

# Effet de la supplémentation en acides gras oméga-3 du régime sur le profil en oxylipines du lait de truie et quelques paramètres immunologiques des porcelets

*Eudald LLAURADÓ-CALERO, Núria TOUS, David TORRALLARDONA, Enric ESTEVE-GARCIA, Rosil LIZARDO*

*IRTA-Nutrition Animale, Centre Mas de Bover, Ctra de Reus-El Morell km 3,8, 43120 Constantí, Espagne*

*Rosil.lizarDO@irta.es*

## **Effet de la supplémentation en acides gras oméga-3 du régime sur le profil en oxylipines du lait de truie et quelques paramètres immunologiques des porcelets**

Les acides gras (AG) omega-3 (n-3) à chaîne longue (EPA, DHA) sont les précurseurs des eicosanoïdes et semblent avoir des propriétés immunomodulatrices ou anti-inflammatoires. L'objectif de cette étude a été d'incorporer des AGPI n-3 dans les régimes de la truie et voire leurs effets sur la production d'oxylipines dans le colostrum et le lait, et sur des paramètres immunologiques des porcelets. Trente-six truies multipares ont été groupées par blocs (n = 18) après confirmation de la gestation, puis ont été assignées au hasard à un des deux traitements expérimentaux : alimentation avec un régime témoin contenant des matières grasses d'origine animale ou avec un régime enrichi en AGPI n-3 grâce à l'utilisation d'huile de poisson. Des échantillons de colostrum ont été prélevés à la mise-bas et les porcelets pesés afin d'en sélectionner quatre qui ont été suivis pendant l'allaitement. Des échantillons de lait et de sang ont été également prélevés au sevrage sur les truies et les porcelets. La concentration en AGPI n-3 et en résolvines E2/3 et 17-HDHA, deux puissantes oxylipines anti-inflammatoires synthétisées à partir des précurseurs EPA et DHA, augmente dans le colostrum et dans le lait avec la supplémentation en AGPI n-3 des régimes. En revanche, la concentration en IL-10 et TNF- $\alpha$  du lait est réduite. La concentration en IgM et IL-6 dans le sang des truies du groupe AGPI n-3 et celle des IgG, IL-1 $\beta$  et IL-10 des porcelets de ces truies étaient plus élevées au sevrage. En conclusion, l'enrichissement des régimes des truies en AGPI n-3 exerce une influence majeure sur des paramètres immunologiques des truies et des porcelets jusqu'au sevrage.

## **Effect of dietary supplementation with omega-3 fatty acids on the oxylin profile of sow milk and some immune parameters of piglets**

Omega-3 (n-3) long-chain (EPA, DHA) polyunsaturated fatty acids (PUFA) are precursors of eicosanoids and seem to have immunomodulatory or anti-inflammatory properties. The aim of this study was to incorporate n-3 PUFA in sow diets and evaluate their effects on the production of oxylipins in colostrum and milk, and on some immunological parameters of piglets. Thirty-six multiparous sows were grouped into blocks (18) at the beginning of gestation and assigned at random to one of two experimental treatments: a control diet (with animal fat) and a n-3 PUFA enriched diet (with fish oil replacing animal fat). At farrowing, colostrum samples were collected, and four piglets in each litter were identified for monitoring during lactation. At weaning, milk samples were obtained, and blood samples were taken from sows and piglets. Diet supplementation with n-3 PUFA increased the n-3 PUFA concentration in colostrum and in milk, as well as those of resolvin E2/3 and 17-HDHA, which are powerful anti-inflammatory oxylipins synthesized from the precursors EPA and DHA. At weaning, n-3 PUFA supplementation also resulted in reduced concentrations of IL-10 and TNF- $\alpha$  in milk, increased IgM and IL-6 in sow blood, and increased IgG, IL-1 $\beta$ , and IL-10 in piglet blood. In conclusion, enrichment of sow diets with n-3PU FA has a major influence on immunological parameters of sows and piglets at weaning.

## INTRODUCTION

L'utilisation de truies hyperprolififiques en production porcine intensive est devenue une pratique courante. Cependant, l'augmentation de la prolificité des truies est corrélée avec une diminution du poids vif (PV) des nouveau-nés, une réduction de la survie des plus faibles et donc une augmentation de la mortalité périnatale (Theil *et al.*, 2014). Par ailleurs, passer du lait maternel à une alimentation solide à base de céréales et protéagineux lors d'un sevrage précoce fait que de nombreux porcelets ne s'adaptent pas au changement et deviennent anorexiques. Ce jeûne entraîne une atrophie des villosités de la muqueuse intestinale et une réponse inflammatoire conséquente. Pour pallier cela, des antimicrobiens promoteurs de la croissance ont été incorporés dans les aliments. Cependant, leur retrait a conduit à rechercher de nouvelles stratégies nutritionnelles qui puissent atténuer le syndrome du post-sevrage.

