

ALTERATION DU PROFIL DES SPHINGOLIPIDES CHEZ DES POULETS NOURRIS AVEC UNE DOSE DE FUMONISINES CONSIDEREE COMME SURE

Didier Tardieu¹, Maria Matard-Mann², Pi Nyvall Collen², Philippe Guerre¹

¹ ENVT, Université de Toulouse - 23 Chemin des Capelles - 31300 TOULOUSE

² OLMIX S.A. - ZA du Haut du Bois - 56580 BREHAN

philippe.guerre@envt.fr

RÉSUMÉ

Les fumonisines sont des mycotoxines dont la toxicité se manifeste principalement en bloquant l'activité enzymatique de la céramide synthase, ce qui entraîne une perturbation du métabolisme des sphingolipides (SL). Si les effets des fumonisine B (FB) sur la sphinganine (Sa) et la sphingosine (So) sont bien documentés chez la volaille, peu d'informations sont disponibles sur leurs autres effets sur les SL. Nous avons développé une méthode UHPLC MS/MS permettant la détermination de 82 SL, dont 10 standards internes, dans le foie et le plasma de poulet. La méthode, une fois validée, a été utilisée pour mesurer les effets des FB1 et FB2 administrées à des poulets (n=10) à la dose de 20.8 mg FB1+FB2/kg d'aliment pendant 9 jours. Comparés aux témoins, des altérations significatives des membres des 7 familles de SL ont été observées dans le foie : bases sphingoïdes, céramides, dihydrocéramides, glycosylcéramides, sphingomyélines et dihydrosphingomyélines. En outre, des augmentations significatives de la sphinganine 1-phosphate, de la sphingosine 1-phosphate et des sphingomyélines, ont été observées dans le plasma. De manière intéressante, l'analyse discriminante par régression PLS de 11 SL dans le plasma a permis de discriminer les poulets exposés des poulets témoins, alors que l'analyse de Sa et So seuls n'a révélé aucune différence. En conclusion, nos résultats montrent que les effets des FB chez les poulets sont complexes et que le profilage des SL permet de détecter l'exposition aux FB lorsque la mesure de Sa et So s'avère non discriminante.

ABSTRACT

Strong alterations in the sphingolipid profile of chickens fed a dose of fumonisins considered safe

Fumonisins are mycotoxins known to exert most of their toxicity by blocking ceramide synthase, resulting in disruption of sphingolipid (SL) metabolism. If the effects of FB on sphinganine (Sa) and sphingosine (So) are well documented in poultry, little information is available on their other effects on SL. We developed an UHPLC MS/MS method that enabled the determination of 82 SL, including 10 internal standards, in chicken liver and plasma. The validated method was used to measure the effects of FB administered to chickens (n=10) at a dose of 20.8 mg FB1+FB2/kg feed for 9 days. Compared to the controls, significant alterations of sphingoid bases, ceramides, dihydroceramides, glycosylceramides, sphingomyelins and dihydrosphingomyelins were observed in the liver. In addition, significant increases in plasma sphinganine 1-phosphate, sphingosine 1-phosphate and sphingomyelins were observed in plasma. Interestingly, PLS analysis of 11 SL in plasma made it possible to discriminate exposed chickens from control chickens, whereas analysis of Sa and So alone revealed no difference. In conclusion, our results show that the effects of FB in chickens are complex, and that SL profiling enables the detection of exposure to FB when Sa and So fail.

INTRODUCTION

Les fumonisines sont des mycotoxines produites par des champignons du genre *Fusarium* présents dans le monde entier (Knutsen *et al.* 2018). Parmi les fumonisines, les fumonisines du groupe B (FB), et en particulier la fumonisine B1 (FB1) et la fumonisine B2 (FB2), sont les plus répandues et les plus étudiées. Ces composés peuvent être présents dans l'alimentation humaine et dans l'alimentation animale, où ils causent divers problèmes de santé. Les effets toxiques des FB varient selon l'espèce animale, la dose et la durée d'exposition. Des lésions hépatiques sont décrites chez toutes les espèces, y compris les volailles. Les FB sont par ailleurs classées dans le groupe 2B comme « probablement cancérigène pour l'homme ». Une dose journalière tolérable de FB a été définie pour l'homme et des limites maximales réglementaires établis, tandis que valeurs maximums recommandées en FB ont été établis dans les aliments pour animaux et dans les matières premières utilisées pour leur fabrication (Knutsen *et al.* 2018).

