Variabilité génétique de l'axe corticotrope chez le Porc : mécanismes moléculaires et conséquences physiopathologiques

Pierre Mormède

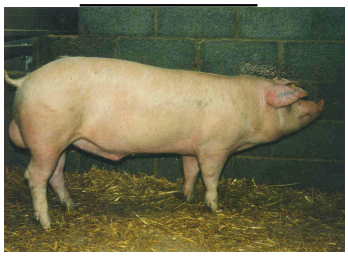
Laboratoire PsyNuGen - Neurogénétique et Stress

INRA UMR1243, CNRS UMR5226

Université Victor Segalen Bordeaux 2

mail Pierre.Mormede@bordeaux.inra.fr

Landrace

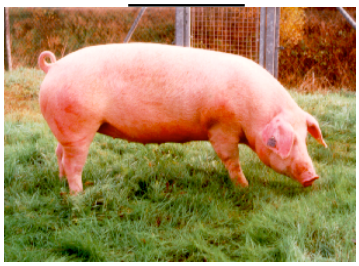


114 kg
189 days
601 gr/d

Large White

118 kg
194 days
605 gr/d.

Duroc



116 kg
193 days
599 gr/d.

Meishan

109 kg
197 days
556 gr/d.

TOTAL

113 Kg

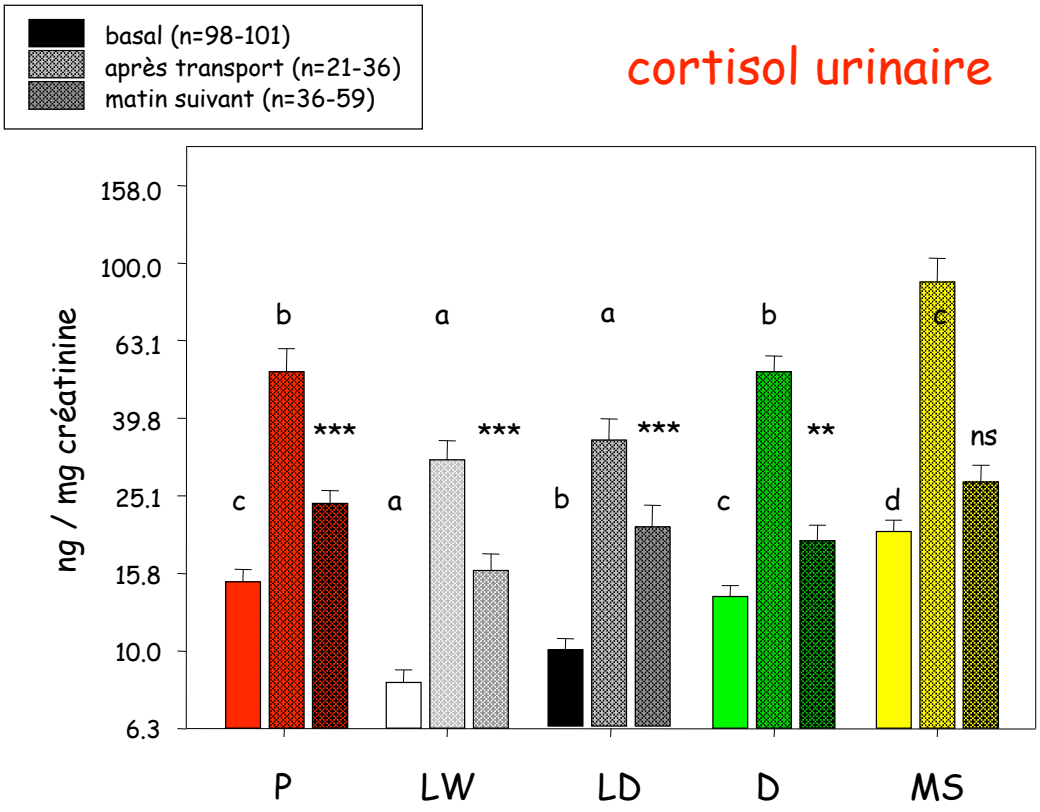
193 days

588 gr/d

Piétrain

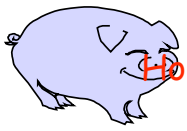
111 kg
192 days
576 gr/d.

Croissance et caractéristiques de carcasse



Corrélations intra-races
entre cortisol urinaire et adiposité

- Pourcentage de viande maigre *vs* cortisolurie basale
- Significatives chez le
  - Large White ($r = -0.21$, $P < 0.05$),
  - Landrace ($r = -0.25$, $P < 0.05$)
  - Meishan ($r = -0.26$, $P < 0.05$)
- Non significatives chez le
  - Piétrain ($r = 0.03$, $P > 0.05$)
  - Duroc ($r = -0.05$, $P > 0.05$)

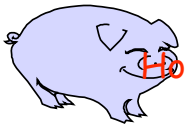


Hormones urinaires, composition corporelle et qualité de la viande

	AD	NA
Cortisol	.42 ****	.15 *
Adrénaline (AD)		.55 ****
Noradrénaline (NA)		

- La corrélation entre adrénaline et noradrénaline montre que les deux composantes du système nerveux autonome sont activés ensemble
- La corrélation entre le cortisol el l'adrénaline (mais peu avec la noradrenaline) montre que le cortex (cortisol) et la medulla (adrénaline) surrénaliennes sont co-activés

