

Dilution de la semence porcine : Rôle du plasma séminal dans la régulation de la réponse immunitaire utérine et sur les performances de reproduction chez la truie

*Manon LÉPINE (1,2), Martin LESSARD (1,2), Jean-Jacques MATTE (1,2),
Marie-France PALIN (1), Jean-Paul LAFOREST (2,3)*

*(1) Agriculture et Agroalimentaire Canada, Centre de R & D sur le bovin laitier et le porc
CP 90, Lennoxville, Québec, Canada J1M 1Z3*

*(2) Université Laval, Centre de Recherches en Biologie de la Reproduction (C.R.B.R.), Sainte-Foy, Québec,
Canada G1V 4G2*

*(3) Université Laval, Département des Sciences Animales, Sainte-Foy, Québec, Canada G1K 7P4
Avec la collaboration technique de Marie Dupuis et le personnel opérationnel
sous la direction de Dominique Morrissette*

Dilution de la semence porcine : Rôle du plasma séminal dans la régulation de la réponse immunitaire utérine et sur les performances de reproduction chez la truie

Soixante cochettes Yorkshire-Landrace ont été inséminées avec un volume total de 160 ml à chaque insémination en utilisant un des protocoles suivants : 1) semence commerciale ajustée à 1 milliard de spermatozoïdes (SC1) suivie de plasma séminal (PS) ; 2) SC1 suivie de « Beltsville Thawing Solution » (BTS) ; 3) deux doses de BTS ; 4) SC ajustée à 3 milliards de spermatozoïdes (SC3), suivie de BTS. Deux jours après l'insémination, 8 cochettes des groupes 1, 2 et 3 ont été abattues, et des échantillons de l'endomètre ont été prélevés d'une corne utérine. L'autre corne a été « lavée » avec 20 ml de PBS. Vingt-cinq jours après l'insémination, 12 cochettes des groupes 1, 2, et 4 ont été abattues pour évaluer le nombre de fœtus et de corps jaunes (CL). Deux jours après la saillie, aucune des cytokines inflammatoires n'a été détectée dans les liquides utérins. Seul le « transforming growth factor- β 1 » (TGF- β 1) était présent à des concentrations comparables dans tous les groupes. L'expression endométriale de l'ARNm des cytokines ciblées comme facteurs de différenciation cellulaire n'a pas été affectée par les différents protocoles d'insémination. L'insémination des truies avec des doses moindres de spermatozoïdes (SC1 vs SC3) a réduit numériquement le nombre d'embryons. Les résultats suggèrent que la concentration de plasma séminal dans la semence diluée est suffisante pour inhiber les réactions immunitaires utérines. Le TGF- β 1, présent en grande quantité dans le plasma séminal, pourrait jouer un rôle dans la régulation de ces réactions.

Dilution of porcine semen : Role of seminal plasma on regulation of uterine immune response and reproductive performance in the sow

Sixty Yorkshire-Landrace gilts were assigned at their second estrus to one of the following treatments : 1) 80 ml of commercial semen diluted to a concentration of 1 billion sperm cells (CS1), followed by 80 ml of seminal plasma (SP) (CS1- SP) ; 2) CS1 followed by 80 ml of Beltsville Thawing Solution BTS (CS1-BTS) ; 3) two doses of 80 ml of BTS (BTS-BTS) ; and 4) pooled commercial semen adjusted to a concentration of 3 billions sperm cells in 80 ml BTS (CS3), followed by 80 ml of BTS (CS3-BTS). Two days after the first AI, 8 gilts from groups 1, 2 and 3 were slaughtered. Reproductive tracts were collected and endometrial samples were taken from one horn. The other was flushed with PBS to collect the "uterine fluid". Twenty-five days after AI, 12 gilts from groups 1, 2 and 4 were slaughtered and their reproductive tracts were collected to evaluate the number of fetuses and corpora lutea. Two days after AI, inflammatory cytokines were not present in uterine fluid. Only TGF- β 1 was detected at similar concentrations in all groups. Endometrial expression of cytokines involved in cellular differentiation was not affected by treatments. Inseminations with a lower amount of sperm cells (CS1 vs CS3) slightly reduced the number of embryos although differences were not significant. These results suggest that concentration of seminal plasma in diluted semen is sufficient to inhibit inflammatory reactions. The large amount of TGF- β 1 contained in seminal plasma could play a role in the regulation of these reactions.

