



HAL
open science

Étude comparative des cellules souches présentes dans le colostrum et le lait des animaux de rente

Laurence Finot, Eric Chanat, Marion Boutinaud, Hélène Quesnel

► To cite this version:

Laurence Finot, Eric Chanat, Marion Boutinaud, Hélène Quesnel. Étude comparative des cellules souches présentes dans le colostrum et le lait des animaux de rente. Transversalité Glande Mammaire Lait, INRAE, Oct 2024, Tours, France. hal-04734759

HAL Id: hal-04734759

<https://hal.inrae.fr/hal-04734759v1>

Submitted on 14 Oct 2024

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 4.0 International License

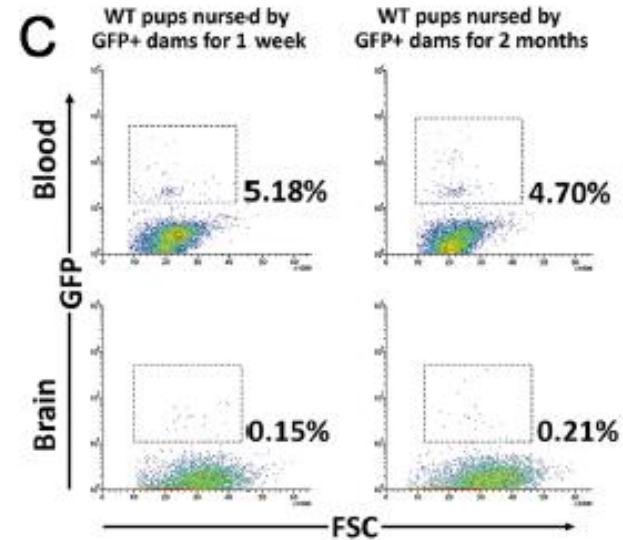
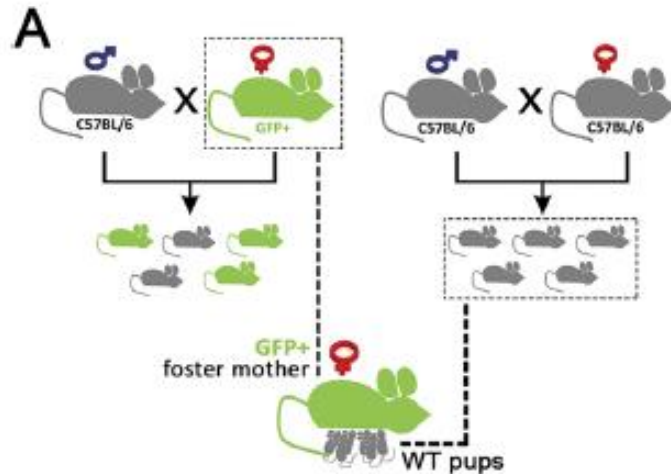
➤ Etude comparative des cellules souches présentes dans le colostrum et le lait des animaux de rente

Laurence Finot, Hélène Quesnel, Marion Boutinaud et Eric Chanat

➤ Contexte scientifique

➤ Etude sur la souris montre le transfert de cellules maternelles pendant l'allaitement

Publication : *Transfer and integration of breast milk stem cells to the brain of suckling pups. Aydin MS et al, 2018*



Le lait maternel contiendrait des cellules souches qui peuvent traverser l'intestin et migrer dans le sang du petit allaité.

Du sang, ces cellules voyagent vers divers organes, y compris le cerveau, où ils se transforment en cellules fonctionnelles.

Définition d'une cellule souche : cellule capable de s'auto-renouveler et de se différencier en d'autres types cellulaires, donc de donner naissance ou régénérer un tissu.

> Contexte scientifique

Le transfert de cellules de la mère au petit participerait au développement des organes du petit (au même titre que ses propres cellules souches) et stimulerait son immunité pendant la phase précoce de développement du jeune.

Enjeu au niveau agronomique :

Le transfert de matériel maternel via les sécrétions lactées (colostrum et lait) rendrait les animaux robustes (croissance, maturité des organes, amélioration de la santé post-natale, etc...) pendant leurs phases de développement et leur vie adulte.

Peu d'études sur ce sujet chez les animaux, surtout sur les espèces murine et humaine^{1,2,3}

¹ Aydin M.S et al, 2018; ² Ninkina N. et al, 2019; ³ Goudarzi N. et al, 2019



➤ Objectifs du projet

Déterminer la présence de **cellules souches** dans les sécrétions lactées (colostrum et le lait) des 3 espèces de rente (**vache, chèvre et truie**).

