

# Toxicité fœtale et néonatale des aflatoxines et des fumonisines

L'étude des effets de l'exposition aux mycotoxines en début de vie chez les animaux de laboratoire peut aider à comprendre les mécanismes de la toxicité à court ou à long terme chez l'enfant. Quelques-unes des observations pertinentes à ce sujet sont résumées ci-dessous.

## Aflatoxines

La toxicité fœtale de l'aflatoxine B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) a été décrite chez le rat et la souris. Les effets toxiques se manifestent par une diminution du poids fœtal, des malformations externes et squelettiques et des anomalies du tube neural (ATN) (IARC, 1993). Les ATN sont des malformations congénitales relativement fréquentes dues à un défaut de fermeture du tube neural (Wilde et coll., 2014). Chez l'homme, le tube neural se ferme au cours des 30 premiers jours

de gestation, et chez les souris, au cours des 9 premiers jours.

Des ATN ont été rapportées chez des embryons de rats exposés *in vitro* à l'AFB<sub>1</sub> (IARC, 1993). L'administration d'AFB<sub>1</sub> à des rats en cours de gestation entraîne dans la descendance le développement de tumeurs bénignes et malignes au niveau du foie, de l'estomac, de l'intestin, des glandes endocrines et du système nerveux central et périphérique.

L'administration intrapéritonéale d'AFB<sub>1</sub> à des souris gestantes entraîne un retard du développement fœtal, notamment des fentes palatines et des malformations du diaphragme. La cancérogenèse chez les souris adultes concerne essentiellement les poumons alors que, chez les souriceaux, on a observé des taux élevés de tumeurs hépatiques (IARC, 2002). Les taux

d'adduits à l'ADN sont 20 fois plus faibles chez les souris adultes que chez les souriceaux nouveau-nés, ce qui se traduit par une incidence plus faible de carcinomes hépatocellulaires (CHC), et s'explique par des différences dans le métabolisme de l'AFB et dans la production d'intermédiaires capables de réagir avec l'ADN (IARC, 2002 ; Shupe et Sell, 2004).

Les études génétiques menées sur des souriceaux transgéniques nouveau-nés n'ont pas montré de différences entre les mâles et les femelles dans les taux de mutation des gènes cibles (Woo et coll., 2011 ; Wattanawaraporn et coll., 2012). Les souris femelles ont toutefois une incidence de CHC beaucoup plus faible, ce qui pourrait s'expliquer par des différences liées au sexe au niveau des réponses inflammatoires, ainsi qu'au niveau de

l'expression des cytokines et des hormones sexuelles. Il existe également chez l'homme des différences entre les hommes et les femmes en ce qui concerne la survenue de CHC, différences qui pourraient éventuellement s'expliquer par des différences de réponse de l'hôte aux interactions entre AFB et virus de l'hépatite B, ainsi que des différences dans le métabolisme et dans les paramètres oxydatifs et inflammatoires (Wild et Montesano, 2009).

### Fumonisines

L'apport alimentaire en folates est essentiel pour réduire l'incidence des ATN chez l'homme (Wilde et coll., 2014). Dans les régions du monde où le maïs constitue la base de l'alimentation et où l'exposition aux fumonisines est chronique, les taux d'ATN sont souvent très élevés par rapport aux pays où la consommation de maïs est basse (Marasas et coll., 2004 ; Gelineau-van Waes et coll., 2009). Pour Wilde et coll. (2014), la fumonisine pourrait en effet constituer un facteur de risque pour les ATN en bloquant le transport des folates. En 2012, le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA) a évalué les études épidémiologiques établissant un lien entre l'exposition humaine aux fumonisines et les ATN ; ils en ont conclu que les résultats, combinés à ce que l'on sait de la toxicologie des fumonisines, « indique que l'exposition aux fumonisines chez les femmes enceintes peut contribuer à augmenter le risque d'ATN chez leur enfant » (Bulder et coll., 2012).

Du point de vue mécanistique, on a de bonnes raisons de considérer l'ingestion de fumonisine comme un facteur de risque, car elle inhibe les céramide synthèses, ce qui perturbe