La toxicité des FB est principalement associée à leurs effets sur la synthèse des sphingolipides (SL). La structure de la FB1 étant similaire à celle des bases sphingoïdes (BS), précurseurs des SL, sa fixation à la céramide synthase inhibe fortement la synthèse *de novo* des SL. Ainsi, la concentration cellulaire en sphinganine (Sa), et dans une moindre mesure en sphingosine (So), augmentent avant l'apparition des signes de mycotoxicose. Le rapport Sa/So a donc été proposé comme biomarqueur d'exposition aux FB dans la plupart des espèces. Différentes altérations des différentes catégories de SL (céramides et sphingomyélines principalement) ont par ailleurs été observées chez les mammifères et en cultures cellulaires. Bien que d'autres mécanismes soient incriminés, ces altérations permettent d'expliquer la plupart des effets toxiques des FB (Riley *et al.*, 2019, Chen *et al.*, 2021).

Les altérations du métabolisme du SL sont peu documentées chez les espèces aviaires qui sont reconnues comme étant parmi les plus résistantes aux FB (Knutsen *et al.* 2018 ; Riley *et al.*, 2019). Une caractérisation fine des effets des FB sur le profil des SL peut aider à comprendre l'origine de cette relative résistance. Cette caractérisation peut par ailleurs permettre de révéler si le rapport Sa:So est le meilleur bio-marqueur dans ces espèces ou si d'autres altérations peuvent être constatées à des niveaux inférieurs d'exposition.

Différentes approches basées sur la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/MS) ont été développées pour l'analyse quantitative des SL (Wang *et al.*, 2014). En raison de la complexité du métabolisme des SL, le profilage de chaque SL est nécessaire. Cependant, comme les concentrations de SL peuvent varier d'un facteur mille ou plus, la quantification des espèces de faible

abondance est parfois difficile, notamment pour les espèces isotopiques et isomériques. Une autre limite à la caractérisation simultanée de différents SL est liée aux différences marquées de solubilité entre composés au sein d'une même classe de SL ou entre différentes classes (Wang *et al.*, 2014). Par conséquent, un mélange de différents standards internes (SI) est généralement utilisé pour la quantification des SL, mais la récupération précise des différents analytes dans les différentes matrices analysées n'est pas toujours connue.

L'objectif de cette étude était d'examiner les effets des FB sur différentes classes de SL chez des poulets nourris avec une dose de toxines considérée comme sûre (limite maximale recommandée) pour cette espèce. Pour cela, une méthode très sensible de quantification de 82 SL basée sur la séparation optimisée des analytes par UHPLC-MS/MS a tout d'abord été développée. Les conséquences de l'exposition aux FB sur le profil en SL ont ensuite été étudiées dans le foie et le plasma de poulets pour lesquels les teneurs en Sa et So étaient préalablement connues (Laurain *et al.*, 2021).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Détermination des teneurs en SL

La méthode de dosage développée est basée sur la méthode précédemment décrite par Wang *et al.* (2014). Dix standards internes obtenus correspondant au mélange « Ceramide/Sphingoid Internal Standard Mixture I » (SI) d'Avanti obtenu auprès de Sigma (Sigma Chemical Co, Saint Quentin Fallavier, France) ont été utilisés. 33 SL disponibles en tant que standards ont par ailleurs été utilisés. La méthode utilisée est linéaire sur une large gamme de concentrations en analytes. Les SL non disponibles en tant que standards ont été quantifiés en utilisant les courbes de calibration obtenues sur les SL de même classe les plus proches en masse.

