2021. Journées Recherche Porcine, 53, 213-214.

Effets des oligo-éléments chélatés dans l'alimentation des truies sur la modulation de l'expression des gènes de la progéniture

Ki Beom JANG (1), Ju Xing CHEN (2), Mireille HUARD (3), Sung Woo KIM (1)

(1) North Carolina State University, Raleigh, NC, Etats-Unis
(2) Novus International, Inc., Saint Charles, MO, Etats-Unis
(3) Novus France SA, Nantes, France

@mireille.huard@novusint.com

Effects of chelated trace minerals replacing inorganic trace minerals in sow diets on modulation of gene expression in progeny

Changes in maternal nutrition can result in epigenetic regulation in fetal tissues. The objective of this study was to determine the additional effects of chelated trace elements replacing inorganic trace elements in sow diets on the mechanisms involved in muscle growth and in inflammation in the gut tissues of the progeny, such as global DNA methylation, histone acetylation and gene expression. On day 35 of gestation, 60 pregnant sows received two feed treatments: (1) ITM: $CuSO_4$, MnO and $ZnSO_4$ and (2) CTM: $CuSO_4$, MnO and $ZnSO_4$ + chelates [Cu (HMTBa, 2-hydroxy-4-methylthio-butanoic acid)2, Mn [Mn (HMTBa)2] and Zn [Zn (HMTBa)2] in a ratio of 1:1. At birth and on day 18 of lactation, two piglets per litter were euthanized and dissected to collect *longissimus dorsi* muscle and jejunal tissues for measurement of global DNA methylation, histone acetylation and gene expression. The CTM treatment increased ($P < 0.05$) global histone acetylation, tended to decrease ($P = 0.07$) MRF4 mRNA in longissimus dorsi muscle in piglets at birth (e.g., which can be related to a higher hypertrophy of the muscle), and decreased ($P < 0.05$) jejunal NF-κB mRNA (e.g., associated with a lower inflammatory response of gut mucosa) in piglets on day 18 of lactation. In conclusion, chelated trace element supplementation of the sows could enhance piglet gut health and muscle growth, resulting in improved piglet growth performance.

INTRODUCTION

Les nouvelles avancées en épigénétique ont renforcé le concept selon lequel la nutrition maternelle, le stress ou la maladie pendant la gestation peuvent affecter le développement *in utero,* avec des implications pour la santé ultérieure et la productivité de la progéniture (Sinclair *et al.*, 2016). On sait que la méthylation de l'ADN ainsi que les modifications de la chromatine et des histones sont les principaux systèmes de programmation du génome par l'épigénétique. Mais le mécanisme épigénétique sous-jacent par lequel l'apport de nutriments au fœtus affecte le développement des muscles et de l'intestin grêle chez le porcelet n'est pas clair. On sait par exemple que la suralimentation et la sous-alimentation en énergie et en protéines pendant la période de gestation de la truie ont des effets négatifs sur le développement fœtal et postnatal (Johnston *et al.*, 2008). Mais l'apport d'oligo-éléments au fœtus via l'alimentation maternelle n'est pas bien caractérisé. L'objectif de cette étude est d'évaluer le rôle de la nutrition en oligo-éléments de la truie gestante dans la modulation de l'expression des gènes dans les muscles et le tube digestif du porcelet nouveau-né et allaité.