INTRODUCTION

D'un point de vue immunologique, la reproduction chez les mammifères est un paradoxe. La fonction principale du système immunitaire étant de reconnaître le « soi » du « non-soi », les phénomènes reliés à la fécondation et à la gestation semblent échapper à cette discrimination (ENGELHARDT et al., 1997). En effet, bien que les spermatozoïdes expriment des antigènes différents de ceux de la femelle, il n'y a pas en général de réaction immunitaire indésirable qui se développe contre ceux-ci. De plus, tout au long de la gestation, l'endomètre est exposé aux antigènes du conceptus, constitués par la moitié du bagage génétique du père et de la mère. Malgré cela, la gestation est un succès dans la plupart des cas, démontrant bien que le système immunitaire est régulé afin de permettre la fécondation et la survie de l'embryon.

L'utérus n'est toutefois pas insensible à la présence d'antigènes puisque d'importants changements physiologiques et immunologiques sont induits dans l'utérus des truies nullipares (cochettes) par la saillie (BISCHOF et al., 1994). En effet, la semence du verrat cause une infiltration de leucocytes dans l'utérus et une réaction inflammatoire s'installe (BISCHOF et al., 1994 ; ROZEBOOM et al., 1998). Ces réactions semblent être dues principalement au plasma séminal. Ce dernier contient des hormones et des cytokines (facteurs de croissance et de régulation de la réponse immunitaire) qui pourraient jouer un rôle important dans le remodelage utérin et la régulation des réactions immunitaires dans l'utérus suite à l'accouplement ou l'insémination. (ROBERTSON et al., 1994).

En insémination, la dilution de la semence à 3 milliards de spermatozoïdes par dose, avec une solution tampon, est une pratique courante. Des efforts sont mis de l'avant pour améliorer les conditions d'insémination qui permettraient de réduire le nombre de spermatozoïdes par dose afin d'augmenter la productivité des centres d'inséminations (MERCAT et al. 1999). Cette pratique diminue la concentration de plasma séminal et par conséquent celle des différents facteurs protéiques et hormonaux qui pourraient être nécessaires au développement d'un environnement utéro-ovarien favorable à la survie des spermatozoïdes, à la fécondation des ovules et à la survie des futurs embryons.

La présente étude visait donc à déterminer l'influence de la concentration spermatique par dose de 80 ml et d'une infusion supplémentaire de plasma séminal lors de la saillie sur

le taux de mortalité embryonnaire et le nombre d'embryons vivants chez des cochettes à 25 jours de gestation. D'autre part, il y a peu de résultats disponibles chez la truie concernant l'effet de la dilution de la semence sur le type de réponse immunitaire induit par l'insémination. L'influence d'un accroissement du volume de plasma séminal à la saillie a aussi été évaluée sur : 1) la production endométriale de cytokines impliquées dans les réactions inflammatoires telles que le « tumor necrosis factor-alpha » (TNF- α), l'interleukine-6 (IL-6), l'interféron-gamma (IFN- γ), et ; 2) de cytokines jouant un rôle dans la régulation de la différenciation cellulaire telles que le « transforming growth factor- β 1 » (TGF- β 1), le « granulocyte macrophage-colony stimulating factor » (GM-CSF), l'« insulin-like growth factor-I » (IGF-I) et l'IGF-II ainsi que sur les récepteurs de l'IGF-I et de l'IGF-II dans les 48 heures qui suivent la saillie de cochettes.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Animaux et conditions expérimentales

Deux groupes de trois verrats Duroc du Centre d'insémination porcine du Québec (St-Lambert, Québec) ont été utilisés pour fournir les mélanges de semences nécessaires aux saillies. Des verrats dont le taux de dilution de la semence était d'environ 1:10 pour obtenir 3 milliards de spermatozoïdes vivants / dose de 80 ml (dose commerciale) ont été choisis. Le « Beltsville Thawing Solution » (BTS) a été utilisé pour diluer les semences.