1.2. Echantillons utilisés dans l'essai

Les échantillons de foie et de plasma de poulets utilisés dans cette étude ont été obtenus comme précédemment décrit (Laurain *et al.*, 2021). Des aliments contaminés ont été produits sur une base maïs + soja pour obtenir une concentration finale de 20 mg FB1+FB2/kg. Les teneurs en mycotoxines ont été mesurées par LC-MS/MS, aucune toxine autre que les fumonisines n'a été quantifiée à un niveau significatif. L'aliment a été distribué à volonté pendant 9 jours, les animaux ont été abattus à l'âge de 21J. Aucun signe clinique et aucune altération de performance n'a été observée au cours de l'étude.

1.3. Analyse statistique

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec XLSTAT Biomed (Addinsoft, 33000 Bordeaux, France). La linéarité a été mesurée à l'aide d'un test de Fisher. La méthode utilisée dans cet essai a été

comparée au dosage de la Sa et de la So en Fluorescence par recherche de corrélation entre les variables (test de Spearman et régression de Passing et Bablok) et par analyse de Bland-Altman. Les SL dans les tissus ont été rapportés sous forme de moyennes $\pm$ SD. La comparaison des groupes a été effectuée à l'aide d'une ANOVA après vérification de l'homogénéité de la variance (test de Hartley).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Méthode d'analyse des SL

Les conditions chromatographiques ont été choisies pour permettre une bonne séparation des SL afin de comparer l'effet des FB sur les céramides (CER), les dihydrocéramides (DHCER), les sphingomyélines (SM) et les dihydrosphingomyélines (DHSM). Une très bonne corrélation ($R^2 > 0,99$) entre le nombre de carbone et le temps de rétention d'une part et entre le nombre d'insaturations et le temps de rétention d'autre part, permettant de prédire et de confirmer le temps de rétention d'analytes qui ne sont pas disponibles sous forme de standards.

Un bon taux de récupération (R, entre 70% et 120%) et une faible variabilité (RSD, inférieure ou proche de 20%) ont été observés pour la plupart des 10 SI utilisés dans cette étude dans le foie et le plasma. La validation de la méthode en utilisant les SL disponible comme standards a été effectuée sur des échantillons de foie et de plasma fortifiés. Pour chaque analyte, la concentration mesurée dans l'échantillon a été corrigée par la valeur R obtenue pour l'SI correspondant. A chaque classe de SL correspond un SI, sauf pour certains analytes pour lesquels aucune correction n'a été trouvée. Des valeurs R comprises entre 70% et 120% avec une RSD inférieure ou proche de 20% ont été observées pour la plupart des analytes dosés dans le foie et le plasma, validant ainsi la méthode dans les deux matrices.

2.2. Mesure des effets des FB

2.2.1. Effets des FB sur les SL dans le foie

La distribution à des poulets d'un aliment contenant 20 mg FB1 + FB2/kg pendant neuf jours a entraîné de nombreuses modifications des teneurs hépatiques en sphingolipides (Tableau 1). Les FB ont augmenté les BS et cet effet était plus prononcé pour la Sa que pour la So, en accord avec les données de la littérature (Riley et al., 2019). Cette augmentation a été accompagnée d'une augmentation marquée de formes phosphorylées des BS. Les effets des FB sur les céramides ont varié en fonction de la BS et de la longueur de la chaîne carbonée de l'acide gras. Les CER contenant un acide gras de 16 carbones et moins ont été diminués alors que ceux contenant un acide gras à 18 carbones et plus ont été inchangés ou augmentés. Les DHCER ont été augmentés qu'elle que soit la longueur de la chaîne carbonée. Des effets

de même nature ont été observés pour les SM et les DHSM. De même, la teneur en glycosylcéramides hépatique a varié en fonction de la longueur de la chaîne carbonée de l'acide gras entrant dans leur composition. Les effets globaux des FB sur les sphingolipides hépatiques sont en concordance avec ceux observés chez les mammifères (Loiseau et al., 2015 ; Riley et al., 2019). L'analyse ciblée révèle en revanche une absence d'augmentation des teneurs en deoxysphinganine, une augmentation des teneurs en dihydrocéramides, une diminution des céramides à courte chaîne alors que les céramides à très longue chaîne sont augmentés, et une absence de diminution des teneurs en sphingomyélines. Une analyse discriminante partielle des moindres carrés (PLS-DA) réalisée sur 12 sphingolipides représentatifs des effets observés permet de clairement différencier les poulets exposés aux fumonisines de ceux recevant l'aliment témoin (Figure 1).

