

Caractérisation de marqueurs du métabolisme énergétique mitochondrial et du stress oxydatif chez des porcelets de faibles poids et de poids normaux en période péri-sevrage

Jérôme LAPOINTE, Aliny KETILIM-NOVAIS, Noémie BERGERON, Caroline ROY, Martin LESSARD,
J. Jacques MATTE

(1) Agriculture et Agroalimentaire Canada, Centre de recherche et de développement de Sherbrooke,
2000 Rue Collège, Sherbrooke, QC, Canada J0B 1L0

jerome.lapointe@agr.gc.ca

Caractérisation de marqueurs du métabolisme énergétique mitochondrial et du stress oxydatif chez des porcelets de faibles poids et de poids normaux en période péri-sevrage.

Le sevrage est reconnu pour induire un stress métabolique ayant des impacts négatifs pour la santé des porcelets. Toutefois, peu d'informations sont actuellement disponibles en ce qui a trait à l'intensité et la durée de ce stress chez des porcelets de poids normaux et de faibles poids. Cette étude avait donc pour objectif de caractériser des marqueurs du métabolisme énergétique et du statut oxydatif en période péri-sevrage. Pour réaliser l'étude, 30 truies multipares ont été inséminées et leurs portées ont été uniformisées à 12 porcelets. Des porcelets ont été assignés à l'un des deux groupes expérimentaux suivant : porcelets de poids normaux ($n = 60$) et porcelets de poids inférieur à 1,2 kg ($n = 60$). Ensuite, 10 porcelets de chaque groupe ont été sélectionnés aux jours 14, 21 (sevrage), 23, 25, 29 et 35 pour le prélèvement d'échantillons de plasma et d'organes (foie et reins). Les analyses ont révélé une augmentation ($P < 0,05$) de l'activité des antioxydants glutathion peroxydase (GPx) et superoxyde dismutase (SOD) dans le plasma, de même qu'une diminution ($P < 0,05$) des niveaux d'énergie sous la forme d'adénosine triphosphate (ATP) dans le foie suite au sevrage. Les niveaux de dommages oxydatifs à l'ADN (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine) mesurés dans le plasma sont augmentés suite au sevrage et ils sont plus élevés ($P < 0,05$) chez les porcelets de faibles poids. L'activité mitochondriale des antioxydants GPx et SOD est plus élevée dans les reins ($P < 0,05$) des porcelets suite au sevrage. Ces résultats démontrent que le sevrage induit un stress oxydatif et une déficience énergétique chez les porcelets et que cet effet peut être plus important chez des porcelets de faibles poids.

Characterization of mitochondrial energy metabolism and oxidative stress in low- and normal-weight piglets during the peri-weaning period.

Weaning is known to induce metabolic stress, which has negative impacts on piglet health. However, little information is currently available regarding the intensity and duration of this stress in both normal- and low-weight piglets. The objective of this study was thus to characterize markers of energy metabolism and oxidative status throughout the peri-weaning period. To conduct the study, 30 multiparous sows were inseminated, and litters were standardized to 12 piglets. Piglets were assigned to one of two experimental groups: normal-weight piglets (NBW, at mean weight, $n = 60$) and low-weight piglets (LBW, weight less than 1.2 kg, $n = 60$). Then, 10 piglets from each group were selected at 14, 21 (weaning), 22, 23, 25, 29 and 35 days of age to collect plasma and organ (liver and kidneys) samples. Analysis revealed a significant increase ($P < 0.05$) in enzymatic antioxidant activity of glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD) in plasma, as well as a decrease ($P < 0.05$) in energy level in the form of adenosine triphosphate (ATP) content in the liver after weaning. Levels of oxidative damage to DNA (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine) measured in plasma increased after weaning and were significantly higher ($P < 0.05$) in LBW piglets. Mitochondrial activity of both GPx and SOD was significantly higher ($P < 0.05$) in the kidneys of piglets after weaning. These results demonstrate that weaning induces oxidative stress and energy deficiency in piglets and that this effect may be greater in low-weight piglets.