Les acides gras polyinsaturés (AGPI) à chaîne longue modifient le profil des oxylipines et la synthèse des cytokines, ayant donc une influence sur le statut immunitaire de l'individu (Calder, 2010). Les oxylipines sont le produit d'une ou plusieurs étapes d'oxydation des AGPI et sont les principaux médiateurs de leurs effets dans l'organisme (Gabbs *et al.*, 2015). Cependant, les AGPI des familles n-6 ou n-3, ainsi que les oxylipines qui en dérivent, semblent avoir des effets différents. Alors que ceux de la famille n-6 seraient précurseurs des oxylipines pro-inflammatoires, ceux de la famille n-3 joueraient plutôt un rôle anti-inflammatoire (Calder, 2010). Considérant que les oxylipines sont des médiateurs lipidiques impliqués dans la physiologie néonatale (Wu *et al.*, 2016), leur présence dans le colostrum puis dans le lait (Robinson *et al.*, 2017) suggère qu'elles pourraient exercer une influence majeure sur le statut immunitaire du nouveau-né. L'objectif de cette étude est donc d'évaluer l'impact de l'incorporation d'huile de poisson riche en AGPI n-3, majoritairement l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA), dans le régime alimentaire des truies sur la composition du colostrum et du lait (profil d'AG, des oxylipines, des immunoglobulines et des cytokines) et quelques paramètres immunitaires (immunoglobulines et cytokines) du plasma des truies et porcelets au sevrage.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Animaux et dispositif expérimental

Après l'insémination, 36 truies multipares ont été sélectionnées, puis groupées dans 18 blocs selon leur rang de portée et PV. Intra-bloc, chaque truie a été assignée au hasard soit à un régime témoin contenant des matières grasses d'origine animale, soit à un régime enrichi en AGPI n-3 en provenance de l'huile de poisson. A la mise-bas, après la naissance du premier porcelet, des échantillons de colostrum ont été prélevés à partir de plusieurs tétines, puis regroupés dans un seul échantillon par animal. Les porcelets ont été pesés à la naissance et les portées ont été homogénéisées intra-traitement à 12 porcelets dans les 24 heures après mise-bas. A partir du 11<sup>ème</sup> jour de lactation, des aliments de 1<sup>er</sup> âge contenant des sources de matières grasses similaires aux régimes de leurs mères ont été distribués aux porcelets. Des échantillons de lait et de sang ont été prélevés chez les truies et sur quatre porcelets par portée lors du sevrage.

**Tableau 1** – Composition centésimale et chimique (mesurée) des régimes alimentaires des truies

	Gestation		Lactation	
	Témoin	AGPI <sup>1</sup>	Témoin	AGPI
<b>Ingrédients (g/kg)</b>				
Céréales <sup>2</sup>	723,4	715,9	508,5	498,8
Tourteaux <sup>3</sup>	220,6	222,7	422,3	425,3
Graisse animale <sup>4</sup>	15,0	-	30,0	15,0
Huile de poisson <sup>5</sup>	-	21,5	-	21,5
Min, Vit., AA, autres <sup>6,7</sup>	41,0	40,9	39,5	39,5
<b>Nutriments (/kg)</b>				
EM (MJ)	12,4	12,5	13,7	13,6
Lysine digestible (g)	56,0	56,0	92,0	92,0
Matières grasses (g)	38,6	37,2	56,7	59,2
<b>AG (mg/g gras)</b>				
C16:0	146,4	129,6	135,5	128,7
C16:1	11,4	18,7	11,2	17,7
C18:0	37,9	22,3	47,7	39,4
C18:1 n-9	199,2	129,6	241,6	201,8
C18:2 n-6	292,9	256,4	237,3	217,0
C18:3 n-3	20,1	21,3	14,5	15,3
C20:4 n-6	0,9	2,6	1,5	2,5
C20:5 n-3	ND	26,7	ND	19,0
C22:5 n-3	0,5	3,5	0,6	1,9
C22:6 n-3	0,5	23,2	0,5	16,7
AGS	196,8	182,0	196,9	192,4
AGMI	227,5	173,1	272,2	243,4
AGPI	317,4	338,3	257,6	276,8
AGPI n-6	296,2	263,6	241,6	222,8
AGPI n-3	21,3	75,7	16,0	54,0

<sup>1</sup> EM, AG, AGS, AGMI, AGPI : énergie métabolisable, acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés.

<sup>2</sup> Un mélange de maïs (20,0, 20,0%), d'orge (44,3, 43,5%) et du son de blé (8,0, 8,0%) en gestation et uniquement du maïs (50,8, 49,9%) en lactation.

<sup>3</sup> Un mélange de respectivement en gestation, puis en lactation de tourteaux de soja 48 (40,6, 42,7 et 24,0, 24,1%), de tournesol 37 (10,0, 10,0 et 4,0, 4,0%), de pulpes de betterave (8,0, 8,0 et 6,0, 6,0%) et de coques de soja uniquement en lactation (8,2, 8,4%).

<sup>4</sup> Graisse Sysfeed (Sysfeed SLU, Granollers, Espagne) : acide myristique, palmitique, palmitoléique, stéarique, oléique, linoléique et linoléique, respectivement à 1,5, 18,0, 2,0, 14,0, 28,0, 12,0 et 6,0 %.

