



# Étude de la réponse du métabolisme phosphocalcique chez le porcelet recevant un aliment contaminé au déoxynivalénol

Béatrice SAUVÉ, Frédéric GUAY, Marie-Pierre LÉTOURNEAU MONTMINY

Département des sciences animales, Université Laval, 2425 rue de l'Agriculture, Québec (QC), Canada, G1V 0A6

beatrice.sauve.1@ulaval.ca

## Response of calcium and phosphorus metabolism to a DON-contaminated feed in piglets

Recent studies observed that deoxynivalenol (DON)-contaminated feed impacts calcium (Ca) and phosphorus (P) intestinal absorption and bone remodelling. DON could thus modify expression of certain genes related to Ca and P metabolism. Sixteen piglets (two piglets per pen) received one of two treatments for 10 days: control (DON-) or DON-contaminated (DON+, 2.72 mg/kg feed). Growth performance and apparent total tract digestibility (ATTD) of Ca and P were assessed in each pen. Piglets were then euthanized to collect the jejunum, kidney and cortical and trabecular femur. Gene expression for Ca metabolism (CLDN2 et 12, TRPV5 et 6, CALB1, S100G), P metabolism (SLC20A2, SLC34A3, Klotho) and vitamin D metabolism (VDR, CYP27B1, CYP24A1) was evaluated in the jejunum and kidney. In the femur, the calcitonin receptor, FGF23, Klotho and bone-remodelling genes (VDR, OPG, OCN and RANKL) were assessed. DON contamination did not modify growth performance, but increased ATTD of P ( $P < 0.05$ ) and tended to increase ATTD of Ca ( $P = 0.07$ ). DON contamination decreased CLDN12 gene expression ( $P < 0.05$ ) and increased CYP24A1 gene expression ( $P < 0.05$ ) in the jejunum as a response to the increased Ca absorption. The latter genes are controlled by calcitriol concentration, the active form of vitamin D. Klotho gene expression, which regulates calcitriol production, tended to be decreased by DON in the kidney ( $P = 0.07$ ). Expression of the RANKL gene, which also depends on calcitriol concentration, was decreased by DON in the cortical femur ( $P < 0.05$ ) and resulted in decreased bone resorption.

## INTRODUCTION

Chez le porc, il est connu que le déoxynivalénol (DON) à plus de 1,0 mg/kg d'aliment entraîne une anorexie, une diminution de la croissance (Étienne, 2007) et une modification de la minéralisation osseuse et de l'absorption intestinale et rénale du calcium (Ca) et du phosphore (P) (Le Thanh *et al.*, 2015 ; Sauvé *et al.*, 2021 ; Sauvé *et al.*, 2022). Le métabolisme phosphocalcique est régulé principalement par la synthèse de parathormone (PTH) et de vitamine D. La PTH augmente la concentration sanguine de Ca par son action sur la résorption osseuse et l'absorption rénale et intestinale alors qu'elle diminue la réabsorption rénale du P. De son côté, le calcitriol, forme active de la vitamine D<sub>3</sub>, stimule l'absorption intestinale du Ca et du P (Courbebaïsse et Souberbielle, 2011) en plus d'augmenter la résorption osseuse (Kogawa *et al.*, 2010). De plus, le facteur de croissance fibroblaste 23 (FGF23) et son corécepteur Klotho inhibent la réabsorption rénale du P et la synthèse de calcitriol. L'objectif de ce travail était d'évaluer l'impact d'un aliment contaminé au DON sur les performances de croissance des porcelets et sur le métabolisme phosphocalcique et de la vitamine D par l'analyse de la digestibilité du Ca et du P ainsi que de l'expression des gènes impliqués.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Animaux et plan expérimental

Seize porcelets mâles castrés à 42 jours d'âge ( $15,9 \pm 2,0$  kg) ont été divisés en 8 cases (2 porcelets/cases) et ont reçu l'un des 2

traitements suivants pendant 10 jours : les traitements témoin (DON-, 0,31 mg/kg) et contaminé au DON (DON+, 2,72 mg/kg provenant de blé naturellement contaminé). À la fin de cette période, les porcelets ont été euthanasiés et des échantillons du jéjunum, du rein et du fémur cortical et trabéculaire ont été prélevés. Les animaux ont été pesés et la quantité d'aliments distribuée et les refus quotidiens ont été notés. Un marqueur indigestible (célite, 3 %) a été ajouté au régime et des fèces ont été collectées pendant 5 jours par une collecte partielle par case. Les cendres insolubles ont été évaluées selon la méthode de McCarthy *et al.* (1974).