Des récoltes de semence ont été également faites sur 15 verrats Duroc gardés au Centre de Recherche et Développement sur le Bovin Laitier et le Porc (Lennoxville, Québec) afin de former un pool de semence morte. Tous les échantillons récoltés ont été congelés à -80°C jusqu'au moment de préparer ce pool. Après décongélation, des volumes égaux de chaque échantillon de semence ont été mélangés et congelés de nouveau à -80°C en aliquotes de 80 ml pour constituer les doses de plasma séminal (PS) utilisées lors des saillies.

Soixante cochettes nullipares F1 Yorkshire X Landrace (Y x L) d'âge et de poids comparables ont été fournies par Génétiporc Inc. (St-Bernard, Québec) pour réaliser cette expérience. Elles ont été alimentées avec une ration pour cochette à raison de 2,8 kg / jour. La détection des chaleurs a été effectuée 2 fois par jour en présence d'un verrat. À la première chaleur détectée, les cochettes ont été transférées dans des enclos individuels. Au second œstrus, les cochettes ont été inséminées deux fois suivant un des quatre protocoles d'insémination décrit ci-après : 1) 20 cochettes ont été saillies avec 80 ml de semence commerciale (SC) diluée à 1 milliard de spermatozoïdes suivis de 80 ml de PS (groupe SC1-PS) ; 2) 20 cochettes ont été saillies de façon semblable au groupe 1 mais le PS a été remplacé par 80 ml de BTS (groupe SC1-BTS) ; 3) 8 cochettes témoins (saillies non fécondes) ont reçu deux infusions de 80 ml de BTS (groupe BTS-BTS) ; et 4) 12 autres cochettes ont été saillies avec des mélanges de semence commerciale (3 milliards de spermatozoïdes / dose de 80 ml) suivis de 80 ml de BTS (groupe SC3-BTS)

Tableau 1 - Répartition des cochettes selon les traitements

Traitements	2 jours après la saillie	25 jours après la saillie
SC1-PS	8	12
SC1-BTS	8	12
BTS-BTS	8	0
SC3-BTS	0	12

(tableau 1). Pour les inséminations requérant une concentration de 1 milliard de spermatozoïdes vivants par dose, une dilution de 1:3 de la SC a été effectuée juste avant l'insémination, afin de maintenir les volumes de 80 ml constants.

Deux jours après la première insémination, 8 cochettes des groupes 1, 2 et 3 ont été abattues. Des échantillons de l'endomètre ont été prélevés d'une corne utérine et ceux-ci ont été immédiatement congelés, par immersion dans

l'azote liquide, et conservés à -80°C au congélateur. La lumière utérine de la seconde corne a été « lavée » avec 20 ml de PBS pour récolter le « liquide utérin » qui a été congelé à -80°C pour des fins d'analyses en laboratoire. Vingt-cinq jours après l'insémination, 12 cochettes des groupes 1, 2, et 4 ont été abattues (tableau 1). Les deux cornes ont été ouvertes et les embryons ont été minutieusement prélevés, pesés et comptés. Les ovaires ont également été récupérés afin de déterminer le nombre de corps jaunes (CL).

Tableau 2 - Amorces utilisées pour mesurer l'expression des gènes ciblés.