1. MATERIEL ET METHODES

L'étude a été réalisée à l'Université de Caroline du Nord (Raleigh, NC, USA) sur 60 truies. A partir du 35ème jour de gestation, elles ont été divisées en deux groupes selon un plan expérimental en blocs utilisant le rang de portée comme un bloc et alimentées pendant la phase de gestation et de lactation selon la forme d'apport en oligo-éléments : inorganique (lot ITM, $CuSO_4$, MnO et $ZnSO_4$) ou chélatés (lot CTM, $CuSO_4$, MnO et $ZnSO_4$ + chélates de Cu [Cu (HMTBa, acide 2-hydroxy-4-méthylthio-butanoïque)$_2$], Mn [Mn (HMTBa)$_2$], Zn [Zn (HMTBa)$_2$], MINTREX®, Novus International Inc.) les chélates représentent 50% de l'apport total en oligo-éléments. Les teneurs en oligoéléments rajoutés dans les deux traitements étaient de 125 ppm de Zinc, 16 ppm de Cuivre 40 ppm de Manganèse. À la naissance et au 18ème jour de la lactation, deux porcelets par portée ont été euthanasiés et des échantillons de muscle *Longissimus dorsi* et de tissus du *jéjunum* ont été prélevés afin de mesurer la méthylation globale de l'ADN, l'acétylation des histones, et l'expression des gènes NF-κB et MRF4 par l'analyse de l'ARN messager.

Les données ont été analysées sur la base d'un plan en blocs complets randomisés par un modèle mixte (procédure MIXED

de SAS 9.4). La truie était considérée comme une unité expérimentale pour les paramètres de performance reproductive, et le porcelet était l'unité expérimentale pour les autres paramètres. Le traitement était l'effet fixe et le bloc de parité était un effet aléatoire.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Le NF-κB est une molécule de signalisation qui joue un rôle clé dans la régulation de la voie inflammatoire ; elle peut être activée par des stimuli externes tels que les agents pathogènes et l'inflammation. Une famille de protéines régulatrices, IκBs, forment un complexe avec les sous-unités NF-κB (p50 et p65) et piègent le NF-κB dans le cytoplasme, qui est ensuite translaté dans le noyau pour stimuler l'expression de cytokines pro-inflammatoires. Limiter l'expression des gènes de NF-κB permet donc de limiter l'inflammation. Chez les porcelets sous la mère de 18 jours d'âge issus de truies supplémentées avec le traitement CTM à partir du 35ème jour après la conception, l'expression génique jéjunale de la sous-unité NF-κB P50 (P = 0,05) et du NF-κB P105 (P = 0,01), précurseur de NF-κB, a été régulée à la baisse par rapport aux porcelets issus de truies supplémentées avec des oligo-éléments inorganiques (ITM) (Tableau 1). Cela indique que la supplémentation des truies en minéraux chélatés CTM a potentiellement réduit l'inflammation intestinale de leurs porcelets à ce stade de leur développement, ce qui est cohérent avec les résultats précédents obtenus sur les poussins de poules reproductrices nourries avec ces mêmes oligoéléments chélatés (Li *et al.*, 2015).

Tableau 1 – Effet du traitement sur le niveau d'acétylation de l'histone H3K9 et expression du gène MRF4 dans le *longissimus dorsi* chez le porcelet à la naissance et expression du gène de la sous-unité NF-κB (P50), du précurseur NF-κB (P105) dans le jéjunum des porcelets à 18 jours d'âge

Critère	ITM[a]	CTM[a]	ETR[b]	P[c]
Acétylation H3K9 (ng/mg protéine)	749	1137	113	0,02
MRF4/ actine	0,0035	0,0024	0,0004	0,068
NF-κB (P50) / actine	0,0075	0,005	0,0008	0,048
NF-κB (P105)/actine	0,016	0,010	0,0017	0,01

[a] Voir la signification dans le texte ; [b]Ecart-type résiduel ; [c]Prob (ITM=CTM)

Chez le porc, la myogenèse est un processus en deux étapes : hyperplasie avec développement des fibres musculaires primaires pendant les 35 à 55 premiers jours de gestation et des fibres secondaires entre 55 et 95 jours de gestation, puis hypertrophie et maturation des fibres musculaires jusqu'à la naissance. Le fonctionnement et la différenciation des muscles squelettiques sont régis par un groupe de facteurs de régulation myogéniques (MRF), dont le MyoD, le facteur myogénique 5 (Myf5), la myogénine et le MRF4. Le facteur MRF4 régule négativement la croissance du muscle (hypertrophie et maturation) durant la phase finale du développement fœtal (Schiaffino *et al.*, 2018). L'expression de MRF4 dans le *Longissimus dorsi*, tend à diminuer (P = 0,07) chez les porcelets nés de truies supplémentées en CTM par rapport aux porcelets de truies supplémentées en ITM (Tableau 1), ce qui suggère que la supplémentation maternelle en CTM pourrait favoriser l'hypertrophie musculaire, améliorant ainsi la croissance et le développement musculaire chez le porcelet.

