

LE CONTRÔLE DE LA SURVIE EMBRYONNAIRE CHEZ LE PORC:

L'effet de l'acide folique sur certaines caractéristiques du milieu utérin et sur le développement embryonnaire

J. J. MATTE (1), J.P. LAFOREST (2), C. FARMER (1), Christiane. L. GIRARD (1)

(1) Station de Recherches, Agriculture Canada - C. P. 90, 2000 Rte 108 est, Lennoxville, Québec, Canada, J1M 1Z3.

(2) Université Laval, Faculté des Sciences de l'Agriculture et de l'Alimentation, Département des sciences animales Ste-Foy, Québec, Canada, G1K 7P4.

avec la collaboration technique de M. GUILLETTE, L. THIBAUT, S. PROVENCHER et l'équipe d'animaliers sous la direction de M. MORISSETTE.

L'objectif de la présente étude visait à déterminer comment l'acide folique du régime influence l'environnement utérin et le développement embryonnaire au début de la gestation chez la truie. Trente-deux truies de troisième parité ont reçu un régime expérimental supplémenté ou non de 15 mg/kg d'acide folique à partir de deux semaines précédant la saillie jusqu'à l'abattage à 12 ou 15 jours de gestation. L'une des deux cornes utérines a été utilisée pour la récolte des embryons et du liquide utérin en vue des dosages hormonaux et métaboliques alors que les embryons de l'autre corne ont été soumis à une dispersion enzymatique et placés en cultures de cellules avec ou sans précurseur de la stéroïdogénèse. La baisse de la concentration de folates sériques avait tendance à être moins marquée ($P = 0,06$) chez les truies recevant le supplément d'acide folique. Le volume du liquide utérin récolté de même que son contenu en protéine étaient plus élevés ($P = 0,02$ et $0,06$, respectivement) à 15 jours qu'à 12 jours de gestation. L'addition d'acide folique au régime des truies augmente de 300 % ($P = 0,04$) la quantité de PGE2 α utérine; bien qu'important (200 %) l'effet sur les PGF2 α était moins marqué ($P = 0,16$). Les homogénats de blastocystes contenaient plus de folates ($P = 0,02$) et d'ADN ($P = 0,0001$) au jour 15 qu'au jour 12 de gestation. Le contenu en protéines avait tendance à être plus élevé au jour 12 chez les truies recevant le supplément d'acide folique. La diminution de la synthèse d'oestradiol-17 β entre 12 et 15 jours de gestation (un indice de la maturité embryonnaire) avait tendance ($P = 0,07$) à être plus prononcée dans les cultures de cellules embryonnaires sans précurseur chez les truies traitées. Donc, il semble que le contrôle de la mortalité embryonnaire associé au supplément alimentaire d'acide folique puisse être lié, d'une part à une sécrétion accrue de prostaglandines utérines et d'autre part, à un développement embryonnaire plus avancé.

The effect of dietary addition of folic acid to sow's diets on some aspects of the uterine secretory function and embryo development.

The present study was designed to determine how dietary folic acid affects uterine environment and embryonic growth in early gestation in the pig. Thirty-two crossbred sows received during their third parity an experimental diet supplemented or not with 15 mg/kg of folic acid, starting two weeks before expected oestrus until slaughter on either day 12 or 15 after mating. One uterine horn was used to collect embryos and uterine «flushings» for hormonal and metabolites determinations while the embryos of the other horn was enzymatically dispersed and placed in cells cultures with and without a steroids precursor. The decrease in serum folates in early gestation tend to be attenuated ($P = 0.06$) in sows receiving additional dietary folic acid. The volume of uterine flushings recovered on day 15 was larger ($P = 0.02$) than on day 12, as well as its content in protein ($P = 0.06$). The dietary supplement of folic acid increased by 300 % ($P = 0.04$) the amount of PGE2 in the uterine secretions; although important (200 %) the effect was less marked on PGF2 α ($P = 0.16$). Blastocysts homogenates contains more folic acid ($P = 0.02$) and DNA ($P = 0.0001$) on day 15 than on day 12. The total protein content tended to be higher on day 12 in sows receiving supplements of folic acid. The decreased synthesis of oestradiol-17 β between 12 and 15 days of gestation (an index of embryo maturity) tended ($P = 0.07$) to be more marked in embryo cells cultures without the steroids precursor in supplemented sows. Therefore, the improvement of embryo survival associated with dietary supplements of folic acid might be linked to a increased secretion of uterine prostaglandins and to an acceleration of the early embryo development.

