

Michèle OLLIVIER-BOUSQUET

INRA Laboratoire de Biologie Cellulaire  
et Moléculaire  
78352 Jouy-en-Josas Cedex

On sait depuis plus de soixante ans que le lait contient de nombreuses hormones produites par l'organisme maternel (Koldovsky 1980). Les questions qui se posent actuellement concernent leur origine (apport du sang vers le lait à travers les tissus de la glande mammaire ou synthèse locale par les cellules de la glande), leur transport à travers la cellule mammaire et leurs rôles éventuels sur le fonctionnement de la glande mammaire et sur la physiologie du jeune.

On dispose de quelques éléments de réponse puisque on sait que l'abaissement artificiel du taux de certaines hormones circulantes maternelles, pendant la lactation, diminue la production laitière (cas de la diminution de la prolactine (PRL) par la bromocryptine (CB154) chez les lapins, les rongeurs, les ovins et les caprins).

Cependant il est intéressant de répondre plus précisément à ces questions à plusieurs titres. D'une part, dans le cadre de la maîtrise de la production du lait, il est indispensable de comprendre comment les hormones contrôlent le fonctionnement de la glande mammaire. Un cas précis est celui de l'action stimulante de l'hormone de croissance, "Growth Hormone" (GH) sur la production du lait (Chilliard 1989, Juskevich 1990). La GH agit par l'intermédiaire des facteurs de croissance (IGF) et il n'est pas exclu que le transport de ces facteurs de croissance à travers les cellules mammaires puisse exercer un effet galactopoïétique.

## Résumé

Le lait contient de nombreuses hormones. Pour certaines hormones les concentrations dans le lait sont plus élevées que dans le plasma. Les hormones du lait peuvent soit provenir du sang, et dans ce cas elles sont transportées à travers les cellules épithéliales mammaires, soit être synthétisées par le tissu mammaire. Cet article envisage les rôles possibles de ces hormones sur le fonctionnement de la cellule épithéliale mammaire et sur la physiologie du nouveau-né. Il souligne l'importance d'une transmission d'information hormonale par l'alimentation lactée entre la mère et le jeune.

# Les hormones du lait : provenance et rôles

D'autre part, dans le cadre du contrôle de la croissance néonatale, la connaissance des effets des hormones du lait sur la croissance et le développement du jeune est primordiale, non seulement pour la mise au point de laits de remplacement dans l'alimentation humaine, mais aussi pour l'alimentation animale au cours des premiers jours de la vie.

De nombreux articles de synthèse ont déjà décrit la présence et le rôle des hormones dans le lait (Koldovsky 1980, West 1985, Peaker et Neville 1991). Nous nous bornerons à présenter quelques exemples de transport d'hormone dans le lait et à discuter de certains de leurs rôles physiologiques à la lumière des résultats récemment acquis.

## 1 / Hormones et facteurs de croissance dans le sang et dans le lait (tableau 1)

La concentration plasmatique des hormones subit de brusques changements aux alentours de la mise bas (revue de Jammes et Djiane 1988) et ces modifications vont avoir des répercussions sur les concentrations des hormones dans le colostrum. Excepté chez les espèces où la lactation et la gestation se superposent (cas des bovins) les taux d'hormones circulantes se stabilisent au cours de la lactation. Nous examinerons donc successivement la période périnatale et la période de lactation.

### 1.1 / Période périnatale

#### a / Hormones plasmatiques

Cette période se caractérise par la décharge massive d'un grand nombre d'hormones. Avant la mise bas de fortes concentrations d'oestrogènes (sulfate d'oestrone d'origine placentaire) sont associées à la chute brutale du taux de progestérone. L'ocytocine est déchar-

**Tableau 1.** Exemples d'hormones dans le sang et dans le lait, chez la femelle allaitante, et détermination de la présence d'hormones d'origine maternelle apportées par le lait, dans l'estomac et le sang du jeune. Les concentrations d'hormones dans le sang maternel sont des valeurs moyennes mesurées pendant la lactation établie et correspondent à un taux de base (voir pic de décharge de prolactine et d'ocytocine dans le texte). La présence ou non d'une immunoréactivité, d'une activité biologique et d'ARNm tissulaires est indiquée par un signe + ou - (nd : paramètre non mesuré).

Hormone	Mère						Jeune		Référence
	Sang	Colostrum	Lait	Immuno réactivité	Activité biologique	ARNm tissulaires	Estomac	Sang	
<b>Somatostatine</b> <i>ovins</i>	32 pg/ml	nd	150 pg/ml	+	+	-	+	+	Koch <i>et al</i> 1991
<b>VIP</b> <i>humains</i>	< 66 pg/ml	nd	161 pg/ml	nd	nd	-	nd	nd	Werner <i>et al</i> 1985
<b>TRH</b> <i>bovins</i>	< 0,01 ng/ml	0,16 ng/ml	0,05 ng/ml	+	nd	-	+	nd	Strbak <i>et al</i> 1991 Amarant <i>et al</i> 1982
<b>GnRH</b> <i>humains - bovins</i>	30-100 pg/ml	11,8 ng/ml	3,9 ng/ml	+	+	?	+	+	Amarant <i>et al</i> 1982
<b>GRF</b> <i>humains</i>	21 pg/ml	nd	152-432 pg/ml	+	nd	nd	nd	nd	Werner <i>et al</i> 1986
<b>GH</b> <i>bovins</i>	5-10 ng/ml	60 pg/mg de protéines	1-4 ng/ml	nd	nd	nd	nd	nd	Einspanier et Schams 1991
<b>PRL</b> <i>bovins - rat</i>	10-30 ng/ml	50-200 ng/ml	2-100 ng/ml	+	+	+	+	+	Nagasawa 1991 Kacsoh <i>et al</i> 1991
<b>TSH</b> <i>rat</i>	219 ng/ml	nd	156 ng/ml	nd	nd	nd	nd	nd	Krulich <i>et al</i> 1977
<b>H.thyroïdiennes</b> <i>bovins</i>	T4 : 60 nmol/l T3 : 2 nmol/l	nd nd	T4 : 2 nmol/l T3 : 0,5-1 nmol/l	nd nd	nd nd	nd nd	nd nd	nd nd	Slebodzinski <i>et al</i> 1991
<b>PLP</b> <i>bovins</i>	nd	56 ng/ml	79-168 ng/ml	+	+	+	nd	nd	Goff <i>et al</i> 1991
<b>Oestrogènes</b> <i>bovins</i>	nd	765 pmol/ml	18,6 pmol/ml	+	-	-	nd	nd	Hamon <i>et al</i> 1990
<b>Progestérone</b>	nd	nd	1-15 ng/ml	nd	nd	nd	nd	nd	Hazum 1983
<b>Insuline</b> <i>bovins</i>	2-3 nM	80-120 nM	2-3 nM	+	nd	nd	nd	+	Schams et Einspanier 1991
<b>IGF - I</b> <i>bovins</i>	743-400 ng/ml	100-600 ng/ml	22-26 ng/ml	+	nd	+	+	-	Donavan <i>et al</i> 1991
<b>IGF - II</b> <i>rat</i>	9-4 ng/ml	1,3 ng/ml	< 1 ng/ml	+	nd	nd	nd	nd	Donavan <i>et al</i> 1991
<b>EGF</b> <i>murin</i>	1 ng/ml	jusqu'à 2 µg/ml	50-400 ng/ml	+	+	+	+	nd	Beardmore et Richards 1983
<b>Prostaglandines</b>	nd	2,5 ng/ml	3 ng/ml	+	nd	nd	+	nd	Friedman 1986
<b>Relaxine</b> <i>humains</i>	80 pg/ml à nd	nd	193-568 pg/ml	nd	nd	nd	nd	nd	Lippert <i>et al</i> 1981

gée en grande quantité à la mise bas. Une libération importante de PRL et, dans une moindre mesure, de GH accompagne une augmentation transitoire du taux des corticoïdes. Des pics de sécrétion de LH et FSH sont détectables chez les vaches laitières après la parturition.

