

# Effet de la supplémentation en nucléotides sur la santé intestinale et le taux de cytokines des porcelets sevrés et alimentés avec un aliment riche en tourteau de soja

Carmen CAMACHO REA (1), Antonio GARCIA ESTEFAN (2), Serafin SOLORIO LOPEZ (2), Tadele KIROS GEBREYOHANNES (2),  
Géraldine KUHN (2)

(1) Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutricion Salvador Zubiran, Mexico

(2) Phileo Lesaffre Animal Care, 137 rue Gabriel Peri, 59700 Marcq-en Baroeul, France

[g.kuhn@phileo.lesaffre.com](mailto:g.kuhn@phileo.lesaffre.com)

## Effet de la supplémentation en nucléotides sur la santé intestinale et le taux de cytokines des porcelets sevrés et alimentés avec un aliment riche en tourteau de soja

Le sevrage se caractérise par une réduction de l'ingéré induisant, s'il est mal géré, des lésions intestinales responsables du syndrome de l'intestin perméable. Le tourteau de soja est une source de protéines utilisée pour limiter les altérations associées à l'anorexie post-sevrage. Néanmoins son inclusion est limitée par la présence d'antigènes pouvant induire une inflammation sévère et des lésions tissulaires. Les nucléotides pouvant améliorer la réparation tissulaire, l'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet d'une supplémentation en nucléotides sur le statut immunitaire et sur les lésions intestinales associées à une alimentation riche en tourteau de soja. Un total de 45 porcelets de 21 jours, de poids moyen 5,5 kg ont été répartis aléatoirement dans l'un des trois régimes riches en tourteau de soja supplémentés ou non avec un extrait de levure riche en nucléotides. Des mesures morphométriques ont été effectuées sur des échantillons d'intestin. Les teneurs sériques en cytokines pro- et anti-inflammatoires ont été analysées. Les supplémentations en extrait de levure à 500 ppm et 1000 ppm ont augmenté la longueur des villosités duodénales ( $P < 0,05$ ) et jéjunales ( $P < 0,001$ ) alors que la profondeur des cryptes du duodénum des porcelets supplémentés à 1000 ppm a été diminuée ( $P < 0,0001$ ). Chez les porcs supplémentés à 500 ppm, des concentrations sériques plus élevées ( $P < 0,05$ ) en cytokines anti-inflammatoires (IL-10, IL-1ra, IL-4) ont été observées. Il n'y avait aucun effet significatif des nucléotides sur les cytokines pro-inflammatoires ( $P > 0,05$ ). Une supplémentation à 500 ppm avec l'extrait de levure riche en nucléotides peut moduler la réponse inflammatoire associée à une alimentation riche en tourteau de soja et éviter les dommages associés au stress nutritionnel post-sevrage.

## Effect of exogenous nucleotide supplementation on gut health and the cytokine profile of newly weaned piglets fed a high-soybean meal diet

Weaning is characterized by reduced feed intake, which results in intestinal damage that leads to the "leaky gut" syndrome if not managed well. Soybean meal is a protein source which may help repair intestinal damage associated with post-weaning anorexia. However, its inclusion in nursery diets is restricted by the presence of dietary antigens that induce severe inflammation and tissue damage. Nucleotides are often used to increase growth and repair of tissues. The objective of this study was to evaluate effects of dietary nucleotides supplementation in modulating immune response and reducing intestinal damage in weaning pigs fed a diet rich in soybean meal. A total of 45 piglets weaned at 21 days of age with an average weight of 5.5 kg were randomly assigned to one of three diets containing a high percentage of soybean meal (25%) and 0, 500, or 1000 ppm nucleotide-rich yeast extract. Morphometric measurement was conducted on small intestinal samples, and pro- and anti-inflammatory cytokines were measured in serum. Supplementation of nucleotide-rich yeast extract at both 500 ppm and 1000 ppm significantly increased intestinal villi length in the duodenum ( $P < 0.05$ ) and jejunum ( $P < 0.001$ ), while crypt depth was significantly decreased ( $P < 0.0001$ ) only in the duodenum of piglets supplemented with 1000 ppm. Supplementation with 500 ppm showed significantly higher levels of anti-inflammatory cytokines (IL-10, IL-1ra, IL-4). There was no significant effect of nucleotides ( $P > 0.05$ ) on pro-inflammatory cytokines. In conclusion, supplementing piglets with 500 ppm of nucleotide-rich yeast extract can modulate the inflammatory response associated with a diet high in soybean meal and repair intestinal damage associated with post-weaning nutritional stress.

## INTRODUCTION

Le sevrage est souvent associé à une période d'anorexie ou à un faible ingéré durant 2 à 3 jours (Brooks *et al.*, 2001, Bruininx *et al.*, 2002). Cette anorexie temporaire est l'une des principales causes des altérations structurelles observées sur la muqueuse des porcelets sevrés (Marion *et al.*, 2002). En outre, le sevrage est associé à une inflammation de l'intestin et à une augmentation des cytokines du plasma sanguin. Ainsi, contrôler de manière précoce l'inflammation intestinale est un défi majeur dans la gestion des troubles intestinaux des porcelets durant la période post-sevrage.

