



**HAL**  
open science

## Impact de l'enrichissement du milieu de vie des truies gestantes sur leur comportement et la réponse transcriptionnelle de leurs cellules immunitaires sanguines

Mariana Mescouto Lopes, Caroline Clouard, Jennifer Chambeaud, Manon Brien, Nicolas Villain, Camille Gerard, Frédéric Herault, Annie Vincent, Isabelle Louveau, Rémi Resmond, et al.

### ► To cite this version:

Mariana Mescouto Lopes, Caroline Clouard, Jennifer Chambeaud, Manon Brien, Nicolas Villain, et al.. Impact de l'enrichissement du milieu de vie des truies gestantes sur leur comportement et la réponse transcriptionnelle de leurs cellules immunitaires sanguines. 55. Journées de la Recherche Porcine (JRP), Ifip; INRAE, Jan 2023, Saint Malo, France. pp.39-44 | 661, 10.1016/j.anscip.2023.06.012 . hal-04003547

HAL Id: hal-04003547

<https://hal.inrae.fr/hal-04003547>

Submitted on 24 Feb 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License



# Impact de l'enrichissement du milieu de vie des truies gestantes sur leur comportement et la réponse transcriptionnelle de leurs cellules immunitaires sanguines

Mariana Mescouto LOPES (1), Caroline CLOUARD (1), Jennifer CHAMBEAUD (1), Manon BRIEN (1), Nicolas VILLAIN (2), Camille GERARD (2), Frédéric HÉRAULT (1), Annie VINCENT (1), Isabelle LOUVEAU (1), Rémi RESMOND (3), Elodie MERLOT (1)

(1) PEGASE, INRAE, Institut Agro, 35590 Saint-Gilles, France

(2) Chambre Régionale d'Agriculture Bretagne (CRAB), 35042 Rennes, France

(3) IGEPP, INRAE, Institut Agro, Université de Rennes 1, 35653 Le Rheu, France

elodie.merlot@inrae.fr

Avec la collaboration de Raphaël COMTE, Carole GUERIN, Frédérique MAYEUR-NICKEL, Françoise THOMAS et Patrick TOUANEL (PEGASE, INRAE), Hélène JAMMES (BREED, INRAE), Aurore CONNAN et Philippe LIRZIN (ferme de Crécom, CRAB)

## Impact de l'enrichissement du milieu de vie des truies gestantes sur leur comportement et la réponse transcriptionnelle de leurs cellules immunitaires sanguines

Cette étude visait à déterminer si la mesure de l'expression des gènes dans les cellules immunitaires sanguines peut être utilisée pour révéler l'influence positive pour le bien-être des truies d'un enrichissement environnemental sur le long terme. Des truies de rangs de portée allant de 0 à 6 ont été logées dans deux conditions contrastées jusqu'à 105 jours de gestation : un système conventionnel sur caillebotis (C, n = 36) ou un système enrichi sur paille accumulée avec plus de surface par truie (E, n = 34). Des truies de rangs de portée bas et élevé ont été sélectionnées pour l'échantillonnage biologique (14 par système). La concentration de cortisol dans la salive, collectée aux jours de gestation G35 et G98, et dans les soies, collectées à G98, était plus basse chez les truies E que C ( $P = 0,01$  et  $P = 0,04$ ). Entre G99 et G104, les truies E ont passé plus de temps à explorer la case, mais moins de temps à mastiquer les chaînes ou exprimer des comportements stéréotypés autocentrés que les truies C ( $P < 0,01$ ). Les truies E présentaient moins de comportements sociaux négatifs ( $P = 0,04$ ) et, dans une moindre mesure, une fréquence plus basse de flairages sociaux ( $P = 0,07$ ). A G98, le séquençage haut débit du transcriptome des cellules mononucléées sanguines a permis d'identifier 164 gènes différemment exprimés, ayant trait au collagène et à l'organisation de la matrice extracellulaire, à la réponse cellulaire au facteur de croissance transformant bêta (TGF-beta), au contrôle de l'apoptose et à la glycolyse / gluconéogenèse. Ces résultats confirment que l'enrichissement sur le long terme influence positivement le bien-être des truies et montrent qu'il a un impact limité sur le transcriptome sanguin.