Les concentrations plasmatiques d'insuline et d'IGF sont aussi très élevées au moment de la mise bas.

### **b / Colostrum**

La composition du colostrum reflète l'augmentation des concentrations plasmatiques des hormones et des facteurs de croissance. Il contient des quantités élevées de GH, de PRL, d'insuline, de facteurs de croissance, "Insulin Like Growth Factor I" (IGF-I) et "Epidermal Growth Factor" (EGF), de prostaglandines. Le peptide semblable à l'hormone parathyroïdienne "Parathyroid Like Protein" (PLP), qui avec

l'hormone parathyroïdienne, la calcitonine et la vitamine D fait partie des régulateurs majeurs de l'homéostasie du calcium, est produit dans le colostrum humain (Goff *et al* 1991). Des concentrations d'ocytocine élevées ( $10,0 \pm 1,4 \mu\text{UI/ml}$ ) par rapport à celles du plasma ( $1,7 \pm 0,3 \mu\text{UI/ml}$ ) sont présentes dans le lait humain environ deux à quatre jours après l'accouchement (Leake *et al* 1981). De plus, une production importante de sulfate d'œstrone (d'origine placentaire) mais aussi d'œstradiol 17  $\beta$  est détectable dans les sécrétions mammaires juste avant la mise bas chez la chèvre, la vache et la brebis.

## 1. 2 / Période de lactation établie

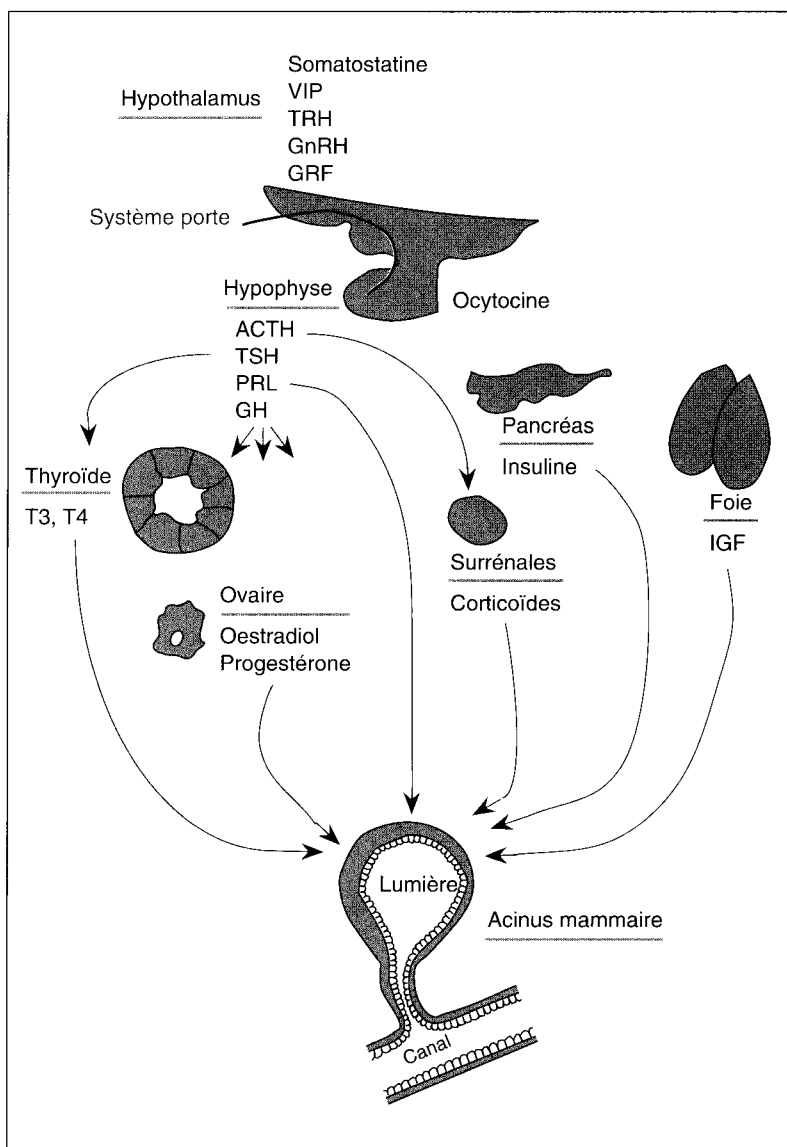
### a / Hormones plasmatiques (figure 1)

Tout au long de la lactation, les hormones hypophysaires, la GH, l'hormone stimulant la thyroïde, "Thyroid-StimulatingHormone" (TSH), l'hormone corticotrope "Adrenocorticotrophic Hormone" (ACTH), sont sécrétées d'une façon régulière. En revanche des quantités importantes de PRL sont libérées dans le sang à chaque tétée ou traite. Ainsi chez la brebis la concentration de prolactine plasmatique passe de 50 ng/ml à 250 ng/ml après une période de 5 min de traite. De même les concentrations plasmatiques d'ocytocine s'élèvent d'environ cinq fois dans les minutes qui suivent le début de la traite (de  $10 \mu\text{UI/ml}$  à  $50 \mu\text{UI/ml}$  par exemple chez la vache). Les gonadotropines ne sont sécrétées qu'en faible quantité dans la majorité des espèces. Les ovaires sont dans un état de repos au début de la lactation. Après reprise des cycles œstriens les stéroïdes ovariens sont sécrétés en faible quantité. Les glandes surrénales produisent des glucocorticoïdes. Les hormones thyroïdiennes circulantes sont essentiellement la thyroxine (T4) et la tri-iodothyronine (T3), liées à des protéines de transport. Elles sont actives lorsqu'elles sont sous forme libre.

### b / Lait

Les concentrations d'hormones mesurées dans le lait sont différentes de celles trouvées dans le colostrum. Ainsi les concentrations de GH, insuline, IGF I baissent dans le lait sécrété les premiers jours de la lactation pour atteindre dans le lait mature des niveaux un peu plus faibles que les niveaux plasmatiques. La concentration en TSH a des valeurs égales ou légèrement inférieures à celles du sérum. Les œstrogènes sont alors en quantités très faibles ou indétectables. Ce n'est que chez les animaux en gestation que des quantités d'œstrone sulfate élevées d'origine fœto-placentaire sont détectables dans le lait. La mesure de ces œstrogènes peut présenter un intérêt de diagnostic de gestation tardif, après insémination chez les bovins en lactation. La progestérone est détectable en fonction des cycles œstriens. De plus son taux augmente dans le lait, d'environ deux à dix fois chez les vaches gestantes du fait de sa production par le corps jaune de gestation. La mesure du taux de progestérone dans le lait permet de

Figure 1. Principales hormones plasmatiques circulantes pendant la lactation.



détecter les femelles non gravides chez lesquelles ce taux chute à la fin du cycle œstrien et les femelles gravides chez lesquelles le taux de progestérone reste élevé. Cette mesure est utilisée couramment chez les ruminants comme un test précoce de non gravidité. Les hormones thyroïdiennes dans le lait ne représentent qu'une faible fraction des hormones circulantes ( $T4 = 1/30$  ;  $T3 = 1/3$  des hormones du sang). La glande mammaire des bovins et des porcins possède un système de déiodination (Slébodzinski et Brzezinska-Slébodzinska 1991), ce qui explique qu'on retrouve surtout la tri-iodothyronine (T3) dans le lait. Il faut noter que dans les cas de mammites chez les bovins la teneur en T3 du lait augmente fortement. Ceci suggère que certains facteurs hormonaux du lait, présents en très faible quantité chez les animaux sains, pourraient augmenter et peut être jouer des rôles protecteurs dans des circonstances pathologiques ou physiologiques différentes.

