

Lordose et/ou xyphose chez le porc : mise à l'épreuve de l'hypothèse héréditaire

Martine LAITAT (1*), Emilie VEILLAT (1*), Henry VAN CAUWENBERGE (2), Pierre GEORIS (3), Valeria BUSONI (4),
Arnaud SARTELET (1), Mahmoud ELANSARY (5) et Michel GEORGES (5)

(1) Université de Liège – Département Clinique des Animaux de Production, Boulevard de Colonster, 20, 4000 Liège, Belgique

(2) Chirurgie Orthopédique - Hôpital Sainte-Thérèse, Chaussée de Houffalize, 1, 6000 Bastogne, Belgique

(3) Université de Liège - CHU - Chirurgie de l'appareil locomoteur, Avenue de l'Hôpital, 1 B35, 4000 Liège, Belgique

(4) Université de Liège - Imagerie médicale, Boulevard de Colonster, 20 B41, 4000 Liège, Belgique

(5) Université de Liège - GIGA-R, Génomique animale, Avenue de l'Hôpital, 1 B34, 4000 Liège, Belgique

mlaitat@ulg.ac.be (*co-premiers auteurs)

Lordosis and/or kyphosis in pigs: testing the hereditary hypothesis

Lordosis and/or kyphosis, also called "dipped shoulder" or "humpy-back" is sporadically observed in growing pigs. This condition is characterized by a thoracic and/or lumbar spinal deformity. Pathomorphologically, it may be comparable with Scheuermann's kyphosis in man and so constitutes a spontaneous model for this humane kyphosis of the thoracic or thoracolumbar spine. In pigs, this condition may decrease the value of carcasses, making deboning efforts challenging. Three major and non-exclusive hypotheses formulated to explain these back deformations are nutrition, intrauterine viral infection and inherited predisposition. The objective of the present study was to test the latter and, if possible, to identify a locus (some loci) associated with the affection. Forty-eight pigs were included in this case-control study. Based on a clinical examination and/or on a measure of the degree of spinal deformity, 25 pigs classified as affected were compared to 23 pigs considered as normal. A whole genome Single Nucleotide Polymorphism (SNP) analysis was performed using a 50,000 SNP array. DNA from forty-seven samples (tail tissue or blood) was extracted while one sample was eliminated because of its poor quality. After applying quality controls, 40 pigs and 57,838 SNPs (on a total of 62,163) remained for further analysis. One SNP (ASGA0090747) located on Sus scrofa chromosome SSC8 crossed the genome-wide significant threshold and is thus suspected of being associated with the lordosis and/or kyphosis phenotype. These results seem to confirm the hereditary hypothesis. Further investigations are however needed to confirm the suspected association.

INTRODUCTION

Des cas de lordose et/ou de xyphose sont sporadiquement rencontrés chez le porc. Les animaux atteints présentent une déformation de la colonne vertébrale thoracique et/ou lombaire. A l'exception d'épisodes cliniques affectant jusqu'à 30-40 % des porcs (Corradi *et al.*, 2004), une prévalence des cas de xyphose de l'ordre de 2 à 4 % est le plus souvent rapportée dans la littérature (Bradley, 2005). Selon les cas, la vitesse de croissance des porcs atteints et/ou leur taux de mortalité ont ou non été affectés. Ceci laisse à penser que la lordose et/ou la xyphose chez le porc est une expression clinique commune à plusieurs entités pathologiques distinctes. Les principales hypothèses (non exclusives) formulées pour expliquer les cas de lordose et/ou de xyphose mettent en cause l'alimentation (Belsué, 2010), une infection virale intrautérine (Clark, 2005) ou l'hérédité (Holl *et al.*, 2008). La présente étude s'est focalisée sur l'hypothèse héréditaire. Deux équipes ayant mesuré le degré de xyphose au moyen de scores ont évalué l'hérédité (h^2) de celui-ci : il a été estimé respectivement à 0,2 (Bradley, 2005) et 0,3 (Holl *et al.*, 2008). La déformation de la colonne vertébrale peut être évidente cliniquement (Figure 1), ce qui permet d'écarter de la

reproduction les animaux les plus atteints. Cependant, Holl *et al.* (2008) ont mis en évidence des anomalies sévères lors de l'examen de demi-carcasses à l'abattoir chez des porcs normaux cliniquement. Le risque existe donc, selon cette équipe, de maintenir un phénotype « xyphose » au sein d'une population de reproducteurs si l'on se borne uniquement à exclure de la reproduction les animaux repérables visuellement.

L'identification du (de) gène(s) associé(s) à cette anomalie permettrait une sélection de reproducteurs réellement indemnes de cette déformation. La présente étude a eu pour objectif de comparer le génome de deux groupes de porcs, « atteints » vs « non atteints », en vue d'identifier un locus (ou des loci) responsable(s) de cette anomalie.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Animaux

Sur base d'un examen clinique et/ou d'une mesure radiographique du degré de déformation de la colonne vertébrale, 48 porcs ont été répartis en deux groupes : 25 « lordose » versus 23 « non atteints ».

Le génotypage de ces individus a été réalisé au départ d'un échantillon de sang entier ou d'une portion de queue. L'étude a été autorisée par la Commission d'Ethique Animale de l'Université de Liège (Dossier n°1110).