F2 Duroc x Large White (n = 312)
Foury et al. Meat Science 69:703, 2005



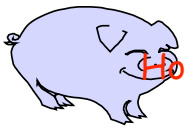
Hormones urinaires, composition corporelle et qualité de la viande

	AD	NA	pH-AF
Cortisol	.42 ****	.15 *	.04
Adrénaline (AD)		.55 ****	.27 ****
Noradrénaline (NA)			.24 ****

pH-AF = pH24 *adductor femoris*

- Les niveaux de **catécholamines** sont corrélés positivement avec le pH de la viande mesuré 24 heures après l'abattage. L'activation sympathique avant l'abattage augmente la glycogénolyse musculaire et ainsi réduit la production d'acide lactique post-mortem (lequel est responsible de l'acidification de la viande)

F2 Duroc x Large White (n = 312)
Foury et al. Meat Science 69:703, 2005



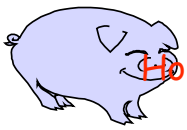
Hormones urinaires, composition corporelle et qualité de la viande

	AD	NA	pH-AF	TVM	LIM
Cortisol	.42 ****	.15 *	.04	-.24 ****	.02
Adrénaline (AD)		.55 ****	.27 ****	-.29 ****	.07
Noradrénaline (NA)			.24 ****	-.07	-.07

pH-AF = pH24 *adductor femoris*
TVM = taux de viande maigre %
LIM = lipides intramusculaires %

-Les niveaux de **cortisol** sont corrélés positivement avec les mesures d'adiposité. Cette corrélation reflète les effets métaboliques du cortisol qui favorise l'accumulation de graisse aux dépens des protéines du muscle et d'autres tissus
- La corrélation entre **adrénaline** et adiposité résulte probablement de sa corrélation avec la sécrétion de cortisol

F2 Duroc x Large White (n = 312)
Foury et al. Meat Science 69:703, 2005



Hormones urinaires, composition corporelle et qualité de la viande

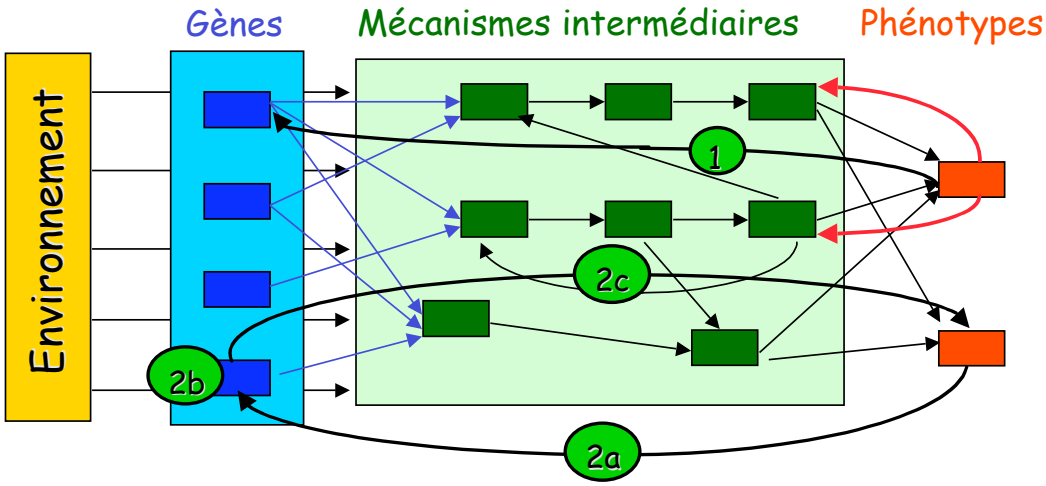
	AD	NA	pH-AF	TVM	LIM
Cortisol	.42 ****	.15 *	.04	-.24 ****	.02
Adrénaline (AD)		.55 ****	.27 ****	-.29 ****	.07
Noradrénaline (NA)			.24 ****	-.07	-.07

pH-AF = pH24 *adductor femoris*
TVM = taux de viande maigre %
LIM = lipides intramusculaires %

- L'absence de corrélation entre les concentrations hormonales urinaires et le niveau des lipides intramusculaires montre que ce compartiment métabolique est soumis à une régulation différente de celle des autres tissus adipeux