INTRODUCTION

Le sevrage est reconnu pour imposer un stress nutritionnel important aux porcelets et pour affecter leurs fonctions métaboliques, physiologiques et immunologiques (Heo *et al.*, 2013). La période qui suit le sevrage est d'ailleurs caractérisée par une forte incidence de troubles intestinaux, d'infections bactériennes et de carences énergétiques qui peuvent ultimement conduire à des pathologies sévères (Pie *et al.*, 2004; Lalles *et al.*, 2007; Wijtten *et al.*, 2011). Au cours des dernières décennies, l'avènement du processus de sélection génétique de truies hyper-prolifiques ayant pour but d'augmenter la taille des portées et d'accroître les bénéfices des producteurs de porcs n'a pas engendré que les effets escomptés. En fait, elle a également entraîné des variations plus prononcées au niveau des poids des porcelets à la naissance au sein des portées ainsi qu'une augmentation de l'occurrence de porcelets présentant de faibles poids à la naissance (Quesnel *et al.*, 2008). Ces porcelets sont reconnus comme étant plus susceptibles de souffrir d'un transfert inadéquat de nutriments *in utero* et durant la période de lactation, ce qui les rend plus fragiles face aux maladies infectieuses et aux carences énergétiques (De Vos *et al.*, 2014). Cette présence d'un nombre accru de porcelets vulnérables dans les élevages porcins, jumelée à l'actuelle restriction dans l'utilisation des antibiotiques comme traitements prophylactiques, a contribué à accentuer les recours aux antibiotiques pour traiter les diverses pathologies reliées à la période du sevrage (Barton *et al.*, 2014). Ainsi, des stratégies efficaces visant à améliorer la santé métabolique des porcelets et à accroître leurs mécanismes de défense contre les infections bactériennes pendant la période post-sevrage se doivent d'être développées afin d'assurer une rentabilité optimale des élevages ainsi que pour limiter l'utilisation d'antibiotiques dans la production porcine (Aarestrup *et al.*, 2008; Stanton, 2013).

Dans toutes les cellules, les mitochondries sont des organelles dynamiques qui sont principalement reconnues pour être la principale source d'énergie. Cette énergie est générée lors du processus de respiration cellulaire sous la forme d'adénosine triphosphate (ATP) (Green et Tzagoloff, 1966). Ce processus essentiel qu'est le métabolisme énergétique mitochondrial est cependant étroitement associé à la production des dérivés actifs de l'oxygène (ROS) qui sont des molécules pouvant être toxiques et qui sont reconnues pour induire des conditions de stress oxydatif lors des périodes où l'activité métabolique est élevée (Kowaltowski *et al.*, 2009). De plus en plus d'évidences indiquent que la fonction mitochondriale et le stress oxydatif sont étroitement liés à la réponse immunitaire innée (West *et al.*, 2011), l'inflammation intestinale (López-Armada *et al.*, 2013), l'intégrité de la fonction barrière de l'intestin (John *et al.*, 2011) et aux mécanismes d'infections des bactéries (Arnoult *et al.*, 2009). Les mitochondries ont notamment été identifiées comme la cible d'un nombre croissant de protéines bactériennes qui sont transférées à la cellule par des bactéries virulentes telles que *Escherichia coli* entéro-pathogène (EPEC) (Rudel *et al.*, 2010; Jiang *et al.*, 2012). Ces diverses informations suggèrent donc que les mitochondries des porcelets se doivent de bénéficier des conditions optimales en terme de protection antioxydante et de disponibilité de substrats métaboliques en période post-sevrage afin que ceux-ci puissent avoir un état énergétique adéquat, une bonne santé intestinale ainsi qu'être en mesure de pouvoir résister aux diverses maladies et infections durant cette période critique.

Fait intéressant, les mitochondries sont reconnues pour être particulièrement sensibles à la quantité et à la variété des nutriments fournis dans l'alimentation et il est par conséquent envisageable de moduler leur fonction par des stratégies nutritionnelles ciblées (Lapointe *et al.*, 2014). Cependant, le manque de connaissances essentielles reliées aux statuts métabolique et oxydatif des porcelets en période post-sevrage limite actuellement le développement de telles stratégies chez ces animaux et, bien qu'elles soient prometteuses, elles demeurent indisponibles pour les producteurs. La présente étude a donc été entreprise afin de caractériser de manière précise le statut oxydatif de même que l'état énergétique des porcelets de poids normaux et de faibles poids en période péri-sevrage à l'aide de différents biomarqueurs. Ceci permettra de fournir ces données scientifiques de référence qui permettront d'accroître nos connaissances et de procéder à l'élaboration de ce type d'intervention nutritionnel ciblée.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Les animaux et la collecte des échantillons

