroxy 4-methylthiobutanoic acid by broiler chicks. *Br J Nutr.* 54: 621-33.
- Sauvant, D. and D. R. Mertens. 2008. Use of meta-analysis to build a mechanistic model of responses of rumen digestion to dietary fibre in cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 88: 730.
- Schwab, C. G., M. T. Socha and N. L. Whitehouse, , 1993. Opportunities for rumen protected lysine and methionine in lactating dairy cow nutrition. Rhone-Poulenc Animal Nutrition Symposium, Guelph, Ontario, p3-28.
- Seal, C. J. and C. K. Reynolds. 1993. Nutritional implications of gastrointestinal and liver metabolism in ruminants. *Nutrition Research Reviews.* 6: 185-208.
- Sensenig, S. C., D. J. Dawes and R. N. Heitmann. 1985. Energy metabolite concentrations and net fluxes across splanchnic and peripheral tissues in pregnant ewes. *J. Anim. Sci.* 61: 454 (Abstr.).
- Sharma, B. K. and Erdman R. A. 1988. Effects of High Amounts of Dietary Choline Supplementation on Duodenal Choline Flow and Production Responses of Dairy Cows. *J Dairy Sci.* 71:267-2676.
- Stangassinger, M., and D. Giesecke. 1986. Splanchnic metabolism of glucose and related energy substrates. pages 347-366 in: *Control of digestion and metabolism in ruminants.* Prentice Hall, Englewood Cliffs, USA.
- Sun, F. F., Y. C. Cao, C. J. Cai, S. X. Li, C. Yu and J. H. Yao. 2016. Regulation of nutritional metabolism in transition dairy cows: Energy homeostasis and health in response to post-ruminal choline and methionine. *PLoS One.* 8: e0160659.
- Tamura, T., K. Inoue, H. Nishiki, M. Sakata, M. Seki, T. Koga, Y. Ookubo, S. Sato, K. Saitou, H. Shinohara, T. Kuraisi, H. Kajikawa, M. Kurihara. 2019. Effects of rumen-protected methionine on milk production in early lactation dairy cattle fed with a diet containing 14.5% crude protein. *Animal science journal.* 90: 62-70.
- Tao, R. C., R. E. Kelley, N. N. Yoshimura and F. Benjamin. 1983. Glycerol: Its Metabolism and Use as an Intravenous Energy Source. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition.* 7: 479-488.
- Tibbetts, A.S. and D. R. Appling. 2010. Compartmentalization of Mammalian folate-mediated one-carbon metabolism. *Annu. Rev. Nutr.* 30: 57-81.
- Tienken, R., S. Kersten, L. Huther, J. Frahm, U. Meyer and S. Danicke. 2015. Relative Bioavailability of Niacin Supplements for Dairy Cows: Effects of Rumen Protection and Feed Processing. *Vet. Sci.* 2: 440-455.