INTRODUCTION

Il est maintenant reconnu qu'un supplément d'acide folique offert aux truies en gestation accroît la prolificité d'au moins 10 % (MATTE et al., 1984; KOVCIN et al., 1988; LINDEMANN et KORNEGAY, 1989; THALER et al., 1989; FRIENDSHIP et WILSON, 1991; MATTE et al., 1992) et a un impact tout aussi important sur la croissance postnatale du porcelet (MATTE et al., 1992). L'effet de cette vitamine sur la prolificité serait dû à une diminution de la mortalité embryonnaire durant le premier mois de la gestation (TREMBLAY et al., 1989). Il est probable que cette réduction de la mortalité embryonnaire soit liée à un effet direct de la vitamine sur le développement du blastocyste et/ou à un effet indirect sur les sécrétions utérines et la composition du milieu intra-utérin.

La période critique du développement embryonnaire, chez le porc s'étend des jours 10-11 aux jours 16-17. Cette période se caractérise par une activité de sécrétion très intense d'oestrogènes (PERRY et al., 1976), de prostaglandines (LEWIS, 1989) et de protéines (GODKIN et al., 1982) par le blastocyste, et l'endomètre (ROBERTS et BAZER, 1988). Ces diverses sécrétions jouent un rôle dans le «dialogue» embryo-maternel, qui permet l'établissement d'une gestation réussie, mais elles pourraient aussi influencer la croissance de l'embryon et des enveloppes embryonnaires.

Les sécrétions utérines en début de gestation sont sous le double contrôle des hautes concentrations de progestérone endogène et d'oestrogènes d'origine embryonnaire (KNIGHT et al., 1974). Outre la sécrétion intense de protéines pendant cette période, la présence du blastocyste stimule également la sécrétion de fructose, d'acide ascorbique (BAZER et ROBERTS, 1983), de riboflavine (MURRAY et al., 1980) de rétinol (ADAMS et al., 1981), de fer (ROBERTS et BAZER, 1988) et des ions calcium, sodium et potassium (HART et al., 1984). Plusieurs de ces produits de sécrétion semblent donc avoir un rôle nutritionnel quoique certaines protéines de l'utérus jouent un rôle de transporteur de minéraux (e.g. utéroferrine : ROBERTS et BAZER, 1988) ou de vitamines (ex. «retinol-binding-protein»: ADAMS et al., 1981). Sachant que l'acide folique traverse la barrière placentaire (MATTE et al., 1993) et compte tenu de son rôle dans la synthèse et le développement de nouveaux tissus, on peut penser que cette vitamine puisse faire partie des produits de sécrétion essentiels à la «nutrition» des embryons porcins ou qui affectent directement la croissance et la physiologie embryonnaires. Cette étude visait donc à déterminer l'impact d'une addition d'acide folique au régime de la truie gravide sur les folates intra-utérins disponibles et sur quelques aspects du développement et de la survie des embryons.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Les animaux

Trente-deux truies de troisième parité ont été utilisées dans ce projet. Les truies de cet âge ont l'avantage de répondre de façon généralement plus marquée à un supplément d'acide folique (LINDEMANN et KORNEGAY, 1989).

Les truies ont reçu un régime commercial pour truie gravide pendant environ deux mois; un régime expérimental (tableau 1) leur a été offert (2,8 kg/jour en un seul repas) au moins deux semaines avant la date prévue de la saillie fécondante.

Tableau 1 - Composition centésimale de l'aliment expérimental de base offert à partir de deux semaines avant la saillie fécondante (1).

| Ingrédients | % |
|----------------------------|------|
| Maïs | 50,0 |
| Orge | 20,0 |
| Son de blé | 20,0 |
| Tourteau de soja (48 %) | 5,0 |
| Chaux | 2,5 |
| Phosphate bicalcique | 1,4 |
| Sel | 0,5 |
| Prémélange minéral (2) | 0,1 |
| Prémélange vitaminique (3) | 0,5 |

(1) La concentration totale en folates du régime supplémenté était de $23,6 \pm 0,5$ mg/kg alors que l'aliment de base en contenait $1,6 \pm 0,1$ mg/kg.

(2) Apporte par kg d'aliment: Mn, 30 mg; Zn, 100 mg; Fe, 100 mg; Cu, 25 mg; Co, 300 µg; I, 300 µg; et Se, 300 µg.

(3) Apporte par kg d'aliment: acide folique 0 ou 15 mg; vitamine A, 10,000 IU; vitamine D3, 2000 IU; vitamine E, 35 IU; ménadione, 2.2 mg; thiamine, 2 mg; riboflavine, 5 mg; niacine, 25 mg; acide pantothénique, 16 mg; pyridoxine, 3 mg; biotine, 250 µg; vitamine B12, 20 µg et choline, 300 mg.