Tous les animaux impliqués dans ce projet ont été traités en respect avec le code des bonnes pratiques en vigueur (Agriculture et Agroalimentaire Canada, 1993) et toutes les procédures impliquant ces animaux ont été étudiées et approuvées par le comité institutionnel de protection des animaux. Pour réaliser ce projet, 30 truies ont été inséminées afin d'obtenir un minimum de 25 truies gestantes et nourricières ayant une taille de portée uniformisée à 12 porcelets à 3 jours d'âge. Les truies ont reçu des aliments conventionnels de gestation et lactation. À l'intérieur des portées, des porcelets présentant les caractéristiques requises ont été assignés à l'un des deux groupes expérimentaux suivants: porcelets de poids normaux ($n = 60$) et porcelets de faible poids ($n = 60$). Les porcelets de poids normaux ont été définis comme ayant un poids à la naissance se situant entre la moyenne de la portée et une valeur d'écart-type ($1,67 \pm 0,08$ kg) tandis que les porcelets de faibles poids ont été sélectionnés parmi ceux ayant un poids à la naissance inférieur à 1,2 kg ($1,09 \pm 0,01$ kg). Les poids des porcelets ont été évalués à l'âge de 1 (J-1), 7 (J-7), 14 (J-14), 23 (J-23), 25 (J-25), 29 (J-29) et 35 (J-35) jours. Suite aux sevrages, les portées de porcelets ont été distribuées dans des parcs. Parmi ces porcelets de poids normaux et de faibles poids, 10 porcelets de chaque groupe ont été sélectionnés pour être euthanasiés en pré-sevrage à J-14, immédiatement avant le sevrage (J-21), ainsi qu'à J-23, J-25, J-29 et J-35 pour la prise d'échantillons de sang et d'organes (foie, reins et intestin). Des échantillons de sang ont aussi prélevés à 22 jours d'âge (J-22). Ces échantillons de plasma et d'organes ont été utilisés pour analyser différents marqueurs reliés au métabolisme énergétique et au stress oxydatif par des méthodes de biologie moléculaire, biochimie et enzymologie.

1.2. Les mesures analytiques

Tous les échantillons recueillis ont été immédiatement congelés dans l'azote liquide pour ensuite être conservés à -80°C . L'activité de la glutathion peroxydase (GPx) totale a été déterminée dans les échantillons de plasma de même que dans des homogénats totaux de foie et de rein en utilisant la méthode standard indirecte d'analyse spectrophotométrique de l'oxydation du NADPH en présence de tert-butyl hydroperoxyde tel que décrit (Flohe et Gunzler, 1984).

L'activité de la superoxyde dismutase totale (SOD) a été mesurée en utilisant un kit d'analyse disponible commercialement (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI) dans les échantillons de plasma tel que décrit précédemment (Roy *et al.*, 2016). En ce qui concerne les homogénats de tissus (foie et reins), l'activité SOD totale a été mesurée selon la méthode décrite par Weydert *et al.* (2010). L'activité spécifique de l'enzyme superoxyde dismutase mitochondriale (SOD2) a été mesurée dans des fractions mitochondriales isolées à partir d'échantillons de foie et de rein en utilisant le même kit commercial (Cayman Chemical) et conformément aux instructions fournies. Les mitochondries du foie et du rein ont été isolées par centrifugation différentielle standard selon des procédures préalablement détaillées (Lapointe et Hekimi 2008). Toutes les activités enzymatiques ont été normalisées à la quantité de protéines utilisées dans les dosages et quantifiées par la méthode colorimétrique à l'acide bicinchonique (BCA).

L'analyse de la concentration plasmatique de 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine (8-OHdG), un biomarqueur spécifique pour les dommages oxydatifs à l'ADN, a été effectuée à l'aide d'un essai de type ELISA selon le protocole du fabricant (Cedarlane Labs, Burlington, ON). Les niveaux d'adénosine triphosphate (ATP) ont été déterminés dans des homogénats d'échantillons de foie à l'aide d'un kit de détection spécifique basé sur la bioluminescence (Thermo Fisher Scientific, Burlington, ON) en utilisant un luminomètre selon les instructions du fabricant et tel que décrit dans une publication précédente (Lapointe et Hekimi 2008).

1.3. Les analyses statistiques

Toutes les données ont été analysées en utilisant le logiciel SAS (SAS release 9.2, 2002; SAS Institute, Cary, NC, USA). Des analyses de la variance ont été effectuées afin de caractériser les effets des deux facteurs à l'étude (poids à la naissance et âges des porcelets) sur les différents marqueurs reliés au stress oxydatif et au métabolisme énergétique. Les effets du modèle statistique étaient considérés significatifs à $P \leq 0,05$, et les tendances à $0,05 < P \leq 0,10$.