- Van den Bosch, H., R. B. Schutgens, R. J. Wanders and J. M. Tager. 1992. Biochemistry of peroxisomes. *Annu. Rev. Biochem.* 61: 157-197.
- Van der Walt, J. G., G. D. Baird and E. N. Bergman. 1983. Tissue glucose and lactate metabolism and interconversions in pregnant and lactating sheep. *The British journal of nutrition.* 50: 267-280.
- Van Houtert, M. F. J. 1993. The production and metabolism of volatile fatty acids by ruminants fed roughages: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 43: 189-225.
- Waghorn, G. C. 1982. Modeling analysis of bovine mammary and liver metabolism. PhD Diss. California Univ., Davis, US.
- Van Vuuren, A. M., A. Klop, C. J. Van der Koelen and H. De Visser. 1999. Starch and stage of maturity of grass silage: Site of digestion and intestinal nutrient supply in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82: 143–152.
- Vernon, R. G., R. A. Clegg and D. I. Flint. 1981. Metabolism of sheep adipose tissue during pregnancy and lactation. *Biochem. J.* 200: 307-314.
- Ward, J. K., D. Richardson and W. S. Tsien. 1961. Volatile fatty acid concentrations and proportions in the gastrointestinal tract of full-fed beef heifers. *J. Anim. Sci.* 20: 830-832.
- Whitehouse, N. L., C. Schwab, M. Fredin and A. Brito. 2016. Determination of relative methionine bioavailability in lactating cows fed Smartamine M, Mepron, and AminoShure M using the plasma-free AA dose–response method. *Journal of Animal Science.* 94: 776-777.
- Wolff, J. E. and E. N. Bergman. 1972. Gluconeogenesis from plasma amino acids in fed sheep. *Am. J. Physiol.* 223: 455-460.
- Yao, Z. and Vance D.E. 1988. The Active Synthesis of Phosphatidylcholine Is Required for Very Low-Density Lipoprotein Secretion from Rat Hepatocytes. *The Journal of Biological Chemistry.* 263: 2998-3004.
- Young, J. W. 1977. Gluconeogenesis in cattle: significance and methodology. *J Dairy Sci.* 60: 1-15.
- Zammit, V. A. 1990. Ketogenesis in the liver of ruminants - Adaptations to a challenge. *J. Agri. Sci.* 115: 155-162.
- Zammit, V. A. 1996. Role of insulin in hepatic fatty acid partitioning: emerging concepts. *Biochem J.* 314:1.
- Zhang, S., E. A. Wong and E. R. Gilbert. 2015. Bioavailability of different dietary supplemental methionine sources in animals. *Frontiers in Bioscience, Elite.* 7: 478-49.
- Zeisel, S. H. 2006. Betaine supplementation and blood lipids: fact or artifact? *Nutr Rev.* 64: 77-9.
- Zhou, Z., M. Vailati-Riboni, D. N. Luchini and J. J. Loo. 2016. Methionine and Choline Supply during the Periparturient Period Alter Plasma Amino Acid and One-Carbon Metabolism Profiles to Various Extents: Potential Role in Hepatic Metabolism and Antioxidant Status. *Nutrients.* 9:10.
- Zhou, Y. F. 2018. Methionine and choline supply alter transmethylation, transsulfuration, and cytidine 5'-diphosphocholine pathways to different extents in isolated primary liver cells from dairy cows. *Journal of dairy science.* 101: 11384-11395.

Zom, R. L., J. van Baal, R. M. Goselink, J. A. Bakker, M. J. de Veth and A. M. van Vuuren. 2011. Effect of rumen-protected choline on performance, blood metabolites, and hepatic triacylglycerols of periparturient dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 94: 4016-4027.

Annexes

Communication :

FLiver : un modèle des flux de nutriments passant à travers le foie
chez le ruminant.

Communication présentée lors des Journées du GMP (Groupe métabolisme et Pharmacocinétique) : Birth, growth and new horizons of metabolism and PK sciences, Paris, Octobre 2018.

Evaluation of Fliver : a model of nutrients fluxes across the liver in ruminant

M. Charloire^{1,2}, C. Loncke¹, L. Bahloul¹, P. Nozière¹, J. Vernet¹, H. Lapierre¹, D. Sauvant¹, and I. Ortigues Marty³

¹UMR 791, Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, INRA-AgroParisTech, 75231 Paris, France

²Adisseo France SAS, 92160 Antony, France

³UMR 1213, Recherche sur les Herbivores, INRA Theix, 63122 St Genès Champanelle, France

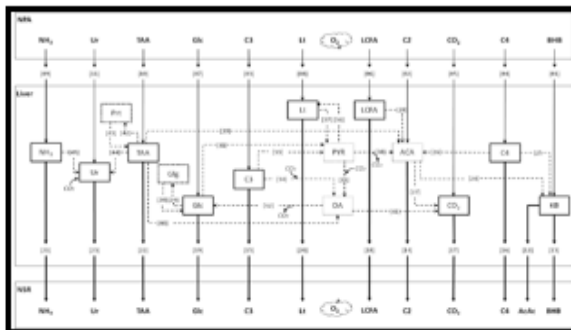
⁴Dairy and Swine Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Sherbrooke, Quebec J1M 0C8, Canada