Les changements morphométriques et fonctionnels de la muqueuse intestinale peuvent également être causés par des facteurs nutritionnels (Babinska *et al.*, 2005). En nutrition porcine, le tourteau de soja est largement utilisé dans les formules car il apporte des protéines de qualité avec un excellent profil en acides aminés (Dilger *et al.*, 2004). Cependant, l'utilisation du tourteau de soja dans les régimes destinés aux monogastriques peut provoquer des fermentations et de la diarrhée (Rackis, 1975). En effet, le tourteau de soja contient des antigènes qui induisent une inflammation sévère et des lésions tissulaires. C'est pour cette raison que son inclusion est souvent limitée dans les aliments destinés aux porcelets. Les deux principaux antigènes qui provoquent des réactions allergiques sévères chez les jeunes animaux sont la glycine et la  $\beta$ -conglycinine (Miller *et al.*, 1984) et les jeunes porcelets consommant ces antigènes présentent des symptômes tels que des baisses de performance et des troubles de la fonction immunitaire (Hao *et al.*, 2009). Ces porcelets ont souvent des villosités de l'intestin grêle endommagées entraînant une mauvaise absorption des protéines. L'hypersensibilité transitoire du porc à la glycine et à la  $\beta$ -conglycinine provoque une réduction sévère des performances en post-sevrage (Friesen *et al.*, 1993), augmente la prolifération des cellules cryptiques associée à l'atrophie des villosités et à l'absorption réduite des nutriments (Li *et al.*, 1990).

La nutrition peut moduler le niveau de cytokines intestinales (Wu *et al.*, 1994). En effet, chez des souris n'ayant pas reçu d'alimentation entérale, il existe une nette diminution des niveaux d'IL-10 et d'IL-4. Différentes alternatives nutritionnelles ont été étudiées afin de minimiser les dommages intestinaux qui affectent les porcelets après le sevrage. L'une de ces alternatives est l'utilisation d'aliments hautement digestibles et appétents, ou d'additifs (plasma sanguin, les pro et prébiotiques) mais également les extraits riches en nucléotides qui ont un effet favorable sur le système digestif.

Les nucléotides sont synthétisés de manière endogène et ont d'importants effets sur le développement et la croissance des cellules à renouvellement rapide comme les cellules immunitaires (Gill, 2011) et les cellules intestinales. De même, dans certaines circonstances, les nucléotides exogènes peuvent être considérés comme un nutriment semi-essentiel car ils optimisent la fonction intestinale et immunitaire. En outre, l'apport de nucléotides exogènes semble nécessaire pour le maintien de l'immunité de l'hôte en cas de challenge (Pendergast *et al.*, 2011). La supplémentation en nucléotides via l'alimentation influence l'immunité humorale et cellulaire. Il a été observé que les animaux recevant des aliments dépourvus de nucléotides présentaient une réponse immunitaire réduite (Chandra et Kumari, 1994).

Cependant, certaines études n'ont révélé aucune amélioration de l'immunité (Uauy *et al.*, 1990; Chandra et Kumari, 1994) ou de la hauteur des villosités intestinales lorsque des nucléotides ou de la glutamine ont été ajoutés à l'aliment. Enfin, la supplémentation en nucléotides peut être utilisée afin d'accélérer la croissance et la maturation des entérocytes normaux (Uauy *et al.*, 1990) et pour accélérer la récupération intestinale après une privation de nourriture ou lors d'apparition de diarrhée (Bueno *et al.*, 1994).

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet des nucléotides exogènes sur la modulation de la réponse immunitaire et sur l'intégrité de la muqueuse intestinale chez les porcs sevrés nourris avec un aliment riche en tourteau de soja.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Animaux et alimentation

Quarante-cinq porcelets de génétique Lw x Ld (50 % femelles-50 % mâles castrés) sevrés à l'âge de 21 jours et d'un poids moyen de 5,5 ( $\pm 0,9$ ) kg ont été répartis aléatoirement dans l'un des trois groupes expérimentaux. Chacun des trois groupes correspond à l'un des trois régimes expérimentaux riches en tourteau de soja (DAS) avec différents taux d'inclusion de nucléotides exogènes issus d'un extrait de levure (Nucleosaf®, Phileo Lesaffre Animal Care) contenant notamment de la guanosine monophosphate 5 'GMP et de l'inosine monophosphate 5 'IMP. Trois cases contenant chacune cinq porcelets ont été assignées à chaque groupe (n=15 par groupe). Le premier régime (groupe témoin : DAS-N0) contenait un niveau élevé de tourteau de soja (25% d'inclusion) sans supplémentation en nucléotides fournissant 3400 kcal ME/kg et 21% de protéines brutes. Le deuxième (DAS-N500) et le troisième régime (DAS-N1000) ont la même composition nutritionnelle que le DAS-N0 mais respectivement supplémentés avec 500 ppm et 1000 ppm de nucléotides (Tableau 1).

