

# THÈSE DE DOCTORAT EN SCIENCES VÉTÉRINAIRES

## Résumé

**Orientation :** Santé et Productions Animales

**Titre de la thèse en français :**

Influence de la gestation, des verminoses et des ulcères gastriques sur les concentrations sanguines en pepsinogène chez le porc

**Titre de la thèse en anglais :**

Effects of pregnancy, gastric worms and ulcers on blood pepsinogen concentrations in pig

**Candidat :** Henri Banga-Mboko

**Promoteur :** Prof. J.F. Beckers

**Co-promoteur :** -

**Département et Service :** Sciences fonctionnelles, Secteur de Physiologie de la Reproduction Animale

**Date de la défense publique :** le 4 septembre 2003

**Composition du Jury :** J. Closset, L. Grobet, W. Holtz, J.-L. Hornick, P. Lekeux, P. Pascal, B. Losson, D. Maes, F. Rollin, K. Touati, J.-F. Beckers

### DESCRIPTION DU SUJET DE RECHERCHE ABORDÉ

Le pepsinogène est le précurseur inactif (zymogène) de la pepsine. Il est synthétisé par les cellules principales de la muqueuse fundique et stocké dans de nombreux granules situés en position apicale. Le pepsinogène reste inactif jusqu'à ce qu'il atteigne la lumière gastrique où il est transformé en pepsine par l'acide chlorhydrique ou la pepsine par autocatalyse. Mais, tout le pepsinogène sécrété par les cellules principales ne gagne pas la lumière gastrique, une infime partie est toujours retrouvée dans le sang. Le mécanisme par lequel le pepsinogène gagne le courant sanguin reste encore inconnu. Néanmoins, le pepsinogène est stable dans le sang et son dosage permet de donner une indication sur l'état de la muqueuse gastrique. Une augmentation de la concentration en pepsinogène est révélatrice d'ulcères chez l'homme ou de verminoses chez les ruminants. En revanche, une diminution est révélatrice de cancer gastrique chez l'homme. Chez le porc, le dosage du pepsinogène a été effectué en utilisant des méthodes enzymatiques. Jusqu'à nos travaux, il n'y avait aucun consensus sur le niveau de concentration du pepsinogène en relation avec les ulcères. De même, il y avait une absence de travaux de terrain utilisant le dosage du pepsinogène dans le diagnostic des verminoses gastriques.

L'objectif général de nos travaux de recherche était de mettre au point un dosage radioimmunologique et spécifique du pepsinogène sanguin et d'utiliser ce dosage dans les

études épidémiologiques. L'objectif spécifique était d'étudier les facteurs de variations du pepsinogène sanguin chez le porc. Trois études ont été menées :

**Etude 1:** Développement d'un dosage radioimmunologique.

**Etude 2:** Le pepsinogène sanguin au cours de la gestation

**Etude 3:** Enquête d'abattoir sur les lésions gastriques et leur relation avec les concentrations en pepsinogène sanguin.

### RÉSULTATS

*La première étude* avait pour but de mettre au point un dosage radioimmunologique. Pour ce faire, nous avons utilisé comme antigène, du pepsinogène commercial, un anti-sérum portant le numéro 769 du lapin qui a servi à l'immunisation. La même préparation antigénique a servi pour l'obtention du traceur par marquage à l'iode 125. Tenant compte des caractéristiques biochimiques du pepsinogène, un tampon adapté a été élaboré afin de minimiser les réactions non spécifiques dans le dosage. De même, plusieurs tests exigés pour la validation du dosage ont été effectués. On a démontré le parallélisme entre la courbe standard et la dilution croissante de deux sérums de porc. Le dosage était en mesure de détecter des concentrations de pepsinogène sanguin supérieures ou égales à 0,2ng/mL. Le pourcentage de récupération était supérieur à 95%. Les variations intra dosage se situaient entre 3,9 et 7,7% tandis que

les variations entre les dosages se sont limitées entre 8,8 et 11,9%. Ces valeurs correspondent à un dosage sensible précis et reproductible. Aucune réaction croisée susceptible d'interférer sur les liaisons antisérum-antigène n'a été observée avec les autres membres de la famille des protéases aspartiques disponibles au laboratoire et dans le commerce, suggérant ainsi la spécificité du dosage. Les données que nous avons obtenues sont conformes aux normes exigées pour la validation d'un dosage radioimmunologique. Ce test permet de réaliser le dosage de plusieurs centaines d'échantillons par semaine.