Amorces	Séquences	Taille (pb)	Tm(1) (°C)	Nombre de cycles	Quantité (pmol)
GAPDH-5' GAPDH-3'	5'-CTGGCAAAGTGGACATTGTCGCC-3' 5'-CTTGGCAGCGCCGGTAGAAGC-3' Genebank # SSU48832	571	68	29	7,5
IL-2-5' IL-2-3'	5'-GCACTCATGGCAAACGGTGC-3' 5'-CAACAGCAGTTACTGTCTCAT-3' Genebank # SSIL2R	366	66	39	7,5
IL-1β-5' IL-1β-3'	5'-TCAGGCAGATGGTGTCTGTC-3' 5'-GGTCTATATCCTCCAGCTGC-3' Genebank # M86725	417	54	>40	7,5
IL-6-5' IL-6-3'	5'-TCTGGGTCAATCAGGAGAC-3' 5'-GCTACATTATCCGAATGGCC-3' Genebank # PIGIL6A	330	68	34	15
GM-CSF-5' GM-CSF-3'	5'-GCAGCATGTGGATGCCCATC-3' 5'-GAAGTTTCCTCGGTGAGGG-3' Genebank # SSU67175	246	58	>40	7,5
IGF-I-5' IGF-I-3'	5'-GCACATCACATCCTTTCGCATC-3' 5'-TGTACTTCCTTCTGAGCCTTGGG-3' Genebank # PIGGFIIA	338	70	35	15
IGF-IR-5' IGF-IR-3'	5'-CGCATGTGCTGGCAGTACAACC-3' 5'-TGCGCGTAAGGCTGTCTCTCG-3' Genebank # SSU15445	307	70	34	15
IGF-II-5' IGF-II-3'	5'-GGTGGACACCCTCCAGTTTGTGTC-3' 5'-GTGACGCTTGGCCTCTCTGAC-3' Genebank # SSIGF2	354	70	38	15
IGF-IIR-5' IGF-IIR-3'	5'-GGCCAAGTCCAAGTCCGCTAC-3' 5'-ACTCATCCGCTGGAAGCCCG-3' Genebank # SSU58650	381	70	38	7,5
LIF-5' LIF-3''	5'-TTCCATCACTCCTGTCAATG-3' 5'-CAGAGATGACCTGCTTATAC-3' Genebank # SSU91518	514	61	>40	15

(1) Tm : température d'hybridation

1.3. Mesure de l'expression des cytokines et des facteurs de croissances

Les niveaux d'expression des ARNm d'IL-6, d'IGF-I et de son récepteur (IGF-IR), d'IGF-II et de son récepteur (IGF-IIR), d'IL-2, d'IL-1 β , du facteur inhibiteur de la leucémie (LIF), du GM-CSF ainsi que du gène rapporteur, glyceraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase (GAPDH), ont été déterminés par des réactions de polymérisation en chaîne (PCR) semi-quantitative effectuées suite à la transcription inverse (Reverse-Transcription (RT)) des ARN totaux extraits de tissu endométrial. La transcription inverse a été réalisée à l'aide d'amorces oligo-dT (Pharmacia Biotech, Baie d'Urfé, PQ, Canada), de 2'déoxynucléotides 5'triphosphates (dNTP) et de SuperScript II (Gibco-BRL, Burlington, Ontario, Canada) sur des ARNm préalablement traités à la DNase I (Gibco-BRL, Burlington, Ontario, Canada). Les réactions de PCR ont été faites en utilisant l'enzyme Taq DNA polymérase (Amersham-Pharmacia Biotech). Brièvement, 2 ml d'ADNc dans un volume final de 50 μ l ont été utilisés pour chaque gène. La séquence des amorces, la température d'hybridation, le nombre de cycles utilisés et la taille du fragment généré pour chaque gène sont indiqués au tableau 2. Les amorces ont été conçues à l'aide du logiciel PC / gene 6.85 (Intelligenetics Inc. Université de Genève, Suisse) en utilisant les séquences publiées d'ADNc porcine. L'identité des produits de PCR a été déterminée par analyse des produits de restriction enzymatique. Les produits de PCR ont été mis sur gel d'agarose à 2% contenant 0,1 mg de bromure d'éthidium et ont subi une électrophorèse. Les fragments des cytokines ayant 38 cycles d'amplification ou moins ont été révélés par lumière UV, photographiés et quantifiés avec un densitomètre (Biorad, Hercules, Californie, USA). L'intensité des fragments pour chacun des gènes a été normalisée selon l'intensité de la bande de GAPDH.