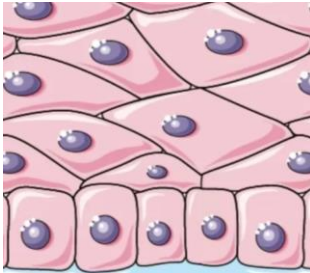


Si présence, quels types de cellules souches?

Epithéliales (mammaires)



Epithélium



Mésenchymateuses



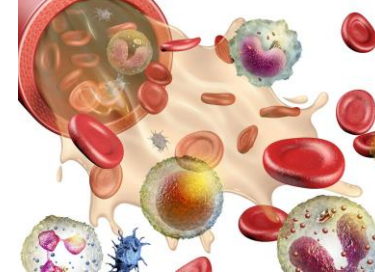
Tissu soutien
(conjonctif, adipeux)



Hématopoïétiques



cellules sanguines



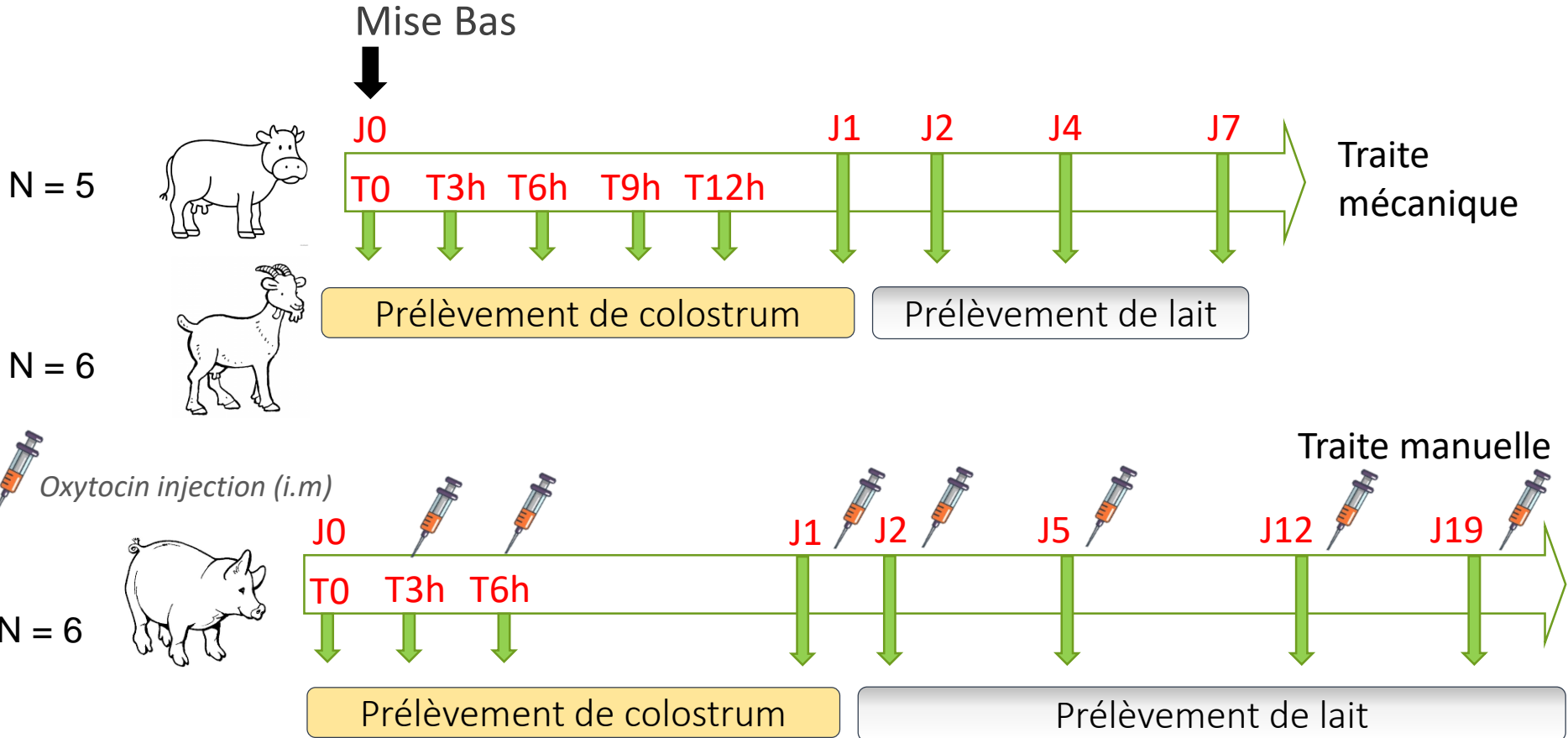
Etudier la **cinétique de présence des cellules** dans les sécrétions lactées (colostrum et lait) **en début de lactation** (les premières heures et premiers jours).