E-mail address : myriamcharloire@hotmail.fr



BACKGROUND

- > "FLiver" is a mechanistic model developed by Bahloul et al. (2014) [1] to understand the hepatic metabolic reactions and to predict the metabolic conversions, uptakes and releases of the main nutrients fluxes with different ranges of nutritional scenarios inside and across ruminant's liver.
- > Inputs and Outputs are largely calibrated by empirical equations of respectively net portal appearance (Loncke et al., 2009) [2] and net hepatic or splanchnic release of nutrients (Loncke, 2009) obtained by meta-analysis of experimental data.
- > The model simulates the flux of 12 glucogenic, ketogenic and nitrogenic nutrients groups: Acetate (C2), propionate (C3), butyrate (C4), β-hydroxybutyrate (BHB), glucose (Glc), lactate (Lt), total amino acids (TAA), ammonia (NH3) and urea (Ur). It simulates the fluxes of dietary long chain fatty acids (LCFA), glycogen (Glg), proteins (Prt), oxygen (O2) and carbon dioxide (CO2) as well.



OBJECTIVE

To update "FLiver" with new empirical equations as recently improved by Loncke et al., 2018) and to evaluate their impact on the model behavior.

MATERIALS AND METHODS

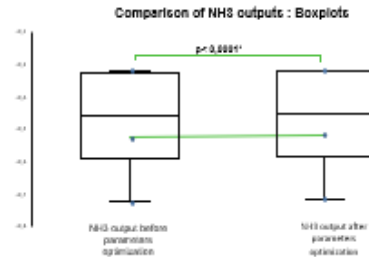
- > **Model's structure** : All data were obtained with ModelMaker (version 3) and R.
- > **OPTIMIZATION** : Fliver's parameters were re-optimized according to the new structural relationships. Simplex method is used for parameters optimization [3]. Paired t tests were used to compare the outputs of FLiver between the updated and original versions.
- > **SENSITIVITY ANALYSIS** : Fliver's sensitivity analysis was done, using Runge Kutta methods [3], to evaluate the general behavior of the model, according to the following steps:

Variation of each parameter within certain extent according to a previous work (Bahloul, 2014)

Study of the impact of each parameter variation on each related nutrient output. For each parameter, we run statistical tests in order to compare the outputs according to the different parameter's value.

RESULTS

1. PARAMETER'S OPTIMIZATION :

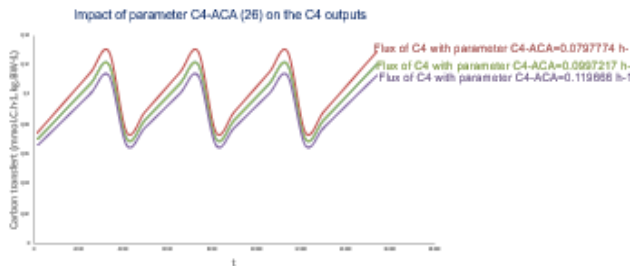


> All the outputs of the model compared before and after re-optimization were significantly different. ($p < 0,0001$)

> However, the mean and standard variation for each output are notably similar.

2. SENSITIVITY ANALYSIS :

- > 7 parameters out of 19 impact the model (Ks_C3_OA [34], Ks_Lt_PYR [37], $Ks_deamination$ [39-40], Ks_ACA_KB [24], Ks_NH3_Ur [45], Ks_C4_KB [25], Ks_C4_ACA [26]). Indeed, the output before and after the parameters' variation are significantly different. Therefore, these parameters are considered as relevant to the model.



- > Parameter of butyrate metabolism via Acetyl-CoA (C4-ACA) impacts the output of butyrate. Parameter value before sensitivity analysis = 0.0997217 h⁻¹ (green curve). There is 7% of variation between the green curve and the pink curve and 6% between the green curve and the purple curve.