La modification des histones par acétylation ou méthylation régule de nombreuses étapes de la myogenèse en activant et/ou en réprimant la transcription des gènes myogéniques (Moresi *et al.*, 2015). L'acétylation de l'Histone H3K9 dans le *Longissimus dors*i des porcelets issus de truies supplémentées en CTM a significativement augmenté (Tableau 1), ce qui indiquerait que les truies pourraient potentiellement influencer la croissance musculaire de la progéniture par l'up-régulation de l'histone H3K9, marqueur d'une modification épigénétique, mais ce mécanisme reste à préciser dans de prochaines études.

La combinaison de la régulation à la hausse de l'acétylation des histones et de la régulation à la baisse de l'expression du gène MRF4 dans le *longissimus dorsi* des porcelets étaye le fait que la supplémentation maternelle en chélates d'oligo-éléments CTM chez les truies favorise potentiellement la croissance des muscles squelettiques et leur développement dans la progéniture. Ces résultats permettraient d'expliquer la plus grande proportion de viande maigre (exprimée par la surface de longe, Zhao *et al.*, 2014) chez les porcs issus des truies nourries avec de oligoéléments chélatés par rapport à des inorganiques.

CONCLUSION

La supplémentation maternelle en oligoéléments chélatés Zn, Cu, Mn hautement disponibles chez les truies pendant la gestation a permis de moduler l'acétylation et la programmation des histones chez le fœtus pendant la gestation, de diminuer le gène d'expression du NF-kb et du MRF4, ce qui par conséquent, pourrait potentiellement réguler le développement des muscles squelettiques et la santé intestinale des porcelets. Des recherches complémentaires seront nécessaires pour savoir précisément pour faire le lien entre l'expression génique et la modification épigénétique telle qu'induite par l'acétylation des histones.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Johnston L., Shurson J., Whitney M., 2008. Nutritional effects of fetal imprinting in swine. Minnesota Nutr. Conf., Owatonna, MN, 207-222.
- Li C., Guo S., Gao J., Guo Y., Du E., Lv Z., Zhang B., 2015. Maternal high-zinc diet attenuates intestinal inflammation by reducing DNA methylation and elevating H3K9 acetylation in the A20 promoter of offspring chicks. J. Nutr. Biochem., 26, 173-183
- Moresi V, Marroncelli N, Coletti D, Adamo S., 2015. Regulation of skeletal muscle development and homeostasis by gene imprinting, histone acetylation and microRNA. Acta Biochim. Biophys., 1849, 309-316.
- Schiaffino S., Dyar K.A., Calabria E., 2018. Skeletal muscle mass is controlled by the MRF4-MEF2 axis. Curr. Opin. Clin. Nutr., 21(3), 164-167.
- Sinclair K.D., Rutherford K.M.D., Wallace J.M., Brameld J.M., Stoger R., Alberio R., Sweetman D., Gardner, D.S., Perry B.E.A., Adam C.L., Ashworth C.J., Robinson J.E. Dwyer C.M., 2016. Epigenetics and developmental programming of welfare and production traits in farm animals. Reprod. Fertil. Dev., 28, 1443-1478, doi: 10.1071/ RD16102
- Zhao J., Allee G., Gerlemann G., Ma L., Gracia M.I., Parker D., Vazquez-Anon M., Harrell R.J., 2014. Effects of a chelated copper as growth promoter on performance and carcass traits in pigs. Asian-Austral J. Anim., 27, 965-973.