

P8703

**CINÉTIQUE D'APPARITION ET D'ÉVOLUTION  
DES SOUS-POPULATIONS LYMPHOCYTAIRES  
DANS LA GLANDE MAMMAIRE ET LE SANG DE TRUIE CYCLIQUE,  
GESTANTE ET ALLAITANTE,  
A L'AIDE D'ANTICORPS MONOCLONAUX ET POLYCLONAUX**

*Nadine CHABAUDIE, H. SALMON, Michel OLIVIER*

*INRA - Laboratoire de Pathologie Porcine - Nouzilly - 38380 MONNAIE.*

## I - INTRODUCTION ET OBJECTIFS

Dans l'espèce porcine, la placentation est de type épithéliochoriale. Le jeune naît donc agammaglobulinémique. Aussi, les sécrétions mammaires, lait et colostrum, apparaissent indispensables à la survie du porcelet nouveau-né, depuis la naissance jusqu'au sevrage.

Si l'on connaît la composition en immunoglobulines des sécrétions mammaires, ainsi que les différents types cellulaires présents dans le lait de truie, peu de travaux se sont consacrés à l'étude des cellules lymphoïdes présentes dans le parenchyme mammaire : notons les travaux de SALMON et DELOUIS qui, bien qu'ayant caractérisé les différentes sous-populations lymphocytaires T, B, L et nulles, ne se sont pas attachés aux sous-populations fonctionnelles T helper, T cytotoxiques et suppresseurs, ainsi qu'aux différents types de plasmocytes.

Le travail de recherche effectué, en caractérisant les sous-populations lymphocytaires fonctionnelles dans la mamelle de truie, cherchait à répondre aux questions suivantes :

- Les cellules représentantes d'un système immunitaire sont-elles présentes dans la glande mammaire de truie ?
- Ce système est-il plutôt dirigé vers la régulation de la synthèse des immunoglobulines A, immunoglobulines majoritaires dans le lait de truie ?

Dans le cas d'une réponse positive, nous pouvons nous interroger :

- Ce système est-il propre à la glande mammaire, son développement serait alors indépendant du système général somatique de l'organisme ?
- Est-il simplement une « annexe » du système général de l'organisme ?

Dans cette étude, le sang sert de témoin. En effet :

- Si les cinétiques d'évolution des différentes sous-populations lymphocytaires sont identiques dans le sang et la glande mammaire nous pouvons conclure à une migration non sélective.
- Si celles-ci sont différentes, nous pouvons émettre l'hypothèse d'une synthèse locale ou d'une migration préférentielle.

## II - MÉTHODOLOGIE

Les stades étudiés ont été choisis à partir des résultats des travaux de SALMON et DELOUIS, qui ont montré qu'entre 30 et 80 jours de gestation aucune variation quantitative significative des sous-populations lymphocytaires n'était notée dans le parenchyme mammaire de truie. Aussi, cinq stades ont été choisis :

- 80 et 105 jours de gestation (phase de gestation)
- 1<sup>er</sup> jour de lactation (phase colostrale)
- 16<sup>e</sup> jour de lactation (phase de lactation)
- un échantillon sur une truie cyclique afin d'étudier les populations lymphocytaires persistant dans la mamelle d'une femelle ni gestante, ni allaitante.

Des coupes congelées sont réalisées sur des échantillons de glande mammaire et de sang.

Nous disposons d'une collection d'anticorps monoclonaux et polyclonaux spécifiques des déterminants antigéniques de surface des différentes sous-populations lymphocytaires de l'espèce porcine. La fixation spécifique de ces anticorps sur les coupes de glande mammaire et de sang est révélée par une technique immunocytoenzymologique qui comprend quatre étapes :

- La fixation des anticorps monoclonaux et polyclonaux.
- La fixation des anticorps anti-immunoglobulines biotinylés.
- La fixation du complexe Streptavidine Biotine Peroxydase (la biotine sert de pont entre l'anticorps et le complexe, ainsi qu'entre la Streptavidine et la Peroxydase).
- La révélation du complexe par addition de diaminobenzidine en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Ce complexe permet d'amplifier la coloration finale en augmentant la quantité d'enzyme par anticorps monoclonal fixé.

