

L'exposition répétée à un extrait riche en fumonisine B₁ altère les fonctions d'absorption, de sécrétion et de digestion de l'intestin grêle chez le porc sevré

Martin LESSARD (1), Gaëlle BOUDRY (2), Bernard SÈVE (2), Isabelle P. OSWALD (3), Jean-Paul LALLÈS (2)

(1) Agriculture et Agroalimentaire Canada, Centre de R & D sur le bovin laitier et le porc, J1M 1Z3, Sherbrooke, Canada

(2) INRA, UMR 1079, Systèmes d'élevage, Nutrition animale et humaine, F-35590, Saint-Gilles

(3) INRA, UR 66, Unité de pharmacologie-toxicologie, F-31931, Toulouse

Jean-Paul.Lalles@rennes.inra.fr

Avec la collaboration technique de M. Formal, J. N. Nouchet, C. Perrier et la regrettée B. Trépier

L'exposition répétée à un extrait riche en fumonisine B₁ altère les fonctions d'absorption, de sécrétion et de digestion de l'intestin grêle chez le porc sevré

Dans cette étude, nous avons évalué l'influence d'une exposition répétée à la fumonisine B₁ (FB₁) sur les fonctions d'absorption, de sécrétion et de barrière intestinales. Des paires de porcelets (n = 36) de mêmes portées, sevrés et âgés de 35 jours, ont reçu une solution de FB₁ (1,5 mg/kg de poids vif/jour) ou le véhicule (témoin) pendant 9 jours. Les performances ont été enregistrées. Après l'abattage des porcs (jour 44), divers organes ont été pesés et des échantillons d'intestin grêle ont été prélevés pour effectuer des mesures de morphologie, d'activités enzymatiques (aminopeptidase N, saccharase), et de physiologie intestinale sur des muqueuses jéjunales montées en chambres d'Ussing (CU). L'ingestion de FB₁ n'a pas influencé la croissance mais l'indice de consommation a été plus élevé chez les porcs exposés à FB₁ comparativement aux porcs témoins (P = 0,04). Le poids du foie a augmenté (P = 0,01) et celui de la rate a diminué (P = 0,06) avec l'ingestion de FB₁. Les villosités iléales tendaient à être plus hautes (p = 0,07) et l'activité jéjunale de l'aminopeptidase N a été plus faible (P = 0,004) chez les porcs ayant reçu la FB₁. L'absorption du glucose et la capacité sécrétoire induite par le peptide intestinal vasoactif ou la théophylline en CU avaient tendance à être plus élevées chez les porcs ayant reçu la FB₁ que chez les témoins (P = 0,06, 0,10 et 0,07, respectivement). En conclusion, l'ingestion de FB₁ altère les fonctions barrière et digestive de l'intestin, ce qui pourrait accroître la sensibilité aux infections entériques.

Repeated exposure to fumonisin B₁ extract alters absorptive, secretory and digestive functions of small intestine in weanling pigs

In this study, the influence of daily consumption of fumonisin B₁ (FB₁) on indices of intestinal physiology was evaluated in weanling pigs. Intra-litter pairs of pigs (n = 36) weaned at 28 days of age were fed a FB₁ solution (1.5 mg/kg of body weight/day) or the vehicle (control) for 9 d starting 7 d post-weaning. After slaughter (day 44), spleen, liver, stomach and intestine were weighed. Samples of small intestine were taken to perform measurements on intestinal morphology, enzyme activities (aminopeptidase N and saccharase) and intestinal physiology using jejunum mucosa mounted in Ussing chambers (UC). Growth was not affected by FB₁ ingestion but feed conversion ratio was increased (P = 0.04) in FB₁-treated pigs compared to controls. Liver weight was increased (P = 0.01) whereas spleen weight was decreased (P = 0.06) in FB₁ treated pigs compared to control group. Villous height in the distal ileum tended to be higher (P = 0.07) in pigs orally treated with FB₁ than in controls and the activity of aminopeptidase N was reduced in the jejunum of FB₁-treated pigs compared to controls (P = 0.004). In UC chambers, jejunum glucose absorption and secretory capacity induced by vasoactive intestinal peptide and theophylline tended to be higher in FB₁ pigs than in controls (P = 0.06, 0.10 and 0.07, respectively). In conclusion, ingestion of FB₁ altered various indices of intestinal physiology, architecture and enzyme activities that may increase susceptibility to intestinal infections.

INTRODUCTION

Les fumonisines sont des mycotoxines produites par *Fusarium verticillioides*, et couramment retrouvées dans le maïs. La fumonisine B₁ (FB₁) est la plus toxique et cause différentes mycotoxicoses chez les animaux de rente, telles la leucoencéphalomalacie équine et l'œdème pulmonaire porcin. Elle est hépatotoxique et néphrotoxique chez diverses espèces animales (Bolger et al., 2001). Chez le porc, la FB₁ réduit les réponses immunitaires (Taranu et al., 2005) et favorise la colonisation de l'intestin par des agents pathogènes entériques (Oswald et al., 2003).

