

# Effet de l'incorporation de graines de lin extrudées dans l'aliment de la truie sur la fonction de barrière intestinale du porcelet

Francine DE QUELEN (1,2), Stéphanie FERRET-BERNARD (1), Jacques MOUROT (1), Gaëlle BOUDRY (1)

(1) INRA UMR1079 SENAH, 35590 Saint-Gilles, France

(2) Valorex, 35210 Combourtillé, France

f.dequelen@filieres-conseil.com

## Effect of extruded linseed in the sow diet on piglet intestinal barrier function.

The main objective of this study was to evaluate the effect of extruded linseed (rich in alpha-linolenic acid, ALA) in the sow diet on the intestinal barrier function of piglets. Twelve sows (Large White x Landrace) were divided into two groups: the first one received a diet containing sunflower oil (ALA3 with ALA represented 3% of total fatty acids) and the second received a diet containing extruded linseed (ALA27 with 27% of ALA) during gestation and lactation. Intestinal paracellular permeability was assessed in Ussing chamber on piglets at weaning (28 days of age). Intestinal sensitivity to lipopolysaccharides (LPS) was also determined at weaning, using jejunal explant cultures, through pro-inflammatory cytokines interleukin 8 (IL8) and tumor necrosis factor alpha (TNF $\alpha$ ) secretion in response to different doses of LPS. Jejunal permeability of ALA27 piglets was higher than that of ALA3. Jejunal sensitivity to LPS was lower in ALA27 piglets despite the higher intestinal permeability. In conclusion, incorporation of extruded linseed in the sow diet during gestation and lactation modified the intestinal barrier function of piglet at weaning. However, this higher intestinal permeability was not associated with immediate consequences on the inflammatory status of piglet mucosa.

## INTRODUCTION

La barrière intestinale permet d'empêcher le passage d'agents pathogènes pouvant entraîner une inflammation immédiate ou des infections chez le porcelet. Cependant, elle permet également le passage de certains antigènes (alimentaires et bactériens) nécessaires au développement de son système immunitaire (Freier, 1989 ; Pitman et Blumberg, 2000). L'alimentation et plus spécifiquement les acides gras polyinsaturés (AGPI) n-3 peuvent influencer le développement et le fonctionnement de la barrière intestinale (Pacha, 2000 ; de Quelen *et al.*, 2011). L'objectif de ce travail était d'étudier l'impact du précurseur des AGPI n-3, l'acide alpha-linolénique (ALA), incorporé dans l'alimentation de la truie *via* de la graine de lin extrudée, sur la fonction de barrière de l'intestin des porcelets à 28 jours d'âge et les conséquences en termes d'immunité intestinale.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Dispositif expérimental

L'étude a été réalisée sur 12 truies Large White x Landrace inséminées avec de la semence Piétrain et réparties en deux lots : le premier a reçu un régime supplémenté avec de l'huile de tournesol (ALA3 ; rapport AGPI n-6/n-3 = 15 avec ALA représentant 3% des acides gras totaux ce qui représente la dose classique utilisée en pratique) et le deuxième lot un régime supplémenté avec de la graine de lin extrudée (Tradi-Lin®) (ALA27 ; rapport AGPI n-6/n-3 = 1 avec 27% de ALA) pendant les périodes de gestation et de lactation.

Les régimes expérimentaux ont été formulés afin d'être iso-énergétiques ( $10,6 \pm 0,05$  Mcal/jour en période de gestation et  $27,0 \pm 0,10$  Mcal/jour en période de lactation) et iso-lipidiques ( $4 \pm 0,1\%$  de lipides sur les périodes de gestation et de lactation). Les truies ont été pesées toutes les trois semaines entre la mise en lot et la mise-bas et chaque porcelet a été pesé à la naissance puis toutes les semaines pendant la période de lactation. Des porcelets ont été abattus à 28 jours d'âge (un animal par portée, choisi par rapport au poids moyen de la portée, soit n=6 par lot).

### 1.2. Mesure de la perméabilité paracellulaire intestinale

Une partie du jéjunum a été prélevée pour mesurer la perméabilité paracellulaire du tissu en chambres d'Ussing avec un marqueur fluorescent, le FITC-dextran 4000 (FD4).