2.2.2. Effets des FB sur les SL dans le plasma

Aucun effet des FB sur Sa et So n'a été observé dans cette étude, en accord avec les données de la littérature à ce niveau de FB dans l'aliment (Laurain et al., 2021 ; Metayer et al., 2019). Une augmentation significative de Sa1P (d18:0P) a été observée, tandis qu'une faible augmentation non significative de So1P (d18:1P) a été observée. Un effet des FB sur les formes phosphorylées des BS a déjà été rapporté dans le foie de canards pour des concentrations plus élevées en FB dans l'aliment, mais cette étude montre pour la première fois que la teneur en Sa1P dans le plasma est un biomarqueur plus sensible d'exposition aux FB que la Sa (Tardieu et al., 2006). Une augmentation de la Sa1P dans le plasma a déjà été rapportée chez des souris exposées à la FB1, et la Sa1P a été utilisée pour détecter une exposition au FB chez l'homme (Riley et al., 2019). Aucune différence significative entre groupes n'a été trouvée pour les céramides. Les effets des FB sur les sphingomyélines ont varié avec la BS et avec la longueur de la chaîne carbonée de l'acide gras. Comme pour le foie, l'analyse PLS-DA menée sur six sphingolipides représentatifs et le rapport Sa1P:So1P permet de clairement différencier les poulets exposés aux fumonisines de ceux recevant l'aliment témoin (Figure 2).

CONCLUSION

En conclusion, l'analyse ciblée des SL a révélé de nombreuses altérations des sphingolipides au niveau hépatique dont l'analyse fine révèle des différences par rapport aux mammifères alors que les effets sur le rapport Sa/So sont similaires. Ces différences pourraient contribuer à expliquer la relative résistance des poulets aux fumonisines. Au niveau plasmatique, cette analyse a permis de détecter une exposition aux toxines que la seule mesure du rapport Sa/So ne permettait pas.

Tableau 1: Teneurs en SL dans le foie et le plasma de poulets témoins et de poulets nourris avec un aliment contenant 20 mg FB1+FB2/kg pendant 9 jours