L'intestin a deux fonctions complémentaires : digestion/absorption des nutriments et défense contre les substances nocives et les agents pathogènes. Les effets toxiques documentés de la FB₁ sur l'intestin sont une modification de la structure et de la cellularité intestinale (revue de Bouhet et Oswald, 2007). Ainsi, des doses modérées de FB₁ réduisent la libération de cytokines par les cellules épithéliales intestinales et la viabilité cellulaire en inhibant la prolifération cellulaire et en induisant l'apoptose, alors que les doses plus élevées sont cytotoxiques (Bouhet et al., 2004, 2006). L'exposition prolongée à la FB₁ perturbe la résistance électrique transépithéliale dans les couches de cellules épithéliales intestinales, suggérant des altérations de la fonction de barrière intestinale (Bouhet et al., 2004). Étonnamment, aucune information *in vivo* à ce jour n'appuie ces observations *in vitro*.

Les mécanismes de toxicité des fumonisines sont complexes (Bouhet et Oswald, 2007). La FB₁ a une structure comparable à celle des sphingolipides, de la sphingosine et de la sphinganine (Bouhet et al., 2004) et elle inhiberait la conversion de la sphinganine, de la sphingosine et de l'acyl gras-CoA en céramide en bloquant la céramide synthase (Soriano et al., 2005 ; Voss et al., 2007). Puisque les membranes cellulaires contiennent des microdomaines riches en sphingolipides et en cholestérol, l'altération du métabolisme des sphingolipides peut nuire à la prolifération cellulaire et à la transmission des signaux extracellulaires et intracellulaires.

Les objectifs du présent travail sont d'étudier l'influence d'une ingestion répétée d'un extrait riche en FB₁ sur les propriétés d'absorption, de sécrétion et de barrière de l'intestin grêle *in vivo*.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1. Préparation de l'extrait de FB₁

La mycotoxine FB₁ a été obtenue à partir de la culture *in vitro* de la souche NRRL 34281 de *Fusarium verticillioides*, décrite précédemment (Oswald et al., 2003). L'extrait obtenu de la culture contenait 2,3 mg/mL de FB₁ et des faibles concentrations de FB₂ (0,34 mg/mL) et de FB₃ (0,38 mg/mL) (Marin et al., 2006). Cet extrait ne contenait pas de zéaralenone, de deoxynivalenol, de fusarochromanone ou de trichothécènes.

1.2. Animaux, aliments pour animaux et dispositif expérimental

Trente-six porcelets mâles castrés [Piétrain × (Landrace × Large-White)] (dans 3 lots de 12 porcelets) provenant du troupeau expérimental de l'INRA de Saint-Gilles, ont été sevrés à l'âge de 28 jours et utilisés dans un schéma expérimental en blocs complets. Au

moment du sevrage (jour 0), des paires de porcelets d'une même portée ont été formées en tenant compte du taux de croissance pré-sevrage et du poids corporel au sevrage. Les porcelets de chaque paire ont été répartis au hasard entre le groupe témoin et le groupe traité à la FB₁. Le poids corporel au sevrage était de 8,96 et de 8,97 ± 0,32 kg pour les groupes témoin et FB₁. Les porcs sevrés ont été placés dans des cages individuelles (0,6 × 0,8 m) et tous ont reçu la même alimentation durant l'expérience. La quantité quotidienne d'aliments ingérés par porc a été augmentée progressivement durant la première semaine suivant le sevrage pour atteindre une valeur correspondant à 75 % des besoins énergétiques. Ces mesures ont été prises pour limiter les différences d'ingestion d'aliments entre les groupes de porcs car la contamination par des mycotoxines affecte l'ingestion volontaire d'aliments (Dersjant-Li et al., 2003). Sept jours après le sevrage, les porcs du groupe FB₁ ont commencé à recevoir oralement pendant neuf jours une dose de 1,5 mg/kg de poids vif/jour d'extrait de FB₁ dilué dans une solution de glucose à 20 %. Les porcs témoins recevaient oralement la dose correspondante de solution de glucose sans FB₁. La croissance et la prise alimentaire ont été mesurées. À la fin de l'essai et 1,5 h après le dernier repas, les porcs d'une même paire ont été euthanasiés par électroanesthésie, puis saignés.

