



**HAL**  
open science

## **Caractérisation ultra structurale du placenta équin après supplémentation alimentaire en arginine des juments au dernier tiers de la gestation**

Audrey Geeverding, Josiane Aioun, Morgane Robles, Michèle Dahirel, Marie-Christine Aubrière, Marie Sylvie Lallemand, Marine Guinot, Laurence Wimel, Cédric Dubois, Emilie Derisoud, et al.

### **► To cite this version:**

Audrey Geeverding, Josiane Aioun, Morgane Robles, Michèle Dahirel, Marie-Christine Aubrière, et al.. Caractérisation ultra structurale du placenta équin après supplémentation alimentaire en arginine des juments au dernier tiers de la gestation. 17.Journées de formation du RCCM (Réseau des Centres Communs de Microscopie), Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS). FRA., Jun 2018, Clermont-Ferrand, France. hal-02187460

**HAL Id: hal-02187460**

**<https://hal.science/hal-02187460v1>**

Submitted on 5 Jun 2020

**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.

A. GEEVERDING<sup>(1)</sup>, J. AÏOUN<sup>(1)</sup>, M. ROBLES<sup>(1)</sup>, M. DAHIREL<sup>(1)</sup>, MC. AUBRIERE<sup>(1)</sup>, M-S. LALLEMAND<sup>(1)</sup>, M. GUINOT<sup>(1)</sup>, L. WIMEL<sup>(2)</sup>, C. DUBOIS<sup>(2)</sup>, E. DERISOUD<sup>(1)</sup>, D. RAILLARD-ROUSSEAU<sup>(1)</sup>, C. RICHARD<sup>(1)</sup>, C. LONGIN<sup>(3)</sup>, T. MEYLHEUC<sup>(3)</sup>, A. COUTURIER-TARRADE<sup>(1)</sup>, P. CHAVATTE-PALMER<sup>(1)</sup>.

(1) INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE - UMR 1198 BIOLOGIE DU DÉVELOPPEMENT ET REPRODUCTION - EQUIPE PLACENTA, ENVIRONNEMENT ET PROGRAMMATION DES PHÉNOTYPES - 78352 JOUY-EN-JOSAS CEDEX. (2) STATION EXPÉRIMENTALE DE L'INSTITUT FRANÇAIS DU CHEVAL ET DE L'ÉQUITATION - 19370 CHAMBERRET (3) PLATEFORME MIMA2, INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE 78352 JOUY-EN-JOSAS CEDEX



## CONTEXTE ET OBJECTIFS

Chez les Mammifères l'environnement gestationnel est un facteur important dans le développement du fœtus, mais il est aussi capital pour la croissance post-natale et le devenir de l'adulte. L'adaptation à l'environnement maternel se fait via le placenta, organe responsable des échanges fœtaux-maternels. Chez l'homme il existe une forte corrélation entre un faible poids de naissance, lié à une sous-nutrition *in utero* et le risque de développer des maladies cardiovasculaires à l'âge adulte (Barker 1989). Ces observations ont conduit au concept de la « programmation fœtale » ou DOHaD (Developmental Origin of Health and Disease). Le concept de la programmation fœtale s'applique également à l'espèce équine. Dans cette espèce il existe une différence de croissance intra-utérine entre les juments primipares et multipares, les juments primipares produisant des poulains plus petits et plus légers ainsi que des placentas plus petits que les juments multipares. Ce retard de croissance perdure au moins 18 mois et semble avoir des répercussions sur les performances sportives, des poulains plus grands étant plus performants. Des études chez la truie et la brebis gestantes ont montré qu'une supplémentation en arginine augmente considérablement la synthèse de NO (figure 1) (Poeze 2011; Tan 2012). Le NO est un composé angiogénique qui pourrait favoriser la vascularisation du placenta, permettant ainsi de meilleurs échanges fœto-maternels. Une étude pilote a permis d'étudier l'impact d'une supplémentation orale quotidienne en arginine chez la jument gestante sur les caractéristiques ultrastructurales du placenta équin à terme.

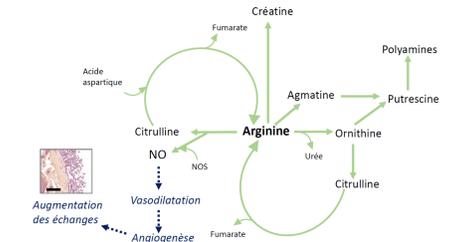


Figure 1 : Schéma simplifié du métabolisme intracellulaire de l'arginine

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

**Animaux** répartis en quatre groupes : juments primipares supplémentées (PA, n=2) ou non (PT, n=2) et multipares supplémentées (MA, n=2) ou non (MT, n=2) avec 100g de L-arginine par jour à partir du troisième trimestre de gestation, jusqu'au poulinage (Figure 1).