Les résultats sont exprimés de la façon suivante :

- pour le tissu mammaire, 50 unités de surface sont observées par coupe, au niveau du tissu intralobulaire (comprenant l'épithélium alvéolaire, la lumière alvéolaire et le septum conjonctif). Une unité de surface correspond à un rectangle de 0,03 mm<sup>2</sup> visualisé dans le champ microscopique. Les coupes sont observées au microscope optique en contraste interférentiel sur fond bleu. Les résultats sont donnés en nombre moyen de cellules positives par unité de surface.
- pour le sang, 500 leucocytes sont observés. Les résultats sont donnés en nombre de cellules positives pour 100 leucocytes.

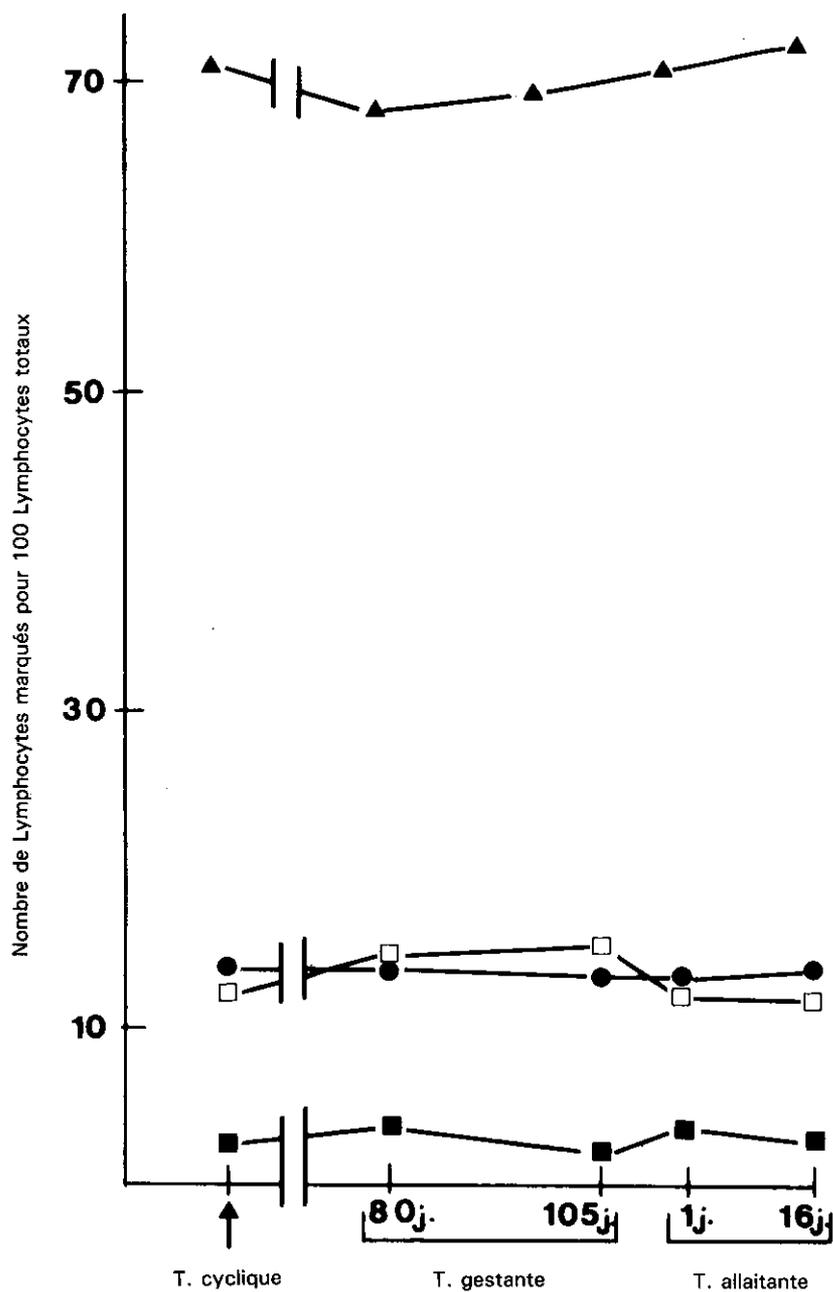
## III - RÉSULTATS ET DISCUSSION

### A. LE SANG

Les résultats nous ont permis de dégager les points suivants : Tout d'abord, nous avons observé une constance des taux des différentes sous-populations lymphocytaires à tous les stades.

Les lymphocytes T apparaissent nettement majoritaires : ils représentent 70 % des lymphocytes totaux (figure 1).