## Impact of environmental enrichment of pregnant sows on their behavior and the transcriptional response of their blood immune cells

This study aimed to determine whether measuring gene expression in immune cells can be used to reveal the positive influence on the well-being of long-term environmental enrichment of sows. Pregnant sows of mixed parities (0-6) were housed in two contrasting conditions throughout gestation (105 days): a conventional system on a slatted floor (C, n = 36) or an enriched system on accumulated straw with additional space per sow (E, n = 34). Then, sows of low and high parity were selected for biological sampling (14 per system). Cortisol concentrations in saliva, measured on days of gestation G35 and G98, and in the hair on day G98, were lower in E sows ( $P = 0.01$  and  $P = 0.04$ ). From G99 to G104, E sows spent more time exploring the pen, but less time chewing the chain or exhibiting self-centered stereotypic behaviors ( $P < 0.01$ ). E sows had lower frequencies of negative social behaviors ( $P = 0.04$ ) and, to a lesser extent, lower frequencies of social nosing ( $P = 0.07$ ). On day G98, high-throughput sequencing of the blood mononuclear cell transcriptome identified 164 differentially expressed genes related to collagen and organization of the extracellular matrix, cellular response to transforming growth factor beta (TGF-beta), apoptosis control, and glycolysis/gluconeogenesis. These results confirm that long-term environmental enrichment positively influences sow behavior and show that it has a small impact on the blood transcriptome.

## INTRODUCTION

La préoccupation croissante des consommateurs en matière de bien-être animal ces dernières années encourage à modifier le système de production porcine (Grunert *et al.*, 2018). En particulier, les systèmes intensifs exposent les animaux à des conditions de logement pauvres, limitant la possibilité d'exprimer leurs comportements naturels sociaux et non sociaux (Beattie *et al.*, 2000). L'enrichissement environnemental est alors un moyen permettant d'améliorer le bien-être des animaux. Cet enrichissement repose sur des modifications des environnements de captivité par l'utilisation de substrats de fouissage, de matériaux à manipuler, d'espaces de vie plus grands, d'accès à l'extérieur ou à des partenaires sociaux (Godry *et al.*, 2019). Plusieurs études ont démontré que la fourniture d'un enrichissement a un impact positif sur le comportement des porcs (Luo *et al.*, 2020), ainsi que sur leur réponse immunitaire à un challenge infectieux (Van Dixhoorn *et al.*, 2016).

Chez l'humain, des études ont montré que le stress psychosocial et le bonheur ont des effets opposés sur les profils d'expression génique des cellules sanguines. Dans les situations stables de mal-être, l'expression des gènes pro-inflammatoires est accrue et celle des gènes liés à la réponse anti-inflammatoire et antivirale est réduite dans les cellules immunitaires du sang (Cole, 2019). En d'autres termes, le transcriptome sanguin semble refléter l'état émotionnel et pourrait être utilisé pour révéler des états émotionnels positifs ou négatifs. Cependant, aucune étude n'a encore testé si le transcriptome sanguin pourrait être utilisé comme outil d'évaluation des états émotionnels chez les animaux d'élevage.

Dans la présente étude, nous avons comparé des truies logées pendant la gestation dans des systèmes d'enrichissement contrastés (sur paille et sur caillebotis) afin de générer des états de bien-être bien différenciés. L'impact de l'enrichissement environnemental a été évalué par des mesures de cortisol et de comportement, et nous avons recherché dans le transcriptome sanguin les différences qui y étaient associées.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Dispositif expérimental

L'expérience a été réalisée dans la ferme expérimentale de la Chambre Régionale d'Agriculture de Bretagne (CRAB) à Crécom (Saint-Nicolas-du-Pélem, France), et a été approuvée par le Comité Régional d'Éthique en Expérimentation Animale n° 007 et par le Ministère français de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (APAFIS#27038-2020090315423669 v2). Des truies gestantes Landrace x Large White de divers rangs de portée (zéro à six) ont été logées en groupe, du sevrage précédent jusqu'à 105 jours de gestation, dans deux environnements contrastés, soit conventionnel, soit enrichi. La salle conventionnelle (C) présentait un sol en caillebotis de béton avec une surface minimum de 2,4 m<sup>2</sup> par truie, et la salle enrichie (E) disposait d'une litière de paille profonde et de plus de surface par truie (3,5 m<sup>2</sup>). Les truies étaient nourries individuellement par un système de distribution automatique. L'essai a été réalisé en deux répétitions avec un total de 37 truies en répétition 1 et 33 en répétition 2, dont 28 communes aux deux répétitions (C = 36 et E = 34). Parmi celles-ci, 28 truies de rang de portée supérieur ou égal à 1 ont été sélectionnées pour l'échantillonnage biologique (sept par environnement et

par répétition, aucune truie n'étant commune aux deux répétitions). A 105 jours de gestation (G105), elles ont été transférées dans des cases de mise-bas individuelles sur un sol en caillebotis. La gestion des animaux et l'alimentation pendant toute la gestation et le sevrage étaient similaires entre les groupes.

### 1.2. Mesures zootechniques

A G105, les truies ont été pesées, et les épaisseurs de gras et de muscle dorsaux ont été mesurées à l'aide d'un appareil IMAGO (ECM, Angoulême, France). Les nombres de porcelets nés totaux et nés vivants ont été enregistrés.