1.2. Les traitements

À partir du moment où elles ont reçu le régime expérimental, les truies ont été assignées à un des deux groupes expérimentaux suivants: suppléments de 0 ou 15 mg d'acide folique par kg d'aliment expérimental. Le niveau de base de ce régime expérimental était de $1,59 \pm 0,09$ (moyenne \pm SEM) mg d'acide folique par kg d'aliment. Les truies ont été réparties en blocs selon leur poids et de leur condition de chair au moment où elles étaient assignées aux traitements. Les détections de chaleurs ont été faites deux fois par jour afin de bien préciser le moment de l'oestrus. Les truies ont été accouplées une première fois lorsqu'elles ont présenté les premiers signes comportementaux de l'oestrus et une seconde fois dans les 18 heures suivantes. Le jour du premier accouplement a été considéré comme le jour 0 (J0). A l'intérieur de chaque groupe, les truies ont été sacrifiées (fusil assommeur et sectionnement de la jugulaire et de la carotide) à deux périodes différentes du début de la gestation: jour 12 (J12, > 288 heures) et jour 15 (J15, > 360 heures). Des échantillons sanguins ont été prélevés à jeûn avant le début de la période expérimentale, lors de l'oestrus, et aux jours 4, 8 et 12 suivant l'oestrus ainsi qu'au jour 15, le cas échéant, en vue du dosage des folates sériques ainsi que de l'oestradiol-17 et de la progestérone plasmatique. Les échantillons des truies présumées gravides ont été retenus que si l'utérus contenait des blastocystes normaux. Les animaux ont été pesés et une mesure de l'épaisseur du gras dorsal a été prise à la chaleur précédant la saillie ($178,0 \pm 2,9$ kg et $15,9 \pm 0,8$ mm, respectivement). Deux autres pesées ont été faites soit au moment de la saillie et de l'abattage ($173,6 \pm 2,6$ kg et $175,8 \pm 3,1$ kg, respectivement).

1.3. Les mesures

Immédiatement après l'abattage, l'utérus a été prélevé, placé sur la glace et amené au laboratoire. L'utérus a été pesé, détaché du mésomètre en minimisant les manipulations des

cornes, puis le col, les ovaires et l'oviducte ont aussi été enlevés. L'utérus a été pesé de nouveau et la longueur de chaque corne utérine, mesurée. Le nombre de corps jaunes (CL), leur apparence et leur poids combinés ont été notés. Les cornes ont par la suite été séparées du corps de l'utérus et une des cornes, choisie au hasard, a été utilisée pour la récolte du liquide utérin et des embryons tandis que l'autre a servi à prélever les embryons pour la culture de cellules. Pour les deux stades de gestation étudiés, les embryons ont été prélevés par lavement («flushing»).

La corne servant à recueillir le liquide utérin et les embryons a été lavée avec 20 ml de tampon phosphate salin (PBS) introduit à la jonction utéro-tubaire à l'aide d'une aiguille G-16 ou G-14 émoussée. Le liquide a été recueilli dans un cylindre gradué et le volume récolté a été noté. Ce liquide a été défini comme étant le liquide utérin. Toutes les mesures de concentration dans le liquide utérin ont été multipliées par le volume de liquide pour obtenir des quantités de contenu total. Après la récolte, le liquide a été centrifugé à petite vitesse pour se débarrasser des débris puis filtré par un système millipore (pores de 30 micromètres) avant d'être congelé. Le contenu en progestérone, oestradiol-17 β , oestrone, prostaglandine (PG)F 2α et PGE 2 a été déterminé ainsi que les protéines totales et les folates. Les blastocystes provenant de la corne ayant servi à recueillir le liquide utérin ont été analysés pour leur contenu en folates, protéines, ADN, oestradiol-17 β et oestrone.