**FIGURE 1**  
**ÉVOLUTION DES POURCENTAGES DES SOUS-POPULATIONS LYMPHOCYTAIRES**  
**DANS LE SANG DE TRUIE CYCLIQUE, GESTANTE ET ALLAITANTE**  
**POUR 100 LYMPHOCYTES TOTAUX**  
 (Lymphocytes T (▲), Lymphocytes Ig A<sup>+</sup> (■), Lymphocytes Ig M<sup>+</sup> (●) et Lymphocytes Ig G<sup>+</sup> (□))



Contrairement aux espèces humaines et murines, les lymphocytes T cytotoxiques sont majoritaires sur les lymphocytes T helper dans le sang porcin.

Les cellules Ig A sont très peu nombreuses dans le sang : elles ne forment que 2 à 3 % des lymphocytes totaux. Les cellules Ig G et Ig M représentent-elles 10 à 12 % des lymphocytes totaux.

## B. LA GLANDE MAMMAIRE

Tout d'abord, nous avons caractérisé phénotypiquement, et ceci à tous les stades étudiés, les différentes sous-populations lymphocytaires T et B, ainsi que les cellules traitant l'antigène.

### 1. Les lymphocytes T

Nous remarquons une accumulation spécifique des lymphocytes T dans la glande mammaire, entre le stade cyclique et le stade 80 jours de gestation (tableau 1). En effet, ceux-ci passent de 2,32 à 4,88 cellules positives par unité de surface. Or, les travaux de SALMON et DELOUIS ne montrent pas de variations quantitatives du nombre de lymphocytes entre 30 et 80 jours de gestation. Aussi, nous pouvons supposer que les lymphocytes T colonisent la glande mammaire dans un temps relativement court, la période se situant vers le 80<sup>e</sup> jour de gestation.

**TABLEAU 1**  
ÉVOLUTION DU NOMBRE MOYEN, PAR UNITÉ DE SURFACE,  
DES SOUS-POPULATIONS LYMPHOCYTAIRES T DANS LA MAMELLE DE TRUIE CYCLIQUE,  
ET A 80 JOURS DE GESTATION

Sous-populations lymphocytaires	Truie cyclique	Gestation 80 jours
Lymphocytes T	2,32 *	4,88
Lymphocytes T helper	0,68	2,06
Lymphocytes T cytotoxiques	1,22	3,04

\* Nombre moyen de lymphocytes T par unité de surface.

Alors que les lymphocytes T cytotoxiques et suppresseurs sont à tous les stades majoritaires par rapport aux lymphocytes T helper, à 105 jours de gestation, le rapport lymphocytes T helper/lymphocytes T cytotoxiques s'inverse (tableau 2) alors que ce rapport reste constant dans le sang. Les lymphocytes T helper s'accumuleraient donc préférentiellement dans la glande mammaire entre le 80<sup>e</sup> et le 105<sup>e</sup> jour de gestation.

**TABLEAU 2**  
ÉVOLUTION DU RAPPORT LYMPHOCYTES T HELPER/LYMPHOCYTES T CYTOTOXIQUES  
DANS LE TISSU MAMMAIRE ET LE SANG DE TRUIE CYCLIQUE,  
GESTANTE ET ALLAITANTE

	Truie cyclique	Gestation		Mise bas	Lactation
		80 j	105 j	1 <sup>er</sup> j	16 <sup>e</sup> j
Glande mammaire	0,56	0,68	1,05	0,80	0,61
Sang	0,87	0,8	0,75	0,72	0,77

En observant la morphologie des lymphocytes T au cours des différentes périodes, nous n'avons pas remarqué au cours de la gestation puis de la lactation, les modifications morphologiques caractéristiques de la différenciation des cellules lymphoïdes. Aussi, les lymphocytes T migreraient du sang vers le tissu mammaire ayant déjà subi leurs différenciation et multiplication.

De plus, les lymphocytes T porcins, à partir du 105<sup>e</sup> jour de gestation et surtout au moment de la mise bas, se localisent préférentiellement près de l'épithélium alvéolaire. Au premier jour de lactation, 55 % des lymphocytes T cytotoxiques et 30 % des lymphocytes T helper sont en position sous ou intra épithéliale.

## 2. Les lymphocytes B

### a) Les lymphocytes B à Ig A

Comme chez la souris et la ratte, les cellules Ig A<sup>+</sup> sont à tous les stades majoritaires sur les cellules Ig M et Ig G. Le nombre de cellules Ig A<sup>+</sup> augmente régulièrement depuis la gestation jusqu'à la lactation, alors que le taux de cellules Ig A<sup>+</sup> dans le sang reste constant (tableau 3). Les cellules Ig A subiraient donc soit une synthèse locale, soit une migration préférentielle.