### 1.3. Mesure du cortisol

Des échantillons de salive ont été prélevés à G35 et G98 et ont été conservés à -20°C jusqu'à l'analyse en simple du cortisol, à l'aide d'un kit de dosage immunologique par luminescence (IBL International GMBH, Hambourg, Allemagne).

Des échantillons de soies ont été prélevés dans la zone dorsale du cou à G98 et conservés à -20°C. Les soies ont été lavées, réduites en poudre. Le cortisol a été extrait comme décrit précédemment (Prims *et al.*, 2019) et a été dosé en triplicat en utilisant le même kit que pour le cortisol salivaire.

### 1.4. Mesures comportementales

Entre G99 et G104, les truies, identifiées par un numéro peint sur le dos, ont été filmées en continu (7h – 19h) et les comportements ont été relevés à G99, G101 et G103. L'activité comportementale (inactivité, exploration de la case, stéréotypie, mastication de la chaîne, marche, alimentation ou autres) et la posture (debout, assise ou couchée) de chaque truie ont été relevées toutes les 10 minutes par « scan sampling » pendant 6 heures par jour (10h-16h). Les interactions agonistiques (morsure, menace, poursuite, déplacement ou évitement) et les interactions sociales positives (flairage bref de la tête, du groin et du corps d'une congénère, toilettage d'une congénère, poussées légères du groin) ont été relevées en continu pendant 3 heures par jour (10h-13h).

### 1.5. Isolement des cellules sanguines

Des échantillons de sang ont été prélevés dans la veine cave antérieure à G98 sur trois tubes EDTA de 10 mL. Le nombre total et le pourcentage de lymphocytes, de monocytes et de granulocytes ont été mesurés à l'aide d'un compteur automatique d'hématologie MS-9® (Laboratoires Melet Schloesing, Osny, France). Pour isoler les cellules mononuclées périphériques du sang (PBMC), 9 mL de sang EDTA ont été dilués au demi dans du tampon PBS, déposés sur 3 mL de ficoll (Histopaque 1077, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin-Fallavier, France) et centrifugés pendant 30 minutes à 400 g. Les cellules à l'interphase ont été recueillies, lavées et les globules rouges restants ont été lysés par une incubation de 8 minutes dans une solution hypotonique. Après deux lavages, les PBMC ont été remis en suspension dans un tampon de lyse (Macherey Nagel, Düren, Allemagne) et conservés à -80°C jusqu'à l'analyse du transcriptome par RNA-Seq.

### 1.6. Isolement des ARNs, préparation des banques et séquençage

Les ARNs des échantillons de PBMC ont été isolés à l'aide du kit ARN NucleoSpin selon les recommandations du fabricant

(Macherey-Nagel). Les concentrations ont été mesurées avec un nanospectrophotomètre DS-11 (Denovix, Wilmington, USA), et la qualité a été vérifiée à l'aide du BioAnalyseur Agilent 2100 (Agilent Technologies, Massy, France). Le nombre d'intégrité de l'ARN (RIN) était supérieur à 7,2 pour tous les échantillons. Puis, 500 ng d'ARN total ont été utilisés pour la préparation des banques selon le protocole QIAseq Stranded mRNA Library Kit (Qiagen) et quantifiés par fluorescence avec le Quant-iT dsDNA High Sensitivity Assay Kit (ThermoFisher). Le séquençage et l'analyse des séquences ont été réalisés par la plateforme Génome Transcriptome de Bordeaux (INRAE). Le séquençage (paired-end) a été réalisé sur un séquenceur Illumina NextSeq 2000. Le contrôle qualité et l'alignement ont été réalisés avec le logiciel Dragen RNA v3.8.4. L'alignement a été effectué sur la dernière version du génome de référence porcin (Sscrofa11.1).

### 1.7. Bioinformatique et analyse statistique des expressions géniques

Les analyses bioinformatiques ont été réalisées avec le logiciel R (v. 4.1.2 ; R Core Team, 2022). L'annotation des gènes a été extraite de la base de données 'sscrofa\_gene\_ensembl' à l'aide du package R "biomaRt" en se basant sur la dernière version d'assemblage du génome de référence porcin (Sscrofa11.1). Les données d'expression ont été normalisées avec la méthode "trimmed mean of M-values" (TMM). Les gènes faiblement exprimés (TMM < 0,01) et les gènes non présents dans au moins 75 % des échantillons par groupe de traitement ont été exclus. L'analyse de l'expression différentielle des gènes a été réalisée à l'aide du package DESeq2, en appliquant les filtres DESeq2, la fonction de test nbinomWaldTest, et en incluant les groupes (C et E) et le rang de portée (trou impliquée dans la deuxième ou troisième gestation : rang de portée bas ; trou avec un rang de portée > 4 : rang de portée élevé) comme effets fixes.

