

Effets des aflatoxines et des fumonisines sur le système immunitaire et la fonction intestinale

L'impact de l'aflatoxine sur le système immunitaire a été peu étudié chez l'homme. Les quelques études publiées suggèrent que les effets sont similaires à ceux observés dans les modèles animaux pertinents (IARC, 2002 ; Turner et coll., 2003 ; Wild et Gong, 2010). Par ailleurs, il n'existe aucune étude concernant l'effet de la fumonisine, seule ou associée à l'aflatoxine, sur la fonction immunitaire des enfants hautement exposés. Étant donné la prévalence de l'exposition aux mycotoxines dans les populations vulnérables aux maladies infectieuses, il est nécessaire d'effectuer des études particulièrement bien conçues sur l'impact des aflatoxines et des fumonisines, seules ou en combinaison, sur le système immunitaire et l'intégrité intestinale.

Aflatoxines

Les études effectuées *in vivo* chez le porc indiquent que l'exposition à l'aflatoxine B₁ (AFB₁) est capable d'activer des cytokines, pour des teneurs relativement faibles (~0,9 mg d'AFB₁/kg de nourriture) (Meissonnier et coll., 2008). Chez des rats Fischer 344, les taux d'interleukine-1 (IL-1) produite par les macrophages intrapéritonéaux ont augmenté 1 jour après l'injection d'une seule dose de 1 mg d'AFB₁/kg de poids (Cukrová et coll., 1992). Dans une autre étude, des rats Fisher ont été alimentés après sevrage par des régimes alternativement sans AFB₁ ou contenant de 0 à 1,6 ppm d'AFB₁, toutes les 4 semaines pendant 40 semaines, ou un régime contenant 1,6 ppm d'AFB₁ (~0,1 mg/kg de poids/jour) administré en continu.

Le pourcentage de cellules T et B dans la rate a été modifié suite à l'administration cyclique. Une augmentation significative de la production d'IL-1 et d'IL-6 par les lymphocytes en culture a été observée lors du second cycle d'AFB₁ (12 semaines) et du second cycle « sans » (16 semaines) pour les dosages les plus élevés. Après 8 semaines d'administration continue et intermittente d'AFB₁, le foie a présenté des infiltrats inflammatoires, dont la taille et le nombre ont augmenté à 12 semaines dans les deux groupes recevant les régimes dosés à 1,6 ppm, en même temps que l'on observait un pic de production d'IL-1 et d'IL-6 (Hinton et coll., 2003).

L'administration d'AFB₁ par gavage à des rats Fisher, à des taux de 5–75 mg/kg de poids pendant 1 semaine, a entraîné une diminution dose-dépendante de

la proportion de cellules T CD8+ et de cellules tueuses naturelles (NK) CD3-CD8a+ dans la rate. A cela s'ajoutait une inhibition générale de l'expression de l'IL-4 et de l'interféron-gamma (IFN- γ) par les cellules T CD4+ et par les cellules CD8a+, et du facteur de nécrose des tumeurs alpha (TNF- α) par les cellules NK. Ces résultats indiquent que l'AFB₁ provoque des réponses inflammatoires en induisant l'expression de cytokines (Qian et coll., 2014).

Les études effectuées sur des lignées cellulaires montrent que l'AFB₁ inhibe la viabilité des cellules souches hématopoïétiques ainsi que la chimiotaxie des neutrophiles induite par l'IL-8 (Roda et coll., 2010 ; Bruneau et coll., 2012). Ces effets ont été identifiés *in vitro*, mais il est probable qu'ils participent au mécanisme responsable de l'altération de la phagocytose et de l'activité bactéricide par l'AFB₁ observée *in vivo* dans les modèles animaux. L'altération de la fonction des cellules blanches du sang est vraisemblablement responsable de la prolongation et de l'augmentation de la sévérité des infections bactériennes et fongiques avec l'amplification de l'inflammation. Une élévation des taux de cytokines pro-inflammatoires a été décrite chez l'homme, en association à l'exposition à l'AFB₁ (Jiang et coll., 2005). On ne sait pas toutefois si cette activation de l'expression des cytokines est essentiellement directe ou indirecte (la cause ou la conséquence de l'infection et/ou de l'inflammation prolongée). L'activation directe des cytokines pourrait résulter d'un accroissement de la liaison du facteur de transcription ou d'une augmentation de la stabilité de l'ARN messager (ARNm). Par ailleurs, l'activation des cytokines pourrait résulter de la présence

d'une infection chez un hôte affaibli. L'altération du système immunitaire, dans un contexte d'exposition à l'AFB₁, a été associée à une augmentation des virémies et des parasitémies, à une sensibilité accrue à l'infection et à une diminution de la réponse aux vaccins chez les animaux (Bondy et Pestka, 2000 ; Meissonnier et coll., 2006).