**Tableau 1** – Protocole expérimental

Groupes	Aliments
DAS-N0 ; (n=15)	Aliment riche en tourteau de soja sans nucléotides
DAS-N500 (n=15)	Aliment riche en tourteau de soja + 500 ppm de nucléotides
DAS-N1000 (n=15)	Aliment riche en tourteau de soja + 1000 ppm de nucléotides

Les porcelets ont été logés dans des cases surélevées, sol caillebotis (5,25 m<sup>2</sup>), contenant des nourrisseurs à trémies. Les porcelets ont eu un accès à l'eau par la présence de pipettes. La température est réglée à 32°C pendant la 1<sup>ère</sup> semaine puis réduite de 2°C toutes les semaines suivantes. Elle est régulée par des radiateurs à gaz. Chaque case contient cinq porcelets, nourris *ad libitum* pendant 4 semaines, correspondant à la durée de l'étude.

### 1.2. Mesure des cytokines dans le sérum

Afin de mesurer par dosage Luminex® (MAGPIX System) les concentrations des cytokines pro-inflammatoires TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-12, IL-8 et IL-18, ainsi que les cytokines anti-inflammatoires IL-1ra, IL-4 et IL-10, des prélèvements de sang ont été réalisés à 7, 14 et 21 jours après sevrage. Des kits Merk Millipore ont été utilisés pour ces analyses.

### 1.3. Morphologie de l'intestin grêle

La consommation des porcelets étant très faible au cours de la première semaine suivant le sevrage, une réduction de la taille des villosités intestinales voire une atrophie sévère peut être observée. Cinq porcelets par traitement ont ainsi été abattus une semaine après le début de l'essai, sans mise à jeun particulière au préalable. Des échantillons de duodénum et de jéjunum ont été prélevés, rincés dans une solution saline physiologique puis ont été fixés dans une solution de formol tamponnée (10%). Les tissus ont été déshydratés et incorporés dans la paraffine. Une lame épaisse de 4  $\mu\text{m}$  a été découpée dans chaque bloc de paraffine puis colorée avec de l'hématoxyline et de l'éosine (SE). Les villosités et les cryptes ont été observées au microscope optique au grossissement  $\times 10$  et analysées par un analyseur d'image (Motic Images Plus 2.0). Vingt-cinq cryptes et 25 villosités ont été mesurées par segment et les mesures ont été effectuées à l'aveugle.

### 1.4. Analyses statistiques

Les données ont été analysées par la méthode ANOVA en utilisant le logiciel JMP 4.04 (SAS Inst. Inc. Cary, NC). Pour l'étude histologique, l'unité statistique expérimentale choisie est le porcelet. Les villosités et les cryptes intestinales sont les unités d'analyse. Les échantillons analysés ont été prélevés de façon complètement aléatoire. Pour les dosages de cytokines, le porcelet a été choisi comme unité expérimentale et d'analyse. Les performances des animaux n'ont pas été analysées. La moyenne des traitements a été comparée grâce au test de Tukey. Les différences ont été considérées comme significatives lorsque  $P < 0,05$ , les résultats sont présentés sous forme de moyennes avec leur écart type (EE).

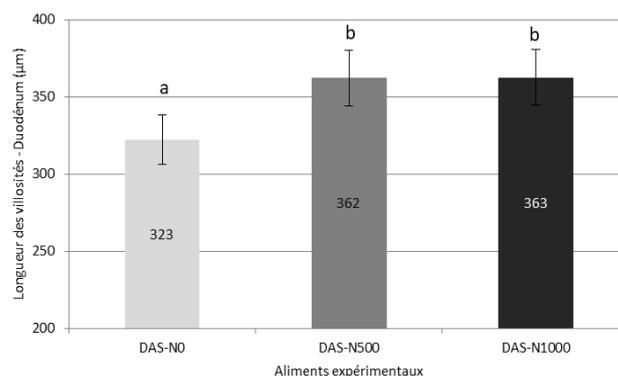
## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

### 2.1. Histologie de l'intestin grêle

#### 2.1.1. Longueur des villosités et profondeur des cryptes au niveau du duodénum

L'intérêt de l'apport de nucléotides dans l'aliment pour améliorer la survie cellulaire dans des conditions de stress et prévenir l'atrophie de l'intestin grêle a été démontré (Chow et Zhang, 1998). Dans cette étude, les nucléotides exogènes ont eu un effet significatif sur la longueur des villosités du duodénum ( $P < 0,05$ ). Les porcelets ayant reçu le régime DAS-N500 ont montré une longueur de villosités de 362 ( $\pm 15$ )  $\mu\text{m}$ , et les porcelets ayant reçu le régime DAS-N1000 ont présenté une longueur de villosités de 363 ( $\pm 12$ )  $\mu\text{m}$ . Il n'y a pas eu de différence significative entre ces deux groupes.