La composition en acides gras du tissu a également été déterminée. Nous avons utilisé la méthode de Folch pour l'extraction des lipides et la chromatographie en phase gazeuse pour l'analyse du profil en acides gras.

### 1.3. Mesure de la sensibilité au LPS de l'intestin

Nous avons étudié *in vitro* la sensibilité de l'intestin des animaux en réponse aux lipopolysaccharides (LPS, motif de la paroi des bactéries à Gram négative, stimulus pro-inflammatoire). Un explant jéjunal a été prélevé et mis en culture (DMEM) avec différentes doses de LPS (0, 50, 100 ou 200  $\mu\text{g/ml}$ ). Après 20 h d'incubation, la concentration de cytokines pro-inflammatoires (IL-8 et TNF $\alpha$ ) a été mesurée dans le surnageant de culture par la technique de dosage ELISA.

#### 1.4. Analyses statistiques

Les données ont été soumises à une analyse de variance (procédure GLM, SAS Inst. Inc, Cary, NC).

Pour les données zootechniques, la perméabilité intestinale et la composition en acides gras de l'intestin chez les porcelets, nous avons testé l'effet du régime maternel.

Pour les données sur la sensibilité au LPS de l'intestin, l'analyse statistique a inclus l'effet de la dose de LPS.

## 2. RESULTATS

### 2.1. Performances zootechniques

Nous n'avons pas observé de différence significative entre les deux lots d'animaux concernant les paramètres suivants : le gain de poids moyen quotidien (GMQ) des truies entre la mise en lot et la mise bas ( $0,5 \pm 0,1$  kg/jour), la durée de la gestation ( $113,2 \pm 1,5$  jours), le nombre de porcelets nés vivants par portée ( $15,2 \pm 2$  porcelets par portée), le poids moyen des porcelets par portée ( $1,4 \pm 0,2$  kg) et le GMQ des porcelets entre la naissance et 28 jours d'âge ( $0,26 \pm 0,1$  g/jour).

### 2.2. Perméabilité intestinale des porcelets

La perméabilité paracellulaire intestinale était plus élevée à 28 jours chez les porcelets du lot ALA27 par rapport à ceux du lot ALA3 (respectivement  $584 \pm 98$  ng/cm<sup>2</sup>/h vs  $399 \pm 69$  ng/cm<sup>2</sup>/h,  $P < 0,05$ ).

L'intestin des porcelets ALA27 contenait des pourcentages d'AGPI-n-3, plus particulièrement d'ALA et EPA, plus élevés que celui des porcelets ALA3 ( $P < 0,05$ ; Tableau 1).

**Tableau 1** - Composition en acides gras polyinsaturés (AGPI) n-3 (moyenne  $\pm$  écart-type, g/100 g d'acides gras totaux) de l'intestin des porcelets selon le traitement (\*  $P < 0,05$ ).

Acides gras	ALA3	ALA27
AGPI-n-3	3,5 $\pm$ 0,3	17,4 $\pm$ 4,6*
ALA	1,1 $\pm$ 0,4	11,2 $\pm$ 4,0*
EPA	0,3 $\pm$ 0,2	2,4 $\pm$ 1,3*
DPA	1,0 $\pm$ 0,2	2,4 $\pm$ 1,4
DHA	0,9 $\pm$ 0,3	0,7 $\pm$ 0,3

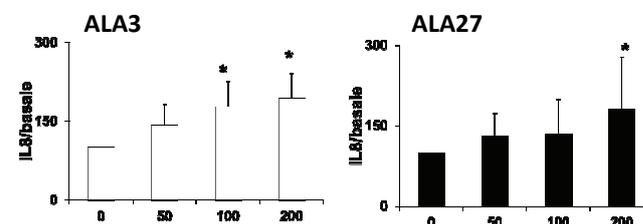
ALA, acide alpha-linolénique (18:3n-3); EPA, acide eicosapentaénoïque (20:5n-3); DPA, acide docosapentaénoïque (22:5n-3); DHA, acide docosahexaénoïque (22:6n-3).