L'intestin fonctionne comme une barrière sélectivement perméable, ce qui place l'épithélium muqueux au centre des interactions entre la muqueuse et le contenu luminal dans lequel se trouvent les antigènes alimentaires, les produits microbiens et les nutriments (Groschwitz et Hogan, 2009 ; Turner, 2009). C'est au niveau de l'intestin que convergent différents mécanismes immunitaires qui participent à la défense contre les agents pathogènes. Les toxines qui altèrent l'intégrité de l'épithélium intestinal ont vraisemblablement un impact à la fois sur l'absorption des nutriments et sur l'exclusion des pathogènes. Les cellules de l'épithélium intestinal transportent les nutriments et les liquides tout en restreignant l'accès des antigènes luminaux au milieu interne. Toute altération de la couche cellulaire entraîne une augmentation de sa perméabilité. Quelques études ont été publiées récemment sur l'impact de l'AFB₁ d'origine alimentaire sur la fonction intestinale dans des modèles animaux pertinents (Grenier et Applegate, 2013). La lignée cellulaire Caco-2 (cellules de l'épithélium rectocolique humain) est couramment utilisée comme modèle *in vitro* de l'intégrité intestinale. Dans ce modèle, l'aflatoxine (150 μ M) entraîne une diminution de la résistance électrique transépithéliale (Gratz et coll., 2007).

Fumonisines

Deux études ont été menées chez des souris BALB/c, qui ont reçu une injection sous-cutanée quotidienne de 2,25 mg/kg de poids de fumonisine B₁ (FB₁) pendant 5 jours. Le traitement à la FB₁ a entraîné, chez les souris femelles uniquement, une réduction notable du poids de la rate et du thymus, ainsi qu'une augmentation de la population splénique de lymphocytes T et une diminution importante de la population de cellules immatures doublement positives CD4+/CD8+ dans le thymus (Johnson et Sharma, 2001). Dans la seconde étude, effectuée dans les mêmes conditions, l'injection de FB₁ a entraîné une diminution marquée des taux d'immunoglobulines G (IgG) plasmatiques chez les souris femelles, cet effet étant plus faible chez les mâles. En outre, la prolifération des lymphocytes T induite par la concanavaleine-A et la phytohématagglutinine était significativement réduite chez les souris femelles exposées à la FB₁. Les résultats de ces études suggèrent que la FB₁ exerce un effet immunosuppresseur chez la souris. L'amplitude de l'effet dépend largement du sexe, les souris femelles étant plus sensibles que les souris mâles (Johnson et coll., 2001).

Plusieurs études ont montré que la fumonisine altère l'intégrité de la barrière intestinale (Bouhet et coll., 2004) et la réponse immunitaire, et affecte la santé des animaux. Parmi les effets sur la réponse immunitaire figurent l'altération de l'expression des cytokines, la diminution des titres d'anticorps en réponse à la vaccination, et l'augmentation de la sensibilité aux infections secondaires (Bulder et coll., 2012). Chez le porc, l'exposition par voie orale à la fumonisine entraîne une réduction des titres d'anticorps

après vaccination et une augmentation de la sensibilité aux infections secondaires, effets qui varient en fonction du sexe (Oswald et coll., 2003 ; Halloy et coll., 2005 ; Marin et coll., 2006). Dans une autre étude, des porcelets ont reçu par gavage 1,5 mg/kg de poids de fumonisine purifiée pendant 7 jours, ce qui a entraîné une réduction importante de l'expression de l'ARNm de l'IL-4 au niveau de la rate et des ganglions mésentériques (Taranu et coll., 2005). Dans cette même étude, des porcelets ont été alimentés pendant 28 jours avec des rations contenant 8 mg de FB₁/kg. Au jour 8, ils ont reçu une injection sous-cutanée de vaccin Agavac, préparé à partir de diverses souches de *Mycoplasma agalactiae* inactivées au formol, et une injection de rappel 2 semaines plus tard. Chez les animaux dont l'alimentation était contaminée, les titres d'anticorps spécifiques de *M. agalactiae* induits par la vaccination étaient plus faibles que chez

les animaux témoins. En revanche, l'ingestion d'aliments contaminés n'a eu aucun effet sur la concentration sérique des sous-classes d'immunoglobulines (IgG, IgA et IgM). Les auteurs en ont conclu que la FB₁ altérerait le profil des cytokines, affectant ainsi la réponse anticorps (Taranu et coll., 2005).

Chez le porc, l'ingestion chronique de ~0,25 mg/kg de poids de fumonisine avec la nourriture a entraîné des altérations de l'intestin que l'on n'observe pas chez les animaux témoins : atrophie multifocale avec fusion des villosités, nécrose apicale des villosités, vacuolisation cytoplasmique des entérocytes, et œdèmes de la lamina propria du tissu intestinal. Les animaux traités présentaient également une dilatation des vaisseaux lymphatiques et une prééminence des follicules lymphoïdes (Bracarense et coll., 2012). Aucune information n'a été fournie sur l'impact fonctionnel de ces changements morphologiques.

La modulation de la production de cytokines intestinales a également été observée, dans une autre étude, chez des porcs exposés à la fumonisine, de même que dans des lignées de cellules intestinales (Bouhet et coll., 2006 ; Bracarense et coll., 2012). Au moins deux études chez la souris ont montré que le traitement à la FB perturbait le métabolisme des sphingolipides dans l'intestin grêle. Dans l'une de ces études, la FB a été injectée par voie sous-cutanée (une dose unique de 25 mg/kg de poids), alors que dans l'autre, elle a été administrée par gavage (une dose unique de 25 mg/kg de poids) (Enongene et coll., 2000, 2002). Ce travail illustre l'importance du rôle des sphingolipides et de leurs métabolites présents dans l'intestin dans l'inflammation et la fonction de barrière, ainsi que dans la régulation de la réponse inflammatoire associée à la septicémie microbienne et au choc toxique (Enongene et coll., 2000, 2002).