Schémas expérimentaux

Cinétique de prélèvement de colostrum et lait sur animaux multipares



Colostrum Lait





Schémas expérimentaux

Contraintes expérimentales

Colostrum Lait

Conduite élevage

- Conduite d'élevage classique (alimentation, en troupeau)

Contraintes (animaux)

- Multipares : 2nde lactation pour les vaches et chèvres
- Pas de traitement (antibiotiques) avant et pendant l'expérimentation
- Animaux en bonne santé, ne présentant aucun signe d'infection

Contraintes (expérimentales)

- Collecte du colostrum au temps strict de mise bas (J0 T0) : nécessite une surveillance
- Pour les truies : collecte de 90 ml (max.) de colostrum et de lait sur les tétines accessibles, au jour de mise bas
- Traitement des échantillons en frais (3h30 de préparation)
Animaux mettant bas du lundi au jeudi, de 7h à 12h



INRAE

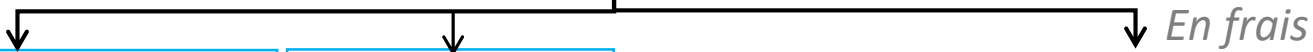
Transversalité «Glande Mammaire, Lait»

10 et 11 Octobre 2024

➤ Echantillonnage et Analyses



Colostrum et lait entier



colostrum ou lait entier

- Na⁺ et K⁺
- Immunoglobulines IgG and IgA

Ecrémé

- Microvésicules extracellulaires

Isolement des cellules du colostrum et lait

Cytométrie en flux

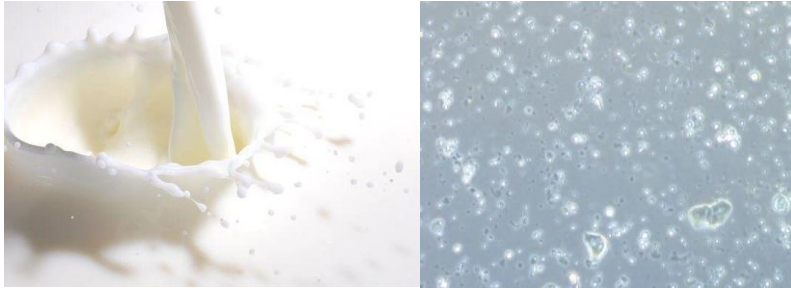
Comptage cellulaire

- Cellules Totales
- Cellules Viables

Comptage cellules souches

- épithéliales
- mesenchymateuses
- hématopoïétiques

➤ Méthodologies

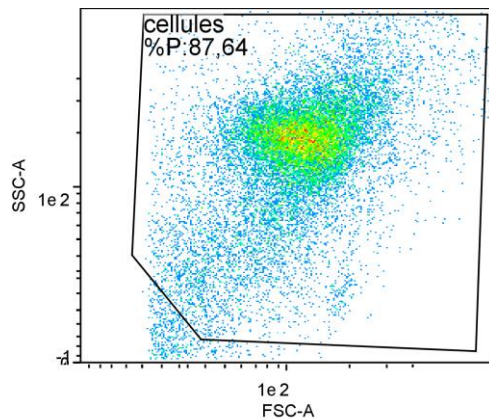


Récupération et **isolement** des **cellules du colostrum** et du **lait**

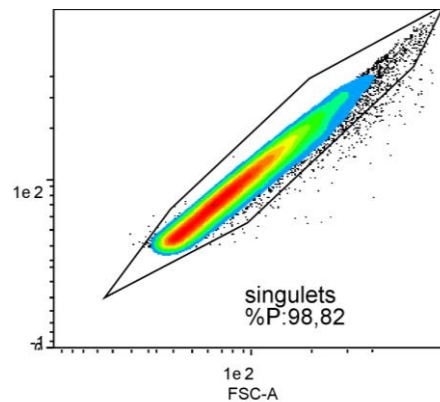


Analyse par cytométrie en flux : technologie qui permet de quantifier des populations cellulaires caractérisées par des paramètres de taille, granulométrie et de marquage de protéines spécifiques des types cellulaires.