Name	Liver ¹		Plasma ²		Name	Liver ¹		Plasma ²	
	Control	FB	Control	FB		Control	FB	Control	FB
Bases sphingoides et formes dérivées simples					Glycosylcéramides				
1dSo	1.15 ± 0.24	1.76 ± 0.82	0.34 ± 0.12	0.42 ± 0.25	Glu18:1/16:0	8516 ± 1397	5699 ± 1836*	598 ± 126	452 ± 103
1dSa	10.01 ± 3.29	10 ± 4.2	0.51 ± 0.17	0.46 ± 0.18	Hex18:1/18:0	2979 ± 717	2520 ± 629	111 ± 27	112 ± 23
d18:1 (So)	7635 ± 2247	10463 ± 2869*	198.8 ± 84.0	184.7 ± 39.4	Hex18:1/22:0	8406 ± 2007	14866 ± 4845*	261 ± 63	304 ± 84
d18:0 (Sa)	815 ± 222	2288 ± 924*	59.0 ± 6.9	60.1 ± 8.6	Hex18:1/24:0	9382 ± 2539	13386 ± 4989*	293 ± 69	367 ± 68
d18:1P	573 ± 191	1147 ± 419*	1534 ± 603	1811 ± 944	Glu18:1/24:1	7094 ± 1206	10498 ± 2830	405 ± 191	456 ± 155
d18:0P	55 ± 30	138 ± 73*	122 ± 46	311 ± 225*	Lac18:1/16:0	9215 ± 2180	6374 ± 1446*	514 ± 138	407 ± 95
GluSo	1344 ± 252	2082 ± 892*	9.1 ± 3.2	9.8 ± 2.7	Lac18:1/18:0	1953 ± 403	1875 ± 512	87 ± 27	99 ± 37
LacSo	19.6 ± 7.3	24.4 ± 10.6	ND	ND	Lac18:1/24:1	3830 ± 1108	4639 ± 2487	ND	ND
LysoSM	160 ± 29	172 ± 31	31.5 ± 11.9	34.5 ± 10.3	Sphingomyélines				
Céramides					SM18:1/14:0	258 ± 91	216 ± 95	579 ± 84	495 ± 90*
18:1/2:0	121 ± 54	173 ± 43	12.2 ± 2.4	14.8 ± 3.1	SM18:1/16:0	74212 ± 17808	59550 ± 22640	56060 ± 14141	44320 ± 9165*
18:1/14:0	1285 ± 226	945 ± 203*	9.07 ± 2.60	7.65 ± 1.26	SM18:1/18:1	157 ± 49	211 ± 104	3113 ± 574	2852 ± 337
18:1/16:0	706486 ± 124469	504758 ± 73900*	2812 ± 867	2644 ± 973	SM18:1/18:0	51624 ± 11361	53407 ± 16578	17499 ± 3123	18240 ± 3873
18:1/18:1	876 ± 170	1286 ± 328*	97 ± 33	90 ± 22	SM18:1/20:0	9693 ± 2262	12346 ± 3365	1555 ± 293	1838 ± 331
18:1/18:0	75382 ± 15379	72004 ± 13639	414 ± 307	388 ± 135	SM18:1/22:2	924 ± 234	1159 ± 303	882 ± 156	1003 ± 185
18:1/20:0	37367 ± 11762	44027 ± 11764	226 ± 137	230 ± 75	SM18:1/22:1	1886 ± 507	2388 ± 635	724 ± 156	819 ± 156
18:1/22:2	3724 ± 486	4220 ± 675	171 ± 20	175 ± 15	SM18:1/22:0	126082 ± 20545	179131 ± 45760*	6839 ± 1346	8473 ± 1611*
18:1/22:1	9731 ± 2342	10427 ± 1943	217 ± 47	217 ± 28	SM18:1/23:1	1197 ± 461	1416 ± 333	1466 ± 162	1590 ± 217
18:1/22:0	137824 ± 23336	158290 ± 25717	2651 ± 1440	2746 ± 1234	SM18:1/23:0	51549 ± 10638	72012 ± 17340*	1814 ± 417	2482 ± 491*
18:1/23:1	3575 ± 902	3916 ± 165	183 ± 20	176 ± 17	SM18:1/24:3	703 ± 148	887 ± 201*	609 ± 92	693 ± 123
18:1/23:0	57081 ± 8932	74409 ± 16213*	2516 ± 909	2705 ± 787	SM18:1/24:2	12586 ± 3184	14501 ± 4015	5324 ± 812	6157 ± 992
18:1/24:2	141334 ± 26043	161388 ± 24647	4596 ± 2742	5429 ± 1769	SM18:1/24:1	58984 ± 15967	79297 ± 14028*	10551 ± 1717	12718 ± 1684*
18:1/24:1	195825 ± 22357	208497 ± 28894	6237 ± 3462	6943 ± 3549	SM18:1/24:0	19388 ± 8080	29423 ± 7158*	1221 ± 229	1712 ± 264*
18:1/24:0	51054 ± 9607	66790 ± 13946*	3095 ± 1081	3209 ± 1092	SM18:1/25:2	424 ± 67	484 ± 61	121 ± 19	142 ± 15*
18:1/25:1	1260 ± 192	1685 ± 386*	64 ± 27	77 ± 30	SM18:1/25:1	886 ± 178	1148 ± 163*	17 ± 30	209 ± 27*
18:1/26:2	289 ± 85	370 ± 115	3.1 ± 4.6	4.2 ± 6.8	SM18:1/25:0	678 ± 162	922 ± 169*	85 ± 14	98 ± 11*
18:1/26:1	351 ± 69	449 ± 96*	11 ± 13	23 ± 9	SM18:1/26:3	ND	ND	133 ± 13	145 ± 23
18:1/26:0	99 ± 71	143 ± 39	8.2 ± 7.4	8.0 ± 6.6	SM18:1/26:2	466 ± 61	544 ± 71*	153 ± 14	161 ± 20
18:1/16:0P	-	-	ND	ND	SM18:1/26:1	554 ± 96	640 ± 58*	100 ± 11	109 ± 12
18:1/18:0P	-	-	ND	ND	SM18:1/26:0	392 ± 39	433 ± 26*	67 ± 10	73 ± 7
Dihydrocéramides					Dihydrosphingomélines				
18:0/2:0	ND	38.7 ± 21	0.72 ± 1.44	3.60 ± 2.03	SM18:0/16:0	22531 ± 5717	30358 ± 10496	9961 ± 2375	11000 ± 2849
18:0/16:0	51847 ± 25043	66188 ± 17952	514 ± 186	421 ± 122	SM18:0/18:0	5509 ± 1371	7406 ± 2279*	751 ± 113	868 ± 147
18:0/18:0	1796 ± 742	2610 ± 632*	51 ± 9	57 ± 9	SM18:0/20:0	1536 ± 483	2109 ± 581*	122 ± 16	146 ± 15*
18:0/20:0	294 ± 145	446 ± 141*	29 ± 4	30 ± 5	SM18:0/22:0	6766 ± 3216	11118 ± 3186*	162 ± 33	244 ± 46*
18:0/22:0	2169 ± 567	2857 ± 420*	205 ± 27	198 ± 23	SM18:0/23:0	2268 ± 934	3400 ± 853*	89 ± 13	114 ± 11*
18:0/23:0	258 ± 165	404 ± 100*	38 ± 19	25 ± 16	SM18:0/24:1	1672 ± 672	2435 ± 479*	144 ± 20	197 ± 32*
18:0/24:0	2531 ± 1321	3218 ± 556	588 ± 240	480 ± 160	SM18:0/24:0	1217 ± 404	1647 ± 445*	71 ± 10	85 ± 9*