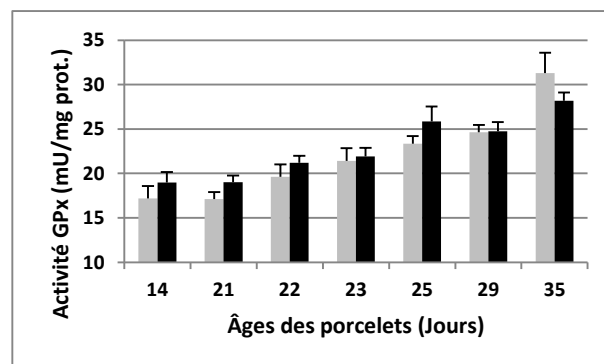
2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Stress oxydatif systémique

Les conditions de stress oxydatif systémique des porcelets de faibles poids et de poids normaux ont été évaluées dans des échantillons de plasma à différents âges à l'aide de trois biomarqueurs reconnus. Ces marqueurs sont l'activité de la glutathion peroxydase (Figure 1), l'activité de l'enzyme superoxyde dismutase (Figure 2) et la concentration de 8-oxo-2'-désoxyguanosine (8-oxo-dG), qui est un désoxyribonucléoside résultant de l'oxydation de la désoxyguanosine et, par conséquent, un indicateur des dommages oxydatifs à l'ADN. Aucun effet du groupe (poids des porcelets) n'a été observé sur l'activité GPx ($P > 0,25$) ni sur celle de la SOD ($P > 0,49$) au niveau systémique. Toutefois, les données recueillies lors des analyses indiquent que l'activité de ces deux enzymes est influencée de manière significative ($P < 0,0001$) par l'âge des porcelets. On remarque que l'activité spécifique de la GPx (Figure 1) et celle de la SOD (Figure 2) sont relativement basses et stables dans les échantillons de plasma récoltés immédiatement avant le sevrage des porcelets (J-21).

Par contre, suite au sevrage, l'activité des deux enzymes augmente de manière graduelle pour atteindre des valeurs maximales à J-29 et J-35.

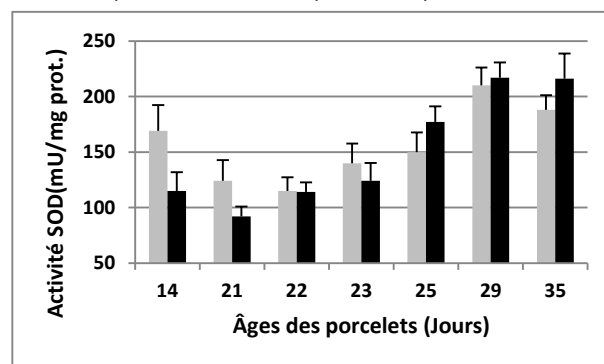
Figure 1 – Activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) mesurée dans le plasma pour les deux groupes de porcelets durant la période expérimentale



Les données représentées sur le graphique sont les moyennes des activités pour le groupe des porcelets nés avec un faible poids (barres en gris, $n=10$) et celui des porcelets nés avec un poids normal (barres en noir, $n=10$) avec l'erreur standard de la moyenne.

Effet significatif de l'âge ($P < 0,0001$).

Figure 2 – Activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD) mesurée dans le plasma pour les deux groupes de porcelets durant la période expérimentale



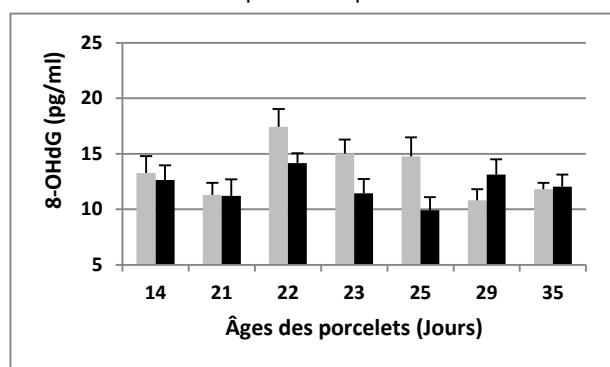
Les données représentées sur le graphique sont les moyennes des activités pour le groupe des porcelets nés avec un faible poids (barres en gris, $n=10$) et celui des porcelets nés avec un poids normal (barres en noir, $n=10$) avec l'erreur standard de la moyenne.

Effet significatif de l'âge ($P < 0,0001$).