les processus dépendant des sphingolipides et les voies de signalisation nécessaires pour la fermeture du tube neural. Par exemple, les études sur les cellules, les embryons de souris et les souris traitées *in vivo* par la fumonisine montrent que le transport des folates est inhibé suite aux altérations des propriétés biophysiques des membranes consécutives à l'inhibition de la biosynthèse des sphingolipides complexes (Sadler et coll., 2002 ; Marasas et coll., 2004). Chez les souris, l'incidence des ATN résultant de l'exposition intrapéritonéale à 7,5 et 8,5 jours de gestation a été réduite de façon significative par la supplémentation en folate et presque complètement prévenue par la restauration de la fonction des radeaux lipidiques par l'administration de ganglioside GM1 (Gelineau-van Waes et coll., 2005). A ce stade de la gestation, le chorion (enveloppe externe en contact avec les tissus maternels) et l'allantoïde (membrane protégeant l'embryon) sont encore en cours de fusion, ce qui constitue le début de la formation du placenta mature. La fumonisine B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) radiomarquée traverse le placenta en formation, ce qui entraîne l'accumulation des bases sphingoïdes libres dans le placenta et les embryons ; ce résultat indique que la fumonisine inhibe la céramide synthase dans l'embryon en développement. L'incidence des ATN chez la souris et le degré de perturbation du métabolisme des sphingolipides dépendent de la souche murine, ce qui évoque la possibilité d'une liaison génétique entre l'induction d'ATN et la perturbation du métabolisme des sphingolipides (Gelineau-van Waes et coll., 2005).

Les études réalisées par la suite ont montré qu'il était possible de mettre en évidence des taux élevés de dérivés 1-phosphate des bases sphingoïdes dans le foie des fœtus

provenant de souris gestantes dont l'alimentation contenait de la FB<sub>1</sub> (Riley et coll., 2006). Les taux de sphinganine 1-phosphate dans les fœtus de souches de souris prédisposées aux ATN étaient beaucoup plus élevés que chez les souches résistantes. Des études plus récentes chez la souris ont montré que l'analogue FTY720 de la base sphingoïde peut également induire des incidences élevées d'ATN chez les souris prédisposées après exposition par voie orale durant la période de fermeture du tube neural (6,5–8,5 jours de gestation). La sphinganine libre et le FTY720 sont tous deux phosphorylés par la sphingosine kinase pour former la sphinganine 1-phosphate et le FTY720 1-phosphate, qui peuvent s'accumuler à des niveaux très élevés dans le sang maternel et le placenta des souris appartenant à des lignées prédisposées, traitées respectivement avec la FB<sub>1</sub> et le FTY720 (Gelineau-van Waes et coll., 2012). Chez les souris gestantes traitées avec le FTY720, le FTY720 et le FTY 720 1-phosphate s'accumulent tous deux dans les embryons présentant une exencéphalie, examinés à 9,5 jours de gestation (Gelineau-van Waes et coll., 2012). Ces résultats apportent ainsi la preuve que les dérivés 1-phosphate des bases sphingoïdes jouent un rôle important dans l'induction d'ATN chez les souris traitées à la fumonisine, outre l'inhibition du transport des folates.

Traitées *in vitro* avec la FB<sub>1</sub>, les cellules souches neuroépithéliales dérivées de cellules souches embryonnaires humaines accumulent les bases sphingoïdes libres et la sphinganine 1-phosphate, dont on sait qu'elles perturbent les voies de signalisation dans ces cellules (Callihan et coll., 2012). L'inhibition de la céramide synthase par la fumonisine a été mise également en

évidence dans d'autres cellules humaines en culture primaire (cellules endothéliales de la veine ombilicale et kératinocytes de l'épiderme). Ainsi, la fumonisine est un inhibiteur de la céramide synthase dans les cellules humaines *in vitro* et (de même qu'*in vivo* chez la souris), la sphinganine accumulée peut être métabolisée en sphinganine 1-phosphate très active biologiquement.

Pris dans leur ensemble, les résultats des études *in vivo* chez la souris et des études *in vitro* sur les cellules humaines sont en faveur de l'hypothèse selon laquelle la fumonisine pourrait inhiber la céramide synthase et perturber le métabolisme des sphingolipides si elle pénètre l'embryon en développement. Il est également possible que les bases sphingoïdes et leurs dérivés 1-phosphate bioactifs, présents à concentrations très élevées dans le sang, puissent traverser le placenta ou agir indirectement sur la structure vasculaire et perturber le développement embryonnaire.

De nombreuses études d'alimentation effectuées chez des animaux d'élevage et des animaux de laboratoire ont montré une relation dose-dépendante entre l'exposition aux fumonisines et les taux sanguins et tissulaires des principaux sphingolipides qui régulent les processus physiologiques et la signalisation, et jouent un rôle essentiel pour la santé animale (Marasas et coll., 2004). De nombreux processus sont affectés par l'altération des taux de sphingolipides bioactifs et un grand nombre d'entre eux jouent un rôle crucial pour la santé de la mère, du fœtus en développement, de l'animal nouveau-né et de la portée. Par exemple, les sphingolipides complexes et leurs métabolites sont essentiels, entre autres, pour l'absorption intestinale des éléments nutritifs (Jennemann

et Gröne, 2013), pour la voie de signalisation de l'insuline et du récepteur de l'IGF-1 (IGF-1R) (Martin et coll., 2009 ; Park et coll., 2014), pour la circulation des lymphocytes (Pappu et coll., 2007), pour l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique et de l'endothélium vasculaire (Cannon et coll., 2012 ; Cruz-Orengo et coll., 2014), et de l'acétylation des histones (Hait et coll., 2009).