1.3. Collecte de tissu intestinal

Après laparotomie, le foie, la rate et le tractus digestif ont été retirés et pesés. L'estomac, l'intestin grêle, le cæcum et le côlon ont été isolés. L'estomac et l'intestin grêle ont été disséqués, et ce dernier a été divisé en trois segments de longueur égale. Le poids des tissus frais d'intestin grêle et de côlon a été déterminé après avoir vidé de leur contenu les segments complets et de les avoir rincés avec une solution saline. Un segment de 25 cm de jéjunum proximal (commençant à 50 cm du pylore) a été rapidement retiré et placé dans une solution de bicarbonate de Ringer (pH 7,4) pour être monté dans des chambres d'Ussing (CU). Des morceaux (0,5 × 0,5 cm) de duodénum, de jéjunum et d'iléon ont été prélevés pour l'histologie. Ils ont été placés dans une solution de formol tamponné (pH 7,2), pendant 24 h à une température de 4 °C, puis lavés et conservés dans une solution d'éthanol 75 %. Des prélèvements adjacents de muqueuses de duodénum, de jéjunum et d'iléon (20 cm chacun) ont été préparés et congelés dans l'azote liquide puis conservés à -80 °C, en attente des analyses d'activité enzymatique.

1.4. Analyses de laboratoire

1.4.1. Morphologie des villosités et des cryptes et activités des enzymes digestifs le long de l'intestin grêle

Les échantillons de tissu duodéal, jéjunal et iléal ont été microdisséqués, et les villosités et les cryptes ont été mesurées selon la technique publiée (Goodlad et al., 1991). Les activités de l'aminopeptidase N et de la saccharase ont été déterminées dans les homogénats de muqueuse intestinale selon les méthodes publiées (Salgado et al., 2001).

1.4.2. Mesures des paramètres électriques de la muqueuse jéjunale et de sa perméabilité à la peroxydase du raifort

Les propriétés électrophysiologiques et la perméabilité à la peroxydase du raifort (HRP Type VI, Sigma) du jéjunum proximal

ont été mesurées dans un ensemble de 12 CU, telles que décrites précédemment (Boudry et al., 2002). Au sein d'une paire de porcs, six chambres ont été allouées au hasard pour recevoir des tissus prélevés chez le porc ayant reçu la FB1 et six autres pour recevoir des tissus prélevés chez le porc témoin. Une solution de FB₁ purifiée (Sigma F-1147 ; 10 µmol/L) a été ajoutée dans la moitié des CU (3 CU par animal) sur le côté muqueux du tissu jéjunale alors que les autres ont servi de témoins et ont reçu le véhicule, une solution de mannitol à 16 mmol/L.

Après avoir laissé reposer les tissus pendant 20 minutes, le courant de court-circuit (Isc) basal et la résistance électrique transépithéliale ont été mesurés pour déterminer les valeurs moyennes entre 20 et 30 minutes. Par la suite, les valeurs de Isc basal et de résistance électrique transépithéliale ont été enregistrées entre 60 et 70 min et 110 et 120 min pour évaluer la stabilité et la viabilité du tissu jéjunale dans les CU. Après la première mesure de ces valeurs, l'absorption du glucose a été évaluée par la variation de l'Isc (Δ Isc) après l'ajout du côté muqueux de la solution de D-glucose à 16 mmol/L osmotiquement équilibrée par l'ajout d'une solution de mannitol à 16 mmol/L du côté séreux. L'inhibition du co-transporteur 1 du D-glucose dépendant du sodium induite par l'ajout d'une solution de phlorizine à 0,5 mmol/L du côté muqueux a été évaluée 10 min après l'ajout du glucose. La fonction sécrétoire de l'intestin, évaluée par la sécrétion d'ions chlorures, a été induite par une solution de sérotonine (5-HT ; Sigma) à 0,1 mmol/L ou une solution de peptide intestinal vasoactif (VIP ; Sigma) à 0,1 µmol/L, suivies 10 min plus tard par l'ajout d'une solution de théophylline (Sigma) à 2,5 mmol/L. Pour chaque porc d'une même paire, deux chambres distinctes (avec ou sans FB₁ purifiée) ont été utilisées pour mesurer la perméabilité intestinale aux macromolécules en utilisant la HRP. Brièvement, la HRP a été ajoutée du côté muqueux (concentration finale de 0,375 mg/mL), et des échantillons des milieux d'incubation ont été prélevés du côté séreux toutes les 30 minutes pendant 120 minutes. Les concentrations de HRP ont été déterminées par dosage enzymatique en utilisant l'o-dianisidine comme substrat. Les flux de HRP par période de 30 minutes ont été calculés en tenant compte des concentrations

de HRP, de la superficie de la section de la chambre (1,13 cm²) et du temps écoulé entre l'ajout de HRP et le prélèvement du milieu d'incubation.

1.5. Analyses statistiques

Les données ont été analysées en utilisant la procédure MIXED ou la procédure GLIMMIX pour l'aminopeptidase N n'obéissant pas à une distribution gaussienne (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). L'effet du lot de porcs a été testé par rapport à la variation résiduelle entre les paires de porcs. L'effet de l'exposition à la FB₁ *in vivo* et *ex vivo* en CU a été testé par rapport à la variation résiduelle intra-paires de porcs.