<sup>5</sup> Huile de poisson Lipomega® (V&S Asociados, Madrid, Espagne) à 63,4 % de matières grasses : acide myristique, palmitique, palmitoléique, stéarique, oléique, linoléique, linoléique, arachidonique, EPA et DHA, respectivement à 4,8, 14,9, 3,8, 12,3, 2,7, 1,2, 0,7, 7,9 et 6,9 %.

<sup>6</sup> Un mélange d'acides aminés synthétiques (lysine, thréonine, méthionine, tryptophane), de carbonate de Ca, phosphate bicalcique, sel, bicarbonate de Na, de prémélange de vitamines et minéraux, et d'antioxydant Noxyfeed (BHT + gallate de propyle + acide citrique ; Itpsa, Barcelone, Espagne).

<sup>7</sup> Le prémélange de vitamines et minéraux (DEX Ibérica, Tarragona, Espagne) apporte par kg/aliment : vitamine A, 10000 UI ; vitamine D3, 1600 UI ; vitamine E, 15 mg ; vitamine B1, 1 mg ; vitamine B2 2,7 mg ; vitamine B6, 1,8 mg ; vitamine B12, 15 µg ; vitamine K3, 1 mg ; pantothénate de Ca, 11 mg ; acide nicotinique, 15 mg ; acide folique, 1 mg ; biotine, 100 µg ; chlorure de choline, 200 mg ; Fe (FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O), 150 mg ; I (CaI<sub>2</sub>), 0,5 mg ; Co (2CoCO<sub>3</sub>·3Co(OH)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O), 0,5 mg ; Cu (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O), 10 mg ; Mn (MnO), 40 mg ; Zn (ZnO), 100 mg ; Se (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>), 0,25 mg.

### 1.2. Régimes expérimentaux

Les aliments de gestation et de lactation témoin contenaient, respectivement, 15 et 30 g/kg de matières grasses d'origine animale (Sysfeed SLU, Granollers, Espagne) (Tableau 1). Le régime expérimental à AGPI n-3 résultait de la substitution totale (dans l'aliment de gestation) ou partielle (dans l'aliment

de lactation) de la graisse animale par une source d'huile de poisson (Lipomega®; V&S Asociados, Madrid, Espagne). Tous les régimes ont été formulés selon les recommandations Fedna. La ration allouée était limitée à un maximum de 3 kg/jour pendant la gestation et augmentait progressivement après la mise-bas jusqu'à ce que l'ingestion *ad libitum* soit atteinte en lactation. L'aliment 1<sup>er</sup> âge témoin pour les porcelets sous leur mère contenait 30 g/kg de matières grasses d'origine animale. Ceux-ci ont été complètement remplacés par de l'huile de poisson dans le régime AGPI n-3. Ces régimes (données non présentées) ont été également formulés selon les recommandations Fedna et distribués aux porcelets selon leur appétit. Pour éviter le gaspillage, les quantités allouées étaient ajustées quotidiennement.

### 1.3. Analyse quantitative des acides gras

Les lipides des échantillons du colostrum et du lait ont été extraits avec du chloroforme-méthanol et transméthylés avec du trifluorure de bore. Les AG ont été déterminés par chromatographie gazeuse, en utilisant une colonne capillaire et un détecteur à ionisation de flamme, et des esters méthyliques d'acides gras (Mix C4-C24) ont été utilisés en tant qu'étalons externes. Parmi les échantillons de colostrum et de lait, six ont été choisis au hasard pour l'analyse des oxylipines. Au total, 65 échantillons ont été analysés par spectrométrie de masse triple quadripôle selon la procédure de Ostermann (2017) décrite par Llauradó-Calero *et al.* (2021). L'identification des oxylipines à partir de standards était limitée car toutes ne sont pas disponibles dans le commerce. En conséquence, une tentative d'identification a été réalisée à partir des données publiées sur leur comportement chromatographique ainsi que par confirmation en spectrométrie de masse (Astarita *et al.*, 2014 ; Ostermann, 2017). Des données sur les oxylipines majoritaires

dans les matrices étudiées publiées récemment ont été également utilisées afin de confirmer leur identification (Bruins *et al.*, 2013 ; Mavangira *et al.*, 2015). Pour les quantifier, des courbes d'étalonnage linéaire ont été construites à partir d'étalons commerciaux disponibles et en utilisant une correction par étalon interne sélectionné par des critères de comportement chromatographique.

Pour les composés ne disposant pas de standard commercial, une courbe d'étalonnage d'un composé similaire a été utilisée (Serhan *et al.*, 2006 ; Isobe *et al.*, 2012). Pour plus de détails, il faut se reporter à la description de Llauradó-Calero *et al.* (2021). La détermination des immunoglobulines (IgG, IgA et IgM) et des cytokines interleukine 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukine 6 (IL-6), interleukine 10 (IL-10) et facteur de nécrose tumorale  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) dans les échantillons du colostrum, du lait et du sang a été réalisée à l'aide de kits ELISA commerciaux du type sandwich (Llauradó-Calero *et al.*, 2021).

