



Comparaison du métabolisme du placenta en fin de gestation entre des truies Large White et des truies Meishan

Julien GUIBERT (1), Alyssa IMBERT (1), Nathalie MARTY-GASSET (1), Laure GRESS (1), Cécile CANLET (2), Agnès BONNET (1), Laurence LIAUBET (1), Cécile MD BONNEFONT (1)

(1) GenPhySE - Université de Toulouse, INRAE, ENVT - 31326 Castanet-Tolosan, France

(2) Toxalim - Université de Toulouse, INRA, ENVT, INP-Purpan, UPS - 31027 Toulouse, France

cecile.bonnefont@inrae.fr

Avec la collaboration de Laurianne CANARIO (1) et Yvon BILLON de Genesi (INRAE).

Comparison of placenta metabolism at the end of gestation between Large White and Meishan sows

Currently in pig production, approximately 21 % of total born piglets die before weaning, mainly during the first three days of life. Thus, piglet survival depends on the degree of development (i.e. piglet maturity) on the day of birth. In particular, foetal growth is closely related to the physiology and nutrition of the dam during gestation, as nutrients are transmitted from the endometrium to the foetus via the placenta. To study differences in foetal metabolism as a function of the degree of maturity, we studied two extreme pig breeds: Large White (a very productive line with high perinatal mortality) and Meishan (a less productive but more robust line). Sows from each line were inseminated with mixed semen from both lines, which generated pure and crossbred foetuses within the same sow. In this project, we compared biological mechanisms of the placenta of 224 late-gestation foetuses (at 90 and 110 days of gestation) using proton nuclear magnetic resonance (NMR) analyses. From multivariate analyses, we identified 20 discriminative metabolites between the two stages of gestation and 19 and 21 discriminative metabolites between foetal genotypes at 90 and 110 days, respectively. These metabolite intensities in placenta samples were correlated to phenotypes involved in the maturity status of piglets. In particular, placental myo-inositol concentration was negatively correlated with body mass index and positively correlated with the ratio of brain weight to body weight, illustrating growth retardation.

INTRODUCTION

De nos jours, la mortalité avant le sevrage touche environ 21 % des porcelets nés totaux en France (IFIP, 2020) et elle apparaît principalement dans les trois premiers jours de vie des animaux. Cette mortalité est en partie liée à un retard de maturité des porcelets au moment de leur naissance (Sacy *et al.*, 2010), qui est dû à un moindre développement des fœtus en fin de gestation (Canario *et al.*, 2014). Or, le développement du fœtus dépend des ressources qui lui sont fournies par sa mère au travers du placenta. Ainsi, le placenta joue un rôle primordial dans l'acquisition d'une bonne maturité des porcelets.

Afin de mieux comprendre les mécanismes de maturité des porcelets, nous avons étudié le métabolisme du placenta chez deux races porcines extrêmes : la Large White (LW) qui est une lignée européenne très productive et à forte mortalité périnatale et la Meishan (MS) qui est une lignée asiatique moins productive et plus robuste (Canario *et al.*, 2014). L'objectif de ce travail est d'identifier les voies métaboliques du placenta qui se développent en fin de gestation (comparaison de fœtus après 90 et 110 jours de gestation) et qui sont différentes entre les deux races. Ainsi les voies métaboliques activées chez les fœtus de race Meishan leur permettraient d'atteindre un meilleur état de maturité à la naissance.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental et collecte des échantillons de placenta

Les échantillons ont été prélevés dans le dispositif expérimental décrit par Canario *et al.* (2014). Quatorze truies LW et 14 truies MS ont été inséminées avec des semences mélangées de verrat LW et MS afin d'obtenir des portées mixtes (LWxLW et MSxLW pour les truies LW ; MSxMS et LWxMS pour les truies MS). Des césariennes ont été effectuées à 90 et 110 jours (j) de gestation et ont permis de collecter du placenta pour chacun des 224 fœtus étudiés.

1.2. Acquisition et traitements des spectres de résonance magnétique du proton (RMN)

Les échantillons de placenta ont été broyés sous azote liquide. Les métabolites hydrophiles ont été extraits à partir d'un mélange eau/méthanol/dichlorométhane et repris avec du tampon phosphate dans du D₂O. Des spectres de Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN) ont été acquis avec un spectromètre Bruker Advance DRX-600 (Bruker SA, Wissembourg, France) opérant à 600,13 MHz. Le pré-traitement des spectres a été effectué avec le package

PepsNMR intégré dans le package R « ASICS » (v.2.6.1). Puis la méthode de quantification relative ASICS (Lefort et al., 2019) nous a permis de quantifier 48 métabolites dans les échantillons de placenta.

1.3. 1.3. Analyses statistiques des métabolites du placenta

Les intensités des 48 métabolites ont été analysées par des méthodes multivariées supervisées de type PLS-DA (Partial Least Square Discriminant Analysis) avec le logiciel R (package ropls, v1.22.0). Ensuite, les métabolites importants pour caractériser une variable latente d'intérêt ont été sélectionnés avec le critère « variable importance en projection » (VIP) supérieur à 1. La covariation entre les quantités de métabolites (X) et les mesures phénotypiques (Y) ont été analysées par sPLS en mode régression (package MixOmics, v6.14.1).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Evolution du placenta entre 90 et 110 jours de gestation

La méthode PLS-DA a permis de bien séparer les échantillons de placenta prélevés aux deux dates de gestation selon la première variable latente (axe horizontal de la figure 1) qui explique 29 % de la variabilité totale. Vingt métabolites sont importants pour cet axe (VIP > 1), en particulier, 13 acides aminés, ainsi que le fructose, la créatine et le myo-inositol. L'abondance de ses métabolites évoluent donc dans le placenta entre 90 et 110 jours de gestation.