Plusieurs hormones sont plus concentrées dans le lait que dans le sang : c'est le cas des hormones hypothalamiques comme la somatostatine, le "Vaso Intestinal Peptide" (VIP), le "TSH-Releasing Hormone" (TRH), le "Gonadotropin Releasing Hormone" (GnRH).

Les niveaux sanguins de PRL sont élevés au début de la lactation puis baissent jusqu'au moment du sevrage. Les concentrations moyennes de PRL dans le lait reflètent les concentrations sanguines ainsi que leurs variations dues aux décharges importantes, par l'hypophyse, à chaque tétée ou à chaque traite. Cependant, si la quantité de PRL circulante est abaissée chez la mère par un traitement à la bromocryptine (CB154), la quantité de PRL dans le lait n'est pas modifiée (Malven 1983, Forsyth communication personnelle). Enfin, des techniques de dosage de cette hormone par son activité biologique tendent à montrer que, chez le rat, les quantités contenues dans le lait sont supérieures à celles qui avaient été mesurées par immunoradioessai (Kacsóh *et al* 1991).

Peu de données sur les concentrations d'ocytocine dans le lait sont actuellement disponibles. La demi-vie très brève de cette hormone, les grandes variations de décharge et la

possibilité qu'elle soit spécifiquement dégradée dans le lait en sont peut-être les causes.

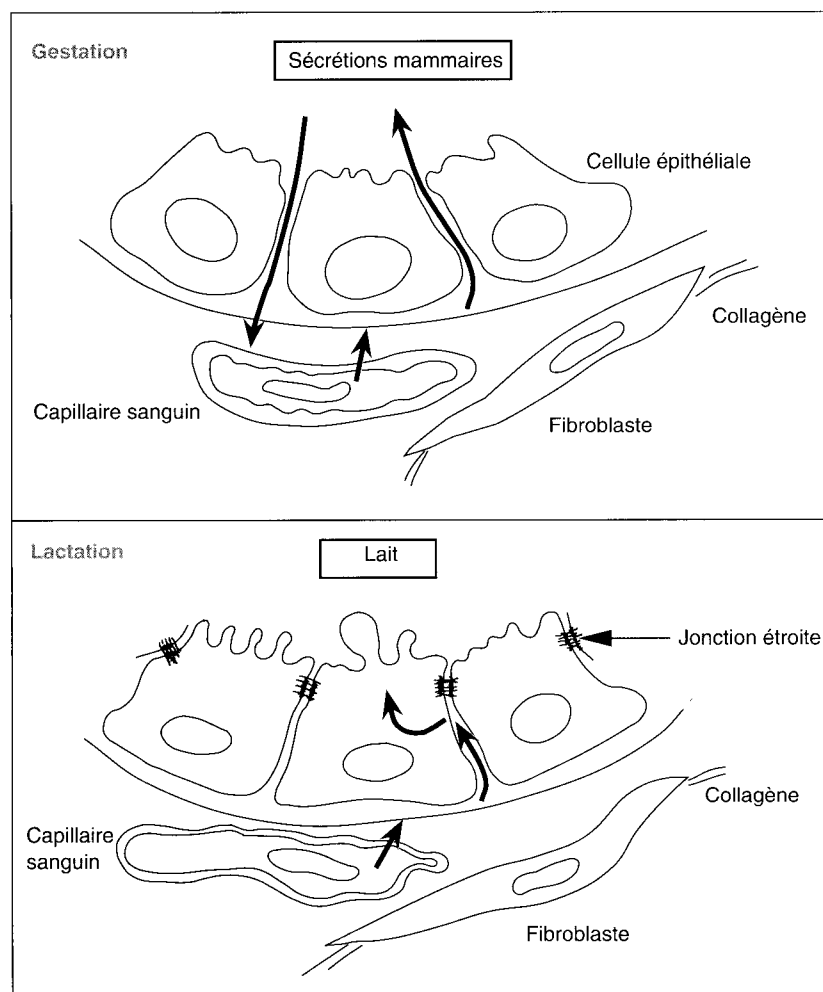
Le PLP a été retrouvé en grande quantité dans la glande mammaire en lactation et dans le lait de femme, de rate, de vache, de chèvre, de truie, de souris et d'opossum. Sa concentration dans le lait est fortement supérieure à celle dans le sang (10 000 fois plus élevée dans le lait que dans le sérum humain). Chez les bovins la concentration de PLP augmente au cours de la lactation (Goff *et al* 1991).

L'EGF est retrouvé en quantités importantes dans le lait (Beardmore et Richards 1983) où ses propriétés mitogènes sont conservées.

La relaxine exerce des effets sur la croissance et la différenciation de la glande mammaire durant la gestation. Cependant, si les taux de relaxine circulante sont élevés à la fin de la gestation lorsque cette hormone est produite en quantité par les ovaires, l'utérus et le placenta, ils sont normalement très faibles pendant la lactation. Or des pics de relaxine immunoréactive ont été détectés dans le sang en réponse à la tétée ou à la stimulation des tétons, chez la truie en lactation (Lippert *et al* 1981). D'autre part la relaxine immunoréactive est sécrétée en grande quantité dans le lait alors qu'aucune immunoréactivité n'est décelable dans le sang. La détection immunocytochimique de relaxine dans les cellules épithéliales mammaires en lactation suggère que ces cellules pourraient être responsables, pendant la lactation, de la production de fortes quantités de cette hormone dans le lait.

Les prostaglandines subissent un catabolisme très important dans les poumons ce qui maintient un taux circulant relativement faible. Les quantités importantes de prostaglandines dans le colostrum et le lait sont vraisemblablement dues à une production locale intramammaire. La production de prostaglandines F<sub>2α</sub> par la glande mammaire de chèvre a déjà été montrée *in vitro* (Peaker 1991).

Figure 2. Passage des substances provenant du sang à travers l'épithélium mammaire, pendant la gestation et pendant la lactation.



## 2 / Transport des protéines et des hormones par les cellules épithéliales mammaires

### 2.1 / Structure de l'épithélium mammaire

La glande mammaire est formée de lobules, eux-mêmes constitués d'unités fonctionnelles, les acinus (Jammes et Djiane 1988). Ces acinus sont revêtus d'une couche de cellules épithéliales constituant l'épithélium mammaire. Cet épithélium synthétise et sécrète d'une manière polarisée les constituants du lait et transporte les constituants d'origine sanguine. Tous ces produits sont sécrétés dans la lumière des acinus puis transportés dans des canaux vers le téton de la mamelle. Les acinus sont entourés d'un tissu conjonctif contenant de

nombreux fibroblastes et des cellules sanguines. Cet ensemble de cellules non épithéliales de la glande mammaire constitue le stroma. L'épithélium mammaire présente des caractéristiques de perméabilité différentes en fonction du stade physiologique (figure 2). Au cours de la gestation les substances provenant du sang peuvent diffuser entre les cellules jusqu'aux sécrétions mammaires. Ces produits de sécrétion peuvent, à l'inverse, repasser vers le sang. Aux alentours de la mise bas et au cours des premiers jours de la lactation (selon les espèces), des jonctions serrées apparaissent à la partie apicale des cellules. Ces jonctions serrées, constituées de protéines, assurent une sorte de scellage constituant un anneau étanche entre les acinus. En conséquence les substances provenant du sang sont obligatoirement transportées à travers les cellules épithé-

liales et les produits contenus dans le lait ne peuvent plus rediffuser librement vers le sang en passant entre les cellules.