### 1.4. Analyse statistique

L'effet du traitement alimentaire et du bloc de PV sur les différentes variables a été testé par analyse de variance avec la procédure PROC MIXED (SAS 9.4, SAS Inst., Cary, NC), en utilisant la truie comme unité expérimentale. Les effets du poids vif et de la parité des truies ont été également testés au préalable puis éliminés car non significatifs ( $P > 0,05$ ). Une transformation logarithmique ( $\log_{10}(X + 1)$ ) a été appliquée aux valeurs de concentration des oxylipines. Lorsque la limite de détection n'était pas atteinte, les valeurs ont été remplacées par la valeur positive minimale de chaque variable, divisée par 5. Les valeurs suspectées d'être aberrantes ont été testées au préalable avec le test de Kolmogorov-Smirnov et extraites de la base de données si la valeur de la probabilité ( $P$ ) était hautement significative.

**Tableau 2** – Contenu en lipides et composition en acides gras du colostrum et du lait des truies selon le lot<sup>1</sup>

	Colostrum				Lait			
	Témoin	AGPI n-3	ETR	P	Témoin	AGPI n-3	ETR	P
<b>Lipides (g/kg)</b>	64,0	57,0	19,0	NS	74,0	71,0	19,0	NS
<b>AG (mg/g gras)</b>								
C16:0	135,3	153,0	40,3	NS	152,2	151,6	45,5	NS
C16:1	15,9	20,4	5,0	0,05	47,1	49,0	17,6	NS
C18:0	35,4	39,2	12,1	NS	21,0	19,8	6,70	NS
C18:1 n-9	181,2	188,2	70,0	NS	185,9	178,4	63,0	NS
C18:2 n-6	132,1	147,6	41,2	NS	76,2	74,5	24,4	NS
C18:3 n-3	7,0	9,8	2,6	0,01	3,9	4,3	1,5	NS
C20:4 n-6	7,5	5,0	2,2	0,01	2,7	1,9	1,0	0,05
C20:5 n-3	0,1	8,2	1,6	< 0,001	0,1	3,2	0,8	< 0,001
C22:5 n-3	2,3	9,9	2,2	< 0,001	0,6	1,6	0,8	0,01
C22:6 n-3	0,70	11,7	2,7	< 0,001	0,4	3,8	1,0	< 0,001
<b>AGS</b>	184,5	212,0	56,0	NS	196,7	196,5	57,4	NS
<b>AGMI</b>	217,9	232,1	69,2	NS	252,0	246,4	80,1	NS
<b>AGPI</b>	158,6	202,3	51,5	0,05	88,6	94,3	29,1	NS
<b>AGPI n-6</b>	147,6	160,5	44,3	NS	83,2	83,8	26,9	NS
<b>AGPI n-3</b>	11,0	41,8	8,52	< 0,001	6,36	14,7	3,46	< 0,001

<sup>1</sup> AG, AGS, AGMI, AGPI : acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés. Modèle avec l'effet du traitement (P-value indiquée) et du bloc de PV ; ETR : écart-type du résidu.

## 2. RESULTATS

### 2.1. Composition en acides gras

La source de matières grasses incorporée dans l'aliment de la truie ne modifie pas le contenu en lipides que ce soit du colostrum ou du lait de la truie (Tableau 2). Par ailleurs, la teneur des principaux AG, que ce soit saturés, monoinsaturés, voire AGPI n-6 n'est pas significativement affectée. En revanche, celle des AGPI n-3 est très fortement affectée ( $P < 0,001$ ), conséquence de l'apport d'huile de poisson dans l'aliment. Les teneurs en acide linoléique (C18:3), EPA (C20:5), DPA (C22:5) ou DHA (C22:6) augmentent également très significativement ( $P < 0,001$ ) chez les truies nourries avec le régime riche en AGPI n-3 tandis que la teneur en acide arachidonique (C20:4), au contraire, a été réduite ( $P < 0,01$ ). En conséquence, le contenu en AGPI totaux ( $P < 0,05$ ) augmente dans le colostrum, mais pas dans le lait des truies nourries avec des AGPI n-3. Même si les valeurs absolues de la concentration en AG du colostrum et du lait diffèrent, l'effet du traitement alimentaire est assez semblable, en particulier pour l'enrichissement en AGPI n-3.

**Tableau 3** - Oxylipines quantifiées (pg/mL) dans le colostrum<sup>1,2</sup>

	Témoïn	AGPI n-3	ETR	P
17,18-DiHETE	1,6	6,5	0,10	0,01
5(s)-HEPE	ND	21,4	0,07	<0,001
8-HEPE	ND	15,3	0,12	0,01
11-HEPE	4,1	34,0	0,26	0,05
12(s)-HEPE	10,4	78,3	0,39	0,05
15(s)-HEPE	ND	174,9	0,22	0,01
18-HEPE	1,4	13,0	0,18	0,01
Résolvine E2/E3	ND	5,8	0,10	0,01
4,5-DiHDPE	0,8	10,6	0,22	0,05
10-HDHA	ND	35,1	0,08	<0,001
16-HDHA	6,8	29,5	0,26	0,05
20-HDHA	2,1	28,4	0,29	0,05
Résolvine D5	0,8	11,8	0,21	0,01

<sup>1</sup> DiHETE, acide dihydroxy-eicosatétraénoïque; HEPE, acide hydroxy-eicosapentaénoïque; DiHDPE, acide dihydroxy-docosapentaénoïque; HDHA, acide hydroxy-docosahexaénoïque; ND, non détecté.