1.4. Mesures des concentrations en TGF- β 1, IFN- γ , TNF- α et prostaglandine E2

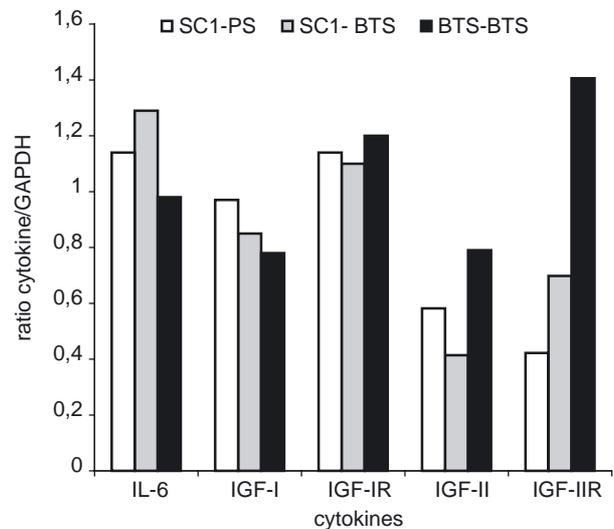
Des tests ELISA commerciaux ont été utilisés, selon les instructions des fabricants, pour mesurer la concentration en TGF- β 1 (Promega, Madison, Wisconsin, USA), IFN- γ et TNF- α (Biosource international, Camarillo, Californie, USA) dans le liquide utérin et le plasma séminal. Pour chaque ELISA, les échantillons ont été dosés en triplicata. Avant d'effectuer l'ELISA pour TGF- β 1, celui-ci a été activé par acidification en ajoutant aux échantillons du HCl 1N pour obtenir un pH < 3,0. Après 10 minutes à température de la pièce, ils ont ensuite été neutralisés à l'aide de NaOH 1N pour obtenir un pH = 7,0.

La concentration de PGE₂ a été déterminée par RIA (ICN Biomedicals Inc, Costa Mesa, Californie, USA) sur les lipides des liquides utérins préalablement extraits à l'éthanol. Chaque échantillon a été dosé en triplicata.

1.5. Les analyses statistiques

Les données ont été analysées par analyse de variance à l'aide de la procédure GLM de SAS (1996). Les cochettes

Figure 1 - Niveau d'expression des ARNm des cytokines et des récepteurs dans l'endomètre 2 jours après la saillie



ne pouvant être traitées toutes en même temps, les effets de traitements sur les mesures de cytokines, de prostaglandine E₂ et de performances reproductrices ont été analysés selon un dispositif aléatoire par contrastes pré-établis pour comparer les différentes conditions d'insémination.

2. RÉSULTATS

2.1. Mesures de cytokines et de PGE₂ dans les liquides utérins récoltés 2 jours après la saillie.

L'infusion de PS après la saillie des cochettes avec de la semence commerciale ajustée à 1 milliard spermatozoïdes (SC1-PS) n'a pas affecté la production de TNF- α et d'IFN- γ . Tant chez les cochettes inséminées avec de la semence féconde que chez les cochettes du groupe BTS-BTS, la présence de TNF- α et d'IFN- γ n'a pas été détectée dans les liquides utérins récoltés deux jours après les saillies. Seul le TGF- β 1 a été détecté à une concentration moyenne de 2,8 ng ml⁻¹ chez les différents groupes de cochettes. Les infusions de plasma séminal n'ont pas influencé les quantités de TGF- β 1 mesurées dans les liquides utérins malgré l'importante quantité de TGF- β 1 contenue dans le pool de plasma séminal. Ce dernier contenait 2100 ng ml⁻¹ de TGF- β 1.

La concentration moyenne de PGE₂ dans les liquides utérins des cochettes saillies avec de la semence commerciale et infusées avec du PS ou du BTS était de 0,075 ng ml⁻¹ alors que celle du groupe BTS-BTS était de 0,136 ng ml⁻¹. Bien que la concentration de PGE₂ ait été presque deux fois plus élevée dans ce dernier groupe, il n'y avait pas de différence significative entre les traitements.