2. RÉSULTATS

2.1. Performance de croissance, ingestion d'aliments et poids des organes

Le gain pondéral et la quantité d'aliment ingérée n'ont pas été modifiés par l'ingestion de FB₁ (Tableau 1). Toutefois, l'indice de consommation est plus élevé (P = 0,04) chez les porcs traités à l'extrait de FB₁ (du jour 7 à la fin de l'essai) comparativement aux porcs du groupe témoin. L'ingestion de FB₁ n'a pas influé sur le poids du tube digestif, de l'estomac, de l'intestin grêle, du caecum et du côlon alors que le poids du foie est plus élevé (P = 0,01) et celui de la rate est diminué (P = 0,06) chez les porcs FB₁.

2.2. Influence de la FB₁ sur l'absorption du glucose, la capacité sécrétoire et la perméabilité du jéjunum

L'absorption de glucose au niveau de la muqueuse jéjunale tendait à être plus élevée (P = 0,06) chez les porcs ayant consommé l'extrait de FB₁ comparativement aux porcs témoins (Figure 1A). Chez le groupe traité avec FB₁, l'inhibition du transport du glucose par la phlorizine était également augmentée en valeur absolue (P = 0,02) mais le pourcentage d'inhibition n'a pas varié entre traitements (P = 0,80) (Figures 1B et 1C).

Tableau 1 - Performance et poids d'organes et de segments du tube digestif chez des porcs sevrés et traités oralement avec de la fumonisine B₁ (FB₁) pendant 9 jours (Jours 7 à 16)

Variables	Témoin	FB1	ET ⁽¹⁾	Valeur de P
Gain de poids de j0 à j7 (kg)	1,95	1,92	0,13	0,83
Gain de poids de j7 à j16 (kg)	3,06	2,79	0,19	0,25
Consommation de j7 à j16 (kg)	4,14	4,04	0,15	0,23
Indice de consommation de j7 à j16 (kg d'aliment/kg de poids)	1,21	1,33	0,08	0,04
Poids du foie (g)	321	352	8	0,01
Poids de la rate (g)	26,5	23,7	1,3	0,06
Poids du tube digestif (g)	2153	2179	77	0,71
Poids de l'estomac vide (g)	111	106	3	0,30
Poids de l'intestin grêle (g)	544	548	18	0,78
Poids du caecum vide (g)	29,6	30,8	2,0	0,17
Poids du côlon vide (g)	186	190	12	0,54

⁽¹⁾ ET : Erreur-type

La capacité sécrétoire de la muqueuse jéjunale induite par la 5-HT n'a pas été modifiée par la consommation de FB₁ (Figure 2A). Elle avait tendance à augmenter en présence de VIP (P = 0,10) chez les porcs ayant consommé la FB₁ comparativement aux porcs du groupe témoin (Figure 2B). L'ajout de FB₁ purifiée dans les CU n'a eu aucun effet sur la capacité sécrétoire de la muqueuse jéjunale induite par la 5-HT ou le VIP (P = 0,71 et P = 0,58, respectivement). En ce qui concerne la théophylline, une interaction significative (P = 0,04) entre le traitement oral et l'ajout de FB₁ dans les CU indique que l'augmentation de la réponse de la muqueuse jéjunale chez les porcelets ayant reçu la FB₁ orale, comparativement aux témoins, a été supprimée par l'ajout de FB₁ dans la CU (Figure 2C).

Les flux de HRP mesurés pendant les périodes successives de 30 minutes ont tous varié significativement (P = 0,004) en fonction du temps. Une interaction entre le traitement oral à la FB₁ et l'ajout de FB₁ dans les CU indique que chez les porcelets du groupe témoin, les flux moyens globaux de HRP à travers le tissu jéjunale au cours de la période de 120 min ont augmenté dans les CU où de la FB₁ a été ajoutée comparativement aux CU sans ajout de FB₁ (P = 0,04) alors que cette augmentation de la perméabilité chez les porcelets ayant reçu oralement la FB₁ n'apparaît plus avec l'addition de FB₁ dans la CU (Figure 3).