En ce qui concerne l'autre corne utérine, elle a été lavée avec 20 ml de PBS et le liquide récolté dans un bécher. Les embryons ont été ensuite mis en culture de cellules selon une méthode adaptée de celle de SELGRATH et WRIGHT (1988). Brièvement, les embryons ont été rincés trois fois dans du PBS Dulbecco, ils ont été ensuite dispersés dans 7 mL de 0,25 % de trypsine en solution saline exempte de calcium et de magnésium (Gibco Laboratories). L'activité trypsique a été arrêtée par l'addition de 20 mL de MEM (Minimum Essential Medium) additionné de 10 % de FBS (Fetal Bovine Serum) et 1 % d'antibiotique - antifongique. Les cellules dispersées ont été ensuite lavées dans du MEM et le surnageant enlevé après centrifugation; cette dernière opération a été répétée à quatre reprises. Les cellules dispersées ont été par la suite transférées dans des puits (24 par plaques). Le nombre de cellules nécessaires par puits a été déterminé dans une étude préliminaire et établie à 2×10^5 ; le temps d'incubation optimum a été également déterminé et établi à 3 heures. Dans 12 des 24 puits de la plaque, un précurseur de la stéroïdogenèse, le déhydroépiandrostérone (DHA) a été incorporé (40 ng/ml) au milieu de culture (MEM); les autres puits de la plaque contenaient le MEM sans DHA. A l'intérieur de chacun de ses deux groupes de 12 puits, des incubations ont aussi été faites avec (6 puits) ou sans (6 puits) ajout de méthyltétrahydrofolate (CH $_3$ THF), la principale forme circulante de l'acide folique. Un échantillon du milieu de culture a été récolté avant et après l'incubation et analysé pour l'oestrone et l'oestradiol afin de déterminer l'effet *in vivo* et *in vitro* des folates sur la synthèse des stéroïdes par l'embryon. La concentration basale de folates a aussi été déterminée dans le milieu de culture.

1.4. Les analyses statistiques

Les données ont été analysées en utilisant la procédure du modèle général linéaire (GLM) de SAS (1985). Les résultats ont été analysés selon un factoriel 2 X 2 en blocs complets avec les niveaux d'acide folique de la diète (0 vs 15 mg par kg de diète) comme premier facteur et les dates d'abattage (J12 vs J15)

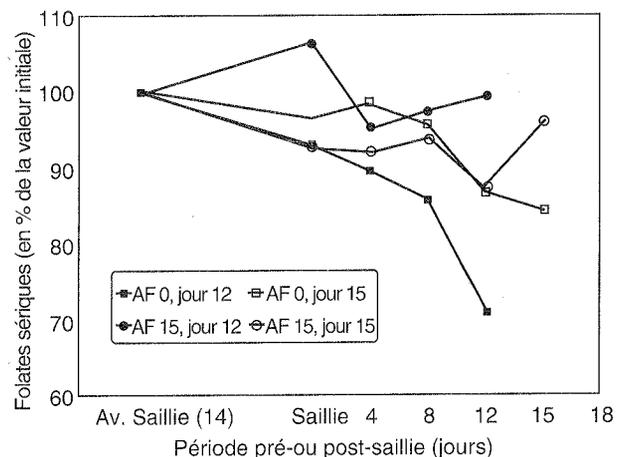
comme second facteur. La présence de DHA avec ou sans CH $_3$ THF dans le milieu de culture a été également employée comme troisième facteur (2 X 2 X 2) pour la synthèse embryonnaire d'oestrone et d'oestradiol-17 β . En ce qui a trait aux folates sériques, à l'oestradiol-17 β et à la progestérone plasmatique, l'effet du stade de gestation ainsi que les interactions avec les traitements ont été décomposés en composantes linéaire, quadratique etc; les termes d'erreurs utilisés, dans ce cas, ont été calculés selon ROWELL et WALTERS (1976). La concentration initiale des folates sériques a été utilisée en covariable car elle était différente ($P < 0,05$) selon les groupes au moment de l'attribution des traitements.

2. RÉSULTATS.

2.1. Variables sanguines

L'évolution des concentrations de folates sériques avant et après la saillie est illustrée à la Figure 1. La baisse des concentrations de folates sériques avait tendance à être plus accentuée chez les truies ne recevant pas de supplément d'acide folique ($P = 0,06$). Aucun effet de traitements n'a été noté sur l'évolution des concentrations plasmatiques d'oestradiol-17 β ($P = 0,17$) et de progestérone ($P = 0,31$). Les valeurs variaient entre la saillie et le jour 12 ou 15 de gestation (moyennes \pm SEM) de $9,8 \pm 1,7$ pg/ml à $5,9 \pm 0,7$ pg/ml pour l'oestradiol-17 β et de $0,8 \pm 0,1$ ng/ml à $34,4 \pm 2,4$ ng/ml pour la progestérone.

Figure 1 - Évolution des concentrations de folates sériques chez des truies multipares selon le niveau de suppléments d'acide folique dans l'aliment de gestation et selon le stade de gestation.