Finalement, les utérus de toutes les cochettes inséminées avec de la semence commerciale avaient une apparence plus rougeâtre et montraient de l'œdème.

Tableau 3 - Données physiologiques des cochettes abattues 2 jours après la saillie et à 25 jours de gestation.

Variables	Jour d'abattage	Poids des utérus (g)		Nombre de corps jaunes		Nombre d'embryons		% de mortalité	
		O	ESM	O	ESM	O	ESM	O	ESM
SC1-PS	2	483	64	15,36	0,7				
SC1-BTS	2	449	32	16,6	1,2				
BTS-BTS	2	458	62	14,5	0,7				
SC1-PS	25	2481	182	16,3	0,5	12,4	0,9	22,0	5,2
SC1-BTS	25	2369	147	15,8	0,5	12,2	1,0	22,8	5,9
SC3-BTS	25	2411	158	16,5	0,5	13,3	1,0	19,8	5,0

2.2. Expression de cytokines dans les tissus utérins échantillonnés 2 jours après la saillie.

Puisque la production de cytokines impliquées dans les réactions inflammatoires n'ont pas été affectées par l'infusion de PS après la saillie, d'autres cytokines qui jouent un rôle dans la différenciation cellulaire ont été évaluées. La figure 1 montre le niveau d'expression des ARNm des cytokines IL-6, IGF-I et IGF-II et des récepteurs IGF-IR et IGF-IIR dans l'endomètre 2 jours après la saillie. L'infusion de PS n'a pas affecté l'expression de l'IL-6, l'IGF-I et de l'IGF-II par rapport aux cochettes du groupe BTS-BTS. Seule l'expression de l'IGF-IIR était plus importante dans l'endomètre des cochettes du groupe témoin BTS-BTS par rapport à celles ayant été inséminées avec de la semence commerciale ajustée à 1 milliard spermatozoïdes ($p < 0.05$). Quant aux cytokines GM-CSF, LIF, IL-1 β et IL-2, les niveaux d'expression étaient négligeables deux jours après le début des saillies.

2.3. Poids de l'utérus, nombre de corps jaunes et d'embryons et taux de fertilité

Les poids moyens des utérus des cochettes abattues à 2 et 25 jours n'ont pas été affectés par les différents traitements à la saillie et étaient respectivement de 463 ± 147 g et 2421 ± 546 g (tableau 3). Toutefois, le poids moyen des utérus prélevés à 2 jours était significativement inférieur ($p < 0,05$) à celui des cochettes abattues à 25 jours de gestation.

Le taux de fécondité des cochettes saillies avec de la semence ajustée à 1 milliard spermatozoïdes et infusées avec le pool de plasma séminal (SC1-PS) a été comparable à celui des cochettes inséminées avec des échantillons de semence ajustés soit à 1 ou 3 milliards de spermatozoïdes par dose suivis de BTS (groupes SC1-BTS et SC3-BTS). Chez ces groupes de cochettes, le nombre de CL et d'embryons et le taux de mortalité étaient semblables quoique les valeurs numériques indiquaient un nombre d'embryons plus bas et un taux de mortalité plus élevé chez les truies inséminées avec SC1 par rapport à celles saillies avec SC3 (tableau 3). Les poids moyens des embryons à 25 jours de gestation ne différaient pas entre les groupes.