<sup>2</sup> Voir le tableau 2.

### 2.2. Profil des oxylipines

Indépendamment de son origine ou précurseur (EPA vs DHA), la concentration des oxylipines trouvées dans le colostrum est très fortement affectée ( $P < 0,01$ ) par le régime alimentaire des truies (Tableau 3). Quelques-unes ne sont même pas détectables dans les échantillons des truies nourries avec le régime témoin. Les oxylipines dérivées de l'EPA, telles que le 17,18-dihydroxy-EPA, 5(s)-, 8-, 11-, 12(s)-, 15(s)- et 18-hydroxy-EPA et la résolvine E2/E3, ainsi que celles dérivées du DHA, comme le 10-, 16- et 20-hydroxy-DHA ou le 4,5-dihydroxy-docosapentaénoïque et la résolvine D5 augmentent toutes dans le colostrum des truies nourries avec de l'huile de poisson par rapport à celles du régime témoin. Dans le lait, une situation similaire s'observe avec une concentration des oxylipines plus élevée avec le régime AGPI n-3 (Tableau 4). Parmi les 24 identifiées, celles dérivées de l'EPA comme les 8-, 9-, 14,15-/11,15- et 17,18-DiHETE, les 5(s)-, 8-, 9, 11-, 12(s)-, 15(s)- et 18-HEPE et la résolvine E2/3 ( $P < 0,05$ ) ou celles dérivées du DHA tels que le 4,5-DiHDPE, ou les 4-, 8-, 10-, 11, 13-, 14-, 16-, 17- et

20-HDH, voire les protectine D1 et D1- augmentent toutes très significativement ( $P < 0,05$ ). En plus des oxylipines dérivées de l'EPA et du DHA, l'acide 12(13)-hydroxy-octadécatriénoïque dérivé de l'acide linoléique augmente également ( $P < 0,05$ ).

**Tableau 4** – Concentrations en oxylipines (pg/mL) dans le lait<sup>1,2</sup>

	Témoïn	AGPI n-3	ETR	P
12(13)-EpOME	491,4	1088,2	0,14	0,05
8,9-DiHETE	2,2	38,9	0,19	0,01
11,15-DiHETE	4,7	48,6	0,18	0,01
17,18-DiHETE	4,3	44,7	0,20	0,01
5(s)-HEPE	4,4	354,9	0,24	<0,001
8-HEPE	5,7	106,8	0,27	0,01
9-HEPE	3,3	132,3	0,26	0,01
11-HEPE	8,9	380,7	0,31	0,01
12(s)-HEPE	22,0	290,0	0,25	0,01
15(s)-HEPE	102,0	1473,2	0,94	0,01
18-HEPE	40,6	174,7	0,24	0,01
Résolvine E2/E3	7,2	14,0	0,12	0,05
4,5-DiHDPE	ND	32,0	0,13	0,01
4-HDHA	ND	291,3	0,10	<0,001
8-HDHA	ND	84,4	0,15	0,01
10-HDHA	3,5	309,2	0,30	<0,001
11-HDHA	ND	37,4	0,25	0,05
13-HDHA	ND	181,9	0,06	<0,001
14-HDHA	ND	78,3	0,12	0,01
16-HDHA	6,6	289,9	0,28	0,01
17-HDHA	ND	239,4	0,14	0,01
20-HDHA	ND	220,0	0,11	<0,001
Protectine D1	0,3	1,4	0,08	0,05
Protectine D1-	ND	2,0	0,14	0,05
Résolvine D5	ND	4,1	0,07	0,01

<sup>1</sup> EpOME, acide époxy-octadécénoïque.

<sup>2</sup> Voir les tableaux 2 et 3.

### 2.3. Indicateurs immunitaires

Que ce soit dans le colostrum ou le lait, aucune différence significative n'a été observée due aux traitements alimentaires sur la concentration en immunoglobulines G, M et A (Tableau 5). Comme il était prévisible, les teneurs en IgG sont beaucoup plus élevées dans le colostrum que dans le lait tandis que celles des IgA ou IgM sont du même ordre de grandeur. Un résultat similaire est observé pour les cytokines étudiées. Leur concentration dans le colostrum est beaucoup plus élevée que dans le lait mais aucun effet des traitements alimentaires n'a été observé. Uniquement une tendance de réduction de l'IL-10 ( $P = 0,06$ ) et une diminution significative du TNF- $\alpha$  ( $P < 0,05$ ) ont été observées dans le lait des truies nourries avec le régime AGPI n-3. La concentration en IgG et IgA, aussi bien que des cytokines IL-1 $\beta$ , IL-10 et TNF- $\alpha$  dans le plasma des truies, reste similaire entre traitements alimentaires (Tableau 6). En revanche, une augmentation significative de la concentration d'IgM ( $P < 0,01$ ) et d'IL-6 ( $P < 0,01$ ) a été observée chez les truies du groupe AGPI n-3. Chez les porcelets, la concentration en IgG plasmatique est beaucoup plus élevée que chez leurs mères tandis que la concentration en IgA et IgM, ainsi que de toutes les cytokines dosées, est beaucoup plus faible. Par ailleurs, la concentration en immunoglobulines IgA et IgM, ainsi que des cytokines IL-6 et TNF- $\alpha$  dans le plasma des porcelets, reste similaire entre les traitements alimentaires. En revanche la concentration en IgG ( $P < 0,05$ ) et en cytokines IL-10 et IL-1 $\beta$  ( $P < 0,001$ ) augmente chez les porcelets issus des truies nourries aux AGPI n-3.