**Prélèvements du placenta**: À terme, au niveau de la zone d'insertion du cordon ombilical (CO), de la corne gestante (CG) et de la corne non gestante (CNG) (Figure 2).

**Caractérisation ultra-structurale du placenta**: analyses en Microscopie Electronique à Balayage (MEB) et à Transmission (MET) après des protocoles de préparation classiques.

➢ Analyse MET: le logiciel ImageJ a été utilisé pour quantifier le nombre de vésicules présentes dans les cellules endothéliales des vaisseaux fœtaux. Pour chaque groupe expérimental 10 vaisseaux ont été analysés. Le nombre de vésicules présentes dans une zone de cytoplasme de la cellule endothéliale ainsi que la surface de la zone analysée ont été déterminés (2 à 3 zones par cellule endothéliale). De la même façon le nombre de cavéoles accolées à la membrane basale ainsi que la longueur de membrane analysée ont été déterminés.

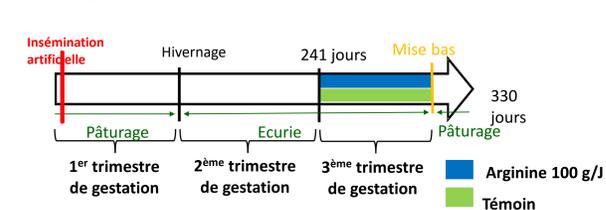


Figure 2 : Plan expérimental

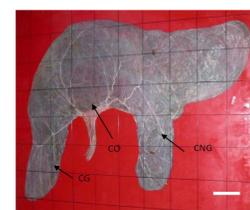


Figure 3 : Zones de prélèvements. Barre: 10 cm

## RÉSULTATS

**Analyse MEB (figure 4) : visualisation de la densité des villosités placentaires**

➢ certains trophoblastes présentent une forte densité de microvillosités alors que d'autres en sont totalement dépourvus.

➢ Quelle que soit la zone étudiée (CO,CG,CNG), le pourtour des microcotylédons n'est pas recouvert de microvillosités de façon homogène.

**Histologie du placenta équin à terme (figure 5)**

**Analyse MET (figure 6)**

➢ Présence de microvillosités en surface des trophoblastes des microcotylédons

➢ présence de nombreuses cavéoles et vésicules dans le cytoplasme des cellules endothéliales des vaisseaux fœtaux sous-jacents.

➢ Le trophoblaste paraît très actif lorsque la surface des microcotylédons possède de nombreuses villosités.

**Estimation de la densité des vésicules et des cavéoles dans les cellules endothéliales (figure 7)**

➢ Pas de différence de densité de vésicules ou de cavéoles en fonction de la zone analysée (CO, CG ou CNG).

➢ Augmentation de la densité des vésicules dans le cytoplasme des cellules endothéliales chez les juments PA par rapport aux juments PT (x 7 environ), pas d'effet sur les juments multipares

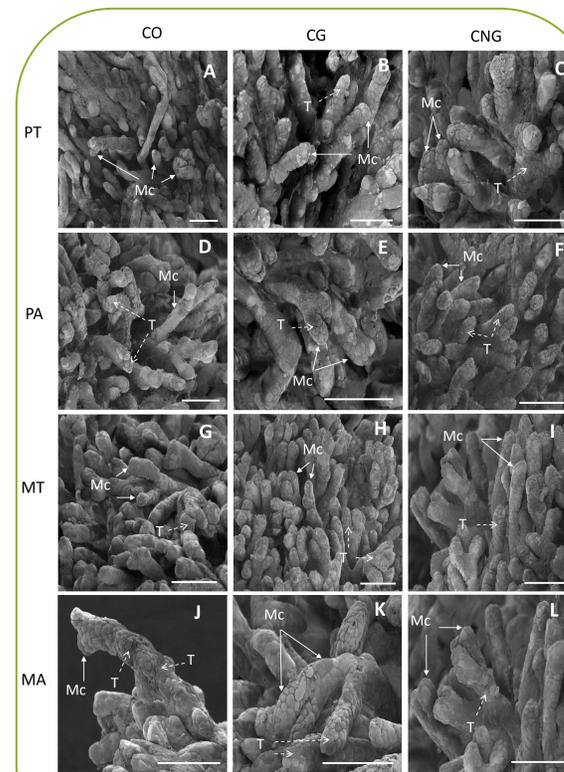


Figure 4 : Fixation glutaraldéhyde 2% en tampon cacodylate, déshydratation alcool absolu, CO<sub>2</sub> liquide à 37°C pression 80 bars, métallisation platine (800V, 10mA, 220s – plateforme MIMA2). Barre: 100 µm