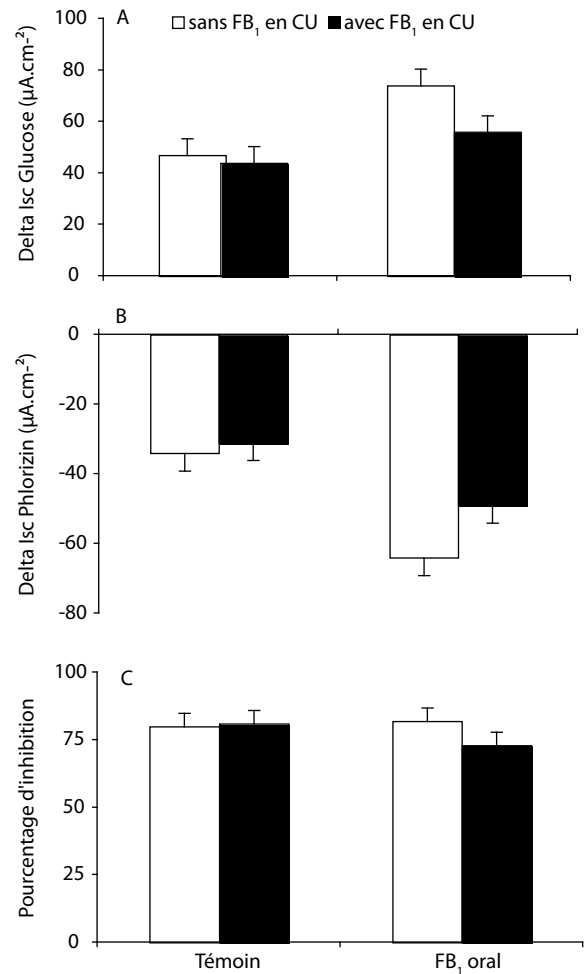
2.3. Influence de la FB₁ sur la morphologie et les activités enzymatiques de l'intestin grêle

Seule la hauteur des villosités de l'iléon distal tendait à être plus élevée (P = 0,07) chez les porcs ayant reçu une dose orale de FB₁ comparativement aux porcs témoins (Tableau 2).

Seule l'activité jéjunale de l'aminopeptidase N a été réduite chez les porcs ayant reçu le traitement à la FB₁ comparativement aux porcs témoins (P = 0,004) (Tableau 3).

3. DISCUSSION

L'ingestion de FB₁ n'a pas eu d'effet sur la croissance mais elle a augmenté l'indice de consommation des porcs réduisant ainsi leurs performances. Ces effets sur la croissance peuvent être expliqués en partie par les influences de FB₁ sur la physiologie intestinale, l'architecture et l'activité enzymatique à différents sites.



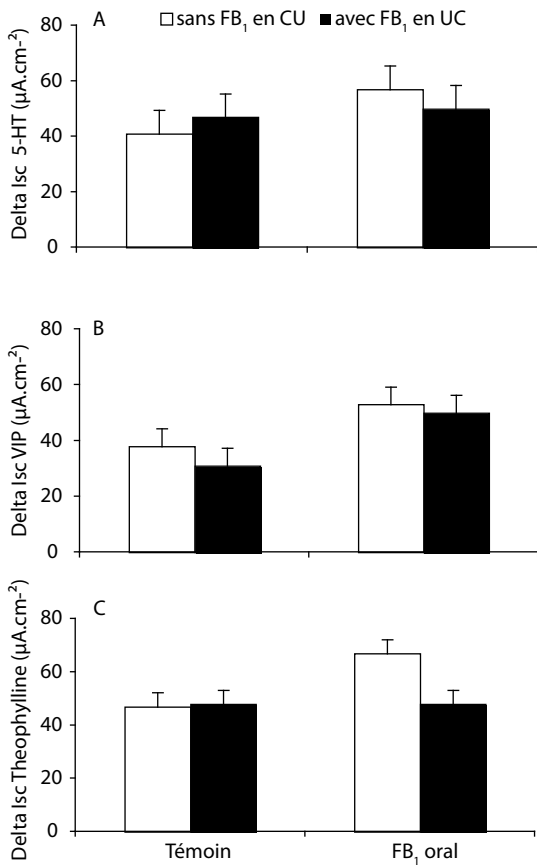
Les mesures ont été faites sans (barre blanche) ou avec (barre noire) l'addition de FB₁ dans les CU. Les figures 1A et 1B montrent la variation du courant de court-circuit basal (delta I_{sc}) avec le glucose et la phlorizine respectivement et 1C, le pourcentage d'inhibition par rapport à l'absorption de glucose. La réponse au glucose est plus élevée (P = 0,06) chez les porcs traités oralement avec FB₁ comparativement au groupe Témoin. Cette réponse au glucose a été également plus inhibée par la phlorizine chez les FB₁ (P = 0,02) mais le pourcentage d'inhibition n'est pas affecté par les traitements. L'ajout de FB₁ dans les CU n'a pas eu d'effet.