**Tableau 5** – Concentrations en immunoglobulines (mg/mL) et cytokines (ng/mL) dans le colostrum et le lait<sup>1,2</sup>

	Témoïn	AGPI n-3	ETR	P
<b>Colostrum</b>				
IgG	185,9	149,2	140,5	NS
IgA	4,48	2,01	7,12	NS
IgM	1,42	1,03	1,22	NS
IL-1 $\beta$	25,14	31,13	13,04	NS
IL-6	136,6	186,8	190,0	NS
IL10	5,49	11,49	20,02	NS
TNF- $\alpha$	1,15	1,92	2,25	NS
<b>Lait</b>				
IgG	0,65	0,74	0,39	NS
IgA	3,20	4,42	2,21	NS
IgM	1,54	1,55	0,66	NS
IL-1 $\beta$	6,12	7,09	8,25	NS
IL-6	7,00	6,19	1,90	NS
IL10	0,10	0,09	0,01	NS
TNF- $\alpha$	0,16	0,15	0,003	0,05

<sup>1</sup> IgA, IgG, IgM, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  : immunoglobulines A, G et M, interleukines 1 $\beta$ , 6, 10 et facteur de nécrose tumorale  $\alpha$ .

<sup>2</sup> Voir le tableau 2.

**Tableau 6** – Concentrations en immunoglobulines (mg/mL) et cytokines (ng/mL) plasmatiques chez la truie et le porcelet<sup>1,2</sup>

	Témoïn	AGPI n-3	ETR	P
<b>Truie</b>				
IgG	5,27	5,08	2,84	NS
IgA	1,44	1,62	0,92	NS
IgM	4,43	6,34	1,68	0,01
IL-1 $\beta$	144,8	203,9	151,9	NS
IL-6	135,7	420,7	268,1	0,05
IL10	0,11	0,68	1,21	NS
TNF- $\alpha$	1,40	0,91	2,23	NS
<b>Porcelet</b>				
IgG	7,38	10,76	4,10	0,05
IgA	0,42	0,36	0,14	NS
IgM	0,65	0,62	0,33	NS
IL-1 $\beta$	6,43	19,85	6,18	<0,001
IL-6	13,37	14,67	24,88	NS
IL10	0,20	0,51	0,20	<0,001
TNF- $\alpha$	0,20	0,28	0,22	NS

<sup>1</sup> IgA, IgG, IgM, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  : immunoglobulines A, G et M, interleukines 1 $\beta$ , 6, 10 et facteur de nécrose tumorale  $\alpha$ . <sup>2</sup> Voir tableau 2.

### 3. DISCUSSION

Le colostrum, puis le lait, en plus d'être la première source d'énergie et nutriments pour le porcelet nouveau-né, jouent également un rôle clé dans le transfert de l'immunité passive (Darragh et Moughan, 1998). Ils sont donc essentiels au développement et à la croissance du porcelet avant le sevrage. Selon les résultats d'une étude précédente (Tanghe et de Smet, 2013), l'incorporation d'AGPI n-3 dans les régimes des truies gestantes n'affecterait pas le nombre, le développement, la taille ou la survie des embryons. Dans le cas présent, le nombre de porcelets ou le poids de la portée étaient numériquement plus faibles qu'avec l'aliment témoin en accord avec les résultats de Rooke *et al.*, (2001). En revanche, le poids de la portée au sevrage était plus élevé entraînant une augmentation significative du poids individuel au sevrage (Calero-Llauradó *et al.*, 2021).

Une meilleure qualité du colostrum et du lait des truies du groupe AGPI n-3 pourrait contribuer à l'obtention du résultat précédent. Dès la naissance, le porcelet est en mesure de digérer la presque totalité des lipides présents dans le colostrum, puis dans le lait. En plus de l'apport d'énergie et autres nutriments, le lait sert également à transférer d'autres molécules, tels que les AGPI n-3 de la truie vers sa progéniture (Lauridsen, 2020). Une augmentation de la concentration en EPA et DHA a été observée à la fois dans le colostrum et le lait, ce qui était tout à fait prévisible au regard de leur concentration dans l'huile de poisson incorporée dans le régime expérimental. Des résultats similaires avaient été déjà observés précédemment (Rooke *et al.*, 2001 ; Eastwood *et al.*, 2014). De plus, une augmentation de la concentration d'acide linoléique et de DPA dans le colostrum et de DPA dans le lait est également observée. En relation avec les AG de la famille n-6, une diminution du niveau d'acide linoléique a été observée avec l'incorporation des AGPI n-3, tel que déjà rapporté par Eastwood *et al.* (2014), et qui pourrait être mis en relation avec une diminution de la teneur en acide linoléique dans certains types de cellules (Calder, 2010).