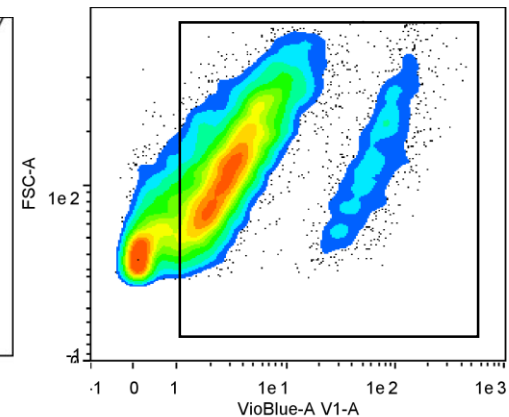
Stratégie de sélection (gating)



Evènements totaux



Singulets (cell unique)



Cellules (marquage)



➤ Marqueurs utilisés en cytométrie pour identifier les cellules souches

Panels (combinaison d'anticorps) pour le multi-marquage des 3 types de cellules souches

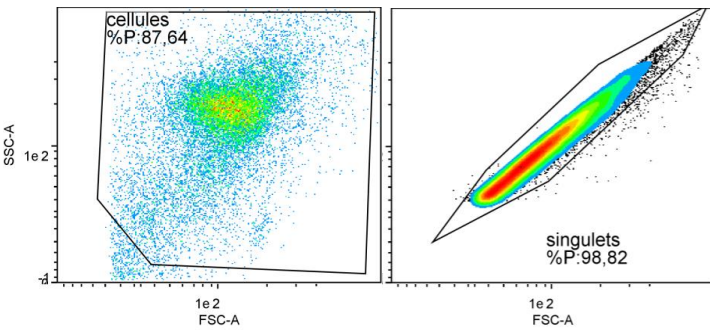
Stem-like cells	Marker 1	Marker 2	Marker 3	Marker 4	Pheno- type
Epithelial oriented	CD49f	CD24			CD49f ^{pos} CD24 ^{pos}
Mesenchymal oriented	CD34	CD90	CD105	CD29	CD34 ^{neg} CD90 ^{pos} CD105 ^{pos} CD29 ^{pos}
Hematopoïetic oriented	CD45	CD34	CD117	CD90	CD45 ^{neg} CD34 ^{pos} CD117 ^{pos} CD90 ^{pos}



➤ Méthodologies

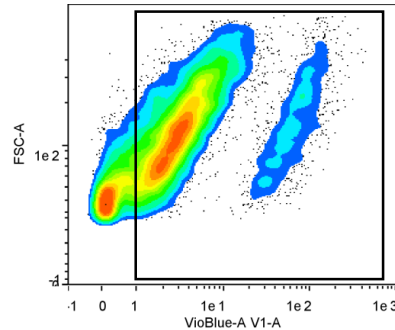


Cytométrie en flux: détecte, identifie et compte des cellules sur la base de l'expression de protéines de surface (marqueur).



Evènements

Singulets
(cellules uniques)



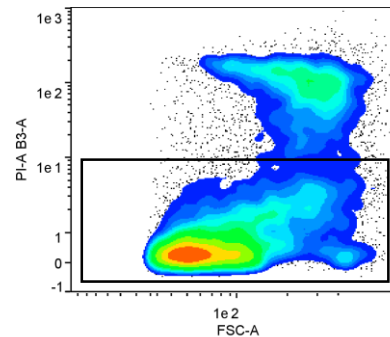
DNA labeling
(Hoechst 33342)



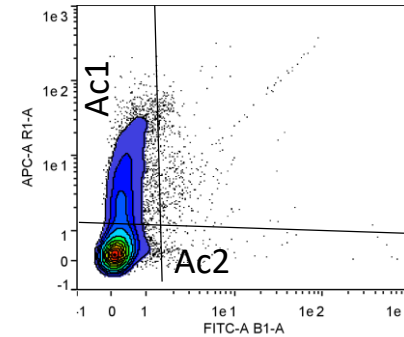
Résultat : Concentration en cellules du colostrum & lait