Pour la suite des analyses, nous avons considéré que les gènes étaient exprimés de manière différentielle (DEG) entre les groupes E et C si le contraste entre ces deux groupes présentait une valeur de P corrigée par la méthode de Benjamini-Hochberg < 0,25 et si le rapport d'expression (fold-change = FC de E par rapport à C) était > 1,2 ou < 0,8. L'analyse d'enrichissement des DEG a été réalisée avec la ressource bioinformatique DAVID (v2022q2, <https://david.ncicrf.gov/>) en utilisant les termes « Biological process » de l'ontologie des gènes (GO) et les voies biologiques de la base de données KEGG. Seuls les termes annotant au moins trois DEG ont été retenus.

### 1.8. Analyse statistique des données zootechniques, sanguines, salivaires et comportementales

Les données des 28 truies multipares utilisées pour le transcriptome ont été analysées avec le package lme4 de R. Tous les modèles comprenaient les effets du système (C ou E) du rang de portée (bas ou élevé) et de l'interaction système x rang de portée, ainsi que la répétition comme effet aléatoire. La fonction glmer a été utilisée pour analyser le nombre de porcelets nés en utilisant la distribution de Poisson avec une fonction de lien logarithmique. Les autres données ont été analysées par ANOVA en utilisant la fonction lmer. Pour le cortisol salivaire, un modèle à mesures répétées avec le système, le rang de portée et les dates comme effets fixes, et la truie et la répétition comme effets aléatoires a été utilisé. Les différences ont été considérées comme significatives si  $P < 0,05$ .

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

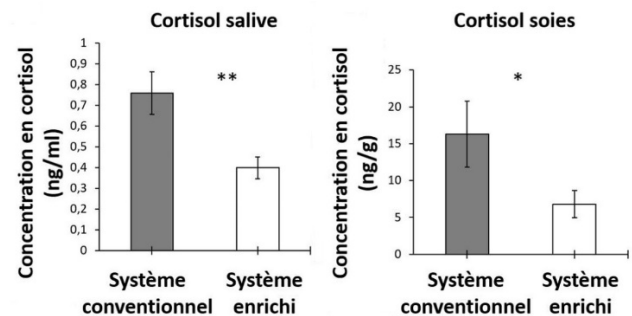
### 2.1. Performance des truies

La durée de gestation, l'épaisseur du gras dorsal et du muscle dorsal et le poids à G105 ne différaient pas entre les systèmes ( $P > 0,05$ ). De même, les nombres de porcelets nés, nés vivants et nés morts étaient similaires dans les deux systèmes ( $P > 0,05$ ). Le poids de la portée à la naissance ne différait pas selon le traitement ou le rang de portée ( $P > 0,05$ ).

### 2.2. Cortisol

Les concentrations en cortisol dans la salive et les soies étaient plus faibles chez les truies E (Figure 1 ;  $P < 0,01$  et  $P = 0,04$ , respectivement), sans différence significative entre les dates d'échantillonnage pour la salive (G35 et G98 ;  $P > 0,1$ ) ni entre les rangs de portée pour la salive et les soies ( $P > 0,1$ ). Les interactions jour x système et système x parité n'étaient pas significatives ( $P > 0,1$  pour les deux interactions).

Ces résultats sont en accord avec Merlot *et al.* (2019 et 2022), où une concentration en cortisol salivaire plus faible a été observée à différents moments de la gestation chez les truies logées dans le système enrichi. Le cortisol salivaire est souvent utilisé pour mesurer le stress chronique, bien qu'il soit fortement influencé par le rythme circadien et les facteurs de stress aigus (Ruis *et al.*, 1997). Comme le cortisol s'accumule dans les poils au fil du temps (Casal *et al.*, 2017), ceux-ci peuvent être une meilleure matrice pour l'évaluation du stress chronique, ce que les résultats présents valident pour les truies.



**Figure 1** – Concentration de cortisol dans la salive (G35 + G98) et les soies (G98) de truies gestantes logées en environnement conventionnel ou enrichi.

### 2.3. Cellules sanguines

Le nombre total de leucocytes était influencé par la parité ( $P = 0,01$ ) mais pas par le système ( $P > 0,1$ ), les animaux de rang de portée bas présentant un nombre plus élevé de leucocytes totaux, en raison d'un nombre plus élevé de lymphocytes. Il n'y avait pas de différences significatives dans le nombre de granulocytes neutrophiles ( $P > 0,1$ ), contrairement aux études précédentes, dans lesquelles les truies E présentaient un nombre plus faible de granulocytes (Merlot *et al.*, 2017 ; Merlot *et al.*, 2022). L'élévation des granulocytes, dont on sait qu'elle est due à une sécrétion élevée de cortisol (Dhabhar *et al.*, 1995), révélait une situation de stress chronique chez les truies C. Le système et l'interaction système x rang de portée n'étaient significatifs ( $P > 0,05$ ) pour aucune variable sanguine.