Dans cette même étude, l'ontogénèse du pepsinogène sanguin a été investiguée. L'objectif était de vérifier si l'âge des porcs avait une influence sur la concentration en pepsinogène sanguin. Des sérums ont été prélevés chez des fœtus de 15 à 20 jours avant la naissance (n=24), des fœtus âgés de 5 à 15 jours avant la naissance (n=36), des porcelets de 21 jours (n=22) des porcs âgés de 98 jours (n=22) et des porcs âgés de 213 jours (n= 22). Les concentrations en pepsinogène sanguin ont été de  $0,5 \pm 0,1$  ng/mL,  $5,3 \pm 1,3$  ng/mL,  $290,6 \pm 30,9$  ng/mL,  $343,1 \pm 45$  ng/ml,  $383,5 \pm 48$  ng/mL respectivement chez les fœtus de 15 à 20 jours avant terme, des fœtus de 5 à 15 jours avant terme, les porcs de 21 jours, les porcs de 98 jours et les porcs de 213 jours. Ces données permettent de conclure que le pepsinogène est présent dans le sang depuis la vie fœtale et que celui ci augmente significativement ( $P < 0,05$ ) de façon continue avec l'âge des porcs.

**La deuxième étude** portait sur l'effet de la gestation et la lactation sur la concentration du pepsinogène. La gestation est caractérisée par des changements sur le plan hormonal ou enzymatique ; certaines hormones ou protéines apparaissent ou disparaissent pendant la gestation. De même la symptomatologie des ulcères disparaît au cours de la gestation pour reprendre pendant la lactation. Récemment, des récepteurs de la progestérone ont été détectés dans la muqueuse gastrique, loin des tissus cibles de la progestérone, suggérant ainsi l'implication de la progestérone dans l'étiologie des cancers gastriques chez l'homme. Toutes ces considérations nous ont poussés à explorer la relation entre la gestation et le système gastro-intestinal

L'objectif de cette étude était de vérifier si la gestation avait une influence sur les concentrations sanguines en pepsinogène. Des truies Large White x Landrace d'origine allemande (n=10) ont été inséminées puis contrôlées au cours de la gestation et de la lactation. Des prises de sang ont été effectuées à J0 (avant insémination) puis tous les 10 jours jusqu'au 100<sup>ème</sup> jour de la gestation et aux jours 10 et 20 de la lactation. Le dosage du pepsinogène a été effectué selon la méthode décrite à l'étude 1 et la progestérone par le protocole disponible au laboratoire de physiologie de la reproduction. Les concentrations en pepsinogène ont été de  $449 \pm 35,4$  ng/mL,  $327 \pm 11,8$  ng/mL,  $397 \pm 25,06$  ng/mL respectivement chez les truies non gestantes, les truies gestantes et les truies en lactation. La concentration du pepsinogène était significativement diminuée chez les truies gestantes ( $p < 0,05$ ). Mais il n'y avait pas de différence significative entre les truies non gestantes et les truies en lactation.

Les profils inversés entre la progestérone et le pepsinogène observés au début et à la fin de la gestation pourraient faire penser à une implication de la progestérone dans la diminution du pepsinogène au cours de la gestation.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons étudié l'effet d'un progestagène sur la concentration du pepsinogène sanguin. Des truies traitées avec un progestagène (n=10) ont été comparées avec des truies témoins (n=10). Le traitement n'a eu aucun effet sur les concentrations en pepsinogène sanguin. En conséquence, la progestérone que l'on croyait responsable de la diminution de la concentration sanguine en pepsinogène a été disculpée. D'autres régulateurs tels que les oestrogènes ou des protéines associées à la gestation (PAGs), non identifiées à ce jour, pourraient jouer un rôle déterminant.