2.2. Variables morphologiques utérines.

Le poids de l'utérus par unité de poids vif avait tendance à être plus bas ($6,4 \pm 0,7$ vs $7,5 \pm 0,5$), à 12 jours de gestation chez les animaux recevant le supplément d'acide folique. L'effet était inversé ($6,3 \pm 0,3$ vs $5,3 \pm 0,4$) chez les truies abattues à 15 jours de gestation ($P = 0,10$). Il n'y a pas eu d'effet de traitements ($P > 0,20$) sur les autres variables mesurées telles le poids du contenu utérin, la longueur des cornes utérines ou le nombre de corps jaunes, les valeurs moyennes globales (\pm SEM) étant de $66,9 \pm 6,5$ g/kg de poids vif, $171,0 \pm 5,7$ cm et $16,4 \pm 0,4$, respectivement.

2.3. La composition des blastocystes et du liquide utérin

Le volume de liquide recueilli était plus élevé ($P = 0,02$) chez les truies abattues à J 15 comparativement à J 12 (tableau 2). La quantité totale de folates utérins n'a pas été affectée par le supplément d'acide folique ou par le jour de gestation. Par contre, le contenu en protéines a eu tendance à s'accroître ($P = 0,06$) avec le stade de la gestation, alors que celui en oestradiol-17 β a diminué ($P = 0,02$). Les quantités de PGE2 et de PGF2 α mesurées dans le liquide utérin étaient plus

élevées ($P = 0,001$) à 15 qu'à 12 jours de gestation. Le contenu en PGE2 des truies recevant le supplément d'acide folique étaient trois fois plus élevé à J 12 et deux fois plus élevé à J 15 ($P < 0,04$) que chez celles qui recevaient la diète de base sans supplément. Quant aux concentrations de PGF2 α , bien que plus élevées de 60 % chez les truies recevant le supplément d'acide folique, la différence entre les traitements n'était pas significative ($P = 0,16$). Aucun effet de traitement n'a été observé sur le contenu en oestrone du liquide utérin.

Tableau 2 - Composition du liquide utérin exprimée en contenu total et recueilli après rinçage d'une corne utérine avec 20 ml de PBS chez des truies multipares selon le niveau de supplément d'acide folique dans l'aliment de gestation et selon le stade de gestation (1).

| Stade de gestation (jours) | 12 | | 15 | |
|---|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| | 0 | 15 | 0 | 15 |
| Supplément d'acide folique de l'aliment (mg/kg) | | | | |
| Nombre de truies | 9 | 9 | 7 | 7 |
| Volume recueilli (ml) (2) | 18,7 \pm 1,1 | 19,8 \pm 0,6 | 20,9 \pm 0,6 | 21,7 \pm 1,3 |
| Folates (ng) | 1038,5 \pm 323,8 | 952,2 \pm 231,2 | 928,1 \pm 107,0 | 1543,6 \pm 254,9 |
| Protéines totales (μ g) (3) | 38,2 \pm 6,4 | 32,7 \pm 4,5 | 44,2 \pm 3,1 | 51,4 \pm 5,2 |
| PGE2 (pg) (4) | 124,0 \pm 32,2 | 396,6 \pm 185,0 | 587,6 \pm 89,7 | 1075,5 \pm 290,1 |
| PGF2 α (pg) (5) | 83,0 \pm 16,1 | 132,0 \pm 35,5 | 737,9 \pm 153,1 | 1189,1 \pm 300,6 |
| Oestradiol-17 β (pg) (2) | 562,0 \pm 135,2 | 478,2 \pm 102,0 | 262,4 \pm 24,2 | 344,0 \pm 50,1 |
| Oestrone (pg) | 651,4 \pm 57,9 | 625,1 \pm 77,8 | 594,1 \pm 67,0 | 648,6 \pm 74,0 |

(1) Les valeurs sont les moyennes arithmétiques \pm SEM (erreur standard de la moyenne).

(2) Effet du stade de gestation ($P < 0,02$).

(3) Effet du stade de gestation ($P < 0,06$).

(4) Effet du stade de gestation ($P < 0,0002$) et interaction stade de gestation x supplément d'acide folique ($P < 0,04$).

(5) Effet du stade de gestation ($P < 0,0001$).