Résultat : Quantification des différents types de cellules souches (immunomarquage des cellules)



Cellules vivantes



Cellules marquées



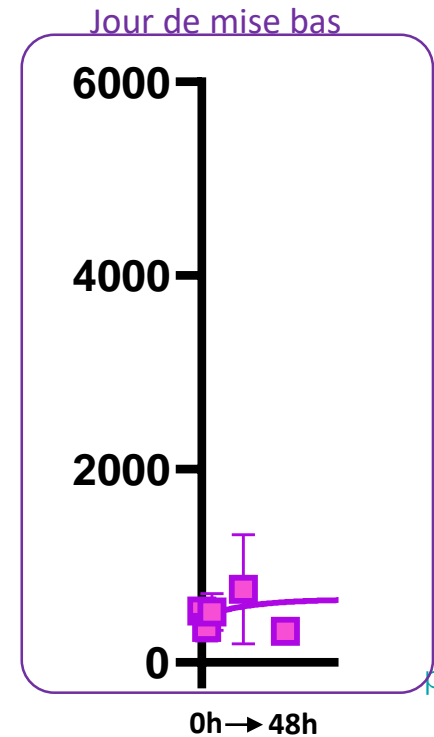
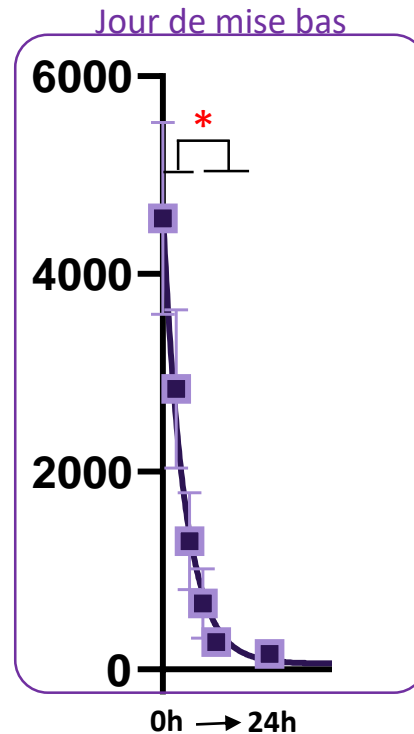
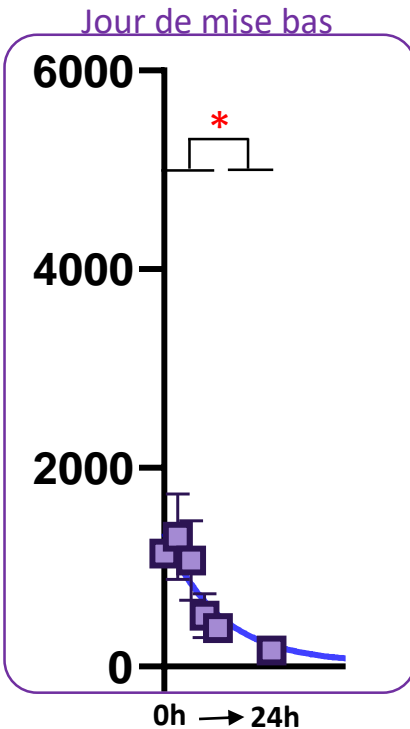
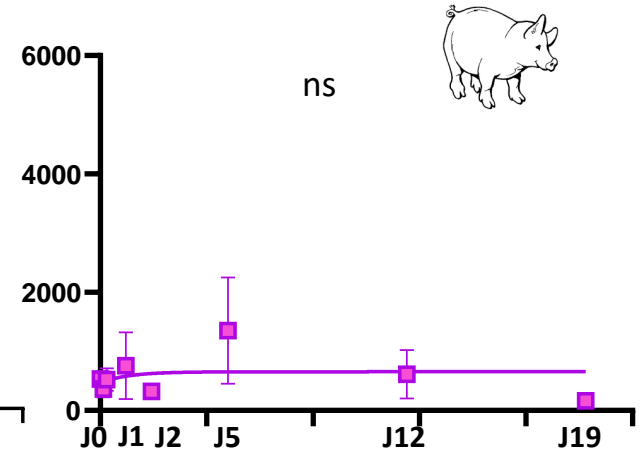
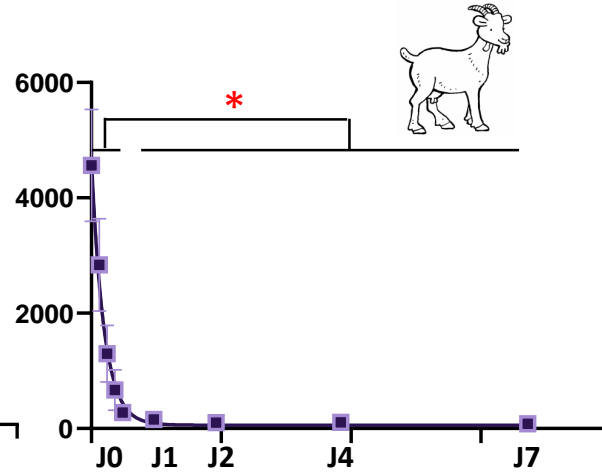
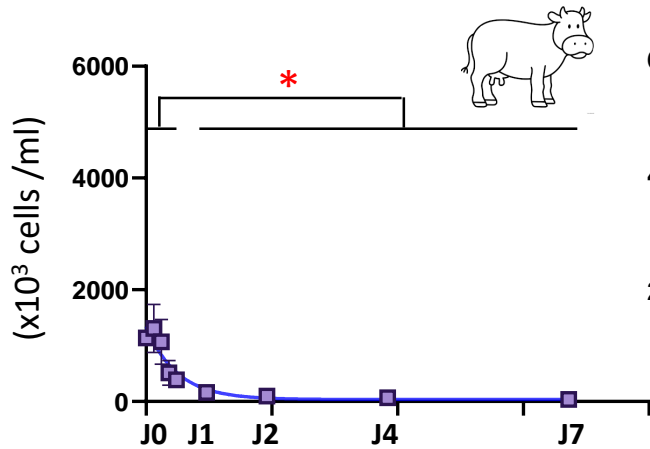
INRAE