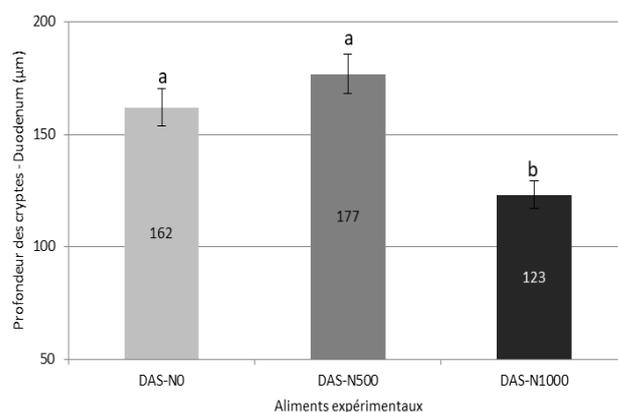
Néanmoins, les porcelets alimentés avec le régime DAS-N0 ont montré une atrophie plus importante des villosités 323 ( $\pm 17$ )  $\mu\text{m}$  comparativement aux deux autres groupes, avec une différence significative ( $P < 0,05$ ) (Figure 1).



**Figure 1** – Effet des nucléotides exogènes ajoutés à un aliment riche en tourteau de soja sur la longueur des villosités duodénales de porcelets, 7 jours après sevrage.

Notes: <sup>a,b</sup> indique des différences significatives entre les traitements  $P < 0,05$ .

Les porcelets qui ont reçu l'aliment DAS-N1000 ont montré une profondeur des cryptes de 123 ( $\pm 16$ )  $\mu\text{m}$ . Il y a une différence significative ( $P < 0,01$ ) par rapport aux porcelets ayant reçu le régime DAS-N0 ou le DAS-N500 qui ont montré une profondeur des cryptes de 162 ( $\pm 17$ )  $\mu\text{m}$  et 177 ( $\pm 16$ )  $\mu\text{m}$  respectivement (Figure 2).

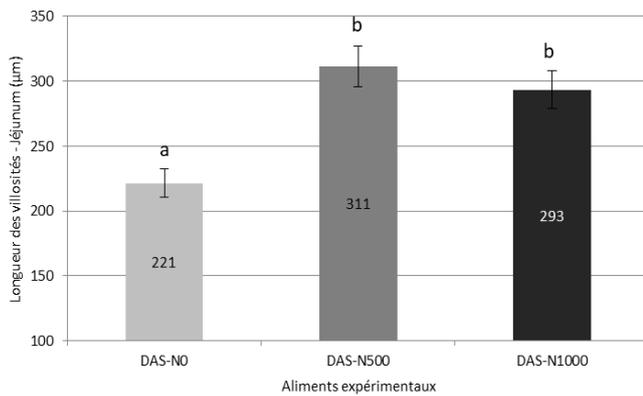


**Figure 2** – Effet des nucléotides exogènes ajoutés à un aliment riche en tourteau de soja sur la profondeur des cryptes duodénales de porcelets, 7 jours après sevrage.

Notes: <sup>a,b</sup> indique des différences significatives entre les traitements  $P < 0,01$ .

#### 2.1.2. Longueur des villosités et profondeur des cryptes au niveau du jéjunum

La longueur des villosités dans le jéjunum des porcelets ayant reçu les régimes DAS-N1000 et DAS-N500 a été plus élevée ( $P < 0,001$ ) que la longueur des villosités des porcelets ayant reçu le régime témoin (DAS-N0). En effet, les animaux nourris avec le régime contenant 1000 ppm de nucléotides ont montré une longueur des villosités de 293 ( $\pm 12$ )  $\mu\text{m}$ , ceux nourris avec le régime contenant 500 ppm de nucléotides une longueur de 311 ( $\pm 15$ )  $\mu\text{m}$  alors que les porcelets ayant reçu le régime témoin ont montré une longueur des villosités de 221 ( $\pm 13$ )  $\mu\text{m}$  (Figure 3).



**Figure 3** – Effet des nucléotides exogènes ajoutés à un aliment riche en tourteau de soja sur la longueur des villosités du jéjunum de porcelets, 7 jours après sevrage.

Notes: <sup>a,b</sup> indique des différences significatives entre les traitements  $P < 0,001$ .

Au niveau du jéjunum, les porcelets ayant reçu le régime supplémenté avec 1000 ppm de nucléotides exogènes ont montré une profondeur des cryptes jéjunales plus importante  $173 (+/-8) \mu\text{m}$  ( $P < 0,001$ ) par rapport aux porcelets ayant reçu le régime DAS-N500 et le régime DAS-N0 dans lesquels la profondeur des cryptes a été de  $142 (\pm 6) \mu\text{m}$  et de  $140 (\pm 17) \mu\text{m}$  respectivement.

Les cryptes sont le lieu de stockage des cellules souches. Ces cellules évoluent en entérocytes, en cellules calciformes ou en cellules de paneth en fonction des challenges auxquelles elles sont confrontées lors du cycle de production. Ainsi, une réduction de la profondeur des cryptes indique une présence plus importante de cellules souches, grâce à l'apport en nucléotides exogènes.