¹Resultats exprimés en pmol/g, moyenne ± SD, n=10²Resultats exprimés en pmol/ml, moyenne ± SD, n=10

Figure 1. Analyse discriminante partielle des moindres carrés de 12 SL dans le foie de poulets témoins (C) et de poulets nourris pendant 9 jours avec 20 mg de FB1 + FB2/kg (F). (A) Graphique de corrélation entre les variables explicatives (X) et dépendantes (Y). (B) Discrimination sur les axes factoriels extraits des variables explicatives originales. $R^2X = 0,577$, $R^2Y = 0,88$, $Q^2 = 0,83$.

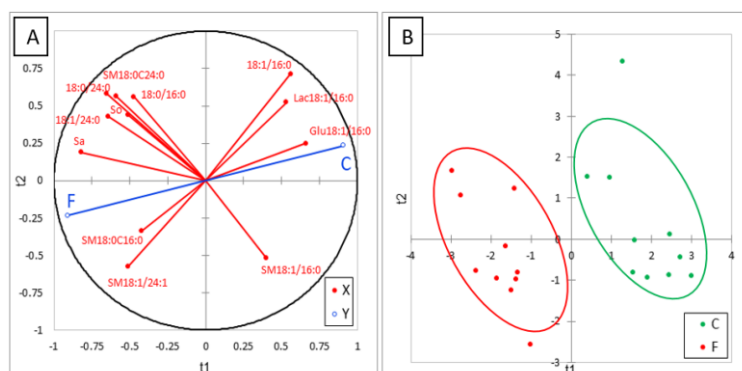
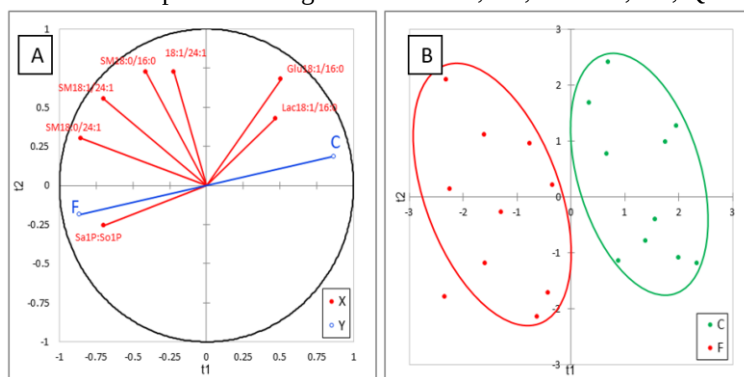