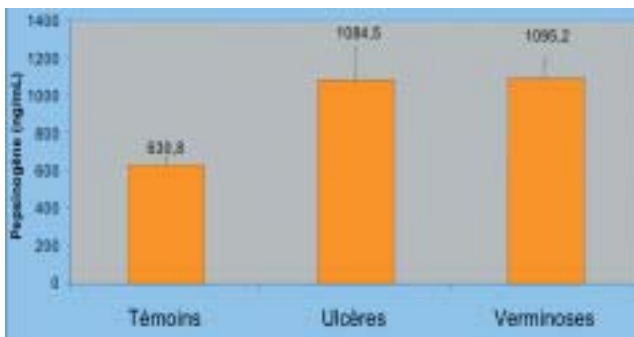
**La dernière étude** portait sur les concentrations en pepsinogène sanguin en relation avec les lésions gastriques. Les ulcères gastriques du porc sont principalement localisés dans la partie oesophagogastrique (*pars oesophagea*). Ils sont fréquemment rencontrés dans tous les élevages, leur prévalence a augmenté avec l'intensification de la production. Les ulcères touchent davantage les porcs en croissance et les truies. Ils induisent une baisse du gain moyen quotidien, une augmentation de l'indice de consommation et des mortalités subites pouvant atteindre 3 à 4%. La baisse des performances de croissance est d'autant plus prononcée que le niveau de performance de l'élevage est élevé. Les ulcères sont généralement asymptomatiques et difficilement détectables du vivant de l'animal. Chez les porcs qui en meurent, l'ulcère a la forme d'un cratère aux bords bien définis recouverts de tissus nécrotiques et de sang caillé. Dans la forme suraiguë, la *pars oesophagea* est souvent remplie d'un mélange de caillots de sang et d'aliments. Dans certains cas, l'ulcère guérit spontanément. Il laisse alors des cicatrices qui peuvent réduire le diamètre de l'entrée de l'estomac produisant ainsi des porcs chétifs à croissance fortement ralentie.

Par ailleurs, *H. rubidus* ou le ver rouge de l'estomac est un nématode qui colonise la muqueuse gastrique du porc. Les vers se développent dans la lumière de la région fundique. L'élevage des animaux à l'extérieur constitue le principal facteur de risque. Sa prévalence est très élevée (13 à 80%) dans les zones où les porcs ont l'occasion de pâturer. L'infestation est en général asymptomatique. Le diagnostic repose sur l'observation des signes cliniques, des lésions gastriques à l'abattoir ou sur cadavres mais surtout sur l'examen coprologique. Des lésions de la muqueuse gastrique que *H. rubidus* occasionne provoquent le passage du pepsinogène dans le sang, renforçant l'idée de son utilisation comme marqueur de l'état de la muqueuse.

L'objectif de cette étude était de vérifier si les lésions gastriques de la *pars oesophagea* (ulcères) et la muqueuse fundique (*H. Rubidus*) modifient les concentrations en pepsinogène sanguin du porc

L'étude a été menée à l'abattoir sur le porc local du Burkina Faso sur un effectif de 114 porcs. Du sang a été prélevé à l'abattage et le sérum obtenu a servi au dosage du pepsino-

gène par la méthode radioimmunologique. De même, tous les estomacs ont été examinés pour déterminer le score des lésions et la présence ou non des vers parasites. Sur un total de 116 observations, 62 porcs (53,4 %) étaient indemnes de pathologie gastrique, 35 (30,2 %) portaient des lésions au niveau de la région oesophagienne dont 12 porcs avec des ulcères (10,5 %) et 19 seulement (16,4 %) étaient infectés par *Hyostrogylus* dont 10 porcs avec plus de 500 vers (8,6%). Comparés aux porcs indemnes de pathologie gastrique, il y avait une différence significative entre la concentration du pepsinogène des porcs normaux ( $630,8 \pm 39,2$  ng/ml) et celle des porcs ulcéreux ( $1084,5 \pm 166,2$  ng/ml). De même, il y avait une différence entre la concentration du pepsinogène des porcs normaux et celle des porcs parasités par *H. rubidus* ( $630,8 \pm 39,2$  ng/ml contre  $1095,2 \pm 102$  ng/ml). Par contre, aucune différence n'a été observée entre les porcs ulcéreux et les porcs parasités (Figure).



Concentrations en pepsinogène sanguin en relation avec les lésions gastriques

(Banga-Mboko et al., Vet. Res. Comm., 2003, 27, 595-602)

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

### Conclusions

Le dosage radioimmunologique du pepsinogène sanguin a montré des variations selon l'âge, l'état physiologique (gestation) et le statut sanitaire (ulcères et vermineuses) des porcs. Dans ce dernier cas, le dosage ne permet pas de faire la différence entre les porcs massivement infectés par *H. rubidus* et ceux porteurs d'ulcères. Nos travaux de recherche suggèrent que le pepsinogène sanguin doit être considéré comme un marqueur de l'intégrité de la *pars oesophagienne* ou de la muqueuse fundique et non spécifique de l'infection parasitaire ou lésionnel de type ulcère. A ce titre, il peut donner une indication sur l'état sanitaire d'un troupeau et ce test est facilement utilisable dans la pratique vétérinaire.

### Perspectives

#### 1-Epidémiologie des pathologies gastriques

Les maladies gastriques qui ont fait l'objet de la présente étude sont souvent asymptomatiques et occasionnent des pertes dans la production de viande par la mort soudaine

des animaux. Leur diagnostic *ante mortem* est un préalable avant le traitement. Le dosage du pepsinogène sanguin chez les porcs en croissance et les truies peut constituer un élément fiable dans la détection des lésions de la muqueuse gastrique. Toutefois, la détermination des valeurs de références est nécessaire pour chaque étude, en fonction du génotype et de l'environnement.

