

# Variation de l'activité et de la mort des cellules épithéliales mammaires en monotraite chez la chèvre

## Activity and apoptosis variation of the goat mammary epithelial cell in once day milking (ODM).

BEN CHEDLY H. (1), MARNET P-G. (1), LACASSE P. (2), BOUTINAUD M.(1)

(1) INRA-Agrocampus Rennes UMR production du lait, 35590 St-Gilles, France

(2) AAC, Centre R&D sur le bovin laitier et le porc, J1M 1Z3, Canada

### INTRODUCTION

Le passage à la monotraite (1T) est une pratique d'élevage caractérisée par une baisse des productions de lait et de matières par rapport à deux traites par jour (2T). Peu de données sont disponibles concernant les mécanismes de régulations (entre autre cellulaires) impliqués dans ces phénomènes et notamment si la variation de production est due à une régulation de l'activité et / ou du nombre de cellules synthétisant le lait (les cellules épithéliales mammaires, CEM). Le but de cette étude est d'essayer d'identifier certains de ces mécanismes en fonction du temps d'application de la monotraite.

### 1. MATERIEL ET METHODES

Huit chèvres Alpines réparties en milieu de lactation produisant  $3 \pm 0,7$  kg / jour sont réparties en deux lots et soumises alternativement à deux traites ou une traite par jour pendant deux périodes successives de cinq semaines. Après une et cinq semaines (1S et 5S) de traitement, une analyse de la qualité du lait et de l'expression des gènes impliqués dans l'activité de synthèse (la caséine kappa : CN-K, l' $\alpha$ -lactalbumine :  $\alpha$ -LA (co-facteur de la lactose synthétase), et dans la régulation du nombre de cellules épithéliales mammaires, Bax (protéine inductrice de mort), Bcl2 (protéine de survie) a été effectuée sur des CEM purifiées à partir du lait en utilisant des billes magnétiques associées à un anticorps (anti-cytokératine) spécifique des CEM (Boutinaud *et al.*, 2002). L'ARN total a été extrait pour permettre la quantification du taux d'ARNm par RT-PCR quantitative. Les données d'expression génique transformées en Log10 ont été exprimées relativement au taux d'ARNm de la cyclophiline (isomérase communément utilisée comme gène de référence dans la glande mammaire). L'analyse statistique des données a été effectuée par ANOVA en utilisant la procédure Proc GLM de SAS prenant en compte des effets : chèvre, traitement, semaine et de l'interaction semaine x traitement.

### 2. RESULTATS

#### 2.1. PARAMETRES ZOOTECHNIQUES

Le passage à la monotraite entraîne une modification de la composition du lait (tableau 1). La monotraite abouti à une perte de lait plus importante à la première semaine de monotraite (-22 % ; P = 0,001) qu'à la cinquième semaine (-13 % ; P = 0,007). Concernant les taux de matières, la monotraite a entraîné une baisse significative (- 6 % ; P = 0,02) du TB constante au cours du temps. Par contre la monotraite n'a pas eu d'effet significatif sur le TP mais la quantité de matières protéiques produite a diminué de -23 % (P = 0,001) à 1S et -10 % (P=0,04) à 5S et plus particulièrement celle des caséines (-24 % et -13 % après 1 et 5S). La monotraite n'a pas eu d'effet sur le taux de lactose dans le lait mais la production journalière de ce sucre a chuté de -23 % (P = 0,001) à 1S et de -12 % (P = 0,004) à 5S.

#### 2.2. EXPRESSION GENIQUE

Le passage à la monotraite entraîne une baisse significative (P=0,016) du taux d'ARNm de la caséine kappa à 1S (-53 % (P = 0,02) et non à 5S (tableau 1) dans les CEM.

De même, le taux d'ARNm de l' $\alpha$ -LA a diminué significativement (-66 % ; P = 0,03) uniquement après une semaine de monotraite. La balance des protéines entraînant la mort et la survie des cellules traduite par le rapport Bax / Bcl2 montre une baisse non significative de la mort des cellules en monotraite. Ce résultat est dû en partie à une augmentation du taux d'ARNm de Bax pour les chèvres traites 2T / jour.