Lors d'une première expérience réalisée sur des porcelets sevrés ayant reçus différents régimes alimentaires supplémentés ou non avec des nucléotides, de plus grandes productions d'ARNm codant pour la synthèse du facteur de croissance épidermique EGF (Epidermal Growth Factor), du facteur de croissance de l'insuline IGF-I (Insulin growth Factor I) et de la protéine de choc thermique HSP70 (Heat Shock Protein 70) ont été mesurées dans le tissu intestinal des porcelets ayant reçus des aliments supplémentés avec des nucléotides. L'IGF-I est important pour la croissance des tissus et l'EGF pour la réparation du tissu intestinal après les dommages causés par une infection ou par l'invasion de pathogènes. Enfin, HSP70 est une protéine produite pour empêcher les protéines cellulaires de perdre leur conformation tridimensionnelle suite à un choc thermique ou à une intoxication par des métaux lourds ou des dommages causés par les mycotoxines. La HSP70 permet de protéger les protéines cellulaires d'une dénaturation dans des conditions de production difficile.

L'apport de nucléotides dans l'aliment des porcelets sevrés permet de stimuler la croissance des villosités intestinales et d'amplifier l'expression génique des facteurs EGF, IGF-I et HSP70.

## 2.2. Analyse des cytokines

### 2.2.1. Cytokines anti-inflammatoires

La réponse pro-inflammatoire initiale est contrôlée par des molécules anti-inflammatoires telles que l'IL-1ra, le facteur de croissance transformant bêta (TGF- $\beta$ ) et les interleukines 4, 6, 10, 11 et 13. Dans des conditions physiologiques, ces molécules

ont un rôle immuno-modulateur limitant l'effet potentiellement dommageable de la réaction inflammatoire. Cependant, dans des conditions pathologiques, la réponse anti-inflammatoire peut être insuffisante pour juguler l'inflammation ou au contraire être anormalement élevée et inhiber le système immunitaire.

Les dosages de la concentration du récepteur antagoniste de l'IL-1 (IL-1ra) ont montré des différences ( $P < 0,05$ ). Les porcelets ayant reçu le régime DAS-N500 ont montré la concentration la plus élevée de  $1,66 (\pm 0,21) \text{ ng/mL}$  comparativement aux porcelets ayant reçu les régimes DAS-1000 et DAS-N0 avec des niveaux de  $1,09 (\pm 0,15) \text{ ng/mL}$  et de  $0,90 (\pm 0,14) \text{ ng/mL}$  respectivement. IL-1ra est un régulateur naturel des fonctions de la cytokine pro-inflammatoire IL-1, IL-1ra étant un antagoniste qui se lie aux récepteurs de l'IL-1 sans induire une transduction du signal. Comme les actions biologiques de l'IL-1 sont basées sur l'induction de gènes codant pour la cyclo-oxygénase de type 2 (COX-2), la phospholipase de type 2 (PLAT2) et l'oxyde nitrique synthase (iNOS), les conséquences biologiques de cette induction entraînent une réponse inflammatoire franche. Les nucléotides exogènes à 500 ppm semblent agir en contrôlant la sécrétion IL-1, ce qui peut être utile pour réduire l'inflammation intestinale après le sevrage.

Une autre cytokine anti-inflammatoire importante est l'IL-4, car cette molécule est un indicateur de la réponse Th2 ainsi que de la production d'autres cytokines et anticorps. Dans cette étude, l'inclusion de 500 ppm de nucléotides exogènes a augmenté les concentrations d'IL-4 ( $P < 0,05$ ), de sorte que les porcelets alimentés avec le DAS-N500 ont présenté des concentrations de  $2,54 (\pm 0,40) \text{ ng/mL}$  contrairement aux porcelets nourris avec le régime DAS-N1000 ou le régime DAS-N0 qui ont présenté des concentrations de  $1,51 (\pm 0,31) \text{ ng/mL}$  et  $1,21 (\pm 0,28) \text{ ng/mL}$  respectivement. En outre, l'IL-4 est un inhibiteur des IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  et IL-8 et tout comme l'IL-10, elle est un puissant activateur des lymphocytes B. L'IL-4 est nécessaire pour la production d'IgE et elle est la cytokine principale qui active le passage de la production IgG à la production d'IgE et IgG4 par les cellules B.

L'interleukine IL-10 est le plus important médiateur anti-inflammatoire des cytokines dans la réponse immunitaire. Dans cette étude, l'inclusion de 500 ppm de nucléotides dans le régime a considérablement augmenté ( $P < 0,05$ ) les concentrations sériques d'IL-10. Les porcelets alimentés avec le régime DAS-N500 ont présenté des concentrations supérieures  $1,17 (\pm 0,12) \text{ ng/mL}$  aux porcelets du régime DAS-N1000 présentant des concentrations de  $0,56 (\pm 0,11) \text{ ng/mL}$  tandis que les porcelets du régime DAS-N0 ont montré des concentrations de  $0,47 (\pm 0,08) \text{ ng/mL}$ . L'IL-10 inhibe la synthèse d'un certain nombre de cytokines impliquées dans le processus inflammatoire comprenant IL-2, IL-3, GM-CSF, TNF- $\alpha$  et IFN- $\gamma$ .