F2 Duroc x Large White (n = 312)
Foury et al. Meat Science 69:703, 2005

Des gènes aux phénotypes
concepts et stratégies de recherche

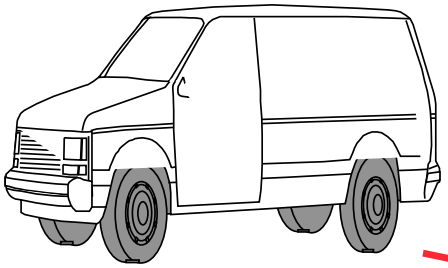


1. Pathophysiologie différentielle et gènes candidats
2. Génétique moléculaire (locus à effet quantitatif)

Génétique moléculaire
Exemple des porcs Large White et Meishan

Protocole expérimental

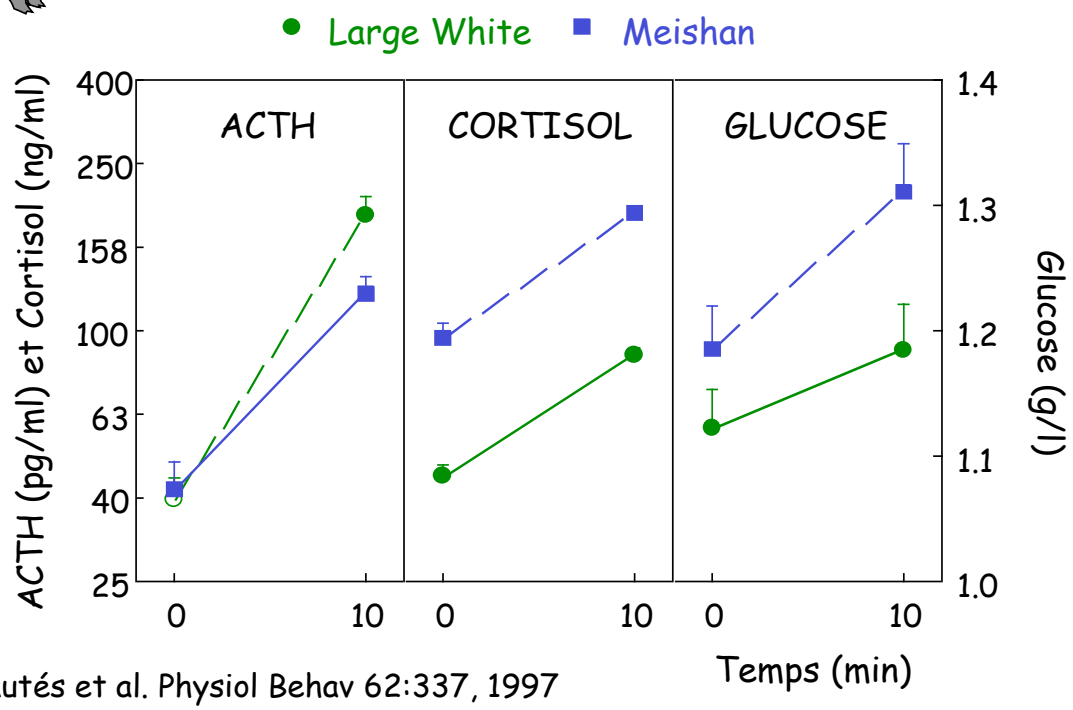
porcelets âgés de 6 semaines
mâles et femelles



Observation comportementale
pendant 10 minutes
locomotion
exploration
grognements
cris
défécations

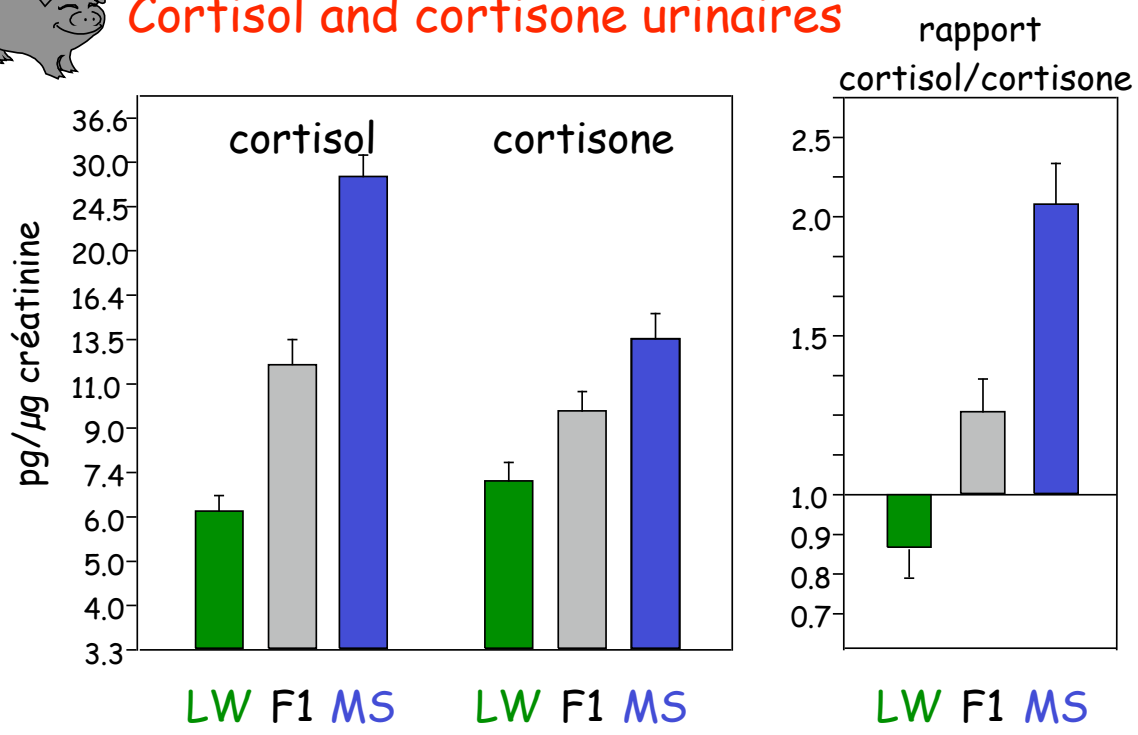
Prise de sang jugulaire avant (niveaux de base)
et après (réponse au stress) l 'exposition à l 'environnement nouveau
ACTH - cortisol - glucose