Les AGPI sont connus pour exercer une influence sur les processus inflammatoires par différents mécanismes. Ceux-ci incluent leur oxydation qui conduit à la formation d'oxylipines, lesquelles agissent à leur tour dans la coordination de la réponse inflammatoire. Chaque oxylipine a des fonctions pro-inflammatoires et/ou anti-inflammatoires (Gabbs *et al.*, 2015) et, à notre connaissance, la présence de ces molécules dans le colostrum ou lait de truie n'a pas été étudié précédemment. Les oxylipines dérivées des AG n-6 ont tendance à jouer un rôle pro-inflammatoire, tandis que celles dérivées des AGPI n-3 présentent plutôt une activité anti-inflammatoire (Calder, 2010).

L'incorporation d'huile de poisson dans les régimes s'est traduite par un changement de la composition en AG et donc du profil en oxylipines. Très clairement, l'augmentation de la concentration d'EPA et de DHA s'est traduite par une augmentation de leurs dérivés oxygénés. Au sein du groupe des oxylipines présentes en concentrations significativement différentes entre traitements, les intermédiaires hydroxy-AGs, résolvines et protectines se distinguent. Bien que la plupart des hydroxy-AG n'ont pas de fonction clairement décrite, certains d'entre eux sont liés à la capacité de réduire ou d'inhiber la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (Gabbs *et al.*, 2015). Concernant les résolvines et les protectines, leurs effets biologiques ont été largement étudiés sur d'autres modèles animaux et il convient de souligner leur puissante activité anti-inflammatoire et leur capacité de résolution de l'inflammation (Calder, 2010). Dans le cas présent, une augmentation de la résolvine E2/3, de la résolvine D5 et de la protectine D1 dans le colostrum et le lait a été mise en évidence. En plus de l'impact que les AGPI n-3 peuvent exercer sur le système immunitaire en modifiant le profil des oxylipines, une influence sur la production des immunoglobulines et des cytokines a été également observée.

Différentes études ont rapporté un impact des AGPI n-3 sur la concentration en immunoglobulines du colostrum et du lait en conséquence de la réduction du ratio n-6:n-3 des régimes (Mitre *et al.*, 2005 ; Yao *et al.*, 2012). Cependant, dans l'étude présente, aucune différence n'a été observée sur cet aspect, en cohérence avec les résultats de Leonard *et al.* (2010). Concernant la concentration de cytokines, aucun changement n'a été observé non plus dans le colostrum.

Uniquement, une diminution du TNF- $\alpha$ , voire une tendance vers une moindre concentration d'IL-10 dans le lait ont été observées. L'impact plus important observé sur le profil d'oxylipines du lait, dans lequel les augmentations du 18-HEPE, de l'hydroxy-EPA, et du 17-HDHA ont été observées, pourrait contribuer à l'inhibition du TNF- $\alpha$ , comme il a été démontré lors d'études avec des lignées cellulaires (Gabbs *et al.*, 2015).

Enfin, l'incorporation d'AGPI n-3 dans l'alimentation des truies a eu un certain impact sur l'immunité systémique de la truie et du porcelet au moment du sevrage. Une augmentation des IgM et IL-6 totales a été observée chez la truie, ce qui pourrait indiquer une amélioration de l'immunité non spécifique. Par ailleurs, l'augmentation de la concentration d'IgG observée chez le porcelet est en accord avec les résultats obtenus par Mitre *et al.* (2005) et pourrait contribuer à l'amélioration de la réponse immunitaire des porcelets. L'augmentation de la concentration plasmatique d'IL-1 $\beta$  et d'IL-10 chez les porcelets du groupe AGPI n-3 est opposée aux résultats observés dans le lait. Cependant, l'augmentation de l'IL-1 $\beta$ , qui est une cytokine pro-inflammatoire, et de l'IL-10, qui joue un rôle certain dans l'inhibition de la production de cytokines pro-inflammatoires, pourrait être également associée au stress induit par le sevrage.

## CONCLUSION

L'incorporation d'AGPI n-3 à chaîne longue dans l'alimentation des truies conduit à l'augmentation de la concentration d'EPA, de DHA et de leurs dérivés oxygénés de nature anti-inflammatoire, ainsi qu'une amélioration de l'activité de résolution de l'inflammation du colostrum et du lait. Par ailleurs, l'augmentation de la concentration d'IgG et d'IgM dans le plasma renforçant l'immunité non-spécifique semble indiquer que l'incorporation d'AGPI n-3 dans les régimes pourrait contribuer à l'amélioration l'immunité systémique de la truie et du porcelet au sevrage.