En ce qui concerne les concentrations de 8-OHdG, les résultats des analyses indiquent qu'elles sont significativement influencées par le poids ($P < 0,05$) de même que par l'âge ($P < 0,02$) des porcelets (Figure 3). De plus, une tendance ($P < 0,08$) est notée pour une interaction entre les effets du poids et de l'âge des porcelets.

De manière générale, les analyses indiquent que, tout comme les valeurs d'activité des antioxydants, les concentrations de dommages oxydatifs à l'ADN que l'on retrouve dans le plasma sont relativement basses en lactation (J-14) et avant le sevrage (J-21) pour ensuite augmenter suite au sevrage. Une analyse partitionnée de l'effet de l'interaction a par ailleurs indiqué que cette augmentation suite au sevrage tend à être plus importante chez les porcelets de faible poids à J-22 et J-23 ($P < 0,07$) et que les niveaux plasmatiques de 8-OHdG demeurent plus élevés chez ces animaux reconnus pour être plus fragiles à J-25 ($P < 0,01$). Les niveaux de dommages oxydatifs à l'ADN semblent par la suite revenir à des niveaux plus bas à mesure qu'on s'éloigne du jour du sevrage (Figure 3).

Figure 3 – Concentrations du biomarqueur de dommages à l'ADN 8-oxo-2'-désoxyguanosine (8-oxo-dG) mesurées dans le plasma pour les deux groupes de porcelets durant la période expérimentale



Les données représentées sur le graphique sont les moyennes des concentrations pour le groupe des porcelets nés avec un faible poids (barres en gris, n=10) et celui des porcelets nés avec un poids normal (barres en noir, n=10) avec l'erreur standard de la moyenne.

Effet significatif de l'âge ($P < 0,02$).

Effet significatif du poids ($P < 0,05$).

Interaction Poids x Âge ($P < 0,07$).

Ces données en lien avec le stress oxydatif systémique indiquent que les réponses au stress des porcelets sont activées suite au sevrage. Les antioxydants sont des enzymes de défense reconnues comme étant régulées par les niveaux de stress oxydatif, principalement au niveau de la transcription via des éléments de réponses situés dans leurs régions promotrices (Miao *et al.*, 2009, Brigelius-Flohé *et al.*, 2013). Leur activation rapide observée dès J-22 indique que la SOD tout comme la GPx réagissent à un stress oxydatif qui survient très tôt suite au sevrage. Ces deux enzymes ayant des activités complémentaires, la SOD dismutant l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène qui est par la suite converti en eau par la GPx, il n'est pas surprenant de constater qu'elles présentent des patrons d'activité similaires suite au sevrage. Ce qui était plus inattendu est le fait d'observer que ces deux antioxydants demeurent fortement actifs jusqu'à deux semaines après le sevrage (J35), cette observation pourrait laisser présager que le stress oxydatif associé au sevrage n'est pas que transitoire et qu'il peut se prolonger sur une plus grande période. L'observation que les porcelets nés avec un faible poids présentent plus de dommages à l'ADN suite au sevrage peut par ailleurs suggérer que ces animaux reconnus comme étant vulnérables pourraient être davantage affectés que leurs congénères présentant un poids normal durant cette période de stress oxydatif accru en dépit d'une réponse similaire des antioxydants enzymatiques.

2.2. Effet du sevrage sur le métabolisme et le stress oxydatif mitochondrial hépatique

L'influence du stress associé au sevrage et du poids à la naissance des porcelets sur le métabolisme énergétique mitochondrial a été évalué au niveau du foie qui est un organe de référence au niveau du métabolisme. Le marqueur utilisé pour caractériser les niveaux d'énergie des porcelets est la concentration d'adénosine triphosphate (ATP), reconnue comme étant la principale source énergétique des cellules. Les molécules d'ATP sont principalement produites par les mitochondries lors de la respiration cellulaire. Le résultat des analyses des niveaux d'ATP dans les homogénats de foie des porcelets indiquent qu'ils ne sont pas affectés par les poids à la

naissance ($P > 0,91$). Par contre, les réserves hépatiques d'ATP varient en fonction de l'âge des porcelets ($P < 0,05$) avec les niveaux les plus bas observés immédiatement après le sevrage à J-23 (Tableau 1). Cette baisse des niveaux d'ATP suite au sevrage laisse présager une dysfonction mitochondriale, un phénomène normalement associé à un stress oxydatif. En effet, il est reconnu que les dérivés actifs de l'oxygène (ROS), qui sont normalement produits à de faibles niveaux par la chaîne de respiration mitochondriale, se retrouvent à être générés à des niveaux toxiques lorsque l'activité de celle-ci est compromise (Brand *et al.*, 2010). Ceci engendre alors un cercle vicieux pouvant mener à une perte de fonction mitochondriale, un stress oxydatif systémique et ultimement à diverses pathologies (Circu *et al.*, 2010).