### 2.4. Comportement des truies

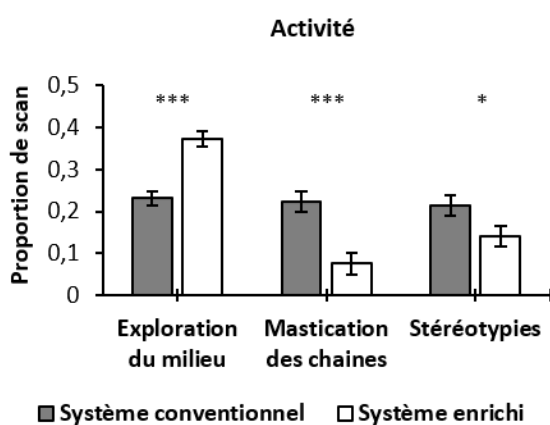
Le système de logement avait un impact sur l'activité des truies comme le montre la figure 2. Les truies E passaient plus de temps à explorer la case ( $P < 0,001$ ), mais moins de temps à

explorer les chaînes métalliques ( $P < 0,001$ ), et présentaient moins de stéréotypies autocentrées ( $P = 0,04$ ). Selon Bench *et al.* (2013), les stéréotypies sont considérées comme un signe de frustration, et il a été démontré que l'enrichissement de l'environnement les réduit. De plus, l'augmentation de la surface allouée et la fourniture de paille stimulent le comportement exploratoire chez les truies E, ce qui est considéré comme positif pour leur bien-être.

Les interactions sociales étaient également affectées par le système de logement. La fréquence des interactions sociales négatives était plus faible dans le groupe E que dans le groupe C ( $P = 0,04$ ). Remience *et al.* (2008) ont montré que les interactions agressives sont réduites avec un espace plus grand, permettant des déplacements normaux. Alors que, dans l'ensemble, les comportements sociaux positifs n'étaient pas influencés par le système ( $P > 0,10$ ), les truies du groupe E avaient tendance à avoir une fréquence plus basse de flairages sociaux que les truies du groupe C ( $P = 0,07$ ). Le contact des congénères avec le groin est un comportement commun qui est associé à la reconnaissance, à la communication et au maintien du groupe par les porcs, et qui favoriserait les émotions positives (Clouard *et al.*, 2022). La réactivité des truies à l'approche d'un humain n'était pas affectée par le logement ( $P > 0,05$ ), contrairement à Merlot *et al.* (2022).

Nous avons observé un effet de l'interaction rang de portée x système sur la posture et l'activité des animaux. Les truies de rang de portée bas passaient plus de temps debout et moins de temps couchées ou assises dans le système E que dans le système C ( $P < 0,01$ ), ce qui suggère des niveaux d'activité accrus. Ces truies passaient également plus de temps à explorer leurs congénères dans le système E que dans le système C ( $P < 0,01$ ), ce qui peut refléter une motivation accrue pour des contacts sociaux positifs chez les truies de rang de portée bas du système E, alors qu'aucune différence entre les systèmes n'a été trouvée pour les truies de rang de portée élevé. Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que les jeunes truies pourraient être plus sensibles aux conditions de logement et donc bénéficier davantage d'un enrichissement environnemental que les truies plus âgées.

Pris dans leur ensemble, ces résultats suggèrent un meilleur bien-être chez les truies E, en accord avec nos observations précédentes (Merlot *et al.*, 2022).



**Figure 2** – Activité comportementale des truies logées en environnement conventionnel ou enrichi, mesurée entre les jours G99 et G104. \*  $P < 0,05$ , \*\*\*  $P < 0,001$ .

## 2.5. Transcriptome des cellules mononucléées sanguines

A partir de 24 358 gènes annotés, 13 472 ont été retenus pour les analyses d'expression génique différentielle après application des filtres. Le système de logement a un effet limité si l'on considère le nombre de gènes différentiellement exprimés (DEG), avec uniquement 164 DEG. Le rang de portée a un impact plus important, ce qui justifie son inclusion dans les modèles statistiques (Tableau 1).

Parmi les 164 DEG observés entre les systèmes de logement, on trouve des gènes impliqués dans les réponses immunitaires anti-inflammatoires ou régulatrices (*CD55*, *CD163*, *TNIP3* sont diminués chez les truies E, *ZCCH9* et *LAG3* sont augmentés). De plus, l'expression de certains gènes ayant des propriétés pro-inflammatoires ou stimulantes était diminuée (*TLR6*, *XCL1*, *IL9R*), ou augmentée (*AHRR*, *HMGB2*) chez les truies E comparées aux truies C. L'expression de deux gènes soutenant la réponse antivirale médiée par l'interféron de type I était réduite chez les truies E (*IFNAR1*, *RNASEL*).