### 1.2. Analyse de l'expression des gènes

L'ARN a été extrait de tous les tissus puis soumis à la transcription inverse en vue de la qPCR par le Lightcycler 480. L'expression des gènes VDR (récepteur de la vitamine D), CYP24A1 (24-hydroxylase), Klotho (corécepteur de FGF23), SLC34A3 (transporteur NaPi-IIc), CALB-1 (Calbindin-1) et S100G (Calbindin D9K) a été évaluée dans le jéjunum et le rein. L'expression des gènes TRPV6 (« transient receptor potential vanilloïde 6 ») et CLDN2 et 12 (claudine 2 et 12) a été évaluée dans le jéjunum. L'expression des gènes CYP27B1 (1 $\alpha$ -hydroxylase), TRPV5 (« transient receptor potential vanilloïde 5 ») et SLC8A1 (échangeur Na<sup>2+</sup>/Ca<sup>2+</sup>) a été évaluée dans le rein. Dans le fémur cortical et trabéculaire, l'expression des gènes OPG (ostéoprotégérine), OCN (ostéocalcine), RANKL (ligand récepteur activateur du facteur nucléaire- $\kappa$ B), CALCR (récepteur de la calcitonine), CYP27B1, VDR et Klotho a été évaluée. L'expression des gènes a ensuite été normalisée par

rapport aux gènes de références GAPDH (glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase),  $\beta$ -Actine et HPRT (hypoxanthine phosphoribosyltransferase). Une ANOVA de modèle « mixed » a servi à analyser les effets du DON avec le logiciel Minitab (Version 21). L'unité expérimentale était la case de deux porcelets avec le bloc comme facteur aléatoire et la contamination au DON comme variable fixe.

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les performances de croissance n'ont pas été modifiées par la contamination au DON (Tableau 1). Toutefois, les coefficients d'utilisation digestive (CUD) du Ca ( $P = 0,07$ ) et du P ( $P < 0,05$ ) étaient augmentés par la contamination au DON. Cette hausse de l'absorption du Ca et du P pourrait s'expliquer par une augmentation du passage transcellulaire et paracellulaire. Le DON diminue généralement la résistance électrique (TEER) de la barrière intestinale et donc augmente sa perméabilité, en plus d'augmenter le passage paracellulaire (Payros *et al.*, 2016).

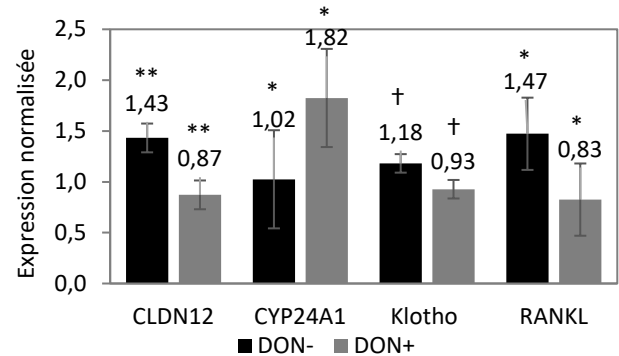
**Tableau 1** – Effet du DON sur les performances de croissance après 8 jours

| Paramètres    | DON-               | DON+               | SEM  | Valeur de P |
|---------------|--------------------|--------------------|------|-------------|
| Nb de cases   | 4                  | 4                  |      |             |
| GMQ, kg/j     | 1,41               | 1,30               | 0,15 | 0,66        |
| CMJ, kg/j     | 2,47               | 2,40               | 0,10 | 0,66        |
| IC/cases      | 1,72               | 1,92               | 0,11 | 0,16        |
| Poids J0, kg  | 15,56              | 15,66              | 0,45 | 0,87        |
| Poids J10, kg | 21,10              | 20,95              | 0,62 | 0,87        |
| CUD Ca, %     | 72,03 <sup>A</sup> | 77,44 <sup>B</sup> | 1,78 | 0,07        |
| CUD P, %      | 61,34 <sup>a</sup> | 69,46 <sup>b</sup> | 2,01 | 0,02        |

<sup>1</sup> DON : déoxynivalenol, GMQ : gain moyen quotidien, CMJ : consommation moyenne journalière, IC : indice de consommation, CUD : coefficient d'utilisation digestive, les lettres minuscules indiquent  $P < 0,05$ , les lettres majuscules indiquent une tendance ( $P < 0,10$ )

Les expressions de gènes montrent cependant que dans le jéjunum, l'expression du gène CLDN12 était diminuée de 39 % par la contamination au DON (Figure 1,  $P < 0,05$ ). La diminution de l'expression de CLDN12 implique une régulation négative du transport paracellulaire du Ca liée à son absorption (Fujita *et al.*, 2008). Dans le jéjunum, l'expression du gène CYP24A1 (LOG10), l'enzyme de dégradation du calcitriol, était augmentée de 78 % par le DON ( $P < 0,05$ ) pouvant expliquer la baisse de concentration de calcitriol observée chez le porcelet (Sauvé *et*