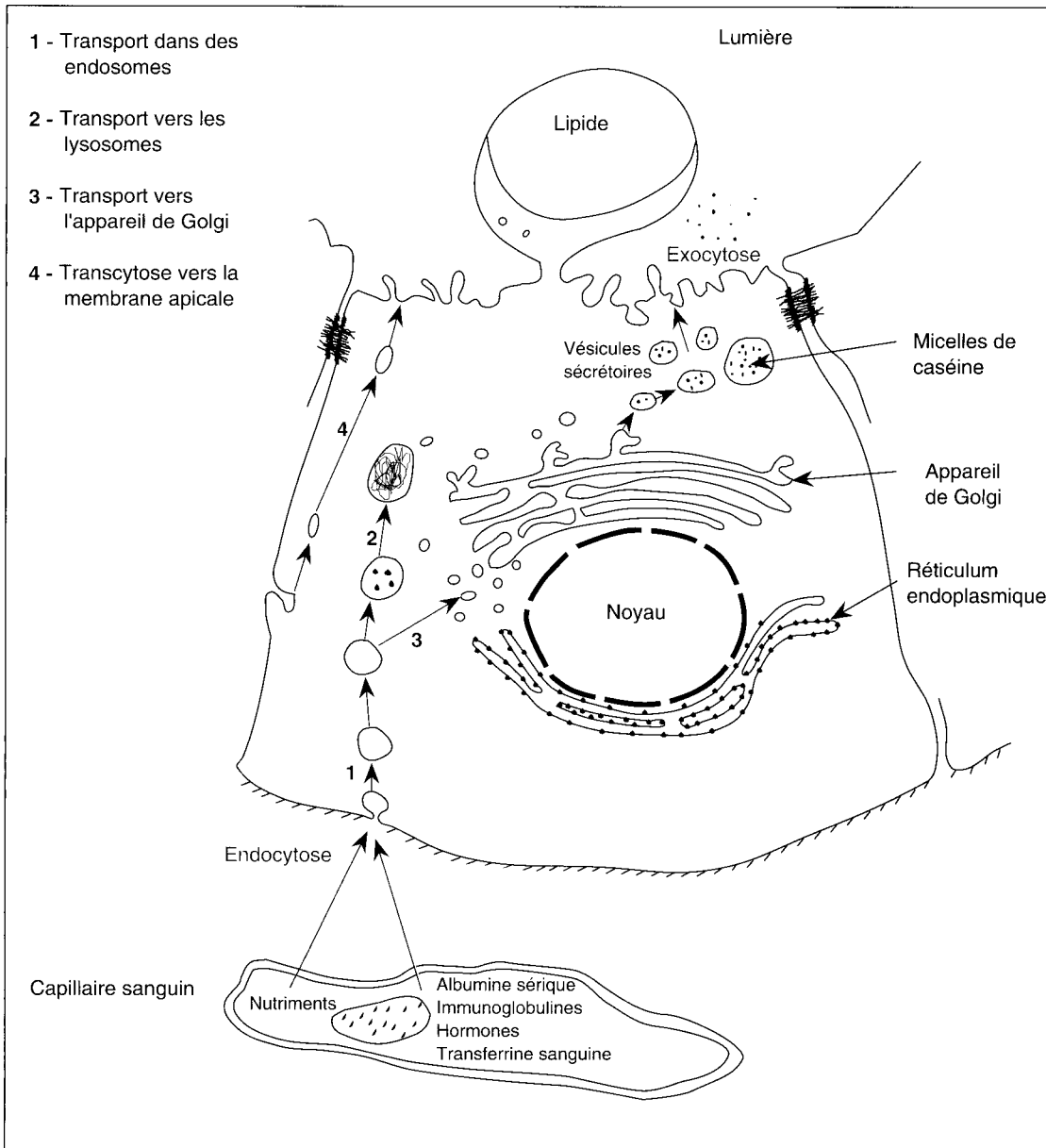
## 2.2 / Constituants transportés par l'épithélium mammaire

L'épithélium mammaire transporte des constituants extrêmement variés (figure 3) dont certains sont synthétisés par les cellules épithéliales.

### a / Les constituants du lait synthétisés dans les cellules épithéliales mammaires

Ces cellules synthétisent de nombreuses protéines parmi lesquelles les caséines et les protéines du petit lait. Le transport des protéines du lait est initié dès leur synthèse au

Figure 3. Cellule épithéliale mammaire en lactation. Voies de transport des substances provenant du sang et des produits synthétisés par la cellule : après synthèse dans le réticulum endoplasmique, les protéines sont transportées à travers l'appareil de Golgi puis les vésicules sécrétoires vers la lumière de l'acinus.



niveau du réticulum endoplasmique granuleux. Une "séquence signal" (18 à 19 acides aminés pour les caséines) qui permet de diriger ces protéines vers la lumière de ce compartiment est clivée dès que le transfert de ces protéines à travers la membrane du réticulum endoplasmique granuleux a eu lieu (Mercier *et al* 1991). Les protéines sont ensuite transportées dans l'appareil de Golgi et dans des vésicules de sécrétion. La libération des protéines à l'extérieur de la cellule a lieu par un mécanisme d'exocytose, c'est-à-dire après une fusion entre la membrane des vésicules de sécrétion et la membrane apicale. Ces vésicules de sécrétion contiennent aussi le lactose synthétisé par la cellule, le calcium, le citrate, etc.

La synthèse des lipides et leur sécrétion se fait parallèlement. Les gouttelettes lipidiques s'accrochent à la membrane apicale qui fait une extrusion et le lipide entouré de cette membrane est libéré dans la lumière.

### **b / Les constituants provenant du sang**

Il s'agit essentiellement des immunoglobulines, de l'albumine sérique, de la transferrine sérique et des hormones. Toutes ces molécules (ligands) reconnaissent des sites spécifiques (récepteurs) sur la membrane plasmique basolatérale des cellules épithéliales mammaires avec lesquelles elles forment un complexe. Ce complexe ligand-récepteur est endocyté dans la cellule, c'est-à-dire que la membrane plasmique forme une invagination à l'intérieur de la cellule puis une vésicule, et cette vésicule d'endocytose sert de transporteur pour le complexe. Le transport qui s'ensuit et qui assure le passage du ligand à travers la cellule épithéliale jusque dans le lait est appelé transcytose. Les IgA et la transferrine sanguine sont transportées ainsi depuis la base de l'épithélium jusqu'à l'apex des cellules et jusque dans le lait.

### **c / Mécanismes de transport**

Tout comme les autres constituants du lait, les hormones suivent des voies de transport intracellulaires différentes selon qu'elles sont produites dans les cellules épithéliales ou qu'elles proviennent de la circulation sanguine.