**Tableau 1** – Nombre de gènes différentiellement exprimés (DEG) dans les cellules mononucléées du sang issues de truies logées en environnement enrichi en comparaison de celles logées en environnement conventionnel, ainsi que dans les cellules des truies de rang de portée bas en comparaison des truies plus âgées.

Nombre de gènes	Effet du logement	Effet rang de portée
Sur-exprimés	64	777
Sous-exprimés	100	910
Totaux	164	1 687

A partir des 164 DEG, les processus biologiques GO et les voies KEGG significativement enrichis dans le système enrichi par rapport au conventionnel ont été identifiés (Tableau 2). On note que de nombreux gènes liés à l'organisation de la matrice extracellulaire (MEC) ont été affectés par les conditions de logement. La MEC est constituée de protéines structurales et joue un rôle important dans l'immunité en favorisant l'adhésion et la migration des leucocytes entre les tissus (Vaday et Lider, 2000). Nous avons observé une réduction de l'expression dans le groupe E de gènes impliqués dans la structure de la matrice (sous-unités de molécules de collagène, perlecan), dans l'interaction des cellules immunitaires avec la matrice (*ITGA11*), ou la dégradation de la matrice par ces dernières (*DDR2*). A l'inverse, un récepteur permettant la phagocytose du collagène par les monocytes (*MRC2*) était régulé à la hausse. La signification de cette baisse d'expression de gènes impliqués dans l'organisation de la matrice chez les truies E reste à élucider.

Le facteur de croissance transformant bêta (*TGF- $\beta$* ) est un médiateur clé de la réponse immunitaire, qui inhibe les réponses pro-inflammatoires et antivirales médiées par l'interféron de type I, favorise l'apoptose des leucocytes (Grunwell *et al.*, 2018), et la réparation des tissus en augmentant l'expression du collagène de type I (Wan et Flavell, 2007). Bien que l'expression de ce gène ou de son récepteur n'ait pas été modifiée chez les truies E, l'expression de gènes induits en réponse au *TGF- $\beta$*  était diminuée (*COL1A1*, *XCL1*, *DDR2*).

De plus, les récepteurs du *TGF-β* peuvent initier la phosphorylation de la voie de signalisation intra-cellulaire PI3K-AKT (Zhang, 2009), qui contrôle des gènes dont l'expression s'est avérée diminuée chez les truies E (principalement des gènes du collagène).

Nous avons observé qu'un groupe de gènes liés à l'apoptose était sur-exprimé dans le groupe E. L'apoptose est une voie de régulation importante de la réponse immunitaire. Le gène anti-apoptotique *BCL2A1*, sur-exprimé chez les truies E, est un gène dont l'expression contribue à la survie des leucocytes (Vogler, 2011). Cependant, le gène *BID*, qui est un gène pro-apoptotique et antagoniste de *BCL2A1* (Esposti, 2002), était aussi sur-exprimé chez ces mêmes truies. Par conséquent, ces résultats montrent une influence de l'enrichissement environnemental sur le processus apoptotique dans les PBMC, sans qu'il soit possible d'en déterminer précisément le sens. Enfin, nous avons observé une régulation positive de gènes impliqués dans la glycolyse/gluconéogenèse, ce qui pourrait indiquer un phénotype pro-inflammatoire dans le groupe E, puisque les macrophages de type M1, et les lymphocytes Th1, et Th17 présentent principalement un métabolisme glycolytique (Soto-Herederó *et al.*, 2020).

Plusieurs études du transcriptome chez les humains et d'autres primates soumis à des conditions défavorables chroniques (sur des mois ou des années), montrent une augmentation de l'expression des gènes pro-inflammatoires et une diminution de l'expression des gènes antiviraux chez les individus stressés (Cole, 2019). Dans la présente étude, nous n'avons pas observé

cela chez les truies C, pourtant plus stressées que les truies E, et logées dans ces conditions sur plusieurs gestations consécutives. Certains de ces effets inattendus pourraient être dus au fait que l'enrichissement du milieu avec la paille, outre un effet sur le bien-être psychologique, peut avoir une influence directe sur la physiologie des truies, notamment par des voies nutritionnelles ou microbiennes (Tuytens, 2005). Par exemple, le microbiote intestinal diffère entre les truies logées sur paille ou sur caillebotis en béton (Kubasova *et al.*, 2017), ce qui peut avoir un impact direct sur leur fonction immunitaire.