Figure 1 - Influence d'une ingestion répétée de fumonisine B₁ (FB₁) sur l'absorption du glucose et son inhibition par la phlorizine par la muqueuse jéjunale montée dans des chambres d'Ussing (CU)

Tableau 2 - Hauteur des villosités et profondeur des cryptes de l'intestin grêle chez des porcs sevrés et traités oralement avec de la fumonisine B₁ (FB₁) pendant 9 jours

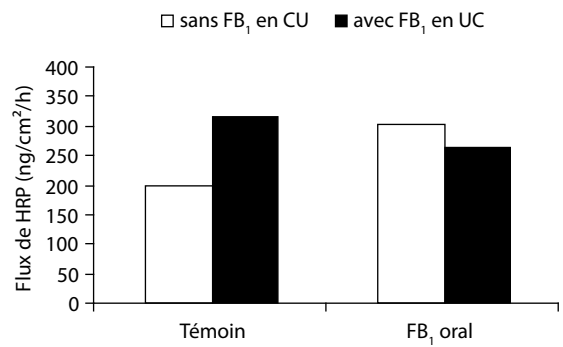
Site	Traitement		ET ⁽¹⁾	Valeur de P
	Témoin	FB ₁		
<i>Hauteur des villosités (μm)</i>				
Duodénum	561	547	24	0,51
Jéjunum	568	568	57	0,99
Iléon	390	436	33	0,07
<i>Profondeur des cryptes (μm)</i>				
Duodénum	306	310	9	0,75
Jéjunum	277	283	14	0,53
Iléon	256	253	8	0,84

⁽¹⁾ ET : Erreur-type



Les mesures ont été faites sans (barre blanche) ou avec (barre noire) addition de FB₁ dans les CU. En réponse à la 5-HT, la capacité sécrétoire du jéjunum n'a pas été affectée alors qu'en présence de VIP ou de théophylline, elle tend à être plus élevée ($P = 0,10$ et $P = 0,07$, respectivement) chez les traités oralement avec FB₁, comparativement au groupe témoin. L'addition de FB₁ dans les CU n'a pas eu d'effet sur les réponses induites par 5-HT ou VIP alors qu'en présence de théophylline, la capacité sécrétoire est diminuée chez les animaux traités avec FB₁ oralement et ne l'est pas chez ceux du groupe témoin ($P = 0,04$).

Figure 2 - Influence d'une ingestion répétée de fumonisine B₁ (FB₁) sur la capacité sécrétoire de la muqueuse jéjunale en réponse à la sérotonine (5-HT) (A), au peptide vasoactif intestinal (VIP) (B) ou la théophylline (C) ajoutée dans les chambres d'Ussing (CU)



Une interaction entre le traitement oral à la FB₁ et l'ajout de FB₁ dans les chambres d'Ussing (CU) indique que chez les porcs témoins, les flux moyens globaux de HRP à travers le tissu jéjunale ont augmenté ($P = 0,04$) dans les CU où de la FB₁ a été ajoutée, comparativement aux CU sans ajout de FB₁, alors cette augmentation de la perméabilité chez les porcelets ayant reçu oralement la FB₁ n'apparaît plus avec l'addition de FB₁ dans la CU.

Figure 3 - Changement dans le flux de peroxydase de raifort (HRP) traversant la muqueuse jéjunale de porcs sevrés traités avec ou sans FB₁ oralement

Les résultats indiquent que l'absorption de glucose était supérieure chez les porcelets ayant reçu une dose orale de FB₁. Cet effet sur l'absorption du glucose peut-être dû à une perturbation des propriétés fonctionnelles des entérocytes après des stress tel que le jeûne ou le sevrage. Par exemple, une telle observation a été faite chez les porcelets après le passage d'un régime à base de lait à un régime à base de céréales (Boudry et al., 2002). Ces modifications pourraient s'expliquer par une densité accrue de co-transporteurs de glucose dans la membrane des entérocytes après le sevrage. Par ailleurs, l'affinité du transporteur de glucose pour son substrat n'a pas été modifiée puisque les deux groupes de porcs présentaient des pourcentages semblables d'inhibition de l'absorption de glucose induite par la phlorizine. Toutefois, dans la présente étude, les effets liés à l'ingestion d'aliment sur les paramètres physiologiques intestinaux peuvent être exclus puisque les animaux des deux groupes ont consommé des quantités comparables de nourriture. D'autre part, la tendance à une absorption accrue du glucose telle qu'observée dans la présente étude pourrait aussi être associée à la modulation de la production de cytokines par les entérocytes et les cellules immunitaires exposées à la FB₁ (Bouhet et Oswald, 2007). Par exemple, l'absorp-

Tableau 3 - Activités de la saccharase et de l'aminopeptidase N dans la muqueuse de l'intestin grêle chez des porcs sevrés et traités oralement avec de la FB₁ pendant 9 jours

Site	Traitement			Valeur de P
	Témoin	FB ₁	ET ⁽¹⁾	
<i>Saccharase (µg / min / g muqueuse)</i>				
Duodénum	4,24	5,07	0,38	0,15
Jéjunum	8,43	8,69	0,74	0,75
Iléon	6,68	6,86	0,69	0,82
<i>Aminopeptidase N (µg / min / g muqueuse)⁽²⁾</i>				
Duodénum	4686 [3990, 5503]	4789 [4097, 5597]		0,83
Jéjunum	6698 [5913, 7586]	5629 [4981, 6362]		0,004
Iléon	7175 [5863, 8781]	7535 [6192, 9169]		0,72

⁽¹⁾ ET : Erreur-type

⁽²⁾ Les résultats représentent la moyenne accompagnée de l'intervalle de confiance

tion du glucose et des acides aminés dans les couches de cellules épithéliales intestinales est stimulée en présence d'interleukine-8, une cytokine impliquée dans les réactions inflammatoires (Hardin et al., 2000).