#### *Transport des hormones synthétisées par la glande mammaire*

Pendant la lactation, l'EGF, le PLP, la relaxine peuvent être synthétisés par les cellules épithéliales mammaires qui possèdent des ARNm correspondants à ces protéines. Récemment, des ARNm de la prolactine ont aussi été détectés dans les cellules épithéliales mammaires. L'EGF et la relaxine ont pu être localisés par immunocytochimie dans le cytoplasme de ces cellules. Bien qu'on n'ait pas d'indication précise sur le transport qui suit ces synthèses, il apparaît très vraisemblable que les protéines néosynthétisées suivent le flux des autres protéines sécrétées c'est-à-dire un transport dans l'appareil de Golgi puis dans les vésicules sécrétées et qu'elles sont libérées dans la lumière comme les caséines par un phénomène d'exocytose.

Les mécanismes de transport des IGF-I à travers la cellule épithéliale mammaire sont complexes. Les IGF-I et les protéines liant ces facteurs (IGF-BP) sont présents dans le sang et dans le lait. Ces facteurs sont en grande partie d'origine hépatique. Cependant il a été montré que ces facteurs de croissance et leurs protéines de liaison sont aussi synthétisés et sécrétés par le tissu mammaire. Dans ce tissu, les IGF-BP seraient synthétisés par les cellules épithéliales mammaires, alors que les IGF-I seraient synthétisés par les cellules du stroma (Campbell *et al* 1991). Dans ce cas, les IGF-I se fixeraient à leurs récepteurs membranaires sur les cellules épithéliales (Dehoff *et al* 1988, Disenhaus *et al* 1988), puis transiteraient à travers la cellule comme les produits provenant du sang. En revanche, les IGF-BP qui sont synthétisés par les cellules épithéliales (Campbell *et al* 1991) seraient transportés comme les produits de sécrétion de la cellule épithéliale mammaire.

#### *Transport des hormones provenant du sang*

Comme il a été décrit au paragraphe 1.2, certaines hormones sont plus concentrées dans le lait que dans le sang. Puisqu'on n'a pas détecté de synthèse de ces hormones dans la glande mammaire il a été suggéré qu'elles étaient concentrées à partir du sang.

La première étape du transport de ces hormones est une reconnaissance des récepteurs spécifiques situés sur la membrane plasmique de la cellule épithéliale suivi par l'endocytose du complexe hormone-récepteur. Ainsi le GnRH, le VIP, l'insuline, les facteurs de croissance (IGF, EGF) et la PRL reconnaissent des récepteurs sur la membrane des cellules épithéliales mammaires.

L'endocytose qui s'ensuit est en partie décrite dans le cas de la PRL (Ollivier-Bousquet 1993). Cette dernière est endocytée, transportée jusqu'à l'appareil de Golgi puis dans des vésicules sécrétées contenant des micelles de caséines. L'hormone est acheminée dans la lumière en même temps que les protéines du lait. Une partie de la PRL est susceptible d'être transportée dans des corps semblables à des lysosomes où une dégradation pourrait avoir lieu. On retrouve dans le lait de la PRL entière immunologiquement et biologiquement active mais aussi plusieurs formes moléculaires de PRL qui pourraient avoir des activités biologiques (Nagasawa 1991, Kacsoh *et al* 1991). Ces résultats sont confirmés par les mesures de transfert de PRL dans le lait chez la chèvre. Deux voies de passage de la prolactine à travers l'épithélium mammaire sont envisagées : une voie de transport pour la PRL intacte, une autre voie comprenant une étape de dégradation (Fleet *et al* 1992). La voie de transport de la PRL est donc différente de celle des IgA et de la transferrine sanguine puisque, contrairement à cette dernière, elle rejoint la voie des protéines sécrétées. Il reste à savoir si les autres hormones protéiques venant du sang empruntent la voie de la transcytose ou se comportent comme la PRL.

Le transport des hormones stéroïdes à travers la cellule mammaire reste assez mal connu (revue de West 1986). Des protéines de liaison existent dans le cytosol des cellules mammaires pour les glucocorticoïdes et l'œstradiol. Ce transport a surtout été étudié après injection de l'hormone dans l'artère de la glande mammaire. L'hypothèse que l'œstrone sulfate injecté dans la glande mammaire de rat serait transloqué à l'intérieur de la cellule via l'appareil de Golgi et les vésicules sécrétoires a été émise. La progestérone, qui est hautement soluble dans les lipides, apparaît dans le lait 30 à 40 minutes après injection dans le système artériel de la glande mammaire. Il est bien connu que la destination finale des hormones stéroïdes est nucléaire. Le mécanisme par lequel ces hormones suivent un autre chemin pour être transportées vers le lait reste encore inconnu. Il faut noter que la concentration des stéroïdes ovariens est plus élevée dans le lait entier que dans le lait écrémé. Parmi les produits laitiers, le beurre est le plus riche en œstrogènes et progestérone. Il est possible que ces stéroïdes soient sécrétés en même temps que les lipides.

Les hormones thyroïdiennes plasmatiques sont réversiblement associées avec des protéines de liaison qui gouvernent le transport des hormones. Une petite partie de ces hormones est libre. Il est généralement accepté que seules les hormones thyroïdiennes libres traversent la membrane des capillaires. Des récepteurs spécifiques de T4 pourraient exister dans le cytosol de glande mammaire de bovins mais le mécanisme de transport vers le lait reste inconnu.

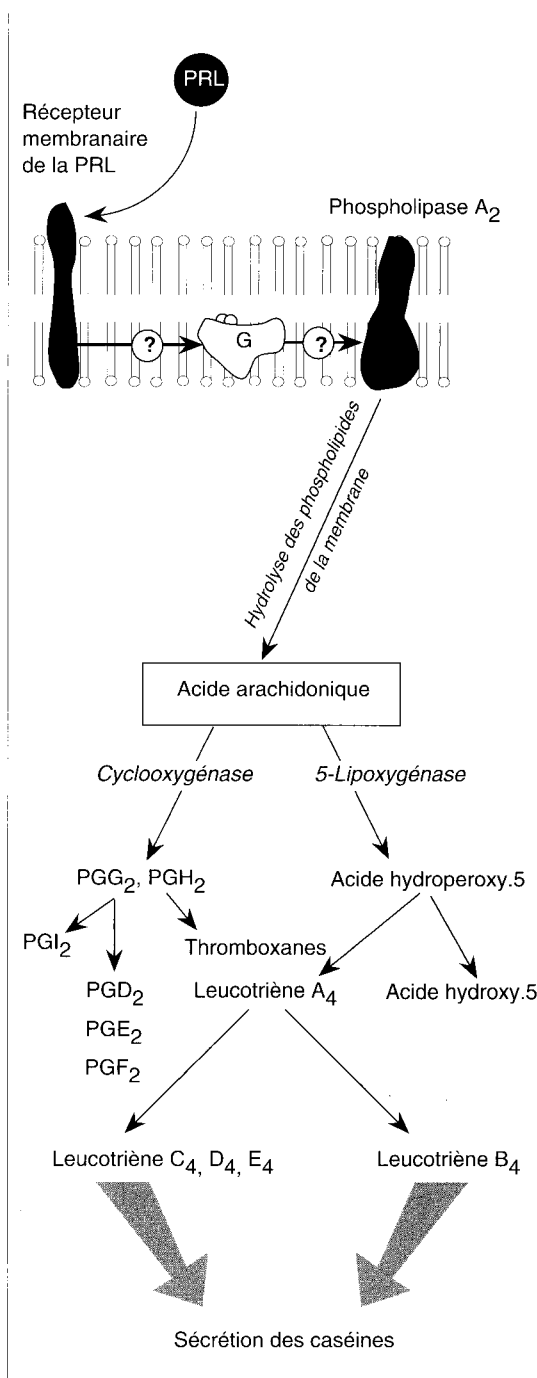
### 3 / Effets physiologiques des hormones du lait