Tableau 3 - Composition des blastocystes, exprimée en contenu total dans 4 ml d'homogénat préparé à partir des embryons recueillis d'une corne utérine de truies multipares, selon le niveau de supplément d'acide folique dans l'aliment de gestation et selon le stade de gestation (1).

| Stade de gestation (jours) | 12 | | 15 | |
|---|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| | 0 | 15 | 0 | 15 |
| Supplément d'acide folique de l'aliment (mg/kg) | | | | |
| Nombre de truies | 9 | 9 | 7 | 7 |
| Folates (ng) (2) | 79,6 \pm 29,3 | 46,0 \pm 10,7 | 109,0 \pm 17,3 | 127,3 \pm 38,9 |
| Protéines totales (μ g) (3) | 0,9 \pm 0,2 | 1,0 \pm 0,2 | 9,7 \pm 1,2 | 9,9 \pm 3,5 |
| ADN (μ g) (2) | 66,7 \pm 20,6 | 85,8 \pm 34,2 | 749,5 \pm 116,0 | 762,7 \pm 205,2 |
| Oestradiol-17 β | 1558,3 \pm 476,1 | 889,4 \pm 344,9 | 891,1 \pm 164,6 | 1023,3 \pm 343,4 |
| Oestrone | 874,5 \pm 284,7 | 574,7 \pm 208,2 | 992,0 \pm 335,0 | 1495,7 \pm 660,8 |

(1) Les valeurs sont les moyennes arithmétiques \pm SEM (erreur standard de la moyenne).

(2) Effet du stade de gestation ($P < 0,02$).

(3) Effet du stade de gestation ($P < 0,0001$) et interaction stade de gestation x supplément d'acide folique ($P < 0,07$).

Les homogénats de blastocystes contenaient plus d'acide folique ($P = 0,02$), de protéines totales ($P = 0,0001$) et d'ADN ($P = 0,0001$)

au jour 15 qu'au jour 12 (tableau 3). En général, il n'y avait pas d'effet du supplément d'acide folique sur ces dernières varia-

bles. Par contre, le contenu en protéines totales avait tendance à être plus élevé ($P = 0,07$) pour les homogénats de blastocystes des truies recevant le supplément d'acide folique jusqu'à 12 jours de gestation alors que cet effet n'apparaissait plus chez les truies abattues 3 jours plus tard. Enfin, aucun effet de traitement n'a été observé sur le contenu en oestradiol-17 β et en oestrone des blastocystes de la corne utérine utilisée.

2.4. La capacité de synthèse oestrogénique.

La capacité de synthèse des cellules embryonnaires est illus-

trée au tableau 4. Le CH₃THF ayant été sans effet sur la capacité de synthèse oestrogénique des blastocystes, les résultats ont été regroupés selon la présence ou non de précurseur DHA. La diminution de la synthèse d'oestradiol-17 β entre le jour 12 et le jour 15 de gestation a été plus prononcée ($P = 0,004$) en présence de DHA dans le milieu de culture. Dans les cultures de cellules embryonnaires provenant des mères recevant le supplément d'acide folique, il y a eu également diminution de la synthèse d'oestradiol-17 β mais cette diminution a eu tendance à être plus marquée ($P = 0,07$) en absence du DHA qu'en sa présence.

Tableau 4 - Capacité de synthèse oestrogénique des blastocystes de porcs à 12 et 15 jours de gestation selon le niveau d'acide folique incorporé dans l'aliment de gestation des mères et selon la présence ou non de déhydroépiandrostérone (DHA) dans le milieu de culture cellulaire (1).

| Stade de gestation (jours) | 12 | | 15 | |
|---|------------------|------------------|------------------|----------------|
| | 0 | 15 | 0 | 15 |
| Supplément d'acide folique de l'aliment (mg/kg) | | | | |
| Nombre de truies | 9 | 9 | 7 | 7 |
| Oestradiol-17 β (pg/ml) (2) | | | | |
| Sans DHA | 24,2 \pm 9,4 | 13,8 \pm 3,2 | 11,7 \pm 3,6 | 6,7 \pm 2,6 |
| Avec DHA | 195,8 \pm 65,3 | 138,8 \pm 33,2 | 104,6 \pm 27,0 | 45,7 \pm 8,2 |
| Oestrone (pg/ml) (3) | | | | |
| Sans DHA | 2,2 \pm 1,4 | 1,8 \pm 1,8 | 0,1 \pm 0,1 | 0,0 \pm 0,0 |
| Avec DHA | 33,4 \pm 11,4 | 32,1 \pm 10,6 | 19,0 \pm 4,1 | 6,8 \pm 1,4 |

(1) Les valeurs sont les moyennes arithmétiques \pm SEM (erreur standard de la moyenne).

(2) Interaction Acide folique x DHA ($P < 0,07$) et Stade de gestation x DHA ($P < 0,004$).

(3) Interaction Stade de gestation x DHA ($P < 0,004$).