Le dosage des autres formes de pepsinogène (B et C) et l'utilisation des rapports A/B ou A/C semblent être indiqués dans les études épidémiologiques afin de mieux gérer les élevages et l'utilisation des vermifuges.

#### 2- Etude sur l'efficacité d'un traitement anti-ulcéreux et anthelmintique par dosage du pepsinogène sanguin

S'il est établi que les ulcères et les parasitoses s'accompagnent d'un passage accru du pepsinogène dans le sang, leur éradication ou mieux le retour de la muqueuse à l'état normal (guérison) devrait se traduire par une diminution de la concentration en pepsinogène. Des investigations portant sur le dosage du pepsinogène avant, pendant et après le traitement seront nécessaires pour vérifier cette hypothèse.

#### 3- Relation entre la gestation et le système gastro-intestinal

La diminution du pepsinogène observée au cours de la gestation n'a pas été élucidée. Les résultats que nous avons obtenus ont été certainement sous l'influence du niveau alimentaire des truies.

Un des protocoles consisterait donc à offrir aux truies un niveau alimentaire élevé pendant la gestation et bas pendant la lactation. Le second consisterait à maintenir les deux stades physiologiques (gestation et lactation) à un niveau alimentaire égal. Ces expériences seraient complétées par une chromatographie des sérums prélevés chez les truies vides, gestantes et allaitantes. De même des études sur la demi-vie du pepsinogène sanguin pendant le cycle de reproduction de la truie semblent être intéressantes dans la compréhension des mécanismes régulant la sécrétion du pepsinogène au cours de la gestation.

#### 4-Etude sur la pathogénie des hélicobactéries par dosage du pepsinogène sanguin

La triade ulcère- pepsinogène - hélicobactéries a été investiguée dans le sens ulcère-pepsinogène d'une part, et ulcères-hélicobactéries d'autre part; mais aucune donnée n'est disponible dans la littérature sur l'influence des hélicobactéries sur la concentration du pepsinogène. L'étude complète de cette triangulaire peut avancer nos connaissances sur l'étiologie des ulcères et la pathogénie de *Helicobacter heilmannii*, d'autant plus que cette dernière est impliquée dans la formation des ulcères, étant transmissible à l'homme, elle constitue aussi une menace pour la santé publique.

## RÉFÉRENCES

- BAIRD J.D. Some aspects of the metabolic and hormonal adaptation to pregnancy. *Acta Endocrinol. Suppl.*, 1986, **277**: 11-18.
- BUNN C.M., HANSKY J., KELLY A., TITCHEN D.A. Observations on plasma gastrin and plasma pepsinogen in relation to weaning and gastric (*pars oesophagea*) ulcerations in pigs. *Res. Vet. Sci.*, 1981, **30**, 376-378.
- DOSTER A.R. Porcine gastric ulcer. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 2000, **16**, 163-174.
- ENIGHT K., DEY-HAZRA A., FEDER H. Influence of *Hyostromylus* infection on plasma pepsinogen content and electrolyte concentration of gastric juice in the pig. *Zentralb. Vet.*, 1972, **19**, 416-25.
- HORNNES P.J. Gastroentero-pancreatic hormones in pregnancy. *Scand. J. Gastroenterol.*, 1984, **19**, 451-456.
- JOLICOEUR L., ASSELIN J., MORISSET J. Effect of gestation and lactation on rat gastric fundus. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1981, **59**, 96-101.
- KLIMEK R. Enzymes: the most important markers of pregnancy development. *Early Pregnancy*, 2000, **4**, 219-229.
- KNIGHT T., GREAVES S., WILSON A., HENGELS K., NEWEL D., CORLETT M., WEBB P., FORMAN D., ELDER J. Variability in serum pepsinogen levels in an asymptomatic population. *Eur. J. Gastroenterol. Hepathol.*, 1995, **7**, 647-654.
- KURU B., OZASLAN C., YALMAN K., CAMLYBEL M. Serum progesterone levels in patients with gastric and colorectal cancers. *Acta Chir. Belg.*, 2002, **102**, 125.
- LEGAL A. L'estomac du porc. In: Hélicobactéries et affections gastriques chez le porc charcutier. Thèse de Doctorat en Médecine Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, Nantes, 2000, 8-15.
- MAKINDE M.O., GOUS T.A. Prevalence of gastro-oesophageal ulcers in grower- finisher pigs in the northern province of South Africa. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 1998, **69**, 59-60.
- NAPPERT G., VRINS A., BEAUREGARD M., VERMETTE L., LARIVIERE N. Radioimmunoassay of serum pepsinogen in relation to gastric (*pars oesophagea*) ulceration in swine herds. *Can. J. Vet. Res.*, 1990, **54**, 390-393
- QUEIROZ D.M.M., ROCHA G.A., MENDES E.N., MOURA S.B., OLIVEIRA A.M.R., MIRANDA D. Association between *Helicobacter* and gastric ulcer disease of the *pars oesophagea* in swine. *Gastroenterology*, 1996, **111**, 19-27.
- UVNAS-MOBERG, K. The gastrointestinal tract in growth and reproduction. *Scientific American*, 1989, 62-65.
- WALDUM H.L., STRAUME B.K., LUNDGREN R. Serum group I pepsinogens during pregnancy. *Scand. J. Gastroent.*, 1980, **15**, 61-63.
- WU C.H., CHI C.W., HISIEH M.C., LO S.S., SHEN K.H., LUI W.Y., P'ENG F.K. Serum progesterone levels in patients with gastric adenocarcinoma before and after gastrectomy. *Cancer*, 1998, **83**, 445-448.
- ZAMORA C.S., KOWALCZYK T., HOEKSTRA W/G., GRUMMER R.H., WILL J.A. Plasma concentration of pepsinogen and corticosteroid in relation to gastric lesions in swine. *Am. J. Vet. Res.*, 1975, **36**, 1327-1329.