## REMERCIEMENTS

Les remerciements s'adressent au personnel de la ferme et du laboratoire qui ont rendu possible cette étude, ainsi qu'au personnel de l'Unité de Métabolomique de l'Université Rovira i Virgili - EURECAT pour sa contribution à l'analyse des oxylipines. Ce projet de recherches a été financé par l'INIA (RTA2017-00086-C02-01), et E. Llauradó Calero a obtenu une subvention INIA (PRE2018-086726) pour mener à bien cette recherche.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Astarita G., Kendall A.C., Dennis E.A., Nicolaou A., 2015. Targeted lipidomic strategies for oxygenated metabolites of polyunsaturated fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Cell Biol. Lipids*, 1851, 456-468.
- Bruins M.J., Dane A.D., Strassburg K., Vreeken R.J., Newman J.W., Salem N. Jr., Tyburczy C., Brenna J.T., 2013. Plasma oxylipin profiling identifies polyunsaturated vicinal diols as responsive to ARA and DHA intake in growing piglets. *J. Lipid Res.*, 54, 1598-607.
- Calder P.C., 2010. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes. *Nutrients*, 2, 355-374.
- Darragh A.J., Moughan P.J., 1998. The composition of colostrum and milk. In: "The lactating sow", M.W. Verstegen, P.J. Moughan, J.W. Schrama (Eds.). Wageningen Pers., Wageningen, The Netherlands, pp. 3-21.
- Eastwood L., Leterme P., Beaulieu A.D., 2014. Changing the omega-6 to omega-3 fatty acid ratio in sow diets alters serum, colostrum, and milk fatty acid profiles, but has minimal impact on reproductive performance. *J. Anim. Sci.*, 92, 5567-5582.
- Gabbs M., Leng S., Devassy J.G., Aukema H.M., 2015. Advances in understanding of oxylipins derived from dietary PUFAs. *Adv. Nutr.*, 6, 513-540
- Isoe Y., Arita M., Matsueda S., Iwamoto R., Fujihara T., Nakanishi H., Taguchi R., Masuda K., Sasaki K., Urabe D, Inoue M., Arai H., 2012. Identification and structure determination of novel anti-inflammatory mediator resolvin E3, 17,18-diHEPA. *J. Biol. Chem.*, 287, 10525-10534.
- Lauridsen C., 2020. Effects of dietary fatty acids on gut health and function of pigs pre- and post-weaning. *J. Anim. Sci.*, 98, 1-12.
- Llauradó-Calero E., Badiola I., Delpino-Rius A., Lizardo R., Torrallardona D., Esteve-Garcia E., Tous N., 2021. Fish oil rich in eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) in sow diets modifies oxylipins and immune indicators in colostrum and milk. *Animal* (accepted).
- Leonard S.G., Sweeney T., Bahar B., Lynch B.P., O'Doherty J.V., 2010. Effect of maternal fish oil and seaweed extract supplementation on colostrum and milk composition, humoral immune response, and performance of suckled piglets. *J. Anim. Sci.*, 88, 2988-2997.
- Mavangira V., Gandy J.C., Zhang C., Ryman V.E., Jones A.D., Sordillo L.M., 2015. Polyunsaturated fatty acids influence differential biosynthesis of oxylipins and other lipid mediators during bovine coliform mastitis. *J. Dairy Sci.*, 98, 6202-6015.
- Mitre R., Etienne M., Martinais S., Salmon H., Allaume P., Legrand P., Legrand A.B., 2005. Humoral defence improvement and haematopoiesis stimulation in sows and offspring by oral supply of shark-liver oil to mothers during gestation and lactation. *Br. J. Nutr.*, 94, 753-762.
- Ostermann A.I., 2017. Development of instrumental analytical methods for the investigation of omega-3 fatty acid induces effects on the fatty acid and oxilipin pattern. PhD thesis, Bergische Universität Wuppertal, Wuppertal, Germany, 237p.
- Robinson D.T., Palac H.L., Baillif V., Van Goethem E., Dubourdeau M., Van Horn L., Martin C.R., 2017. Long chain fatty acids and related pro-inflammatory, specialized pro-resolving lipid mediators and their intermediates in preterm human milk during the first month of lactation. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 121, 1-6.
- Rooke J.A., Sinclair A.G., Edwards S.A., Cordoba R., Pkiyach S., Penny P.C., Penny P., Finch A.M., Horgan G.W., 2001. The effect of feeding salmon oil to sows throughout pregnancy on pre-weaning mortality of piglets. *J. Anim. Sci.*, 73, 489-500.
- Serhan C.N., Gotlinger K., Hong S., Lu Y., Siegelman J., Baer T., Yang R., Colgan S.P., Petasis N.A., 2006. Anti-inflammatory actions of neuroprotectin D1/protectin D1 and its natural stereoisomers. *J. Immunol.*, 176, 1848-1859.
- Tanghe S., de Smet S., 2013. Does sow reproduction and piglet performance benefit from the addition of n-3 polyunsaturated fatty acids to the maternal diet? *The Veterinary J.*, 197, 560-569
- Theil, P. K., Lauridsen, C., Quesnel, H., 2014. Neonatal piglet survival: impact of sow nutrition around parturition on foetal glycogen deposition and production and composition of colostrum and transient milk. *Animal*, 8, 1021-1030.
- Wu J., Gouveia-Figueira S., Domellof M., Zivkovic A.M., Nording M.L., 2016. Oxylipins, endocannabinoids, and related compounds in human milk: Levels and effects of storage conditions. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, 122, 28-36.
- Yao W., Li J., Wang J.J., Zhou W., Wang Q., Zhu R., Wang F., Thacker P., 2012. Effects of dietary ratio of n-6:n-3 polyunsaturated fatty acids on immunoglobulins, cytokines, FA composition, and performance of lactating sows and suckling piglets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, 3, 43-51.