races parentales : paramètres biologiques



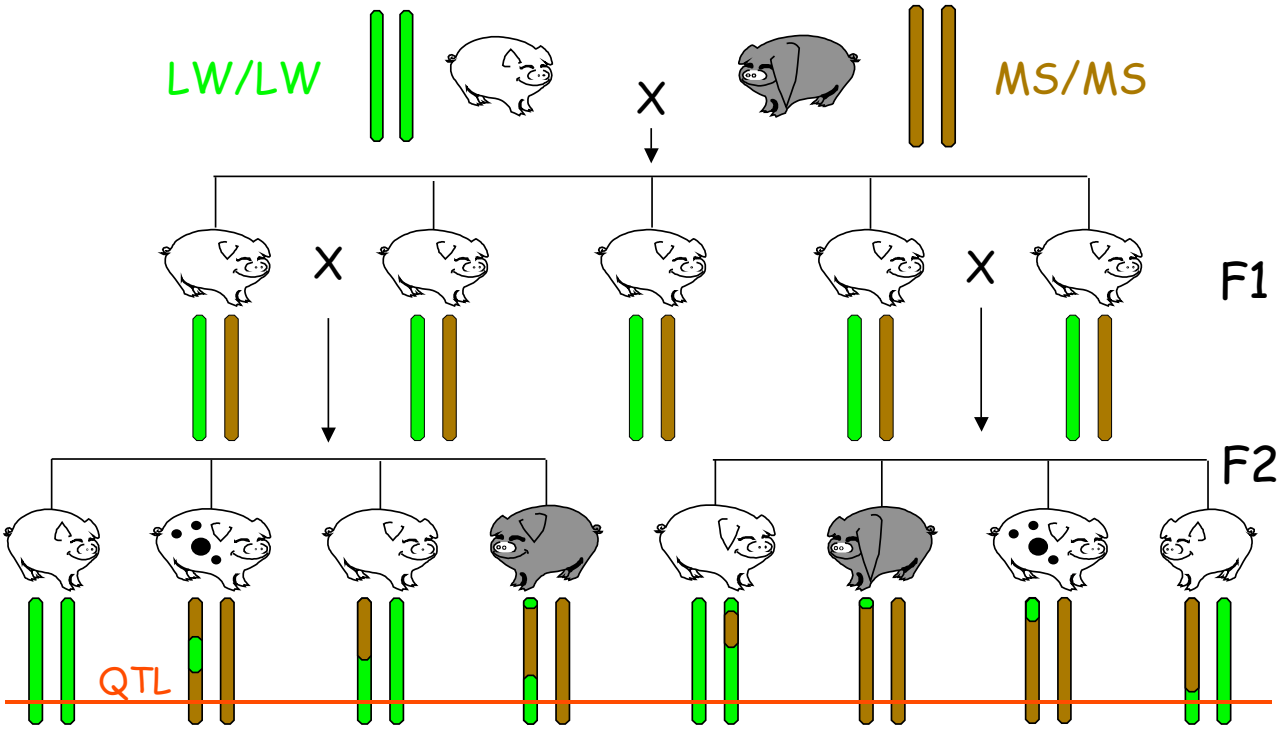
Désautés et al. Physiol Behav 62:337, 1997

Cortisol and cortisone urinaires



Hay et Mormède Vet Res 29:119, 1998

Cartographie de QTL (Quantitative Trait Locus)