CONCLUSION

Sensitivity analysis shows most influent parameters of the model. Moreover, it showed a good fit between observations and simulations. In the future, some more tests (comparison between Fliver and other existing hepatic model of ruminants) need to be done to evaluate FLiver deeply.

REFERENCES

- [1]. Bahloul, L. 2014. Modélisation mécaniste de l'émission splanchnique de nutriments énergétiques chez le ruminants. AgroParisTech, Saint Genès Champanelle.
- [2]. Loncke, C. 2009. Modélisation des relations entre l'alimentation et les flux splanchniques de nutriments énergétiques chez le ruminant. AgroParisTech, INRA, Theix.
- [3]. Moeller, Dietmar P. F. 2004. *Mathematical and computational modeling and simulation: fundamentals and case studies*. Berlin: Springer



Financial support :



Abstract

FLiver : a model of nutrients fluxes across the liver in ruminant

M. Chartoire^{1,2}, C. Loncke¹, L. Bahloul², P. Nozière³, J. Vernet³, H. Lapierre⁴, D. Sauvant¹, and I. Ortigues-Marty³

¹*UMR 791, Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, INRA-AgroParisTech, 75231 Paris, France*

²*Adisseo France SAS, 92160 Antony, France*

³*UMR 1213, Recherches sur les Herbivores, INRA Theix, 63122 St Genès Champanelle, France*

⁴*Dairy and Swine Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Sherbrooke, Quebec J1M 0C8, Canada*

Background: A mechanistic model “FLiver” was developed by Bahloul et al. (2014) to understand the hepatic metabolic reactions and to predict the metabolic conversions, uptakes and releases of the main nutrients fluxes with different ranges of nutritional scenarios inside and across ruminant’s liver.

The first step of the model development (FLiver version 1; Bahloul et al., publication in progress) was focused on nutritional scenarios for ruminants, only, in positive energy balance. These nutritional scenarios reflect different glucogenic/ketogenic and energy/nitrogen ratios of nutrient supply. The model simulates the flux of 12 glucogenic, ketogenic and nitrogenic nutrients groups: Acetate (C2), propionate (C3), butyrate, β -hydroxybutyrate, glucose (Glu), lactate (Lac), total amino acids, ammonia and urea. It simulates the fluxes of dietary long chain fatty acids, glycogen, proteins, oxygen and carbon dioxide as well. The novelty of this model lies in the combination of mechanistic and empirical approaches according to Sauvant and Mertens methods (2004). Briefly, FLiver consisted in a basic biochemical mechanistic model where inputs and Outputs are largely calibrated by empirical equations of respectively net portal appearance (Loncke et al., 2009) and net hepatic or splanchnic release of nutrients (Loncke, 2009) obtained by meta-analysis of experimental data. These equations were considered as structural relationships and used to calibrate the parameters of the mechanistic model. The nutrient conversions within the liver were, therefore, obtained by model fitting.

It is a compartmental model where each nutrient is described by a pool, and the amount of each pool is defined by differential equations. Metabolic reactions between nutrients are described by masse action laws and empirical equations are implemented in FLiver as objective functions for optimization.

The aim of the present work was to modify empirical equations after they were improved (Loncke et al., 2014) and to evaluate the impact of this change on the model behaviour.

Methods: Empirical equations which constraints flux of Glu, Lac, C3 and C2 were improved in a precedent work so they needed to be changed in FLiver. Then, the parameters were re-optimised and sensitivity analysis of the model were systematically done to evaluate the general behaviour of FLiver after such modifications.

Results: It showed a good fit between observations and predictions of the model and no accumulation of Carbone or Nitrogen inside the model. Sensibility analysis allowed detecting most influent parameters of the model. Parameters which were less influent in FLiver were removed to avoid over-parametrisation or kept if they were needed to describe physiological reactions of ruminant liver.

Conclusions: FLiver version 1 appeared as a stable model which gives a good description of hepatic ruminants' metabolism in positive energy balance. It shows a good prediction of each nutrient flux. Fliver version 2, which is currently under development, extend this model to animals in negative energy balance, which represents a physiological transitory stage for ruminants in early lactation.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.