#### 3.1 / Effets sur le fonctionnement de la cellule épithéliale mammaire

Parmi les hormones d'origine hypophysaire, la PRL joue un rôle clef au cours de la lactogénèse et de la galactopoïèse. Le blocage de la sécrétion hypophysaire de la prolactine au moment du démarrage de la lactation, chez les ovins et les bovins, diminue très fortement la production lactée qui s'ensuit (Kann *et al* 1978). La PRL a un effet galactopoïétique chez les lapins, les rongeurs, les ovins et les caprins (réf. dans Akers 1989). Le blocage de la sécrétion hypophysaire de la prolactine pendant la lactation provoque, chez ces animaux, une inhibition de 50 % de la production laitière. Nous avons vu précédemment que le transport de la PRL à travers la cellule épithéliale mammaire se fait par des compartiments précis (endosomes, vésicules sécrétoires). Un ensemble de travaux réalisés *in vitro* sur la lapine et la rate a permis de montrer que la PRL exerce un effet direct sur l'activité sécrétoire de la cellule mammaire en stimulant la sécrétion des caséines néosynthétisées (Ollivier-Bousquet 1978, 1993). Cet effet, qualifié d'effet sécrétagogue, ne paraît s'exercer que

lorsque le transport intracellulaire de la PRL se déroule normalement (Seddiki et Ollivier-Bousquet 1991). Le mécanisme par lequel la PRL exerce cet effet sécrétagogue sur la cellule mammaire est en partie décrit (figure 4). Après fixation sur son récepteur (R - PRL) l'hormone activerait une enzyme membranaire, la phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) peut-être par

**Figure 4.** Mécanisme d'action de la prolactine (PRL) sur la sécrétion des caséines. Après fixation à son récepteur membranaire, l'hormone provoquerait l'activation de la phospholipase A<sub>2</sub> qui hydrolyse les phospholipides de la membrane, libère de l'acide arachidonique qui est métabolisé grâce à l'intermédiaire de la cyclo oxygénase et de la lipoxygénase. Ces dérivés de l'acide arachidonique interviennent dans le contrôle de la sécrétion des caséines.



l'intermédiaire de protéines liant le GTP, les protéines G. L'activation de la PLA2 entraîne des événements en cascade : cette enzyme hydrolyse les phospholipides des membranes cellulaires et provoque la libération de l'acide arachidonique contenu dans les phospholipides. L'acide arachidonique est métabolisé dans la cellule par les enzymes cyclooxygénases (production de prostaglandines, thromboxanes et prostacyclines) et les lipoxycgénases (production de leucotriènes). Ces métabolites sont impliqués dans les fusions de membranes et dans le processus de sécrétion. Bien que ces expériences aient été réalisées pour la plupart *in vitro*, elles suggèrent que la PRL est capable, au cours de son transport dans la cellule épithéliale mammaire, d'exercer des effets sur le fonctionnement de cette cellule. Ces résultats sont en accord avec les hypothèses faites par Akers *et al* (1991) sur les relations étroites entre le transport de la PRL dans le lait et la sécrétion du lait.

Il a été admis pendant longtemps que la GH n'exerçait pas d'effet direct sur la cellule épithéliale mammaire mais agissait par l'intermédiaire de la production d'IGF hépatiques (Jammes et Djiane 1989). Récemment, des ARNm des récepteurs de la GH ont été mis en évidence dans les cellules mammaires (Glimm *et al* 1990, Jammes *et al* 1991). Dès lors, des effets directs de cette hormone sur le fonctionnement de cette cellule peuvent aussi être envisagés.

Les IGF-I sont très abondants dans les sécrétions mammaires à la fin de la gestation, dans le colostrum et dans le lait des bovins et des caprins (Donavan 1991). Comme nous l'avons vu précédemment ces IGF-I peuvent provenir d'une synthèse locale par des cellules du stroma de la glande mammaire ainsi que d'un transport d'IGF-I plasmatiques à travers la cellule grâce à des récepteurs membranaires.

Les IGF-I sont des stimulants puissants de la croissance des cellules mammaires et de la synthèse d'ADN, rôle important en fin de gestation et au moment de la mise bas. Il a été montré que les injections d'IGF-I dans l'artère mammaire de chèvres en lactation sont susceptibles d'augmenter la production laitière (Prosser 1990). Un rôle de ces IGF-I sur le métabolisme de la cellule en lactation peut donc aussi s'envisager.

Le rôle du PLP n'est pas connu mais il a été suggéré qu'il pourrait réguler l'utilisation du calcium dans la cellule mammaire.

Plusieurs facteurs de croissance sont libérés dans le lait : "milk derived growth factor 2" (MDGF2), peptides semblables au TGF, "mammary growth factor 1" (MDGF1). Des hypothèses ont été émises quant à leurs rôles possibles soit dans la cellule où ils sont fabriqués (effets autocrines) soit sur les cellules voisines (effets paracrines).

Bien que les quantités d'hormones thyroïdiennes qui passent dans le lait soient faibles, des effets métaboliques de ces hormones ont été envisagés. Des expériences *in vitro* ont montré que dans des explants de glandes

mammaires de souris les hormones thyroïdiennes stimulent la synthèse d' $\alpha$ -lactalbumine (Bhattacharjee et Vonderhaar 1970).

Les hormones stéroïdes ne paraissent pas avoir de rôle important sur le fonctionnement de la cellule mammaire en lactation. Il faut toutefois noter que les œstrogènes stimulent le transport des IgG1 dans les sécrétions mammaires et dans le lait chez la brebis mais ceci d'autant plus que l'activité synthétique est faible.

Ces exemples montrent que certaines hormones ou facteurs de croissance transportés par l'épithélium mammaire vers le lait sont capables, au cours de leur transport, d'exercer des effets stimulants sur le fonctionnement de la cellule mammaire : c'est le cas pour la prolactine et les IGF-I. Le transport des hormones à travers cette cellule pourrait donc permettre l'émission de signaux au sein de la cellule.

### 3.2 / Effets sur la croissance et le développement du jeune

Plusieurs hormones contenues dans le lait atteignent l'estomac du jeune sous une forme biologiquement active (tableau 1). A partir de là, l'effet éventuel de ces hormones dépend tout d'abord de la dégradation qu'elles vont subir dans l'estomac, ensuite de leur aptitude à se fixer sur des récepteurs dans l'intestin du jeune et à passer dans le sang.

Chez le nouveau-né et jusqu'au sevrage toutes les enzymes digestives de l'estomac ne sont pas encore actives. C'est vraisemblablement pour cette raison que la somatostatine reste intacte dans l'estomac du nouveau-né alors qu'elle est rapidement dégradée chez le rat adulte.

Le tractus gastro-intestinal des mammifères nouveau-nés reste perméable, selon les espèces pendant tout ou partie de la période d'allaitement, permettant aux protéines d'être transportées à travers l'épithélium intestinal (Koldovsky *et al* 1986). La "fermeture" de l'épithélium intestinal survient dans les jours qui suivent la naissance chez l'homme ou au moment du sevrage chez les ruminants et les rongeurs. Les activités protéolytiques sont faibles dans l'intestin du nouveau-né et augmentent dans les mois suivant la mise bas. Enfin la présence d'hormones maternelles détectables dans la circulation du jeune confirme que les hormones du lait peuvent passer la barrière gastro-intestinale. Ce passage dépend de l'hormone et de l'âge du petit. Des injections de prolactine  $^{125}$ I chez la mère ont permis de mettre en évidence le passage de cette hormone dans le sang du raton (Grosvenor et Whithworth 1983). Ce passage n'est plus possible chez le rat sevré. Une augmentation du taux d'insuline maternel due à un apport alimentaire se répercute par une augmentation de l'insuline d'origine maternelle dans le sang du nouveau-né (Cevreska *et al* 1975). En revanche, l'augmentation de la concentration d'ocytocine dans le lait n'influence pas les niveaux d'ocytocine plasmatique du jeune (Leake *et al* 1981).