**TABLEAU 3**  
ÉVOLUTION DES POURCENTAGES DES LYMPHOCYTES B À Ig A DANS LE SANG  
ET LA GLANDE MAMMAIRE DE TRUIE CYCLIQUE, GESTANTE ET ALLAITANTE  
(pour 100 Lymphocytes totaux)

	Truie cyclique	Gestation		Mise bas	Lactation
		80 j	105 j	1 <sup>er</sup> j	16 <sup>e</sup> j
Glande mammaire	12,7*	17,5	32,4	38,2	38,9
Sang	2,7	3,8	2	3,8	2,8

\* Nombres de lymphocytes B à Ig A pour 100 lymphocytes totaux.

Mais, contrairement aux populations T, les cellules Ig A<sup>+</sup> subissent de grandes variations morphologiques au cours des stades étudiés. A 80 et 105 jours de gestation, la plupart des cellules observées sont des lymphoblastes. Au 1<sup>er</sup> jour de lactation, les cellules observées ont une taille plus réduite et sont pour la plupart des plasmocytes. Aussi, les précurseurs des plasmocytes à Ig A arriveraient sous forme de lymphoblastes et se multiplieraient localement.

Comme les lymphocytes T, les cellules Ig A<sup>+</sup> se localisent préférentiellement le long des alvéoles. Ceci est caractéristique au premier jour de lactation où 83,2 % des lymphocytes à Ig A sont intra ou sous-épithéliaux.

### b) Les lymphocytes à Ig G et Ig M

Les cellules Ig G<sup>+</sup> et Ig M<sup>+</sup> s'accumulent surtout à partir du 1<sup>er</sup> jour de lactation. Elles ne subissent pas de modifications morphologiques. Elles migreraient donc en début de lactation et ne subiraient dans le parenchyme mammaire qu'une différenciation terminale (tableau 4). De même, ces cellules se localisent préférentiellement le long des alvéoles.

**TABLEAU 4**  
ÉVOLUTION DES POURCENTAGES DES LYMPHOCYTES B A Ig M ET Ig G  
DANS LA GLANDE MAMMAIRE DE TRUIE CYCLIQUE, GESTANTE ET ALLAITANTE  
(pour 100 lymphocytes totaux)

	Truie cyclique	Gestation		Mise bas	Lactation
		80 j	105 j	1 <sup>er</sup> j	16 <sup>e</sup> j
Lymphocytes B à Ig M	7,0*	3,19	6,87	12,3	12,3
Lymphocytes B à Ig G	6,39	1,27	2,3	10	10,9

\* Nombres de lymphocytes B à Ig C et Ig M pour 100 lymphocytes.

## 3. Les antigènes de classe II du CMH

KLARESKOG avait observé sur la glande mammaire de cobaye, au cours de la gestation puis de la lactation, une augmentation de la densité des antigènes de classe II, présents au niveau des

cellules épithéliales mammaires. Cet auteur avait émis l'hypothèse d'un rôle des antigènes de classe II dans la migration des lymphocytes dans la mamelle.

Les résultats obtenus sur le tissu mammaire de truie montrent que les antigènes de classe II sont présents sur les cellules épithéliales mammaires, l'endothélium vasculaire, les cellules épithéliales des canaux intralobulaires et certaines cellules présentes dans le parenchyme mammaire. Mais, à la différence de KLARESKOG, nous n'observons pas d'augmentation de la quantité d'antigène de classe II entre la gestation et la lactation. Il semblerait donc que ceux-ci ne jouent pas de rôle primordial dans la migration des populations lymphocytaires dans l'espèce porcine.

## CONCLUSION

Nous avons, au cours de cette étude, caractérisé toutes les sous-populations lymphocytaires nécessaires à une réponse immunitaire dans la glande mammaire de truie.

Les résultats obtenus suggèrent que les lymphocytes T helper évoluent indépendamment des taux sanguins et que les cellules Ig A<sup>+</sup> se multiplient localement. Un système immunitaire local semble bien présent dans la mamelle de truie, plutôt orienté vers la régulation de la synthèse des immunoglobulines A.

La voie intra-mammaire pourrait donc être envisagée dans les protocoles d'immunisation des truies gestantes.

## BIBLIOGRAPHIE

- SALMON H., DELOUIS C. 1982, Ann. Rech. Vet. **13**, 41-49.
- KLARESKOG L. 1980, Eur. J. Immunol., **10**, 958-963.