Tableau 1 – Valeurs des biomarqueurs du statut métabolique et du stress oxydatif mesurées dans le foie des porcelets durant la période expérimentale

	Âges des porcelets (Jours)						ESM ²
	14	21	23	25	29	35	
ATP¹ (nmol/mg prot.)	4,45	4,13	2,36	2,73	2,89	3,42	0,58
GPx mit. (mU/mg prot.)	117,1	123,1	120,9	130,1	129,6	120,2	6,4
GPx tot.¹ (mU/mg prot.)	166,2	212,3	178,3	198,2	194,2	196,1	8,8
SODmit.¹ (U/mg prot.)	10,5	10,3	11,2	11,2	10,5	9,5	0,4
SOD tot. (U/mg prot.)	32,2	35,1	36,2	37,8	36,2	33,6	2,1

Les données présentées dans ce tableau sont les moyennes ajustées pour les différents âges (n=20), aucune tendance et aucun effet significatif n'ayant été observé pour ces valeurs en lien avec le poids à la naissance ($P > 0,15$). Aucune interaction poids x âges identifiées ($P > 0,31$). Activité de l'enzyme dans la fraction mitochondriale (mit); Activité de l'enzyme dans l'homogénat total (tot).

¹Effet significatif de l'âge ($P < 0,05$). ²Erreur standard de la moyenne.

Afin de vérifier le statut oxydatif mitochondrial et cellulaire au niveau du foie, les activités enzymatiques de la GPx et de la SOD ont été mesurées dans des homogénats totaux ainsi que dans des fractions mitochondriales (tableau 1). Tout comme dans le cas des niveaux d'ATP, aucun effet du poids à la naissance n'a été observé sur l'activité de ces enzymes dans le foie. Au niveau de l'homogénat de foie total, l'activité de la SOD est stable dans le temps alors que celle de la GPx est significativement influencée par l'âge des porcelets. Dans les fractions mitochondriales, l'activité GPx la moins élevée est également détectée en lactation mais l'effet de l'âge du porcelet est non significatif ($P > 0,63$). L'activité de la SOD est quant à elle significativement influencée par le facteur âge ($P < 0,04$) et son activité maximale, tous poids confondus, est observée suite au stress du sevrage à J-23 et J-25 (Tableau 1). L'enzyme SOD mitochondriale, aussi connue sous les appellations de SOD2 ou MnSOD, constitue la première ligne de défense contre les anions superoxydes générés par la chaîne de respiration (Melov *et al.*, 1999). Il est par conséquent intéressant de constater que son activité est élevée au moment même où l'on observe une baisse significative des niveaux d'ATP pouvant résulter d'une dysfonction mitochondriale jumelée à une production accrue de ROS.

2.3. Le statut oxydatif au niveau du rein

L'impact du stress associé au sevrage a également été étudié au niveau du rein, un organe étroitement impliqué dans la détoxification des produits du stress oxydatif.

Les biomarqueurs qui ont été étudiés sont les activités enzymatiques des antioxydants SOD et GPx. Tout comme pour le foie, ces activités ont été mesurées dans des homogénats totaux ainsi que dans des fractions mitochondriales.

Les résultats des analyses statistiques effectuées indiquent que le facteur du poids à la naissance des porcelets n'a pas d'effet significatif sur les valeurs d'activités de ces enzymes.

Toutefois, l'âge des porcelets a un effet significatif sur l'activité enzymatique de ces antioxydants aussi bien dans la fraction mitochondriale qu'au niveau de l'homogénat total ($P < 0,003$).

Les analyses des moyennes ajustées indiquent que l'activité de la GPx dans le rein est à son minimum en période de lactation (J-14) et qu'elle augmente ensuite à partir du jour du sevrage (Tableau 2). Cette évolution est aussi observée pour l'homogénat total que dans les mitochondries. En ce qui concerne la SOD, son activité est également à son plus bas niveau dans les reins des porcelets en période lactation pour ensuite augmenter graduellement dès le jour du sevrage (J-21). Tout comme dans le cas de la GPx du plasma, les valeurs d'activités les plus élevées pour la SOD sont observées deux semaines après le sevrage (J-35).