### 2.2.2. Cytokines pro-inflammatoires

Les nucléotides exogènes n'ont eu aucun effet significatif sur les cytokines pro-inflammatoires qui ont été mesurées IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , IL-18, IL-8 et IL-12 ( $P < 0,05$ ) à l'exception de IL-1b ( $P = 0,02$ ).

Les concentrations sériques d'IL-1b diffèrent entre les groupes ( $P < 0,05$ ). Les porcelets ayant reçu le régime DAS-N1000 ont eu des concentrations de  $0,86 (\pm 0,19) \text{ ng/mL}$ , les porcelets ayant reçu le régime DAS-N500 des concentrations de  $1,50 (\pm 0,20) \text{ ng/mL}$  et les porcelets ayant reçu le régime DAS-N0 ont montré des concentrations de  $0,90 (\pm 0,17) \text{ ng/mL}$ . L'IL-1b est l'un des principaux activateurs de la réponse en phase aiguë (Suffredini

et al., 1999). Un apport de nucléotides exogènes pourrait ainsi moduler les molécules qui jouent un rôle important dans l'immunité.

D'autre part, les concentrations sériques d'IL-1 $\alpha$  observées chez les porcelets alimentés avec le régime DAS-N1000 ont été de 0,09 ( $\pm$ 0,01) ng/mL tandis que ceux ayant reçu le régime DAS-N500 ont montré des concentrations de 0,07 ( $\pm$ 0,01) ng/mL et les porcelets ayant reçu le régime DAS-N0 ont montré des concentrations de 0,86 ( $\pm$ 0,01) ng/mL ( $P > 0,05$ ). L'IL-1 $\alpha$  est un médiateur critique de la réponse inflammatoire, jouant un rôle important en cas d'inflammation chronique.

Les concentrations de TNF- $\alpha$  ont été similaires ( $P > 0,05$ ) entre les régimes expérimentaux. Les porcelets nourris avec le régime DAS-N1000 ont présenté les concentrations les plus élevées : 0,14 ( $\pm$ 0,19) ng/mL tandis que ceux qui ont reçu le régime DAS-N500 ont montré des concentrations de 0,11 ( $\pm$ 0,26) ng/mL. Les porcelets alimentés avec le régime DAS-N0 ont montré des valeurs de 0,02 ( $\pm$ 0,13) ng/mL.

Les mêmes tendances ont été observées pour INF- $\gamma$  : il n'y a eu aucune différence significative concernant les concentrations d'INF- $\gamma$  ( $P > 0,05$ ). On remarque que les porcelets ayant reçu le régime DAS-N0 ont eu les concentrations les plus élevées d'INF- $\gamma$  : 18,12 ( $\pm$ 2,21) ng/mL ( $P > 0,05$ ) comparativement aux

porcelets ayant reçu les régimes DAS-N1000 et DAS-N500 avec des concentrations respectives de 17,60 ( $\pm$ 2,25) ng/mL et de 17,22 ( $\pm$ 2,41) ng/mL.

En outre, il n'y a pas eu de différence significative concernant les concentrations d'IL-18 ( $P > 0,05$ ). Les porcelets ayant reçu le régime DAS-N500 ont eu les concentrations les plus élevées : 3,45 ( $\pm$ 0,31) ng/mL suivis de ceux qui ont reçu le régime DAS-N1000 présentant des concentrations de 2,91 ( $\pm$ 0,25) ng/mL similaires aux concentrations des porcelets ayant reçu le régime DAS-N0 : 2,81 ( $\pm$ 0,20) ng/mL.

Les concentrations d'IL-12 ont été similaires entre les régimes alimentaires ( $P > 0,05$ ), les porcelets du régime DAS-N0 ont présenté des concentrations sériques de 3,33 ( $\pm$ 0,27) ng/mL, ceux du régime DAS-N500 ont eu des concentrations sériques de 3,64 ( $\pm$ 0,38) ng/mL, alors que pour les porcelets du régime DAS-N1000 les niveaux d'IL12 ont été de 3,22 ( $\pm$ 0,26) ng/mL.

Enfin, il n'y a pas de différence significative ( $P > 0,05$ ) dans les concentrations sériques d'IL-8. Les porcelets alimentés avec le régime DAS-N1000 ont montré des concentrations de 2,71 ( $\pm$ 0,27) ng/mL et de 2,23 ( $\pm$ 0,31) ng/mL pour les porcelets ayant consommé le régime DAS-N500 tandis que chez les porcelets du régime DAS-N0, les concentrations sériques ont été de 2,27 ( $\pm$ 0,29) ng/mL (Tableau 2).