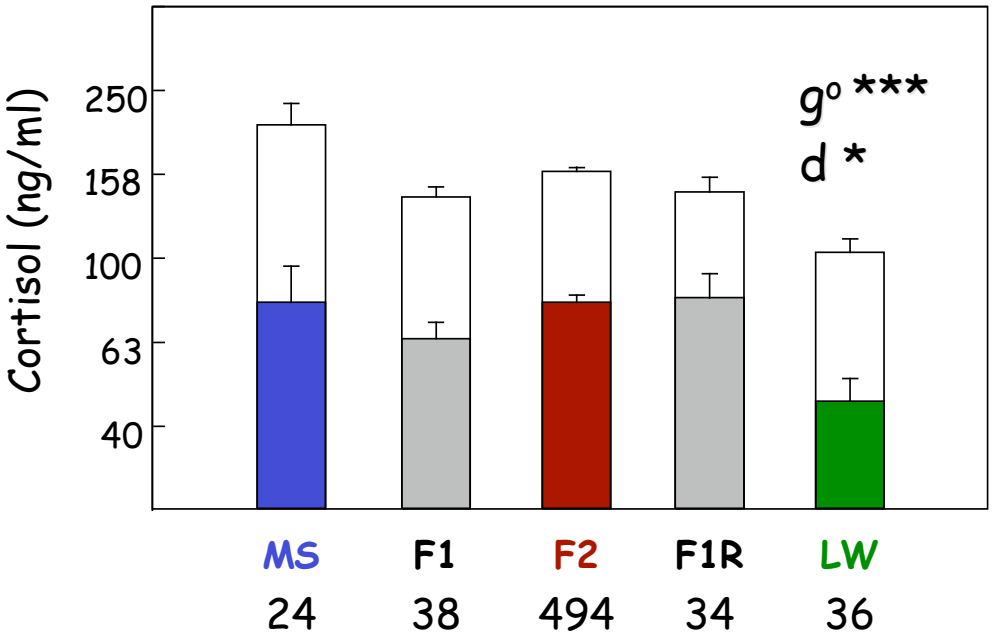


Recherche de locus à effet quantitatif

QTL Quantitative Trait Loci

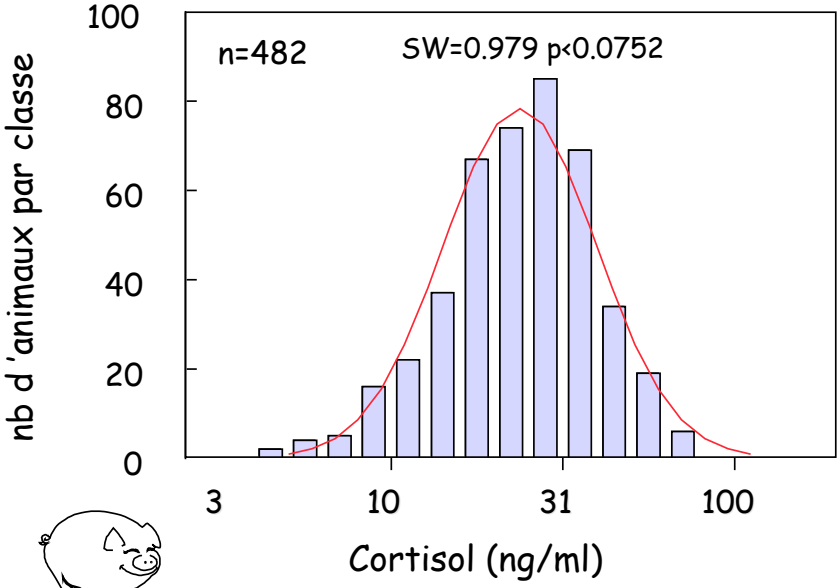
- Un QTL est un locus chromosomique
  qui influence un trait quantitatif
- Protocole d 'étude
  - sélectionner deux génotypes qui diffèrent pour le(s) trait(s) étudié(s)
    MEISHAN vs. LARGE WHITE
  - produire une population ségrégeante (F2, backcross)
  - phénotyper les animaux
  - les génotyper avec des marqueurs polymorphes
  - rechercher les corrélations entre traits et marqueurs

Analyse génétique : cortisol plasmatique



Désautés et al. Physiol Behav 62:337, 1997

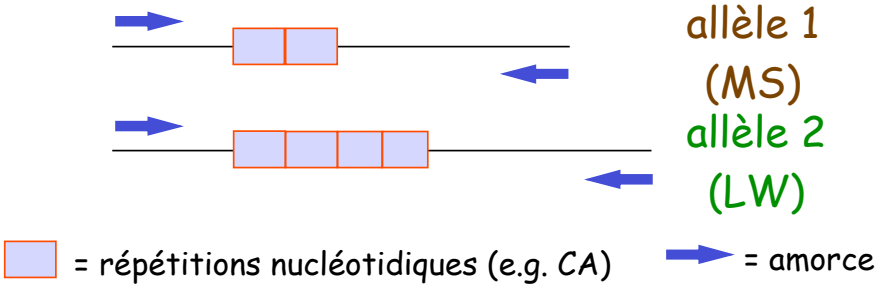
F2 : étude de distribution

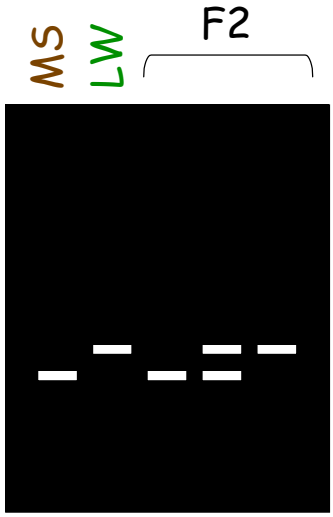


La distribution gaussienne des valeurs de cortisolémie chez les F2 suggère l 'intervention de plusieurs gènes