Ces données relatives à l'activité des principaux antioxydants suggèrent donc que les conditions de stress oxydatif au niveau du rein sont plus élevées à partir du moment où les porcelets sont séparés de leur mère. Ceci est consistant avec ce qui a été observé au niveau systémique dans le plasma ainsi que dans le foie. La similitude entre les données du rein et du plasma est intéressante dans le cas de la GPx étant donné que c'est la même isoforme, GPx3, qui est normalement retrouvée à ces deux endroits (Brigelius-Flohe *et al.*, 2013). L'expression spécifique des différentes isoformes de GPx et de SOD sera d'ailleurs déterminée dans la suite de ce projet. Le fait que le poids à la naissance des porcelets n'affecte pas de manière significative les antioxydants est aussi en accord avec la plupart des résultats présentés précédemment et semble donc indiquer que les porcelets de faible poids ont le même potentiel de défense contre le stress oxydatif en ce qui a trait aux principales défenses enzymatiques.

L'analyse d'enzymes supplémentaires comme les peroxyredoxines (PRDx) et la détermination des dommages oxydatifs aux lipides et aux protéines pourront apporter davantage d'indices afin de mieux caractériser les conditions des deux groupes de porcelets.

Tableau 2 – Valeurs des biomarqueurs du stress oxydatif mesurées dans les reins des porcelets durant la période expérimentale

	Âges des porcelets (Jours)						ESM ²
	14	21	23	25	29	35	
GPx mit.¹ (mU/mg prot.)	71,6	87,4	86,6	87,5	84,1	92,9	3,6
GPx tot.¹ (mU/mg prot.)	90,1	121,3	127,8	125,9	118,2	130,5	5,6
SODmit.¹ (U/mg prot.)	11,2	13,1	14,2	14,5	14,6	15,4	0,7
SOD tot.¹ (U/mg prot.)	37,8	44,5	43,8	47,6	43,3	48,3	1,8

Les données présentées dans ce tableau sont les moyennes ajustées pour les différents âges (n=20), aucune tendance et aucun effet significatif n'ayant été observé pour ces valeurs en lien avec le poids à la naissance ($P > 0,18$). Aucune interaction poids x âges identifiées ($P > 0,62$). Activité de l'enzyme dans la fraction mitochondriale (mit); Activité de l'enzyme dans l'homogénat total (tot).

¹Effet significatif de l'âge ($P < 0,05$). ²Erreur standard de la moyenne.

CONCLUSION

Cette étude a permis de mettre en évidence que le sevrage induit une déficience énergétique de même qu'un stress oxydatif chez les porcelets. Cet état de stress métabolique et oxydatif se traduit par une baisse des niveaux d'ATP dans le foie, jumelée à une augmentation de l'activité des principaux antioxydants enzymatiques au niveau systémique et des organes. Des conditions de stress oxydatif ont aussi été spécifiquement détectées au niveau des mitochondries suggérant ainsi que le sevrage est associé à la présence d'une dysfonction mitochondriale. Cette étude a également mis en lumière que les réactions engendrées par le stress oxydatif relié au sevrage semblent perdurer jusqu'à deux semaines post-sevrage. De plus, les résultats de cette étude montrent que des porcelets de faibles poids à la naissance présentent des niveaux de dommages oxydatifs plus importants que des porcelets de poids moyens en réaction au sevrage bien que leurs réponses antioxydantes soient similaires. Des analyses supplémentaires seront nécessaires pour appuyer ces résultats qui constituent les premières données disponibles sur la caractérisation de l'intensité et de la durée du déficit énergétique et du stress oxydatif mitochondrial associé au sevrage en production porcine. Ces informations seront utiles à l'élaboration de stratégies nutritionnelles ciblées.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Agriculture et Agroalimentaire Canada pour le soutien financier et logistique apporté à ce travail.