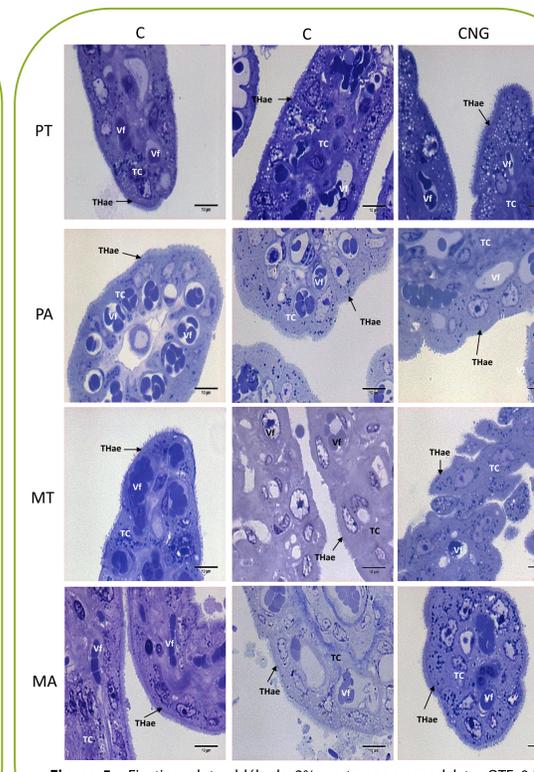


Figure 5 : Fixation glutaraldéhyde 2% en tampon cacodylate, OTE 0,5%, OsO<sub>4</sub> 1%, ferrocyanure 1,5%, inclusion en EPON, coupes semi-fines 1 µm, coloration Bleu de Toluidine

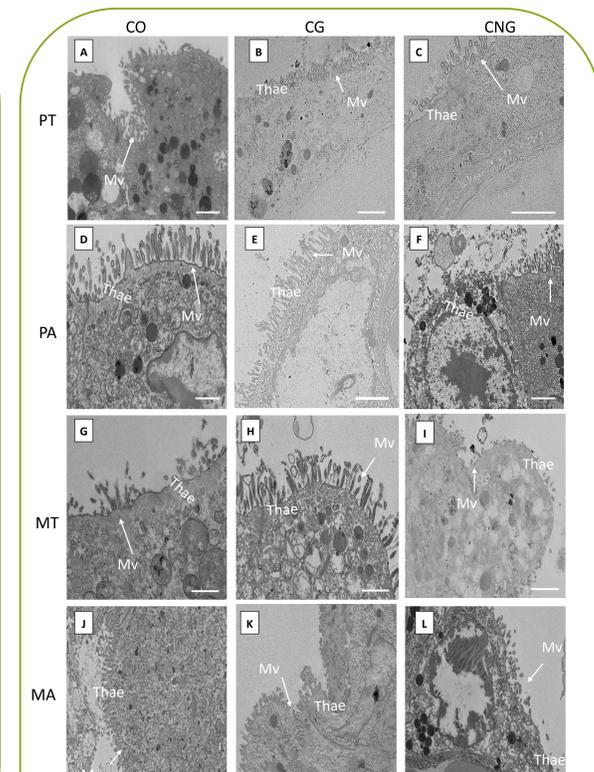


Figure 6 : Fixation glutaraldéhyde 2% en tampon cacodylate, OTE 0,5%, OsO<sub>4</sub> 1%, ferrocyanure 1,5%, inclusion en EPON, coupes ultrafines 70nm, contraste sur grilles citrate de plomb selon Reynolds. Barre: 1µm

**Abréviations** : CG: corne gestante, CNG: corne non gestante, CO: cordon ombilical, G: golgi, ly: lysosome, m: mitochondrie, Mc: microcotylédon, Mv: microvillosité, MA: multipare arginine, MT: multipare témoin, N: noyau, PA: primipare arginine, PT: primipare témoin, RER: réticulum endoplasmique rugueux, TC: tissu conjonctif, T: trophoblaste, Vf: vaisseau fœtal

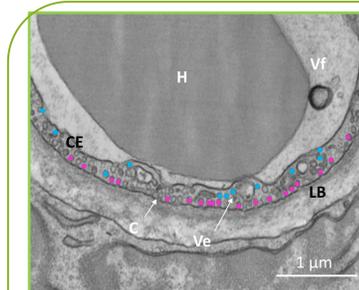


Figure 7 : Quantification des vésicules dans le cytoplasme de la cellule endothéliale et des cavéoles apposées le long de la lame basale. (nombre total de vésicules et cavéoles comptées?)

	Total Vésicules (/µm <sup>2</sup> CE)	Total Cavéoles (/µm MB)
PT	364	64
PA	2409	588
MT	1333	327
MA	1591	295

## CONCLUSION

Cette étude montre qu'une supplémentation en arginine au troisième tiers de la gestation chez la jument conduit à des modifications morphologiques ultrastructurales du placenta à terme. L'augmentation du nombre de microvillosités dans les cellules endothéliales fœtales sont en faveur d'un rôle de l'arginine dans l'intensification des échanges fœtaux-maternels.