génotypage par microsatellites

- microsatellites



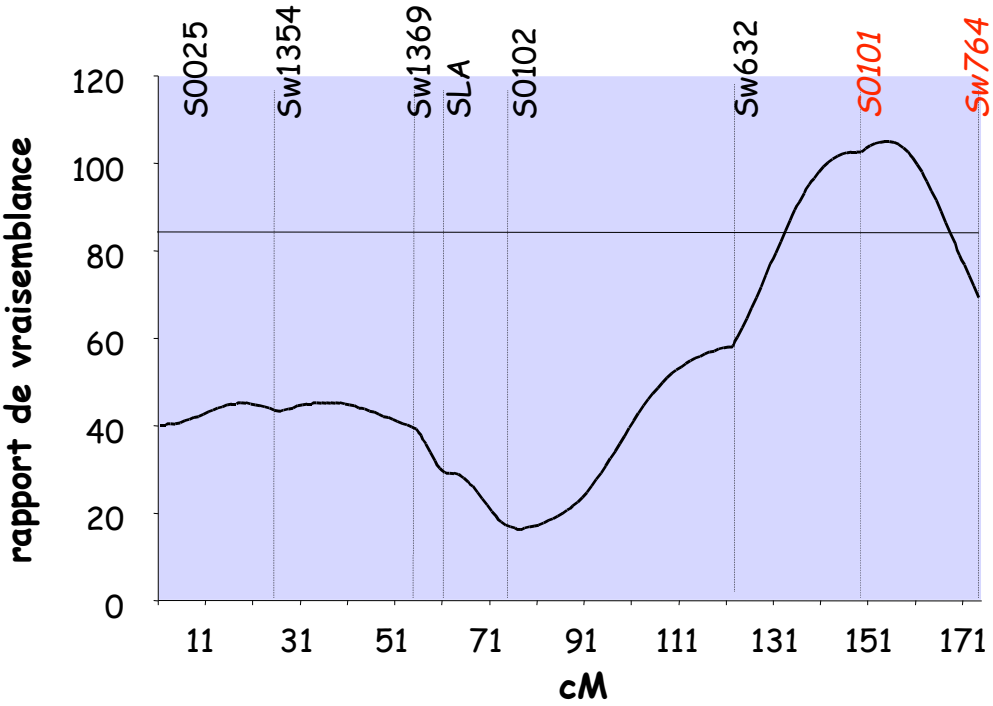


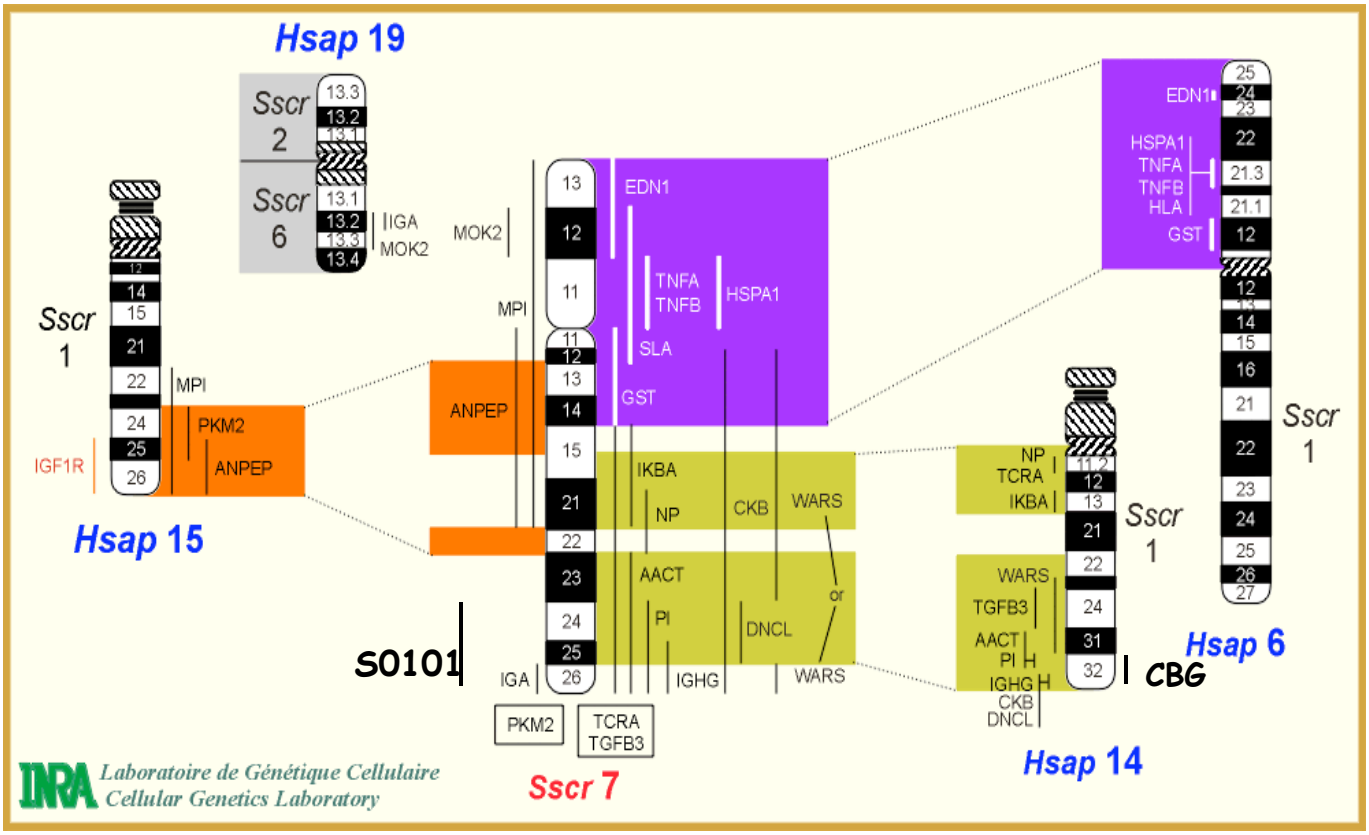
- génotypage

Détection des allèles de chaque microsatellite présent chez chaque F2

PCR + électrophorèse sur gel

Analyse de liaison : chromosome 7
cortisolémie post-stress





Cbg gène candidat de position et de fonction

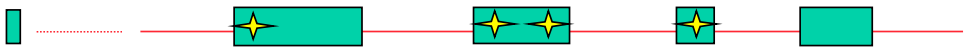
Cbg, gène candidat

- Localisation du gène *Cbg* en 7q26
  - Obtention d'un ADNc et d'un clone génomique du gène porcin
  - FISH: hybridation in situ sur étalement de chromosomes
  - Cartographie sur hybrides irradiés
- Etude des propriétés de la CBG dans les races parentales
  - Capacité de liaison plus élevée chez le Meishan (x 3)
  - Concentration en ARN messager (foie) x 2
- Etudes de liaison CBG - cortisol - gras dans la population F2
- Recherche de polymorphismes