Transversalité «Glande Mammaire, Lait»

10 et 11 Octobre 2024

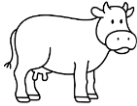
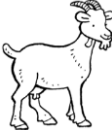

La concentration cellulaire du colostrum & lait

Cellules totales / mL de colostrum ou lait (\pm SEM)



➤ Pourcentage de cellules souches par cytométrie

Proportion moyenne exprimées en % de cellules totales viables (\pm SEM) pendant la période de cinétique

Cellules souches	Vaches 	Chèvres 	Truies 
Epithéliales (<i>CD49f⁺ CD24⁺</i>)	0.35% (\pm 0.08)	0.86% * (\pm 0.14) <i>J0 T6h > J2/J7</i>	0.80% (\pm 0.13)
Mesenchymateuses (<i>CD34⁻ CD90⁺ CD105⁺ CD29⁺</i>)	0.25% (\pm 0.06)	0.98% (\pm 0.32)	4.82% (\pm 0.84)
Hématopoïétiques (<i>CD45⁻ C34⁺ CD117⁺ CD90⁺</i>)	0.01% (\pm 0.01)	0.00% (\pm 0.001)	0.06% (\pm 0.02)

Effet temps: * $p < 0.05$

Faible pourcentage (<1%) de populations cellules souches

Pas de cellules souches hématopoïétiques



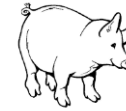
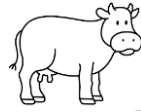
INRAE

Transversalité «Glande Mammaire, Lait»