## CONCLUSION

En conclusion, notre étude confirme qu'un enrichissement environnemental sur plusieurs mois a diminué la sécrétion de cortisol, diminué les stéréotypies et les comportements sociaux négatifs, et augmenté l'activité exploratoire des truies gestantes, qui sont autant d'indicateurs d'un meilleur bien-être. Cependant, cet enrichissement n'a montré qu'un effet léger sur le transcriptome des cellules mononuclées du sang. Il restera à vérifier par la suite que les gènes et fonctions mis en évidence dans cette étude le seront aussi en réponse à d'autres situations d'enrichissement.

## REMERCIEMENTS

Ce projet a reçu le soutien financier d'INRAE dans le cadre du métaprogramme SANBA (projet BEPPI)

**Tableau 2** – Processus biologiques (termes GO et voies KEGG) enrichis de façon significative dans les PBMC de truies logées en environnement enrichi pendant la gestation en comparaison à des truies logées en environnement conventionnel.

Terme GO / voie KEGG	Description	p-value de l'enrichissement	Gènes différenciés associés
<b>Fonctions ou processus biologiques sous représentés :</b>			
GO:0030199	Organisation des fibrilles de collagène	<0,001	[COL1A1, COL3A1, COL1A2, COL12A1, DDR2]
GO:0030198	Organisation de la matrice extracellulaire	<0,001	[ERO1A, COL1A1, COL3A1, COL1A2, FBLN1, KAZALD1]
GO:0001568	Développement des vaisseaux sanguins	0,018	[COL1A1, COL1A2, ANTXR1]
GO:0048146	Régulation positive de la prolifération des fibroblastes	0,029	[PRKDC, FBLN1, DDR2]
GO:0071560	Réponse cellulaire au stimulus du Transforming Growth Factor-beta	0,037	[COL1A1, XCL1, DDR2]
GO:0016197	Transport endosomal	0,043	[WASHC4, TINAGL1, DCLK1]
GO:0071230	Réponse cellulaire au stimulus des acides aminés	0,003	[COL1A1, COL3A1, COL1A2, COL6A1]
hsa04512	Interactions matrice extra-cellulaire - récepteur	<0,001	[COL1A1, SV2C, COL1A2, ITGA11, COL6A1, COL6A3, HSPG2]
hsa04151	Voie de signalisation PI3K-Akt	0,019	[COL1A1, COL1A2, ITGA11, COL6A1, COL6A3, IFNAR1]
hsa04621	Voie de signalisation des récepteurs de type NOD	0,047	[RNASEL, ANTXR2, ANTXR1, IFNAR1]
<b>Fonctions ou processus biologiques sur représentés :</b>			
GO:0000122	Régulation négative de la transcription à partir du promoteur de l'ARN polymérase II	<0,001	[DRAP1, RPS14, DNAJB1, HES6, ZBTB16, HMGB2, DMAP1, YBX3, ING1, SQSTM1, SAP30]
GO:0006915	Processus apoptotique	0,008	[PPP2CA, BCL2A1, ZBTB16, FAM32A, BID, YBX3, SQSTM1]
GO:0006355	Régulation de la transcription, induite par l'ADN	0,021	[PPP2CA, DRAP1, TAF6L, HES6, AHRR, DMAP1, ING1, SAP30]
GO:0006334	Assemblage du nucléosome	0,048	[CHAF1A, HMGB2, NAP1L5]
hsa00010	Glycolyse/néogluconéogenèse		[LDHB, TPI1, PGM1]