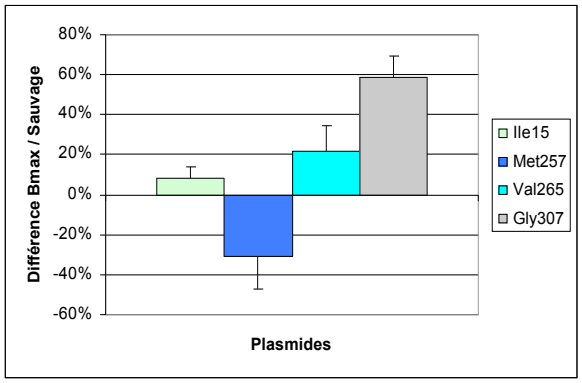
Polymorphismes du gène *Cbg* porcin

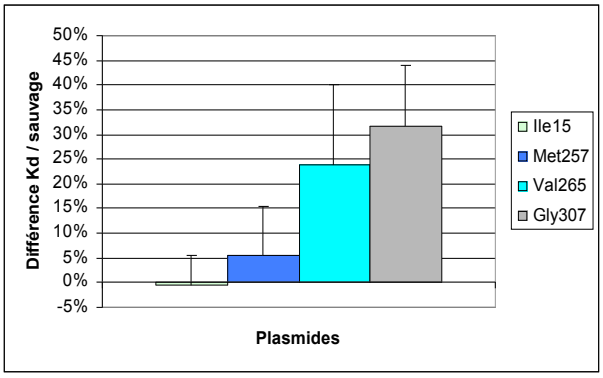
Race	n°	Haplotype																	Occur /12
		e	x	o	n	2	e	x	o	n	3	i	n	3	ex4	e	x	5	
position		133	134	539	620	626	859	866	882	890	960	i+40	i+47	i-58	1008	1220	1436	1445	
Large White	1	G	C	C	A	G	C	T	A	G	C	T	C	C	A	T	C	C	7
	2					A													2
	3					A									G				1
	4		T	T				C	G	C				T	G				2
Meishan	5	G	C	C	G	G	T	C	G	C	T	C	T	C	G	C	T	G	3
	6															T	C		1
	7															T	C	C	4
	8						C			G	C								1
	9						C			G	C		C	T		T	C	C	2
	10	T			A		C			G	C					T	C	G	1
		*					*		*						*				
		S					T		I						G				
		15					257		265						307				
		I					M		V						R				