### Exposition *in utero* à la fumonisine chez l'homme : lacunes scientifiques et besoins en matière de recherche

Comme noté plus haut, les taux d'ATN sont souvent très élevés dans les régions du monde où le maïs est l'aliment de base et où l'exposition aux fumonisines est chronique. Par exemple, en Afrique du Sud, une incidence élevée d'ATN a été rapportée dans certaines zones rurales du Transkei (61/10000) et dans les zones rurales de la province du Limpopo (35/10000). En revanche, l'incidence est beaucoup plus faible dans les communautés urbaines du Cap (1,06/10000), de Pretoria (0,99/10000) et de Johannesburg (1,18/10000) (Marasas et coll., 2004). Les difficultés rencontrées pour saisir avec exactitude les taux d'ATN dans la population, en particulier dans les pays à faible revenu, compliquent l'évaluation dans les régions où l'exposition aux fumonisines est élevée.

On connaît encore très mal les répercussions de l'exposition *in utero* aux fumonisines sur la santé de l'enfant. Les études sur la souris ont révélé que les ATN résultent de l'exposition à un stade très précoce du développement fœtal. Il n'existe actuellement aucune donnée montrant que la fumonisine peut traverser le placenta humain en

cours de formation comme c'est le cas chez la souris. Il est peu probable que la fumonisine soit détectable dans le sang de cordon, étant donné le taux très faible détecté dans le sang des animaux après exposition à des niveaux relativement élevés de fumonisine (Riley et Voss, 2006 ; Bulder et coll., 2012) et la rapidité de la clairance urinaire de la FB<sub>1</sub> chez l'homme (Riley et coll., 2012), indiquant que sa demi-vie dans le corps humain est très courte.

Même si elle permet de mettre en évidence l'inhibition de la céramide synthase par la fumonisine, l'utilisation de l'augmentation des taux de sphinganine 1-phosphate dans le sang comme biomarqueur a l'inconvénient de ne bien marcher que pour comparer des groupes dont le niveau d'exposition a par ailleurs été classé comme élevé ou bas d'après les taux de FB<sub>1</sub> urinaire.

Pour mieux comprendre l'exposition *in utero* à la fumonisine ou à ses métabolites bioactifs, les sphingolipides, chez l'homme, il va falloir découvrir de nouveaux biomarqueurs possédant une demi-vie plus longue ou reflétant une exposition de longue durée. La demi-vie des dérivés 1-phosphate des bases sphingoïdes dans le sang humain est probablement trop courte, si l'on se base sur la demi-vie du FTY720 1-phosphate et des dérivés 1-phosphate des bases sphingoïdes dans le sang des souris (Gelineau-van Waes et coll., 2012 ; Riley et coll., 2015). Les études chez le rat et la souris montrent que l'élévation des taux de sphinganine et de sphinganine 1-phosphate libres a une demi-vie plus longue que celle de la FB<sub>1</sub> sanguine ou urinaire; ces taux élevés ne persistent toutefois que quelques jours à une semaine avant de revenir au même niveau que ceux des témoins (Bulder et coll., 2012 ; Riley et coll., 2015).

Dans les modèles animaux, la fumonisine inhibe le transport des folates. Les études ont montré à plusieurs reprises que l'addition de folate réduisait l'incidence des ATN chez l'homme. Il faudrait donc effectuer des études pour savoir si l'apport en micronutriments, en vitamines et en folates est suffisant dans les populations dont le maïs est l'aliment de base, afin de mieux orienter les actions pédagogiques visant à améliorer le statut nutritionnel des femmes. Ces informations seront également utiles pour

élaborer des stratégies visant à apporter des compléments alimentaires au niveau individuel ou communautaire.

On ignore aussi les éventuelles répercussions sur la santé de l'exposition *in utero* aux fumonisines ou à des taux élevés de dérivés 1-phosphate des bases sphingoides, que ce soit chez le jeune enfant ou plus tard dans la vie. Les études effectuées dans le modèle murin ont permis d'identifier plusieurs marqueurs et cibles moléculaires chez les embryons de souris

traitées à la fumonisine, mais on ne sait pas s'ils sont pertinents chez l'homme.

Dans les régions où le maïs constitue la base de l'alimentation, il faudra dorénavant prendre en compte la possibilité d'exposition simultanée à d'autres mycotoxines, et en particulier aux aflatoxines, lors d'études cherchant à mettre en évidence un lien entre l'exposition maternelle aux fumonisines et la toxicité en matière de reproduction et d'altération de la croissance chez l'enfant.