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Beattie V.E., O'Connell N.E., Kilpatrick D.J., Moss B.W., 2000. Influence of environmental enrichment on welfare-related behavioural and physiological parameters in growing pigs. *Anim. Sci.*, 70, 443-450.
- Bench C.J., Rioja-Lang F.C., Hayne S.M., Gonyou H.W., 2013. Group gestation housing with individual feeding—I: How feeding regime, resource allocation, and genetic factors affect sow welfare. *Liv. Sci.*, 152, 208-217.
- Casal N., Manteca X., Peña L.R., Bassols A., Fàbrega E., 2017. Analysis of cortisol in hair samples as an indicator of stress in pigs. *J. Vet. Behav.*, 19, 1-6.
- Clouard C., Resmond R., Prunier A., Tallet C., Merlot E., 2022. Exploration of early social behaviors and social styles in relation to individual characteristics in suckling piglets. *Sci. Rep.*, 12, 1-14.
- Cole S.W., 2019. The Conserved Transcriptional Response to Adversity. *Curr. Opin. Behav. Sci.*, 28, 31-37.
- Dhabhar F.S., Miller A.H., McEwen B.S., Spencer R.L., 1995. Effects of stress on immune cell distribution. Dynamics and hormonal mechanisms. *J. Immunol.*, 154, 5511-5527.
- van Dixhoorn I.D.E., Reimert I., Middelkoop J., Bolhuis J.E., Wisselink H.J., Groot K.P.W., Kemp B., Stockhofe-Zurwieden N., 2016. Enriched housing reduces disease susceptibility to co-infection with porcine reproductive and respiratory virus (PRRSV) and actinobacillus pleuropneumoniae (A. Pleuropneumoniae) in young pigs. *PLoS One*, 11, e0161832.
- Esposti M.D., 2002. The roles of Bid. *Apoptosis*, 7, 433-440.
- Godyń D., Nowicki J., Herbut P., 2019. Effects of environmental enrichment on pig welfare—a review. *Anim.*, 9, 383.
- Grunert K.G., Sonntag W.I., Glanz-Chanos V., Forum S., 2018. Consumer interest in environmental impact, safety, health and animal welfare aspects of modern pig production: Results of a cross-national choice experiment. *Meat Sci.*, 137, 123-129.
- Grunwell J.R., Yeligar S.M., Stephenson S., Ping X.D., Gauthier T.W., FitzPatrick A.M., Brown L.A., 2018. TGF-β1 Suppresses the Type I IFN Response and Induces Mitochondrial Dysfunction in Alveolar Macrophages. *J. Immunol.* 200, 2115-28.
- Kubasova T., Davidova-Gerzova L., Merlot E., Medvecky M., Polansky O., Gardan-Salmon D., Quesnel H., Rychlik I., 2017. Housing systems influence gut microbiota composition of sows but not of their piglets. *PLoS One*, 12, e0170051.
- Luo L., Jansen C.A., Bolhuis J.E., Arts J.A., Kemp B., Parmentier H.K., 2020. Early and later life environmental enrichment affect specific antibody responses and blood leukocyte subpopulations in pigs. *Physiol. Behav.*, 217, 112799.
- Merlot E., Calvar C., Prunier A., 2017. Influence of the housing environment during sow gestation on maternal health, and offspring immunity and survival. *Anim. Prod. Sci.*, 57, 1751-1758.
- Merlot E., Pastorelli H., Prunier A., Père M.C., Louveau I., Lefaucheur L., Perruchot M.H., Meunier-Salaün M.C., Gardan-Salmon D., Gondret F., Quesnel H., 2019. Sow environment during gestation: part I. Influence on maternal physiology and lacteal secretions in relation with neonatal survival. *Animal*, 13, 1432-1439.
- Merlot E., Meunier-Salaün M.C., Peuteman B., Père M.C., Louveau I., Perruchot M.H., Prunier A., Gardan-Salmon D., Gondret F., Quesnel H., 2022. Improving maternal welfare during gestation has positive outcomes on neonatal survival and modulates offspring immune response in pigs. *Physiol. Behav.*, 249, 113751.
- Prims S., Hole C.V., Van Cruchten S., Van Ginneken C., Van Ostade X., Casteleyn C., 2019. Hair or salivary cortisol analysis to identify chronic stress in piglets? *Vet. J.*, 252, 105357.
- R Core Team, 2022. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available from <https://www.R-project.org>.
- Remience V., Wavreille J., Canart B., Meunier-Salaün M.C., Prunier A., Bartiaux-Thill N., Nicks B., Vandenheede M., 2008. Effects of space allowance on the welfare of dry sows kept in dynamic groups and fed with an electronic sow feeder. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 112, 284-296.
- Ruis M.A.W., Te Brake J.H., Engel B., Ekkel E.D., Buist W.G., Blokhuis H.J., Koolhaas J.M., 1997. The circadian rhythm of salivary cortisol in growing pigs: effects of age, gender, and stress. *Physiol. Behav.*, 62, 623-630.
- Soto-Herederó G., Gómez de las Heras M.M., Gabandé-Rodríguez E., Oller J., Mittelbrunn M., 2020. Glycolysis – a key player in the inflammatory response. *FEBS J.*, 287, 3350-3369.
- Tuytens F.A.M., 2005. The importance of straw for pig and cattle welfare: A review. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 92, 261-282.
- Vaday G.G., Lider O., 2000. Extracellular matrix moieties, cytokines, and enzymes: Dynamic effects on immune cell behavior and inflammation. *J. Leukoc. Biol.*, 67, 149-159.
- Vogler M., 2011. BCL2A1: the underdog in the BCL2 family. *Cell Death Differ.*, 19, 67-74.
- Wan Y.Y., Flavell R.A., 2007. « Yin-Yang » functions of transforming growth factor-beta and T regulatory cells in immune regulation. *Immunol. Rev.*, 220, 199-213.
- Zhang Y.E., 2009. Non-Smad pathways in TGF-beta signaling. *Cell Res.*, 19, 128-39.