Chez les porcelets exposés à la FB₁, l'activité sécrétrice du jéjunum induite par le VIP et la théophylline était augmentée. Selon nos données, la voie médiée par l'AMPc jouerait un rôle dans l'altération de la capacité sécrétoire puisque la réponse jéjunale à la théophylline, un agoniste de la sécrétion de chlorure dépendant de l'AMPc, était également élevée chez les porcs ayant reçu de la FB₁. L'absence de réponse à la 5-HT, connue pour augmenter l'AMPc intracellulaire, suggère qu'une autre voie telle que celle du transporteur transmembranaire (CFTR) d'ion chlorure pourrait jouer un rôle (Barrett et Keely, 2000). L'activation de cette voie par les entérotoxines telle que les toxines thermostables d'*Escherichia coli* favorise la colonisation intestinale par cet agent pathogène (Taranu et al., 2005).

La consommation quotidienne de FB₁ n'a pas semblé altérer le passage trans-épithélial de la HRP. Toutefois, une interaction significative a été observée entre l'ingestion de FB₁ et l'ajout de FB₁ purifiée dans les CU, indiquant que l'exposition *ex vivo* à la FB₁ a entraîné une augmentation de la perméabilité jéjunale à la HRP chez les porcs du groupe témoin, alors que, chez les porcs traités à la FB₁ pendant neuf jours, cette valeur avait déjà augmenté. Ces changements suggèrent que l'exposition *in vivo* ou *ex vivo* à la FB₁ augmente la perméabilité transcellulaire aux macromolécules. Ramasamy et al. (1995) ont montré *in vitro* que la FB₁ ajoutée aux cultures de cellules endothéliales porcines a augmenté les flux d'albumine à travers la couche endothéliale dans les trois heures suivant l'incubation. Cette hausse a été associée à l'élévation simultanée de la concentration cellulaire de sphinganine. Étant donné que la FB₁ peut inhiber la conversion de la sphinganine et de la sphingosine en céramide en bloquant la céramide synthase (Soriano et al., 2005), une augmentation de sphinganine cellulaire peut être aussi causée par FB₁. Malheureusement, nous n'avons pas mesuré les concentrations de sphinganine (et de sphingosine) dans le tissu jéjunal après l'incubation de la FB₁ dans les CU. Cependant, chez les porcs ayant consommé de la FB₁ pendant neuf jours, l'ajout de la FB₁ dans les CU a réduit les flux de HRP

à travers la muqueuse jéjunale. Cette observation pourrait être interprétée comme une conséquence d'une concentration réduite de céramide attribuable à l'inhibition de la céramide synthase par la FB₁ (Soriano et al., 2005) puisque la hausse des concentrations membranaires de céramide augmente la perméabilité transépithéliale des cellules épithéliales intestinales et réduit la résistance électrique transépithéliale (Bock et al., 2007). D'autres mécanismes de la perméabilité transépithéliale et d'altérations du métabolisme des sphingolipides ne peuvent pas être exclus. Ce domaine doit clairement faire l'objet d'autres études.

Finalement chez les porcs ayant reçu de la FB₁, les villosités de l'iléon avaient tendance à être plus longues chez les porcelets ayant reçu la FB₁ et l'activité de l'aminopeptidase N dans la muqueuse jéjunale était réduite. À l'heure actuelle, nous ne savons pas si ces changements ont eu une incidence sur la digestion de peptides et de protéines alimentaires ou sur l'absorption de cholestérol. Il a été montré que le cholestérol plasmatique était élevé chez les porcs qui consomment de la FB₁ de façon chronique (Rotter et al., 1996), probablement en raison des altérations du métabolisme lipidique dans le foie.

