

Caractéristiques du transport électrogénique du glucose dans l'intestin grêle des porcs à l'engraissement

Marco TRETOLA et Paolo SILACCI

Agroscope, Posieux, Suisse

marco.tretola@agroscope.admin.ch

Electrogenic glucose transport characteristics in the small intestine of finishing pigs

Several studies demonstrated that in pigs, the jejunum is the segment of the small intestine in which the most Na²⁺-dependent glucose transport occurs, probably due to greater expression of Na²⁺-dependent glucose co-transporter 1 (SGLT1) protein there than in other intestinal segments. However, the efficiency of intestinal glucose uptake in the jejunum and ileum has yet to be deeply investigated. The present study investigated the glucose absorption capacity of the jejunum and ileum segments of finishing pigs. Short-circuit currents (I_{sc}) and trans-epithelial resistance (TEER) were studied in jejunum and ileum segments obtained from 100 kg Swiss Large White pigs and mounted in Ussing chambers in the presence of 5 mmol/l of D-Glucose (Glu). In parallel, the expression of SGLT1 protein was assessed. Glucose uptake was higher ($P = 0.002$) in the ileum than in the jejunum, as indicated by the glucose-uptake-derived I_{sc} values (17.2 and 4.59 μ A, respectively), while no differences ($P > 0.05$) in TEER values were observed. Despite the difference in glucose uptake, no difference ($P > 0.05$) in SGLT1 protein expression were found between the two segments. Similar results were found in weaned piglets, in which more efficient ileal glucose absorption did not correspond to greater SGLT1 protein expression. For this reason, further investigations of a potential difference in regulation of SGLT1 activity between the two intestinal segments are needed.

INTRODUCTION

L'absorption des nutriments et des minéraux est une fonction majeure de l'intestin grêle chez les animaux monogastriques et les humains. L'absorption intestinale nécessite une interaction équilibrée entre les capteurs, les transporteurs épithéliaux et les canaux ioniques. Le transport du glucose, de la lumière intestinale vers la circulation sanguine, en est un exemple classique. Le co-transporteur de glucose électrogène sodium-dépendant 1 (SGLT1) est le principal médiateur de l'absorption du glucose (Balen *et al.*, 2008) et son abondance apicale est rapidement modifiée et adaptée aux besoins réels de transport (Moran *et al.*, 2010). Les niveaux de base de SGLT1 varient le long de l'intestin grêle et il a été démontré que l'expression protéique de SGLT1 était plus élevée dans le jéjunum de porc que dans leur iléum (Moran *et al.*, 2010). En ce qui concerne ces résultats chez les porcs et d'autres espèces, la plupart des études sur le transport du glucose se sont concentrées sur les tissus jéjunaux qui sont considérés comme le site principal d'absorption du glucose. Cependant, une autre étude sur des porcelets sevrés de différentes races a révélé que l'expression de SGLT1 étaient significativement plus élevées dans l'iléon porcin que dans leur jéjunum (von Heimendahl *et al.*, 2010). Sur la base de ces données, le but de la présente étude était de caractériser plus en détail le transport du glucose jéjunal et iléal chez les porcs en engraissement par une étude d'absorption à travers des mesures électro physiologiques et des analyses d'expression de protéines. Les études futures se concentreront sur l'activité SGLT1 pour compléter les résultats.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Évaluation du transport du D-Glucose par les chambres d'Ussing dans le jéjunum et l'iléon de porc

Douze porcs femelles Swiss Large White hébergés dans les animaleries d'Agroscope et élevés dans des conditions standard, ont été utilisés. Les animaux ont été abattus à l'âge de 171 ($\pm 2,8$) jours à l'abattoir de la station de recherche après avoir été à jeun pendant environ 15 h, selon les procédures du Comité fédéral suisse. Deux échantillons de tissus jéjunaux à partir du troisième mètre en aval du pylore et deux échantillons iléaux juste avant la valve iléo-caecale par animal ont été montés dans des chambres d'Ussing (Physiologic Instruments, San Diego, États-Unis). Après la période de stabilisation, 10 mmol/l de D-glucose ont été ajoutés au tampon muqueux et du D-mannitol équimolaire a été ajouté du côté séreux. Le transport actif total à travers le tissu a été vérifié en surveillant le changement de courant de court-circuit (Δ I_{sc}). La résistance trans-épithéliale (TEER) a également été mesurée à des intervalles de 2 min dans des conditions de blocage de courant.

1.2. Expression de la protéine de transport du glucose

Les segments de jéjunum et d'iléon obtenus à partir d'un total de quatre porcs ont été lysés dans une solution CelLytic MT (Sigma-Aldrich Chemie) complétée par des inhibiteurs de protéase. Après centrifugation à 12 000 g à 4°C pendant 10 min, la concentration en protéines a été déterminée. Quinze microgrammes d'extraits protéiques totaux ont été dénaturés à

95°C pendant 5 min, puis séparés sur un gel SDS-PAGE à 7 %. Les protéines ont ensuite été transférées sur une membrane de difluorure de polyvinylidène Western Bright (Witec) à 90 V pendant 90 min. Les membranes ont été bloquées pendant 60 min à température ambiante avec 5 % d'albumine de sérum bovine. L'anticorps primaire anti-SGLT1 (ab14686, Abcam) dilué à 1:500 et l'anti-vinculine (V4505, Sigma-Aldrich) dilué à 1:3000 ont été utilisés pour incuber les membranes à 4°C pendant une nuit. Pour l'anticorps primaire SGLT1, l'anticorps secondaire était de chèvre anti-IgG de lapin (A9169, Sigma-Aldrich) dilué à 1:1000 dans 0,1 % de Tween 20, dans du PBS contenant 5 % de poudre de lait, tandis que chèvre-anti-IgG de souris (DC02L, Merck) dilué à 1:3000 dans le même tampon a été utilisé comme anticorps secondaire pour la vinculine.