**Tableau 2** – Concentrations sériques des cytokines chez les porcelets ayant reçu un aliment riche en tourteau de soja supplémenté avec différents apports de nucléotides exogènes

Cytokines pro- inflammatoires (ng/mL)	Aliments expérimentaux			P - value
	DAS-N0	DAS-N500	DAS-N1000	
INF- $\gamma$	18,12 $\pm$ 2,21	17,22 $\pm$ 2,41	17,60 $\pm$ 2,21	0,7959
IL-1 $\alpha$	0,86 $\pm$ 0,01	0,73 $\pm$ 0,01	0,86 $\pm$ 0,01	0,6358
IL-1b	0,90 $\pm$ 0,17 a	1,50 $\pm$ 0,20 b	0,86 $\pm$ 0,19 a	0,0188
IL-18	2,81 $\pm$ 0,19	3,45 $\pm$ 0,31	2,91 $\pm$ 0,25	0,2197
IL-8	2,27 $\pm$ 0,29	2,23 $\pm$ 0,31	2,71 $\pm$ 0,27	0,5136
TNF- $\alpha$	0,13 $\pm$ 0,02	0,11 $\pm$ 0,26	0,14 $\pm$ 0,19	0,7294
IL-12	3,33 $\pm$ 0,27	3,64 $\pm$ 0,38	3,22 $\pm$ 0,26	0,6508
Cytokines anti - inflammatoires (ng/mL)	DAS-N0	DAS-N500	DAS-N1000	P - value
IL-1ra	0,90 $\pm$ 0,14 a	1,66 $\pm$ 0,21 b	1,09 $\pm$ 0,15 a	0,0163
IL-4	1,21 $\pm$ 0,28 a	2,54 $\pm$ 0,40 b	1,51 $\pm$ 0,31 a	0,0013
IL-10	0,47 $\pm$ 0,08 a	1,17 $\pm$ 0,12 b	0,56 $\pm$ 0,11 a	0,0012

<sup>a,b</sup> indique des différences significatives entre les traitements ( $P < 0,05$ ).

DAS-N0 : aliment riche en tourteau de soja sans nucléotides ;

DAS-N500 : aliment riche en tourteau de soja supplémenté avec 500 ppm de nucléotides

DAS-N1000 : aliment riche en tourteau de soja supplémenté avec 1000 ppm de nucléotides

## CONCLUSION

Le sevrage est la période la plus cruciale pour le porcelet car il passe d'une alimentation liquide et lactée à une alimentation solide à base de céréales, induisant des anomalies au niveau de la morphologie intestinale et une diminution des performances de croissance. De nombreuses publications suggèrent que les nucléotides alimentaires optimisent la fonction immunitaire. Cette étude a permis de mesurer l'effet d'une source de nucléotides sur la production de cytokines lors d'un stress nutritionnel chez des porcelets tout juste sevrés recevant un aliment riche en tourteau de soja. Les résultats observés confirment ceux d'autres études concernant l'influence bénéfique de l'apport de nucléotides pour réduire ou prévenir