3. DISCUSSION.

L'évolution des folates sériques chez la truie en début de gestation n'avait jamais été étudiée de façon aussi détaillée. Chez les animaux ne recevant pas le supplément d'acide folique dans l'aliment, la baisse de concentration des folates sériques se produit tôt en gestation; elle est en fait de près de 20 % entre la saillie et le jour 12 de gestation. Il est probable que cette chute reflète une augmentation marquée des besoins en acide folique pendant cette période critique pour l'établissement de la gestation et les performances ultérieures de reproduction de l'animal. Bien que les différences de concentrations des folates avant l'attribution des traitements aient été particulièrement marquées, on constate que le supplément en acide folique a été efficace pour atténuer et même empêcher la chute précoce des folates sériques. Un tel effet du supplément à 15 mg/kg avait été mis en évidence auparavant sur des périodes plus longues comme la première moitié de la gestation (MATTE et al., 1993) ou la gestation complète (MATTE et al., 1992). En dépit du fait que le statut en folates des truies ait été maintenu par l'addition d'acide folique au régime de gestation, aucun effet de traitement n'a été observé sur les contenus en folates du liquide utérin et des blastocystes. Il est possible que le statut en folates des mères ne recevant pas le supplément d'acide folique ait été suffisant pour maximiser le transfert intrautérin de la vitamine. On sait cependant que plus tard en gestation, à la 7^{ème} semaine, un supplément de 15 mg/kg

accroît le contenu en folates des foetus (MATTE et al., 1993). D'autres mécanismes plus indirects sur le développement embryonnaire sont donc possiblement impliqués.

Les résultats ayant trait à la composition du liquide utérin démontrent en fait que les effets du stade de gestation sur ces variables peuvent être influencés par le supplément alimentaire d'acide folique de 15 mg/kg. Cela est particulièrement évident dans le cas des prostaglandines pour lesquelles le supplément en acide folique entraîne une augmentation d'environ 300% du contenu en PGE₂ au jour 12 et d'environ 200 % au jour 15. Le rôle des prostaglandines dans le contrôle de la mortalité embryonnaire n'est pas bien connu. On sait qu'elles sont principalement d'origine endométriale mais aussi d'origine embryonnaire et qu'elles pourraient être impliquées dans le processus d'implantation des embryons grâce à leurs rôles métaboliques dans le transport de l'eau et des électrolytes, la vasodilatation et la perméabilité des capillaires (BAZER et al., 1991), ainsi que leur rôle possible dans le contrôle de la réponse immunitaire (GOODWIN et WEBB, 1980).

En ce qui a trait au contenu en protéines des blastocystes, la tendance observée d'une interaction entre le stade de la gestation et le supplément d'acide folique semble indiquer une atténuation de l'effet de l'acide folique entre 12 et 15 jours de gestation. Un effet de l'acide folique sur le contenu en protéines totales des foetus à 30 jours de gestation avait été observé précédemment par TREMBLAY et al. (1989).

La capacité de synthèse de l'oestradiol-17 β par les cellules embryonnaires, qui normalement diminue avec l'âge des embryons entre les jours 11 et 16 de la gestation, avait tendance à être plus basse d'au moins 30 % chez les truies ayant reçu le supplément d'acide folique de 15 mg/kg, et cela aux deux stades de la gestation étudiés. Cela pourrait indiquer un développement embryonnaire accéléré chez les mères recevant le complément d'acide folique. On sait que les sécrétions utérines jouent un rôle dans le «dialogue» embryo-maternel, qui permet l'établissement d'une gestation réussie et qu'elles pourraient aussi influencer la croissance de l'embryon et des enveloppes embryonnaires (BAZER, 1975). Le développement des blastocystes durant cette période d'activité intense n'est pas synchrone et certains blastocystes entrent dans la phase tubulaire puis filamenteuse plus rapidement que d'autres (POPE et al., 1986). Il semble que les blastocystes à développement ralenti aient moins de chances de survivre que les blastocystes à développement plus rapide (POPE et al., 1990). Ainsi, toute modification du milieu embryonnaire susceptible d'affecter le développement embryonnaire en réduisant l'asynchronie, pourrait en théorie réduire la mortalité embryonnaire. Le rôle de l'acide folique, particulièrement les résultats sur les prostaglandines utérines et la capacité de synthèse oestrogénique, dans les mécanismes liés à la mortalité embryonnaire chez le porc

sont d'autant plus crédibles si on les place en perspective de certaines caractéristiques spécifiques aux races porcines prolifiques comme les truies chinoises. On sait, en effet, que la prolificité supérieure de ces truies est due à une diminution marquée de la mortalité embryonnaire (TERQUI et al., 1990). Ce faible taux de mortalité embryonnaire est lié à une activité sécrétrice accrue de l'endomètre avant l'implantation des embryons (TERQUI et al., 1990). Entre autres, il a été démontré que le contenu en PGE2 et PGF2 α dans les sécrétions utérines est environ 3 fois plus élevé à 12 jours de gestation chez les truies Meishan comparativement aux truies européennes (Large White) (BAZER et al., 1991).