1.3. Analyse des données et statistiques

Les données ont été traitées avec le programme IBM SPSS Statistics, version 24, testées pour la normalité à l'aide du test de Shapiro-Wilk et analysées à l'aide d'une ANOVA. L'analyse statistique des expériences en chambre d'Ussing a été réalisée avec le test non paramétrique de Mann-Whitney U, car les données n'étaient pas normalement distribuées. Les données ont été testées avec un modèle linéaire mixte dans lequel le porc était considéré comme un effet aléatoire et calculé à l'aide de la correction de Bonferroni. Les différences entre les tissus ont été considérées comme significatives à $P < 0,05$.

2. RESULTATS

2.1. Absorption jéjunale et iléale de D-Glucose

Le test effectué par le système des chambres d'Ussing a démontré que la résistance trans-épithéliale est similaire ($P > 0,05$) dans le jéjunum et l'iléon, mais des différences ($P < 0,05$) dans l'absorption du D-glucose ont été trouvées (Figure 1A, B).

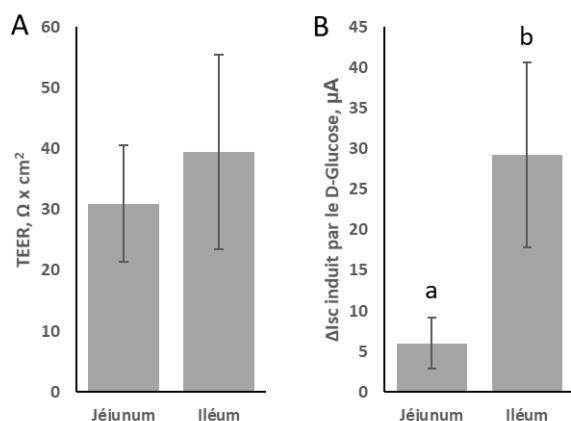


Figure 1 – A) Résistance transépithéliale (TEER) et B) ΔIsc induite par le D-glucose (μA) dans le jéjunum et l'iléon de porcs en engraissement

Les valeurs sont des moyennes avec leurs écarts types. Des lettres différentes indiquent une valeur $P < 0,05$.

2.2. Expression protéique de SGLT1

Malgré les différences d'absorption active de D-glucose observées par des expériences en chambres d'Ussing, l'expression protéique du transporteur SGLT1 était similaire ($P > 0,05$) dans les tissus de l'iléon et du jéjunum (Figure 2).

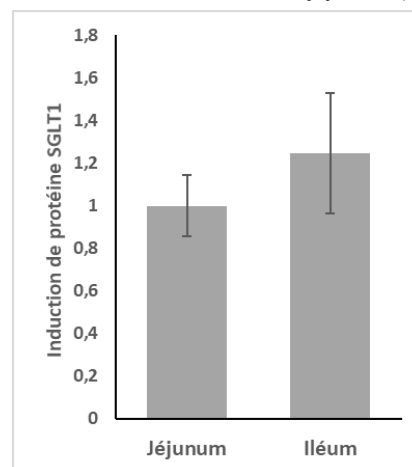


Figure 2 – Expression de la protéine SGLT1 dans le jéjunum et l'iléum de porcs en engraissement

Les données sont des moyennes avec leurs écarts types.

CONCLUSION

Cette étude réalisée sur des porcs en engraissement a confirmé ce qui a déjà été trouvé chez des porcelets sevrés concernant le transport électrogénique du glucose dans le jéjunum moyen et l'iléon. Nous avons constaté que l'iléon est capable de transporter le glucose avec une efficacité supérieure par rapport au jéjunum. La raison pourrait être d'absorber le glucose résiduel à de faibles concentrations avant de rivaliser avec les bactéries du gros intestin. Cependant, les mécanismes sous-jacents restent inconnus. D'autres investigations seront menées pour clarifier ces aspects. La compréhension des différences concernant la capacité de transport du glucose médié par le SGLT1 pourrait influencer l'efficacité de l'administration orale de médicaments avec une application à la fois en physiologie humaine et animale.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Moran A.W., Al-Rammahi M.A., Arora D.K., Batchelor D.J., Coulter E.A., Ionescu C., Bravo D., Shirazi-Beechey S.P., 2010. Expression of Na⁺/glucose co-transporter 1 (SGLT1) in the intestine of piglets weaned to different concentrations of dietary carbohydrate. *Br. J. Nutr.* 104, 647–655.
- Balen D., Ljubojevic M., Breljak D., Brzica H., Zlender V., Koepsell H., Sabolic I., 2008. Revised immunolocalization of the Na⁺-D-glucose cotransporter SGLT1 in rat organs with an improved antibody. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 295, C475–C489.
- Von Heimendahl E., Breves G., Abel H., 2010. Fiber-related digestive processes in three different breeds of pigs. *J. Anim. Sci.* 88, 972–981.