3. DISCUSSION ET CONCLUSION

Dans la présente étude, l'ajout d'une infusion de plasma séminal à la saillie n'a pas affecté la sécrétion dans le liquide utérin et l'expression endométriale de cytokines impliquées dans les réactions inflammatoires. En effet, les résultats ont montré que le TNF- α , l'IFN- γ , l'IL-1 et l'IL-2 ne sont pas exprimés dans l'endomètre des cochettes 30 heures après la deuxième insémination. De plus, l'absence de TNF- α et d'IFN- γ dans les liquides utérins vient confirmer que ces deux cytokines ne sont probablement pas impliquées dans les réactions immunitaires et les changements physiologiques de l'endomètre après la saillie. Ces résultats sont inattendus puisqu'il est généralement admis que l'inflammation utérine induite par la semence est une réaction physiologique normale qui favoriserait l'élimination de l'excès de spermatozoïdes et l'induction de changements utérins favorables à l'établissement des futurs embryons (ROBERTSON et al., 1994 ; ENGELHARDT et al., 1997 ; TROEDSSON et al., 1997). Bien qu'un grand nombre de macrophages et de granulocytes sont recrutés à l'interface épithélio-stromale de l'utérus chez la truie après la saillie, ce nombre est plus grand lorsque les spermatozoïdes inséminés sont en suspension dans du PBS en comparaison avec des inséminations faites en présence de plasma séminal (ROZEBOOM et al., 2000). Ces résultats suggèrent que le plasma séminal puisse jouer un rôle dans la régulation des réactions immunitaires utérines qui pourraient être dirigées contre les spermatozoïdes migrant vers les ovules.

Afin de répondre partiellement à cette question, la composition du pool de plasma séminal utilisé dans la présente expérience a été précisée. Le plasma séminal porcine utilisé contient une très grande quantité de TGF- β 1, tout comme celui de l'humain (NOCERA et CHU, 1995). Cette cytokine est principalement connue pour ses propriétés immunosuppressives, quoiqu'elle joue également un rôle important dans la régulation des interactions cellulaires en influençant les cytokines produites et le stade de différenciation des cellules activées (LETTERIO ET et ROBERTS, 1998). Par exemple, il a été démontré que la présence de TGF- β 1 influence le patron de cytokines produites en empêchant la production d'IFN- γ qui peut activer les macrophages à produire du TNF- α et

autres molécules inflammatoires (TSUNAWAKI et al., 1988). Ainsi, l'absence de production de TNF- α et d'IFN- γ dans l'utérus pourrait être due en partie à la présence de TGF- β 1 dans le plasma séminal. Cependant la présente étude ne permet pas de le confirmer hors de tout doute puisque toutes les saillies fécondes ont été faites avec des semences contenant du plasma séminal. En effet, celui-ci n'était pas enlevé préalablement à la dilution de la semence commerciale. Il en restait donc une certaine proportion (3 à 5 %), même chez les truies infusées avec le BTS après une insémination avec une dose de 1 milliard de spermatozoïdes. Quant aux résultats obtenus chez les cochettes infusées avec le diluant seulement, ceux-ci indiquent que le BTS n'induit pas de réaction utérine de type inflammatoire. Tel que rapporté par BISCHOF et al. (1994), il a été observé que les utérus de cochettes inséminées avec de la semence sont plus vascularisés et que l'endomètre montre de l'œdème comparativement à celles ne recevant que du BTS.

Compte tenu des résultats obtenus, l'expression de cytokines reconnues pour leur rôle dans la régulation de la différenciation de différentes populations de cellules a été mesurée dans les échantillons d'endomètres. L'expression de l'ARNm d'aucune des cytokines ciblées soit l'IL-6, l'IGF-I, l'IGF-II, le GM-CSF, le LIF, l'IL-1 β et l'IL-2 n'a été différemment affectée par les saillies fécondes en comparaison aux cochettes infusées avec le diluant seulement. Ces résultats suggèrent que le tissu utérin de cochettes suit le même patron d'expression pour ces molécules, indépendamment de la saillie. Cependant, l'expression du récepteur de l'IGF-II était réduite chez les cochettes inséminées avec une semence féconde par rapport à celles ayant reçues des infusions de BTS. L'IGF-II peut se lier aux récepteurs IGF-I et IGF-II, cependant son affinité pour le récepteur de l'IGF-II est plus grande. Les rôles de ce récepteur sont moins bien connus que ceux du récepteur IGF-I qui génère principalement des effets mitogéniques (NISSLEY et LOPACZYNSKI, 1991). Il semblerait qu'un des rôles du IGF-IIR soit d'intérioriser et de séquestrer l'IGF-II

(MELNICK et al., 1998). D'autres travaux sont toutefois nécessaires pour comprendre le rôle de ce récepteur dans l'utérus après la saillie.