Enfin, un système de transport des hormones par liaison à un récepteur et endocytose est envisageable puisque des récepteurs des IGF-I et de la prolactine ont été détectés dans l'intestin.

L'état des hormones dans le système gastro-intestinal et la possibilité de transfert vers le sang de la progéniture paraissent donc rendre possible leurs effets chez cette dernière. Ainsi le GnRH du lait pourrait élever les niveaux de gonadotropines et moduler le développement ovarien du jeune (Amarant *et al* 1982). L'administration de TRH à des rates en lactation provoque des augmentations de la concentration de TSH dans le sérum des rats. Des facteurs de croissance (IGF-I, EGF) sont susceptibles de contrôler le développement du tractus intestinal en stimulant la synthèse d'ADN et les multiplications cellulaires. Les prostaglandines maternelles retrouvées dans l'estomac et dans le foie du jeune sous forme non dégradée (Koldovsky *et al* 1986) peuvent assurer des rôles cytoprotecteurs (Friedman 1986). Le VIP pourrait avoir une fonction régulatrice sur le système digestif du jeune (Werner *et al* 1985).

La PRL maternelle est retrouvée sous des formes moléculaires variées dans la circulation du jeune. La privation de PRL du lait pendant la période néonatale (2 - 5 jours post-partum) provoque chez le jeune rat une diminution de la concentration de dopamine hypothalamique et des troubles de la mise en place des réponses neuroendocrines, ("prolactin-déprivation syndrome" Shyr 1986). La présence ou l'absence de cette hormone dans le lait pendant une période critique néonatale (10 - 15 jours post-partum chez le rat) affecte l'ontogénèse, le fonctionnement et le phénotype des cellules du système immunitaire. Les lymphocytes et les thymocytes répondent plus faiblement aux agents mitogènes et présentent une expression réduite d'antigènes de surface (Kacsoh *et al* 1991).

Tous les effets physiologiques du PLP ne sont pas connus. On a fait l'hypothèse qu'il pourrait jouer un rôle régulateur, chez le jeune, sur l'homéostasie du calcium.

Il apparaît donc clairement qu'un certain nombre d'hormones du lait maternel sont transportées à travers le tractus gastro-intestinal vers la circulation sanguine du jeune et pourraient jouer des rôles biologiques.

## Conclusion

Parmi les hormones transportées par le lait, certaines sont d'origine sanguine, d'autres sont synthétisées par la cellule mammaire. Il faut citer de plus différentes substances qui, bien que n'ayant pas d'activité hormonale, sont aussi présentes et biologiquement actives dans le lait. Les morphiceptines pourraient avoir des effets analgésiques chez le jeune. L'érythropoïétine, un médiateur de la production d'érythrocytes, normalement synthétisé par le foie chez le jeune et par le rein chez l'adulte est présent dans le lait de femme (Pearlman 1991). Les quantités de ces substances varient beaucoup selon les espèces.

Les hormones sont transportées d'une façon spécifique. En effet, si leur présence en grande quantité dans le colostrum s'explique par la concentration sanguine très élevée au moment de la mise bas et par l'état de l'épithélium mammaire qui ne forme pas encore une barrière étanche, certaines sont largement plus concentrées dans le lait que dans le sang. Ce phénomène se prolonge au cours de la lactation. L'épithélium mammaire est alors étanche et des récepteurs situés sur la membrane plasmique des cellules épithéliales mammaires contrôlent le transport des hormones. La spécificité de ce transport est attestée par l'apparition de grandes quantités de PRL contrairement à ce qui se passe pour l'insuline, la GH, l'ocytocine. L'apport des techniques de biologie cellulaire a permis de préciser cette spécificité en décrivant les mouvements de ces molécules au sein de la cellule mammaire elle-même. On sait déjà que le trafic intracellulaire de la PRL est différent de celui de molécules d'origine sanguine mais n'ayant pas d'effet hormonal, telles que les IgA et la transferrine. Il reste à déterminer plus précisément les voies intracellulaires empruntées par les autres hormones.

Un rôle de ces hormones sur le fonctionnement de la cellule épithéliale mammaire qui les transporte ou qui les fabrique peut être envisagé. Il apparaît maintenant de plus en plus probable que certaines hormones qui se fixent sur la cellule épithéliale mammaire et qui sont exportées vers le lait jouent des rôles actifs sur le fonctionnement de cette cellule. L'effet sécrétagogue de la PRL et des effets métaboliques des IGF-I en sont des exemples.

L'aptitude de la glande mammaire à produire elle-même des hormones ou des facteurs de type hormonal conduit à s'interroger sur leurs rôles dans la cellule elle-même. Ils pourraient avoir des effets sur le fonctionnement de la cellule qui les fabrique (effets autocrines) ou sur les cellules voisines (effets paracrines). Dans le cas de l'utilisation de la glande mammaire comme usine de fabrication d'hormones (par exemple synthèse de GH humaine chez des animaux transgéniques) il est important de savoir si cette molécule peut avoir des effets autocrines ou paracrines.

Le rôle des hormones du lait sur la physiologie du jeune reste très controversé. La majorité des résultats qui suggèrent qu'elles pourraient être bénéfiques pour le jeune sont obtenus d'une façon indirecte. Toutefois le développement de techniques de dosage a permis de mettre en évidence le passage des hormones maternelles chez le jeune. Ce passage a été dans plusieurs cas relié à un effet physiologique. Il apparaît donc possible qu'en plus des nutriments et des facteurs de protection immunologique, le lait fournisse des hormones au jeune. La notion d'une transmission d'information hormonale, par l'alimentation lactée, entre deux mammifères souligne l'importance de la période de lactation pendant laquelle une véritable fonction endocrine pourrait s'établir entre la mère et le jeune.

## Remerciements

Nous exprimons ici notre reconnaissance à Monsieur le Professeur Charles Thibault pour le soutien qu'il nous a toujours apporté et pour ses observations critiques et à Madame Irène Blondeau pour la préparation du manuscrit.