## PUBLICATIONS ISSUES DU TRAVAIL DE THÈSE

- 1- BANGA-MBOKO H., SULON J., CLOSSET J., REMY B., EL AMIRI B., SOUSA N.M., BECKERS J.F. Radioimmunoassay of porcine pepsinogen. In : Second Belgian Workshop on Animal Endocrinology, Leuven (Belgium), November 15<sup>th</sup> 2000. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 2001, **5**, 25-26.
- 2- BANGA-MBOKO H., THILMAN P., DESBULEUX H., AOUMEUR N., YOUSAO I., PERENYI Z., DE SOUSA N.M., EL AMIRI B., BECKERS J.F. Pepsinogen and progesterone concentration during pregnancy in sows. In: Third Belgian Workshop on Animal Endocrinology Namur (Belgium) October 2001. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 2002, **6**, 12-13.
- 3- BANGA-MBOKO H. GODEAU J.M., DRION P.V., EL AMIRI B., DRION V., PERENYI Z., BECKERS J.F. Evaluation de l'utilisation du pepsinogène sanguin comme bio marqueur de l'intégrité de la muqueuse gastrique chez le porc. 1-Historique, physiopathologie de la muqueuse gastrique et différentes formes de pepsinogènes. *Ann. Méd. Vét.*, 2002, **146**, 339-346.
- 4- BANGA-MBOKO H., SULON J., CLOSSET J., REMY B., YOUSAO I., SOUSA N.M., EL AMIRI B., SANGILD P.T., MAES D., BECKERS J.F. An improved Radioimmunoassay for measurement of pepsinogen in porcine blood samples. *Vet. J.* 2003, **165**, 288-295.
- 5- BANGA-MBOKO H., HOLTZ W., MAES D., SOHNREY B., EL AMIRI B., SANGILD P.T., BECKERS J.F. Blood Serum pepsinogen concentrations during pregnancy and lactation in sows. *J. Anim. Vet. Adv.*, 2003, **3**, 170-175.
- 6- BANGA-MBOKO H., GODEAU J.M., DRION P.V., IDRISSE D., SOUSA N.M., REMY B., BECKERS J.F. Evaluation de l'utilisation du pepsinogène sanguin comme bio marqueur de l'intégrité de la muqueuse gastrique chez le porc. 2- Méthodes de dosage et intérêt en pathologie porcine. *Ann. Méd. Vét.*, 2003, **147** (sous presse).
- 7- BANGA-MBOKO H., TAMBOURA, H., MAES D., TRAORÉ H., SANGILD P T., EL AMIRI B., BAYALA B. BECKERS J. F. Survey of gastric lesions and blood pepsinogen levels in Burkina Faso Pigs. *Vet. Res. Comm.*, 2003, **27**, 595-602.

## Remerciements:

Cette recherche a été possible grâce au soutien financier du FNRS, celui du Ministère de l'Agriculture Belge ainsi que celui de l'Université de Göttingen (République Fédérale d'Allemagne) - Service du Prof. W. Holtz.