**Tableau 1** : Paramètres zootechniques et taux d'ARNm

	n	1T 1S	1T 5S	2T 1S	2T 5S	SEM
PL (kg)	8	2,54 <sup>a</sup>	2,65 <sup>a</sup>	3,24 <sup>b</sup>	3,03 <sup>b</sup>	0,090
TB	8	35,8 <sup>a</sup>	33,9 <sup>a</sup>	38,1 <sup>b</sup>	36,1 <sup>ab</sup>	0,91
TP	8	30,1 <sup>ab</sup>	30,8 <sup>bc</sup>	31,0 <sup>c</sup>	29,9 <sup>a</sup>	0,28
Caséines (g/kg)	8	24,6 <sup>a</sup>	25,0 <sup>ab</sup>	25,5 <sup>b</sup>	25,0 <sup>ab</sup>	0,26
Lactose (g/kg)	8	43,6 <sup>a</sup>	45,2 <sup>b</sup>	44,2 <sup>ab</sup>	45,1 <sup>b</sup>	0,47
MG (g/j)	8	93,9 <sup>a</sup>	92,1 <sup>a</sup>	126,4 <sup>b</sup>	112,0 <sup>b</sup>	5,27
MP (g/j)	8	76,8 <sup>a</sup>	81,5 <sup>a</sup>	100,2 <sup>c</sup>	90,9 <sup>b</sup>	3,10
Caséines (g/j)	8	63,0 <sup>a</sup>	66,2 <sup>a</sup>	83,2 <sup>c</sup>	76,0 <sup>b</sup>	2,45
Lactose (g/j)	8	111,3 <sup>a</sup>	121,0 <sup>a</sup>	144,4 <sup>b</sup>	137,6 <sup>b</sup>	5,22
CN-K	8	58 <sup>a</sup>	109 <sup>ab</sup>	124 <sup>b</sup>	104 <sup>ab</sup>	17,4
$\alpha$ -LA	8	16 <sup>a</sup>	28 <sup>ab</sup>	46 <sup>b</sup>	29 <sup>ab</sup>	7,25
Bax/Bcl2	8	6,3	5,9	11,0	15,0	3,63

a,b,c données différentes (P $\leq$ 0,05) sur une même ligne

SEM : Somme de l'Erreur Moyenne n : nombre d'individus

### 3. DISCUSSION

Après une semaine de monotraite, une baisse de l'activité synthétique des CEM est observée à travers une diminution des taux d'ARNm de l' $\alpha$ -LA (synthèse du lactose) et de la CN-K. Ceci permet d'expliquer en partie la diminution des quantités de lactose et de caséines observée en monotraite. Le frein exercé par la monotraite sur l'activité synthétique de la CEM semble être réduit ou minimisé après cinq semaines d'application du traitement.

Bien que le phénomène de mort des CEM a été déjà mis en évidence lors de la monotraite chez la chèvre (Boutinaud *et al.*, 2004 ; Li *et al.* 1999), les résultats obtenus dans cet essai ne permettent pas de conclure à une implication des protéines Bax et Bcl2 dans la régulation de ce phénomène. Mais d'autres travaux de monotraite chez la vache (Singh *et al.*, 2006) aboutissent aux mêmes observations. Nos résultats n'excluent pas l'implication d'une autre voie de régulation dans la mort des cellules que celles de Bax et Bcl2.

### CONCLUSION

La baisse de la quantité de lait produite observée en monotraite coïncide avec une baisse de l'activité synthétique de la CEM impliquant une régulation au niveau de la transcription des gènes des protéines du lait.

La mort des CEM semble indépendante de la voie Bax et Bcl2 du moins à une et cinq semaines de monotraite.

*Les auteurs remercient l'équipe de la ferme expérimentale de la Motte et Sylvie Marion du laboratoire.*

Boutinaud M. *et al.*, 2002. *J. Anim. Sci.*, 80(5):1258-69

Boutinaud M. *et al.*, 2004. *Reprod. Nutr. Dev.* 44(5): 499-508

Li P. *et al.*, 1999. *J. Physiol.* 519 Pt 3:885-900

Singh K. *et al.*, 2006. *J. Anim. Sci.*, 84:332