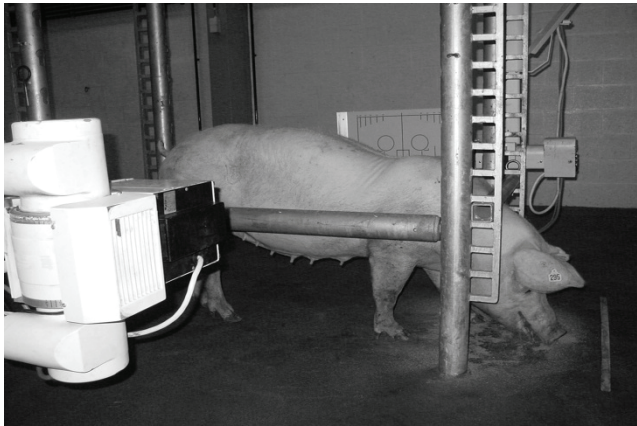


Figure 1 – Truie atteinte d'une lordose et d'une xyphose

1.2. Génotypage

Les échantillons prélevés ont été congelés à -20°C avant que l'ADN en soit extrait. La variation génétique entre les deux populations a été appréciée en termes de polymorphisme mononucléotidique (Single Nucleotide Polymorphism, ou SNP), supposant que le génome de deux individus ayant un phénotype distinct, « sain » *versus* « lordose », ne diffère qu'au niveau d'une paire de bases. Des puces à ADN équipées de 50 000 SNP ont été utilisées.

1.3. Contrôle-qualité des individus et des marqueurs

Avant de débiter les comparaisons, différents tests de contrôle-qualité ont été menés : adéquation entre le sexe renseigné et celui confirmé par le génotypage, test d'hétérozygotie, identification des doublons ou des individus liés, détection d'éventuelles populations stratifiées. Les marqueurs dont le taux d'information génétique s'est avéré inférieur à 95 % ont été éliminés. Enfin, le test d'équilibre de Hardy-Weinberg a été appliqué afin de vérifier la diversité génétique de la population étudiée (hypothèse d'une population non stratifiée).

1.4. Etude d'association génétique

Les génotypes ont été comparés au moyen d'une étude d'association génétique (Genome Wide Association Study) de type « cas-témoins » ayant pour objectif de détecter un marqueur spécifique dont la fréquence varierait significativement entre une population d'individus malades et d'individus sains, permettant dès lors de suspecter une association entre ce marqueur et la maladie.

2. RESULTATS

L'extraction de l'ADN a été réalisée avec succès pour 47 des 48 échantillons. Au terme du contrôle-qualité, 7 porcs ont été exclus de l'étude. Des individus consanguins et une population non homogène, répartie en trois groupes, ont été mis en évidence. Au total, 7 % des marqueurs ont été éliminés et le test de Hardy-Weinberg a confirmé la stratification de la population.

Au final, l'étude a été menée sur base de 57 838 SNPs qui ont pu être analysés à partir du génome de 40 porcs. La méthode de correction d'Eigenstrat a été utilisée afin de corriger l'hétérogénéité de la population étudiée (Price *et al.*, 2006), ce qui a permis la mise en évidence, bien au-delà du seuil de Bonferroni, d'un SNP d'intérêt - ASGA0090747 - sur le chromosome 8.

CONCLUSION

Cette étude, tout en confirmant l'hypothèse héréditaire déjà évoquée dans le passé pour expliquer certains cas de lordose/xyphose (Laitat *et al.*, 2006 ; Holl *et al.*, 2008) a permis de mettre en évidence un SNP d'intérêt sur le chromosome SSC 8 - ASGA0090747, qui pourrait être à l'origine de cette déformation de la colonne vertébrale. Ce résultat encourageant a cependant été obtenu à partir d'un faible nombre d'individus issus d'une population imparfaite puisque stratifiée (Anderson *et al.*, 2010). Il conviendra dans le futur d'éviter ce biais en sélectionnant les individus à comparer dans une population plus homogène (Zondervan et Cardon, 2007).

REMERCIEMENTS

Ce projet a été réalisé grâce au soutien financier du Veepeiler Varken.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anderson C.A., Pettersson F.H., Clarke G.M., Cardon L.R., Morris A.P., Zondervan K.T., 2010. Data quality control in genetic case-control association studies. *Nat. Protoc.*, 5, 1564–1573.
- Belsué J., 2010. Kyphosis and lordosis: possible link to nutrition. *Proc. 21st International Pig Veterinary Society Congress*, Vancouver, Canada, pp. 48.
- Bradley H., 2005. Variation in back conformation and prevalence of ulcers on the shoulders – a cohort study of related Swedish Landrace and Landrace*Yorkshire sows. Thèse de Master. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Suède, 32 p.
- Clark T., 2005. Hump-back pigs. *Anim. Health Expositor*, 6, 2.
- Corradi A., Alborali L., Passeri B., Salvini F., De Angelis E., Martelli P., Borghetti P., 2004. Acquired hemivertebrae in « humpy-backed » piglets. *Proc. 18th International Pig Veterinary Society Congress*, Hamburg, Germany, pp. 357.
- Holl J.W., Rohrer G.A., Shackelford S.D., Wheeler T.L., Koohmaraie M., 2008. Estimates of genetic parameters for kyphosis in two crossbred swine populations. *J. Anim. Sci.*, 86, 1765-1769.
- Laitat M., Harmegnies N., Van Cauwenberge H., Georis P., Buys N., Georges M., 2006. Lordosis in pigs: Evidence for inherited predisposition. *Proc. 19th International Pig Veterinary Society Congress*, Copenhagen, Denmark, pp. 111.
- Price A., Patterson N., Mplenge R., Weinblatt M., Shadick N., Reich D., 2006. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nat. Genet.*, 38, 904-909.
- Zondervan K.T., Cardon L.R., 2007. Designing candidate gene and genome-wide case-control association studies. *Nat. Protoc.*, 2, 2492–2501.