CONCLUSION

La présente étude montre que la consommation chronique de FB₁ a altéré la physiologie de l'absorption et de la sécrétion du jéjunum chez les porcs sevrés, ainsi que l'architecture des villosités et cryptes intestinales et les activités enzymatiques à certains sites. L'exposition *ex vivo* à la FB₁ a également modulé certains indices de fonction intestinale. Une importante répercussion de la consommation de FB₁ pourrait être une sensibilité accrue aux entérotoxines bactériennes et aux infections entériques.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Steve Methot, le statisticien du Centre de R&D sur le bovin laitier et le porc d'Agriculture et Agroalimentaire Canada, à Sherbrooke, Québec, Canada, pour les analyses statistiques, et l'INRA pour le financement du séjour sabbatique de Martin Lessard à l'INRA de Rennes et du programme transversal 'Mycotoxines' (numéro P00263).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Barrett KE, Keely SJ. 2000. Chloride secretion by the intestinal epithelium: molecular basis and regulatory aspects. *Annu Rev Physiol.* 62, 535-72.
- Bock J, Liebisch G, Schweimer J, Schmitz G, Rogler G. 2007. Exogenous sphingomyelinase causes impaired intestinal epithelial barrier function. *World J Gastroenterol.* 13, 5217-25.
- Bolger M., Coker R.D., Dinovi M., Gaylor D., Gelderblom M.O., Paster N. et al. 2001. Fumonisin. Dans : *Food additives WHO, United Nations FAO, editors.* P. 103-279.
- Boudry G, Lallès JP, Malbert CH, Bobillier E, Sève B. 2002. Diet-related adaptation of the small intestine at weaning in pigs is functional rather than structural. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 34, 180-7.
- Bouhet S, Hourcade E, Loiseau N, Fikry A, Martinez S, Roselli M, Galtier P, Mengheri E, Oswald IP. 2004. The mycotoxin fumonisin B₁ alters the proliferation and the barrier function of porcine intestinal epithelial cells. *Toxicol Sci.* 77, 165-71.
- Bouhet S, Le Dorze E, Peres S, Fairbrother JM, Oswald IP. 2006. Mycotoxin fumonisin B₁ selectively down-regulates the basal IL-8 expression in pig intestine: *in vivo* and *in vitro* studies. *Food Chem Toxicol.* 44, 1768-73.
- Bouhet S, Oswald IP. 2007. The intestine as a possible target for fumonisin toxicity. *Mol Nutr Food Res.* 51, 925-31.
- Dersjant-Li Y, Verstegen MWA, Gerrits WJJ. 2003. The impact of low concentrations of aflatoxin, deoxinivalenol or fumonisin in diets of growing pigs and poultry. *Nutr Res Rev.* 16, 223-39.

- Hardin J, Kroeker K, Chung B, Gall DG. 2000. Effect of proinflammatory interleukins on jejunal nutrient transport. *Gut*. 47, 184-91.
- Goodlad RA, Levi S, Lee CY, Mandir N, Hodgson H, Wright NA. 1991. Morphometry and cell proliferation in endoscopic biopsies: evaluation of a technique. *Gastroenterology*. 101, 1235-41.
- Marin DE, Taranu I, Pascale F, Lionide A, Burlacu R, Bailly JD, Oswald IP. 2006. Sex-related differences in the immune response of weanling piglets exposed to low doses of fumonisin extract. *Br J Nutr*. 95, 1185-92
- Oswald IP, Desautels C, Laffitte J, Fournout S, Peres SY, Odin M, Le Bars P, Le Bars J, Fairbrother JM. 2003. Mycotoxin fumonisin B₁ increases intestinal colonization by pathogenic *Escherichia coli* in pigs. *Appl Environ Microbiol*. 69, 5870-4.
- Ramasamy S, Wang E, Hennig B, Merrill AH Jr. 1995. Fumonisin B₁ alters sphingolipid metabolism and disrupts the barrier function of endothelial cells in culture. *Toxicol Appl Pharmacol*. 133, 343-8.
- Rotter BA, Thompson BK, Prelusky DB, Trenholm HL, Stewart B, Miller JD, Savard ME. 1996. Response of growing swine to dietary exposure to pure fumonisin B₁ during an eight-week period: growth and clinical parameters. *Nat Toxins*. 4, 42-50.
- Salgado P, Lallès JP, Toullec R, Mourato M, Cabral FM, Freire JPB. 2001. Nutrient digestibility of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds and effects on the small intestine of weaned piglets. *Anim Feed Sci Technol*. 91, 197-212.
- Soriano JM, González L, Catalá AI. 2005. Mechanism of action of sphingolipids and their metabolites in the toxicity of fumonisin B₁. *Prog Lipid Res*. 44, 345-56.
- Taranu I, Marin DE, Bouhet S, Pascale F, Bailly JD, Miller JD, Pinton P, Oswald IP. 2005. Mycotoxin fumonisin B₁ alters the cytokine profile and decreases the vaccinal antibody titer in pigs. *Toxicol Sci*. 84, 301-7.
- Voss KA, Smith GW, Haschek WM. 2007. Fumonisin: Toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. *Anim Feed Sci Technol*. 137, 299-325.
- Wang E, Norred WP, Bacon CW, Riley RT, Merrill AH Jr. 1991. Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins. Implications for diseases associated with *Fusarium moniliforme*. *J Biol Chem*. 266, 14486-90.