### 2.3. Sensibilité au LPS de l'intestin des porcelets

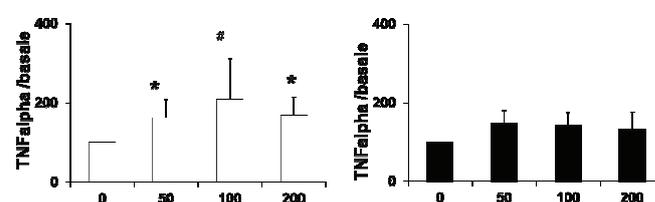
Dans le lot ALA3, la sécrétion d'IL-8 était significativement plus élevée que dans la condition basale (dose 0  $\mu$ g/ml de LPS) à

partir de 100  $\mu$ g/ml de LPS alors que dans le lot ALA27, cette sécrétion n'était augmentée qu'à partir de 200  $\mu$ g/ml de LPS (Figure 1). La stimulation au LPS a augmenté ou eu tendance à augmenter la sécrétion de TNF $\alpha$  par les explants jéjunaux des porcelets ALA3 à toutes les doses (Figure 2).

Les explants provenant des animaux du lot ALA27 n'ont pas sécrété d'avantage de TNF $\alpha$  après stimulation au LPS que dans la condition basale ( $P > 0,05$ ; Figure 2).



**Figure 1** – Sécrétion d'IL-8 par les explants intestinaux prélevés chez les porcelets de 28 jours en réponse au LPS *in vitro* et selon le traitement (\*  $P < 0,05$ ; effet dose).



**Figure 2** – Sécrétion de TNF $\alpha$  par les explants intestinaux prélevés chez des porcelets de 28 jours en réponse au LPS *in vitro* et selon le traitement (\*  $P < 0,05$ ; #  $P < 0,1$ ; effet dose).

## DISCUSSION - CONCLUSION

En conclusion, le régime maternel enrichi en ALA a modifié la fonction de barrière intestinale du porcelet, avec une perméabilité paracellulaire plus élevée au sevrage.

Il semble que l'intestin de ces porcelets soit moins sensible à l'inflammation que celui des porcelets ALA3 à 28 jours.

Ces résultats sont similaires à ceux observés chez le raton (Hassan *et al.*, 2010). De plus, Zhao *et al.* ont démontré le rôle des AGPI-n-3 dans l'inactivation de la voie pro-inflammatoire NF- $\kappa$ B (Zhao *et al.*, 2004).

Etant donné le rôle de la barrière intestinale dans le développement du système immunitaire, il nous reste à étudier l'effet à long terme de ces modifications de perméabilité intestinale sur la fonction immunitaire des porcelets.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Freier S., 1989. Development of humoral immunity in the alimentary system. In : E. Lebenthal (Ed), Human Gastrointestinal Development, 709-723. Raven Press, New York.
- Hassan A., Ibrahim A., Mbodji K., Coëffier M., Ziegler F., Bounoure F., Chardigny J.M., Skiba M., Savoye G., Déchelotte P., Marion-Letellier R., 2010. An alpha-linolenic acid-rich formula reduces oxidative stress and inflammation by regulating NF-KB in rats with TNBS-induced colitis. J. Nutr., 140, 1714-1721.
- Pacha J., 2000. Development of intestinal transport function in mammals. Physiol. Rev., 80, 1633-1667.
- Pitman R.S., Blumberg R.S., 2000. First line of defense: the role of the intestinal epithelium as an active component of the mucosal immune system. J. Gastroenterol., 35, 805-814.
- de Quelen F., Chevalier J., Rolli-Derkinderen M., Mourout J., Neunlist M., Boudry G., 2011. N-3 polyunsaturated fatty acids in the maternal diet modify the post-natal development of nervous regulation of intestinal permeability in piglets. J. Physiol, sous presse.
- Zhao Y., Joshi-Barve S., Barve S., Chen H., 2004. Eicosapentaenoic acid prevents LPS-induced TNF $\alpha$  expression by preventing NF-KB activation. J. Am. Coll. Nutr., 23, 71-78.