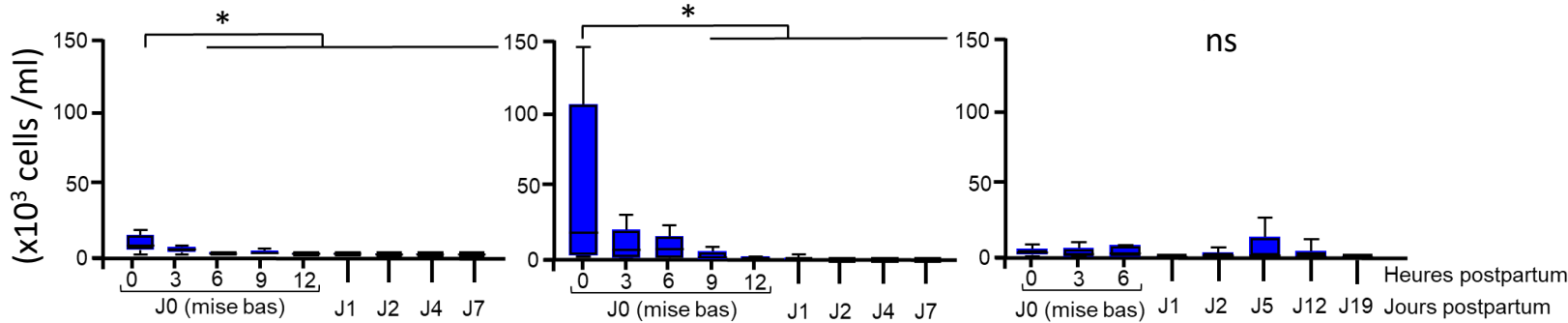
10 et 11 Octobre 2024

Quantification des cellules souches

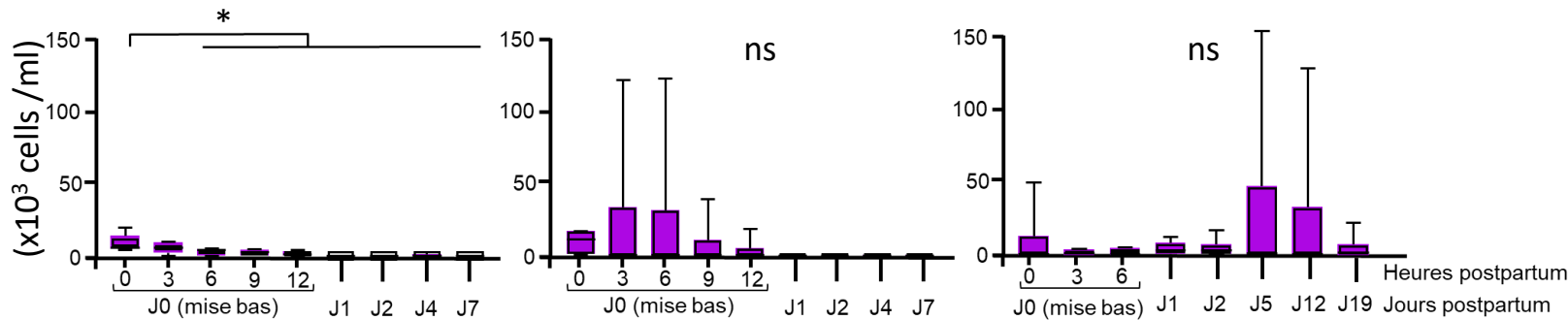
Concentration en cellules souches / cellules viables (\pm SEM)



Epithéliales
($CD49^+ CD24^+$)



Mesenchymateuses
($CD34^- CD90^+$
 $CD105^+ CD29^+$)



Hématopoïétiques

($CD45^- C34^+ CD117^+ CD90^+$)

0.01% (\pm 0.01)

0.00% (\pm 0.001)

0.06% (\pm 0.02)



INRAE

Transversalité «Glande Mammaire, Lait»

10 et 11 Octobre 2024

Effet temps (cinétique) : * $p < 0.05$

> En conclusion

⇒ Concentration plus forte en cellules dans le colostrum dès les premières heures : transfert de cellules plus important au premier jour de lactation?

⇒ Des populations de cellules souches :

En faible pourcentage : populations rares qui n'évoluent pas en début de lactation

En concentration plus élevée au début de la lactation : il y a plus de cellules souches aux premières heures de lactation

⇒ Plutôt des cellules souches orientées épithéliales et mésenchymateuses

➤ Les perspectives du travail



⇒ Du côté maternel

Etudier de possibles effets de conduite d'élevage (alimentation, fréquence de traite, ...) sur le profil en cellules du colostrum et du lait

Projet Epi2col : effet d'une alimentation riche en antioxydants administrée dès la gestation chez la vache laitière sur la qualité du colostrum et la santé du couple mère-jeune (implication : le profil des cellules souches dans le colostrum et le lait)

⇒ A l'interface mère/jeune

Etudier le passage des cellules à travers l'épithélium

Epithélium mammaire (de la mère)  Epithélium intestinal (du petit)

Projet MammaryEPI : Comprendre comment les cellules souches traversent la barrière épithéliale mammaire chez la vache laitière, par une approche in vitro.

⇒ Du côté du jeune

Le devenir de ces cellules chez le jeune (passage de la barrière intestinale, colonisation des organes, renforcement de l'immunité ?)

MERCI



INRAE

Transversalité «Glande Mammaire, Lait»