*al.*, 2021). Dans le rein, l'expression du gène Klotho tendait à être diminuée de 21,5 % par le DON ( $P = 0,07$ ). Une diminution de cette expression pourrait diminuer l'activité du FGF23 et donc l'excrétion de P. Une étude antérieure a montré que le DON pouvait réduire l'excrétion du P (Le Than *et al.*, 2015). Dans le fémur cortical, l'expression du gène RANKL était diminuée de 43,5 % par la contamination au DON ( $P < 0,05$ ). Ce dernier est responsable de l'activation de la voie de différenciation des ostéoclastes et donc de la résorption osseuse, ce qui pourrait également expliquer l'augmentation de la minéralisation osseuse précédemment observée (Sauvé *et al.*, 2021). L'expression des autres gènes n'a pas été modifiée par la contamination au DON dans le fémur cortical, le rein et le jéjunum et aucune différence n'a été trouvée pour le fémur trabéculaire.



**Figure 1** – L'effet du DON sur l'expression des gènes.

A) CLDN12 (claudine 12) dans le jéjunum ; B) CYP24A1 (24-Hydroxylase) analysé en LOG10 dans le jéjunum ; C) Klotho dans le rein ; D) RANKL (ligand récepteur activateur du facteur nucléaire- $\kappa$ B) dans le fémur cortical  
\*\* indique  $P < 0,01$ , \* indique  $P < 0,05$ , † indique une tendance ( $P < 0,10$ )

## CONCLUSION

La contamination au DON a augmenté l'absorption intestinale du Ca et du P sans modifier les performances de croissance. Cette augmentation était associée avec une diminution de l'expression du gène CLDN12, une protéine des jonctions serrées, dans le jéjunum afin de diminuer l'absorption de Ca. La hausse d'expression du CYP24A1 pourrait expliquer la diminution de la concentration du calcitriol par le DON notée dans une autre étude. Finalement, la diminution de l'expression du gène RANKL dans le fémur cortical pourrait être un élément expliquant la hausse de minéralisation osseuse des porcelets DON.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Courbebaisse M., Souberbielle J.-C., 2011. Équilibre phosphocalcique : régulation et explorations. *Néphrologie & Thérapeutique*, 7, 118-138.
- Étienne M., 2007. Synthèse - Effets biologiques et physiologiques d'une mycotoxine, le deoxynivalenol (DON), chez le porc. *Journées Rech. Porcine*, 39, 407-418.
- Fujita H., Sugimoto K., Inatomi S., Maeda T., Osanai M., Uchiyama Y., Yamamoto Y., Wada T., Kojima T., Yokozaki H., Yamashita T., Kato S., Sawada N., Chiba H., 2008. Tight Junction Proteins Claudin-2 and -12 Are Critical for Vitamin D-dependent Ca<sup>2+</sup> Absorption between Enterocytes. *Mol. Biol. Cell*, 19, 1912-1921.
- Kogawa M., Findlay D.M., Anderson P.H., Ormsby R., Vincent C., Morris H.A., Atkins G.J., 2010. Osteoclastic metabolism of 25(OH)-vitamin D3: a potential mechanism for optimization of bone resorption. *Endocrinology*, 151, 4613-4625.
- Le Thanh B.V., Lessard M., Chorfi Y., Guay F., 2015. The efficacy of anti-mycotoxin feed additives in preventing the adverse effects of wheat naturally contaminated with Fusarium mycotoxins on performance, intestinal barrier function and nutrient digestibility and retention in weanling pigs. *Can. J. Anim. Sci.*, 95, 197-209.
- Payros D., Alassane-Kpembi I., Pierron A., Loiseau N., Pinton P., Oswald I.P., 2016. Toxicology of deoxynivalenol and its acetylated and modified forms. *Arch. Toxicol.*, 90, 2931-2957.
- Sauvé B., Guay F., Létourneau-Montminy M.-P., 2022. Impact du déoxynivalénol et de l'ajout de phytase dans un protocole de déplétion et réplétion en calcium chez le porcelet. *Journées de la Rech. Porcine*, 54, 87-92.
- Sauvé B., Chorfi Y., Montminy M.-P.L., Guay F., 2021. Effet d'une supplémentation en vitamine D sur la réponse du métabolisme phosphocalcique de porcelets recevant un aliment contaminé au déoxynivalénol. *Journées Rech. Porcine*, 53, 381-386.