RECHERCHE DE MUTATIONS CAUSALES



S15I T257M I265V G307R





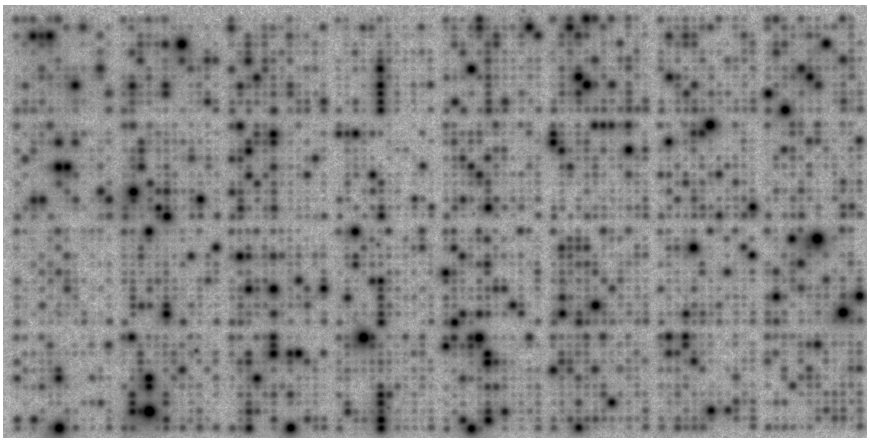
Guyonnet-Duperat et al., Genetics, 2006

Physiopathologie différentielle
Réactivité de la glande surrénale à l'ACTH

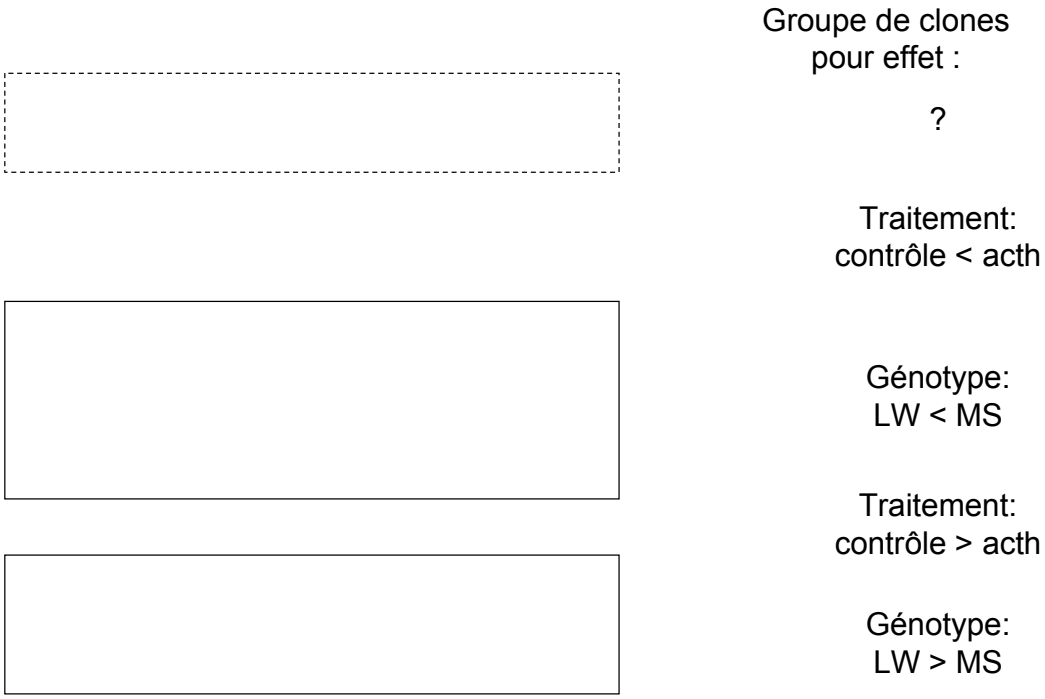
- Caractéristique d'un individu
  - Homme: 'Adrenal phenotype'
    (Bertagna *et al.* 1994 ; Coste *et al.* 1994)
  - Porc (Hennessy *et al.* 1988)
- Héritable
  - h2 = 0,26 ; données obtenues par analyse de demi-frères dans 357 portées issues de 24 verrats (D.P. Hennessy)
  - Sélection divergente
    - Chez le poulet (Edens et Siegel, 1975)
    - Chez la truite, stress de confinement (Pottinger et Carrick, 1999)

Expression génétique dans les glandes surrénales

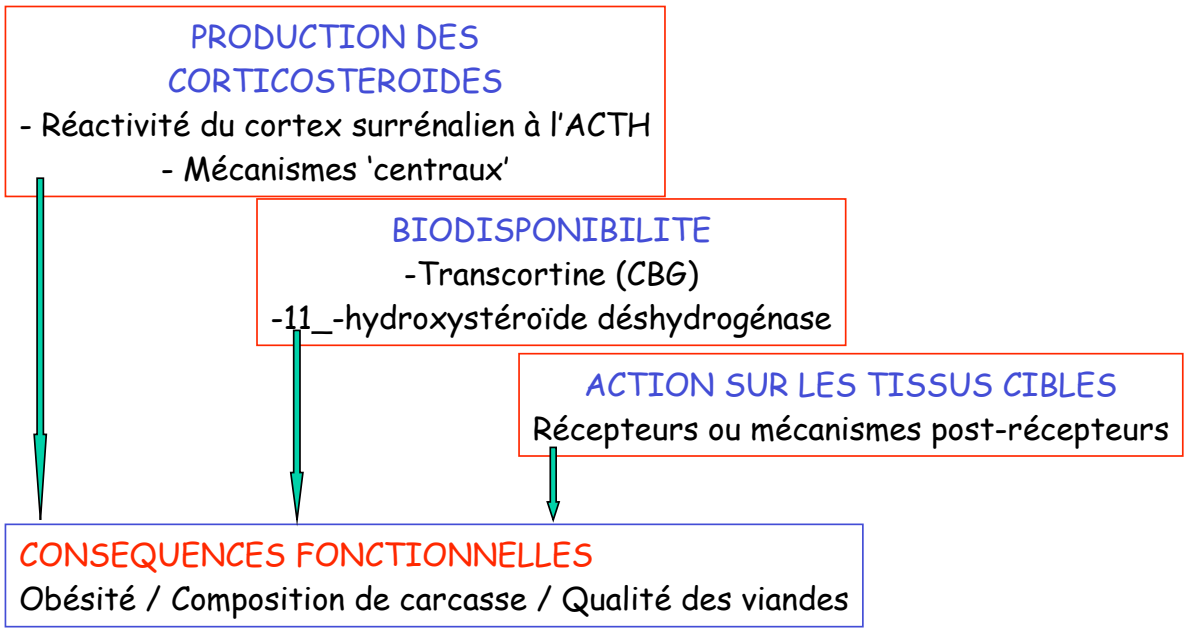
- Large White / Meishan - Contrôle / ACTH
- Prélèvement des surrénales, extraction des ARN
- Hybridation sur membrane nylon générique (9216 clones)



Classification ascendante hiérarchique sur les 73 clones sélectionnés:
(partition des individus et des variables en classes, en calculant les distances de corrélation entre gènes et les distances entre individus)



Variabilité génétique de l'axe corticotrope



Participants

- Neurogénétique et Stress, Bx
  - Marie-Pierre Moisan
  - Céline Désautés (thèse)
  - Virginie Perreau (thèse)
  - Véronique Guyonnet-Dupérat
  - Olga Ousova (thèse)
  - Nicoline Geverink (post-doc)
  - Dominique Hazard (post-doc)
- PIC/Sygen
  - Graham Plastow
  - Gary Evans
- Contrat Européen
  Quality Pork Genes

- SGQA, Jouy-en-Josas
  - Jean-Pierre Bidanel
- LGC, Auzeville
  - Denis Milan
  - Nathalie Iannucelli
  - François Hatey et al.
- Domaine expérimental du Magneraud
  - Jean-Claude Caritez
  - Yvon Billon