l'atrophie duodénale et jéjunale. L'inclusion de 500 ppm de nucléotides exogènes dans l'aliment apporte le meilleur effet bénéfique pour réduire les dommages intestinaux. En outre, ces résultats suggèrent que les nucléotides ont une action immunomodulatrice sur la production de cytokines anti-inflammatoires ce qui laisse supposer qu'ils pourraient être des agents puissants pour réduire l'inflammation intestinale précoce observée chez les porcelets après le sevrage. Bien que les données présentées dans cette étude suggèrent que l'apport en nucléotides alimentaires peut moduler cette sécrétion de cytokines anti-inflammatoires, les mécanismes sous-jacents restent inconnus.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Babinska I., Rotkiewicz T., Otrocka-Domagala I., 2005. The effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. administration on the morphology of the gastrointestinal tract, liver and pancreas in piglets. *Pol. J. Vet. Sci.* 8, 29-35.
- Brooks PH., Moran CA., Beal J.D., 2001. Liquid feeding for the young piglet. In: Varley MA., Wiseman J., Eds. *The Weaner Pig. Nutrition and management.* Wallingford: CAB international, 151-78.
- Bruininx E.M., Schellingerhout A.B., Lensen E.G., Van der Peet-Schwering C.M., Schrama J.W., Everts H., Den Hartog L. A., Beynen A. C., 2002. Associations between individual food intake characteristics and indicators of gut physiology of group-housed weanling pigs differing in genotype. *Anim. Sci.* 75, 103-13.
- Bueno J., Torres A., Almendros A., Carmona R., Nunez M. C., Gil A., 1994. Effect of dietary nucleotides on small intestinal repair after diarrhea. *Histological and ultrastructural changes.* *Gut* 35, 926-933.
- Carver J. D., 1994. Dietary nucleotides: cellular immune, intestinal and hepatic system effects. *J. Nutr.* 12, 144-148.
- Carver J. D., Walker A. W., 1995. The role of nucleotides in human nutrition. *Nutr. Biochem.* 6, 58-72.
- Chandra R. K., Kumari S., 1994. Nutrition and immunity: an overview. *J. Nutr.* 124, 1433S- 1435S.
- Dilger R. N., Sands J. S., Ragland D., Adeola O., 2004. Digestibility of nitrogen and amino acids in soybean meal with added soyhulls. *J. Anim. Sci.* 82, 715-724.
- Domeneghini C., Di Giancamillo A., Savoini G., Paratte R., Bontempo V., Dell'Orto V., 2004. Structural patterns of swine ileal mucosa following L-glutamine and nucleotide administration during the weaning period. An histochemical and histometrical study. *Histol. Histopathol.* 19, 49-58.
- Friesen K. G., Goodband R. D., Nelssen J. L., Blecha F., Reddy D. N., Reddy P. G., Kats L. J., 1993. The effect of pre- and postweaning exposure to soybean meal on growth performance and on the immune response in the early-weaned pig. *J. Anim. Sci.* 71, 2089-2098.
- Gill A., 2002. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides. *Eur. J. Clin. Nutr.* 56(Suppl 3), 1-4.
- Isolauri E., Sutas Y., Kankaanpaa P., Arvilommi H., Salminen S., 2001. Probiotics: effects on immunity. *Am. J. Clin. Nutr.* 73, 444-450.
- Hao Y., Zhan Z., Guo P., Piao X., Li D., 2009. Soybean  $\beta$ -conglycinin-induced gut hypersensitivity reaction in a piglet model. *Arch. Anim. Nutr.* 63, 188-202.
- Kulkarni A. D., Rudolph F. B., Van Buren C. T., 1994. The role of dietary sources of nucleotides in immune function: a review. *J. Nutri.* 124, 1442-1446.
- Li D. F., Nelssen J. L., Reddy P. G., Blecha F., Hancock J. D., Allee G. L., Goodband R. D., Klemm R. D., 1990. Transient hypersensitivity to soybean meal in the early-weaned pig. *J. Anim. Sci.* 68, 1790-1799.
- Mateo C. D., Peters D. N., Stein H. H., 2004. Nucleotides in sow colostrum and milk at different stages of lactation. *J. Anim. Sci.* 82, 1339-1342.
- Marion J., Biernat M., Thomas F., Savary G., Le Breton Y., Zabielski R., Le Huërou-Luron I., Le Dividich J., 2002. Small intestine growth and morphometry in piglets weaned at 7 days of age. Effect of level of energy intake. *Reprod. Nutr. Dev.*; 42, 339-54.
- Matsumoto Y., Adje A. A., Yamauchi K., Kise M., Nakasone Y., Hinegawa Y. S., Yokoyama H., Yamamoto S., 1995. Mixture of nucleosides and nucleotides increases bone marrow cell and peripheral neutrophil number in mice infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biochemical and molecular roles of nutrients.* *J. Nut.* 125, 815-822.
- McCracken B. A., Gaskins H. R., Ruwe-Kaiser P. J., Klasing K. C., Jewell D. E., 1995. Diet-dependent and diet-independent metabolic responses underlie growth stasis of pigs at weaning. *J. Nutr.* 125, 2838-2845.
- Miller B. G., Newby T. J., Stokes C. R., Hampson D. J., Brown P. J., Bourne F. J., 1984. The importance of dietary antigen in the cause of post weaning diarrhea in pigs. *Am. J. Vet. Res.* 45, 1730-1733.
- Pendergast DR., Meksawan K., Limprasertkul A., Fisher N.M., 2011. Influence of exercise on nutritional requirements. *Eur. J. Appl. Physiol.* 111, 379-390.
- Pluske JR., Hampson DJ., Williams IH., 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Livest. Prod. Sci.* 51, 215-36.
- Rackis J. J., 1975. Oligosaccharides of food legumes: Alpha-galactosidase activity and the flatus problem. A. Jeans and J. Hodge (ed.) *Physiological Effects of Food Carbohydrates.* Am. Chem. Soc., Washington, D. C. 207-222.
- Schweiger M., Steffl M., Amselgruber WM., 2003: Differential expression of EGF receptor in the pig duodenum during the transition phase from maternal milk to solid food. *J. Gastroenterol.* 38, 636-642.
- Suffredini AF., Fantuzzi G., Badolato R., Oppenheim J. J., O'Grady NP, 1999. New insights into the biology of the acute phase response. *J Clin Immunol.* 19, 203-14.
- Uauy R., Stringel G., Thomas R., Quan R., 1990. Effect of dietary nucleosides of growth and maturation of the developing gut in rat. *J. Pediatr. Gastroenterology Nutr.* 10, 497-503.
- Wu Y., Kudsk K. A., DeWitt R. C., Tolley E. A., Li J., 1999. Route and type of nutrition influence IgA-mediated intestinal cytokines. *Ann. Surg.* 229, 662-667.