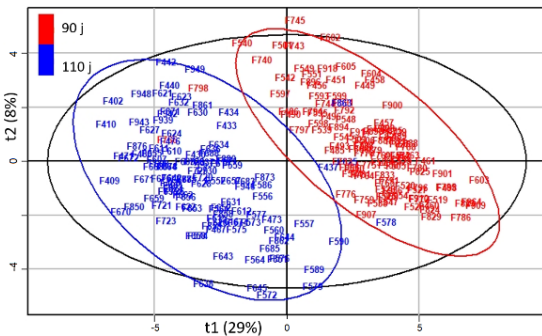


Figure 1 – Evolution des métabolites du placenta entre 90 (en rouge) et 110 jours de gestation (en bleu) selon la méthode PLS-DA

2.2. 2.2. Comparaison des génotypes des fœtus

Compte tenu des effets importants liés au jour de gestation, la comparaison du métabolisme dans le placenta en fonction des génotypes fœtaux a été menée séparément sur les échantillons prélevés à 90 j de gestation et ceux prélevés à 110 j. A 90 j (non représenté), comme à 110 j (Figure 2), les placentas des fœtus de race pure LWxLW et MSxMS sont séparés selon l'axe horizontal de la PLS-DA qui représente 16 % de la variabilité totale, alors que les fœtus croisés sont intermédiaires.

Au total, 19 et 21 métabolites sont importants (VIP > 1) pour définir cet axe, à 90 j et 110 j respectivement. Neuf métabolites

discriminent le génotype des fœtus aux deux temps de gestation. Il s'agit de la L-glycine et S-acetamidométhylcystéine plus présentes chez les MS que chez les LW, de l'acide nicotinique, plus présent chez les LW que chez les MS, et de la L-isoleucine, L-leucine, L-valine, acide vanillique, myo-inositol et D-fructose dont les concentrations relatives entre les MS et LW sont inversées entre 90 j et 110 j.

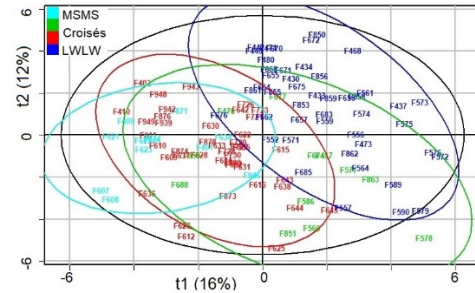


Figure 2 – Comparaison des quatre génotypes des fœtus (LWxLW, MSxMS et races croisées) à 110 j de gestation selon la méthode PLS-DA

En parallèle, la figure 3 illustre que les métabolites mesurés dans le placenta liés à la maturité sont bien corrélés aux phénotypes mesurés sur les fœtus. En particulier, la concentration de myo-inositol du placenta est négativement corrélée à l'indice de masse corporelle (IMC, $r = -0,4$) et positivement corrélée au ratio poids du cerveau sur poids corporel qui illustre un retard de croissance ($r = 0,4$).

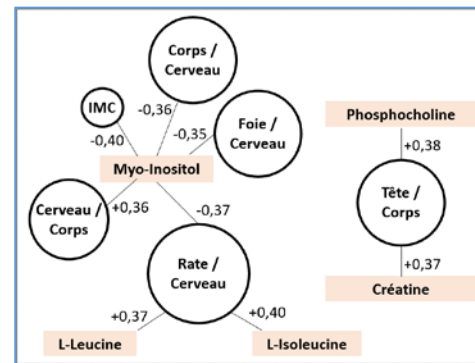


Figure 3 – Graphe biparti entre les métabolites (en rectangle) et les phénotypes (en cercle) des fœtus à 110 j de gestation
 IMC : indice de masse corporelle ;
 / : ratio entre les poids de deux organes

CONCLUSION

Cette étude a permis de mettre en évidence l'évolution du métabolisme du placenta en fin de gestation qui est un tissu primordial pour le développement des fœtus et l'acquisition de la maturité des porcelets. Elle a également permis d'identifier des métabolites placentaires plus présents chez les Meishan que chez les Large White qui pourraient être à l'origine de la meilleure maturité des fœtus Meishan.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Canario L., Père M.C., Quesnel H., Billon Y., Hebrard W., Riquet J., Mormède P., Liaubet L., 2014. Influences génétiques - Large White et Meishan - sur la fin du développement de fœtus purs et croisés de la même portée. Journées Rech. Porcine, 46, 25-30.
- IFIP, 2020. Bilan d'activités 2020 de l'IFIP, fiche 53, Analyse des pertes en maternité à partir de la GTTT.
- Lefort G., Liaubet L., Canlet C., Tardivel P., Père M. C., Quesnel H., Paris A., Iannuccelli N., Vialaneix N., Servien R., 2019. ASICS: an R package for a whole analysis workflow of 1D 1H NMR spectra. Bioinformatics, 35, 4356-4363.
- Sacy A., Le Treut Y., Schmidely P., Chevaux E., 2010. Caractérisation de l'immaturité des porcelets à la naissance. Journées Rech. Porcine, 259-260.