Figure 2. Analyse discriminante partielle des moindres carrés de 6 SL et du rapport Sa1P:So1P dans le plasma de poulets témoins (C) et de poulets nourris pendant 9 jours avec 20 mg de FB1 + FB2/kg (F). (A) Graphique de corrélation entre les variables explicatives (X) et dépendantes (Y). (B) Discrimination sur les axes factoriels extraits des variables explicatives originales. $R^2X = 0,652$, $R^2Y = 0,787$, $Q^2 = 0,757$.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Chen, J.; Wen, J.; Tang, Y.; Shi, J.; Mu, G.; Yan, R.; Cai, J.; Long, M. Research Progress on Fumonisin B1 Contamination and Toxicity: A Review. *Molecules* 2021, 26, 5238.
- Knutsen, H.; Alexander, J.; Barregård, L.; Bignami, M.; Brüschweiler, B.; Ceccatelli, S.; Cottrill, B.; Dinovi, M.; Edler, L.; EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); et al. Risks for Animal Health Related to the Presence of Fumonisin, Their Modified Forms and Hidden Forms in Feed. *EFSA J.* 2018, 16.
- Laurain, J.; Tardieu, D.; Matard-Mann, M.; Rodriguez, M.A.; Guerre, P. Fumonisin B1 Accumulates in Chicken Tissues over Time and This Accumulation Was Reduced by Feeding Algo-Clay. *Toxins* 2021, 13, 701.
- Loiseau, N.; Polizzi, A.; Dupuy, A.; Therville, N.; Rakotonirainy, M.; Loy, J.; Viadere, J.-L.; Cossalter, A.-M.; Bailly, J.-D.; Puel, O.; et al. New Insights into the Organ-Specific Adverse Effects of Fumonisin B1: Comparison between Lung and Liver. *Arch. Toxicol.* 2015, 89, 1619–1629.
- Metayer, J.-P.; Travel, A.; Mika, A.; Bailly, J.-D.; Cleva, D.; Boissieu, C.; Guennec, J.L.; Froment, P.; Albaric, O.; Labrut, S.; et al. Lack of Toxic Interaction Between Fusariotoxins in Broiler Chickens Fed throughout Their Life at the Highest Level Tolerated in the European Union. *Toxins* 2019, 11, 455.
- Riley, R.T.; Merrill, A.H. Ceramide Synthase Inhibition by Fumonisin: A Perfect Storm of Perturbed Sphingolipid Metabolism, Signaling, and Disease. *J. Lipid Res.* 2019, 60, 1183–1189.
- Tardieu, D.; Tran, S.T.; Auvergne, A.; Babilé, R.; Benard, G.; Bailly, J.D.; Guerre, P. Effects of Fumonisin on Liver and Kidney Sphinganine and the Sphinganine to Sphingosine Ratio during Chronic Exposure in Ducks. *Chem. Biol. Interact.* 2006, 160, 51–60.
- Wang, J.-R.; Zhang, H.; Yau, L.F.; Mi, J.-N.; Lee, S.; Lee, K.C.; Hu, P.; Liu, L.; Jiang, Z.-H. Improved Sphingolipidomic Approach Based on Ultra-High Performance Liquid Chromatography and Multiple Mass Spectrometries with Application to Cellular Neurotoxicity. *Anal. Chem.* 2014, 86, 5688–5696.