Il semble donc que le contrôle de la mortalité embryonnaire associé au supplément alimentaire d'acide folique puisse être lié, d'une part à une sécrétion accrue de prostaglandines utérines et d'autre part, à un développement embryonnaire plus avancé.

REMERCIEMENTS

Nous remercions F. Hoffmann LaRoche, Bâle, Suisse et Mississauga, Ontario, Canada pour leur support financier.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADAMS K.L., BAZER F.W., ROBERTS R.M., 1981. *J. Reprod. Fert.* 62,39-47.
- BAZER F.W., 1975. *J. Anim. Sci.* 41,1376-1382.
- BAZER F.W., ROBERTS R.M., 1983. *J. Exp. Zool.* 228,373-383
- BAZER F.W., THATCHER W.W., MARTINAT-BOTTÉ F., TERQUI M., LACROIX M.C., BERNARD S., REVAULT M., DUBOIS D.H., 1991. *Reprod. Fertil. Dev.* 3,51-60.
- FRIENDSHIP R.M., WILSON M.R., 1991. *Can. J. Vet. Res.* 32,565-566.
- GODKIN J.D., BAZER F.W., LEWIS G.S., GEISERT R.D., ROBERTS R.M., 1982. *Biol. Reprod.* 27,977-987.
- GOODWIN J.S., WEEB D.R., 1980. *Clin. Immunol. Immunopath.* 15, 106-122.
- HART K.M., ROBERTS R.M., BAZER F.W., 1984. *J. Anim. Sci. Suppl.* 59:369 (Abst)
- KOVCIN S., IVKOVIC S., BEUKOVIC M., LALIC M., 1988. »Zbornik radova« br., 17-18. Institut za sto arstvo, Novi Sad.
- KNIGHT J.W., BAZER F.W., WALLACE H.D., WILCOX C.J., 1974. *J. Anim. Sci.* 39,747-751
- LEWIS G.S., 1989. *J. Reprod. Fert. (Suppl.)* 37,261-267.
- LINDEMANN M.D., KORNEGAY E.T., 1989. *J. Anim. Sci.* 67,459-464.
- MATTE J.J., GIRARD C.L., BRISSON G. J., 1984. *J. Anim. Sci.* 59,1020-1025.
- MATTE J.J., GIRARD C.L., BRISSON G. J., 1992. *Livest. Prod. Sci.* 32,131-148.
- MATTE J.J., GIRARD C.L., TREMBLAY G. F., 1993. *J. Anim. Sci.* 71,151-157.
- MURRAY F.A., MOFFATT R.J., GRIFO A.P.J., 1980. *J. Anim. Sci.* 50, 926-929
- PERRY J.S., HEAP R.B., BURTON R.D., GADSBY J.E., 1976. *J. Reprod. Fert. (Suppl.)* 25, 85-104.
- POPE W.F., LAWYER M.S., NARA B.S., FIRST N.L., 1986. *Biol. Reprod.* 35,133-137.
- POPE W.F., XIE S., BROEMANN D.M., NEPPEW K.P., 1990. *J. Reprod. Fert. (Suppl.)* 40,251-260.
- S.A.S (Statistical Analysis System), 1985. In: *SAS User's Guide. Statistics*, SAS Inst., Cary, NC, USA .
- ROBERTS R.M., BAZER F.W., 1988. *J. Reprod. Fert.* 82,875-892
- ROWELL J.G., WALTERS D.E., 1976. *J. Agric. Sci. (Camb.)*, 87,423-432.
- SELGRATH J.P., WRIGHT R.W., 1988. *Theriogenology* 29,873-881.
- THALER R.C., NELSENN J.R., GOODBAND R.D., ALLEE D.L., 1989. *J. Anim. Sci.* 67,3360-3369.
- TREMBLAY G.F., MATTE J.J., DUFOR J.J., BRISSON G.J., 1989. *J. Anim. Sci.* 67,724-732
- TERQUI M., BAZER F.W., MARTINAT-BOTTÉ F., 1990. Pages 17-32. In Molénat, M. and C. Legault, *Proceedings of Chinese Pig Symposium EAAP-FSAP-INRA Toulouse, France 5-6 Juillet 1990.*