Finalement, le nombre d'embryons et le taux de mortalité n'ont pas été affectés significativement par des inséminations faites avec des doses moindres en spermatozoïdes et enrichies en plasma séminal. Cependant, les valeurs numériques obtenues sur le nombre d'embryons indiquent une diminution de 1,1 embryon chez les truies inséminées avec des doses à 1 comparativement à 3 milliards de spermatozoïdes. Ces valeurs sont du même ordre que celles rapportées par PEDERSEN (1991) qui a obtenu 1,1 porcelets nés totaux en moins avec des doses à 1,4 en comparaison avec des doses de 2,8 milliards de spermatozoïdes.

En conclusion, dans les conditions expérimentales utilisées, des infusions de plasma séminal à la saillie n'affectent pas la production et/ou l'expression des cytokines impliquées dans la régulation des réactions inflammatoires (TNF- α , IFN- γ) et de la différenciation cellulaire (IL-6, IGF-I, IGF-II, GM-CSF, LIF) chez des cochettes inséminées avec de la semence commerciale diluée. Ces résultats suggèrent que la concentration de plasma séminal dans la semence diluée à 1 milliard de spermatozoïdes vivants est suffisante pour inhiber les réactions immunitaires utérines. Le TGF- β 1 présent en grande quantité dans le plasma séminal pourrait être un des facteurs qui joue un rôle dans la régulation de ces réactions dans l'utérus après la saillie. Il semble donc important de considérer le contenu en cytokines du plasma séminal lors de l'élaboration de stratégies visant à mieux préserver le potentiel fécondant de la semence diluée dans des conditions d'élevage.

REMERCIEMENTS

Nous remercions la Fédération des Producteurs de Porcs du Québec et le Centre d'Insémination du Québec pour leur support financier.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BISCHOF, R. J., LEE, C. S., BRANDON M.R., MEEUSEN E., 1994. *J. Reprod. Immunol.* 26, 131-146.
- ENGELHARDT, H., CROY B. A., KING G.J., 1997. *Journal of Reproduction and Fertility (Supplement)* 52, 115-131.
- LETTERIO J. J., ROBERTS A.B., 1998. *Annu. Rev. Immunol.* 16, 137-161.
- MELNICK, M., CHEN, H., BUCKLEY, S., WARBURTON, D. JASKOLL, T., 1998. *Developmental Dynam.* 211, 11-25.
- MERCAT, M.-J., FLOCH, M., PELLOIS, H., RUNAVOT, J. P. 1999. *Journées Rech. Porcine en France*, 31, 53-58.
- NISSLEY, P., LOPACZYNSKI, W., 1991. *Growth Factors* 5, 29-43.
- NOCERA M., CHU, T. M., 1995. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 33,282-291.
- PEDERSEN, N., 1991. *Reproduction in Domestic Animals*, supplement 1, 398 p.
- ROBERTSON, S. A., SEAMARK, R. F., GUILBERT, L. J., WEGMANN, T. G., 1994. *Critic. Rev. Immunol.* 14, 239-292.
- ROZEBOOM K.J., TROEDSSON M. H. T., CRABO B.G., 1998. *J. Reprod. Fertil.*, 114, 195-199.
- ROZEBOOM K.J., TROEDSSON M. H. T., HODSON, H. H., SHURSON, G. C., CRABO B.G. 2000. *J. Anim. Sci.* 78, 443-448.
- SAS[®] User's Guide : Statistics, Version 6.12 Edition. 1996. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
- TROEDSSON, M. H. T., LIU, I. K. M., CRABO, B. G., 1998. *Theriogenology* 50, 807-818.
- TSUNAWAKI, S., SPORN, M., DING, A., NATHAN, C., 1988. *Eur. J. Immunol.* 334, 260-262.