Les auteurs remercient également tout le personnel du Centre porcin sous la supervision de Mélanie Turcotte pour les soins aux animaux et la participation active lors des prélèvements des échantillons.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aarestrup F.M., Oliver Duran O., Burch D.G.S., 2008. Antimicrobial resistance in swine production. *Anim. Health Res. Rev.*, 9, 135-148.
- Arnoult D., Carneiro L., Tattoli I., Girardin S. E., 2009. The role of mitochondria in cellular defense against microbial infection. *Seminars in Immunology*, 21, 223-232.
- Barton M.D., 2014. Impact of antibiotic use in the swine industry. *Curr. Opin. Microbiol.*, 19, 9-15.
- Brand M.D., 2010. The sites and topology of mitochondrial superoxide production. *Exp Gerontol*, 45, 466-472.
- Brigelius-Flohé R., Maiorino M., 2013. Glutathione peroxidases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1830: 3289-3303.
- Circu M.L., Aw T.Y., 2010. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radic. Biol. Med.*, 48, 749-762.
- De Vos M., Che L., Huygelen V., Willemsen S., Michiels J., Van Cruchten S., Van Ginneken C., 2014. Nutritional interventions to prevent and rear low-birthweight piglets. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)*, 98, 609-619.
- Flohe L., Gunzler W.A., 1984. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.*, 105, 114-121.
- Green, D. E., Tzagoloff A., 1966. The mitochondrial electron transfer chain. *Arch. bioch. biophys.*, 116, 293-304.
- Heo J. M., Opapeju F.O., Pluske J.R., Kim J.C., Hampson D.J., Nyachoti C.M., 2013. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)*, 97, 207-237.
- Jiang J.H., Tong J., Gabriel K., 2012. Hijacking Mitochondria: Bacterial Toxins that Modulate Mitochondrial Function. *IUBMB Life*, 64, 397-401.
- John L.J., Fromm M., Schulzke J.D., 2011. Epithelial barriers in intestinal inflammation. *Antioxid. Redox Signal.*, 15, 1255-1270.
- Kowaltowski A. J., de Souza-Pinto N. C., Castilho R. F., Vercesi A. E., 2009. Mitochondria and reactive oxygen species. *Free Radic. Biol. Med.*, 47, 333-343.
- Lalles J.P., Bosi P., Smidt H., Stokes C.R., 2007. Nutritional management of gut health in pigs around weaning. *Proc. Nutr. Soc.*, 66, 260-268.
- Lapointe J., 2014. Mitochondria as promising targets for nutritional interventions aiming to improve performance and longevity of sows. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)*, 98, 809-821.
- Lapointe J., Hekimi S., 2008. Early mitochondrial dysfunction in long-lived Mclk1+/- mice. *J. Biol. Chem.*, 283, 26217-26227.
- Lapointe J., Stepanyan Z., Bigras E., Hekimi S., 2009. Reversal of the mitochondrial phenotype and slow development of oxidative biomarkers of aging in long-lived Mclk1+/- mice. *J. Biol. Chem.*, 284, 20364-20374.
- López-Armada M.J., Riveiro-Naveira R.R., Vaamonde-García C., Valcárcel-Ares M.N., 2013. Mitochondrial dysfunction and the inflammatory response. *Mitochondrion*, 13, 106-118.
- Melov S., Coskun P., Patel M., Tuinstra R., Cottrell B., Jun A.S., Zastawny T.H., Dizdaroglu M., Goodman S.I., Huang T.T., Miziorko H., Epstein C.J., Wallace D.C., 1999. Mitochondrial disease in superoxide dismutase 2 mutant mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 846-851.
- Miao L., St Clair D.K., 2009. Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. *Free Radic. Biol. Med.*, 47, 344-356.
- Pie S., Lalles J.P., Blazy F., Laffitte J., Seve B., Oswald, I.P., 2004. Weaning is associated with an upregulation of expression of inflammatory cytokines in the intestine of piglets. *J. Nutr.*, 134, 641-647.
- Quesnel H., Brossard L., Valancogne A., Quiniou, N., 2008. Influence of some sow characteristics on within-litter variation of piglet birth weight. *Animal*, 2, 1842-1849.
- Roy C., Lavoie M., Richard G., Archambault A., Lapointe J., 2016. Evidence that oxidative stress is higher in replacement gilts than in multiparous sows. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)*, 100, 911-919.
- Rudel T., Kepp O., Kozjak-Pavlovic V., 2010. Interactions between bacterial pathogens and mitochondrial cell death pathways. *Nat. Rev. Microbiol.*, 8, 693-705.
- Stanton T.B., 2013. A call for antibiotic alternatives research. *Trends Microbiol.*, 21, 111-113.
- West A.P., Shadel G.S., Ghosh S., 2011. Mitochondria in innate immune responses. *Nat. Rev. Immunol.*, 11, 389-402.
- Wijtten P. J., van der Meulen J., Verstegen M.W., 2011. Intestinal barrier function and absorption in pigs after weaning: a review. *Br. J. Nutr.*, 105, 967-981.