## Références bibliographiques

- Akers R.M., Bauman D.E., Capuco A.V., Goodman G.T., Tucker H.A., 1981. Prolactin regulation of milk secretion and biochemical differentiation of mammary epithelial cells in periparturient cows. *Endocrinology*, 109, 23-30.
- Akers R.M., Kaplan R.M., 1989. Role of milk secretion in transport of prolactin from blood into milk. *Horm. Metab. Res.*, 21, 362-365.
- Amarant T., Fridken M., Koch Y., 1982. Luteinizing Hormone - Releasing Hormone and Thyrothropin Releasing Hormone in human and bovine milk. *Eur. J. Biochem.*, 127, 647-650.
- Beardmore J.M., Richards R.C., 1983. Concentrations of epidermal growth factor in mouse milk throughout lactation. *J. Endocrinol.*, 96, 287-292.
- Bhattacharjee M., Vonderhaar B.K., 1984. Thyroid hormones enhance the synthesis and secretion of a-lactalbumin by mouse mammary tissue in vitro. *Endocrinology*, 115, 1070-1077.
- Brown C.F., Teng C.T., Pentecoste T., Diaugustine R.P., 1989. Epidermal growth factor precursor in mouse lactating mammary gland alveolar cells. *Mol. Endocrinol.*, 3, 1077-1083.
- Campbell P.G., Skaar T.C., Vega J.R., Baumrucker C.R., 1991. Secretion of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding proteins from bovine mammary tissue in vitro. *J. Endocrinol.*, 128, 219-228.
- Cevreska S., Kovacev V.P., Stankovski M., Kalamaras E., 1975. The presence of immunologically reactive insulin in milk of women during the first week of lactation and its relation to changes in plasma insulin concentration. *God. Zb. Med. Fak. Skopje*, 21, 35-41.
- Chilliard Y., Vérité R., Pflimlin A., 1989. Effets de la somatotropine bovine sur les performances des vaches laitières dans les conditions françaises d'élevage. *INRA Prod. Anim.*, 2, 301-312.
- Dehoff M.H., Elgin R.G., Collier R.J., Clemmons D.R., 1988. Both type I and II insulin-like growth factor receptor binding increase during lactogenesis in bovine mammary tissue. *Endocrinology*, 122, 2412-2417.
- Disenhaus C., Belair L., Djiane J., 1988. Caractérisation et évolution physiologique des récepteurs pour les "insulin-like growth factor" I et II dans la glande mammaire de brebis. *Reprod. Nutr. Develop.*, 28, 241-252.
- Donavan S.M., Hintz R.L., Wilson H.D., Rosenfeld R.G., 1991. Insulin like growth factors I and II and their binding proteins in rat milk. *Pediatric Research*, 29, 50-55.
- Einspanier R., Schams D., 1991. Changes in concentrations of insulin like growth factor 1, insulin and growth hormone in bovine mammary gland secretion ante and post partum. *J. Dairy Research*, 58, 171-178.
- Fleet I.R., Forsyth I.A., Taylor J.C., 1992. Transfer of prolactin into milk in the goat. *J. Endocrinol.*, 132 suppl., 254.
- Friedman Z., 1986. Prostaglandins in breasts milk. *Endocrinologia Experimentalis*, 20, 285-291.
- Glascock G.F., Nicoll C.S., 1983. Hormonal control of growth in the infant rat : further evidence that neither thyrotropin nor thyroid hormones are transferred via milk to suckling pups. *Endocrinology*, 112, 800-805.
- Glimm D.R., Baracos V.E., Kennelly J.J., 1990. Molecular evidence for the presence of growth hormone receptors in the bovine mammary gland. *J. Endocrinol.*, 126, R5-R8.
- Goff J.P., Reinhardt T.A., Lee S., Hollis B.W., 1991. Parathyroid Hormone Related Peptide content of bovine milk and calf blood assessed by radioimmunoassay and bioassay. *Endocrinology*, 129, 2815-2819.
- Grosvenor C.E., Whithworth N.S., 1983. Accumulation of prolactin by maternal milk and its transfer to circulation of neonatal rat. A review. *Endocrinology Experimentalis*, 17, 271-282.
- Hamon M., Fleet I.R., Heap R.B., 1990. Comparison of oestrone sulfate concentrations in mammary secretions during lactogenesis and lactation in dairy ruminants. *J. Dairy Research*, 57, 419-422.
- Hazum E., 1983. Hormones and neuro transmitters in milk. *TIPS*, 4, 454-456. Jammes H., Djiane J., 1988. Le développement de la glande mammaire et son contrôle hormonal dans l'espèce bovine. *INRA Prod. Anim.*, 1, 299-310.
- Jammes H., Gaye P., Belair L., Djiane J., 1991. Identification and characterization of growth hormone receptor mRNA in the mammary gland. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 75, 27-35.
- Juskevich J.C., 1990. Bovine growth hormone : human food safety evaluation. *Science*, 249, 875-884.
- Kacsoh B., Toth B.E., Avery L.M., Yamamuro Y., Grosvenor C.E., 1991. Molecular heterogeneity of prolactin in lactating rats and their pups : Biological and immunological activities in pituitary gland, serum and milk. *Endocrine Regulations*, 25, 98-110.
- Kann G., Carpentier M., Fevre J., Martinet J., Maubon M., Meusnier C., Paly J., Vermeire N., 1978. Lactation and prolactin in sheep, role of prolactin in initiation of milk secretion. Progress in prolactin physiology and pathology. C. Robyn and M. Hartier, Editors. Elsevier/North Holland Biomedical Press. pp. 201-212.
- Koch Y., Werner M., Fridkin M., 1991. Hypothalamic hormones in milk. *Endocrine Regulations*, 25, 128-133.
- Koldovsky O., 1980. Hormones in milk. *Life Sciences*, 26, 1833-1836.
- Koldovsky O., Bedrick A., Thornburg W., 1986. Processing of hormones and hormone-like substances from milk in the gastrointestinal tract of suckling rats. *Endocrinology Experimentalis*, 20, 119-130.
- Koldovsky O., Button J., Grimes J., Schandres P., 1991. Milk-borne epidermal growth factor (EGF) and its processing in developing gastrointestinal tract. *Endocrine Regulations*, 25, 58-62.
- Krulich L., Koldovsky O., Jumawan T., Lau H., Horowitz C., 1977. TSH in serum and milk of normal thyroidectomized and lactating rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 155, 599-601.

- Leake R.D., Weitzman R.E., Fisher D.A., 1981. Oxytocin concentrations during the neonatal period. *Biol. Neonate*, 39, 127-131.
- Lippert T.H., God B., Voelter W., 1981. Immunoreactive relaxin-like substance in milk. *IRCS Med. Sci.*, 9, 295.
- Malven P.V., 1983. Transfer of prolactin from plasma into milk and associated physiological benefits to mammary cells. *Endocrinologia Experimentalis*, 17, 283-299.
- Mercier J.C., Grosclaude F., Martin P., 1991. La caséine K et la famille multigénique des trois caséines "sensibles au calcium", polymorphisme, biosynthèse et évolution. *Medecine Sciences*, 3, I-VIII.
- Nagasawa H., 1991. Physiological significance of hormones and related substances in milk with special reference to prolactin an overview. *Endocrine Regulations*, 25, 90-97.
- Ollivier-Bousquet M., 1978. Early effects of prolactin on lactating rabbit mammary gland. *Cell. Tiss. Res.*, 187, 25-49.
- Ollivier-Bousquet M., 1993. Sécrétion des caséines : régulation hormonale. In J. Martinet, L. M. Houdebine éd. : "Biologie de la lactation". Coéd. INRA - INSERM. Coll. Mieux Comprendre.
- Peaker M., 1991. Production of hormones by the mammary gland : short review. *Endocrine Regulations*, 25, 10-13.
- Peaker M., Neville M.C., 1991. Hormones in milk : chemical signals to the offspring? *J. Endocrinol.*, 131, 1-3.
- Pearlman W.H., 1991. Hormones and tissue growth factors in milk : evolutionary implications. *Endocrine Regulations*, 25, 4-9.
- Prosser C.G., Fleet I.R., Corps A.N., Froesch E.R., Heap R.B., 1990. Increase in milk secretion and mammary blood flow by intra-arterial infusion of insulin-like growth factor I into the mammary gland of the goat. *J. Endocrinol.*, 126, 437-443.
- Schams D., Einspanier R., 1991. Growth hormone, IGF1 and insulin in mammary gland secretion before and after parturition and possibility of their transfer into the calf. *Endocrine Regulations*, 25, 139-143.
- Seddiki T., Ollivier-Bousquet M., 1991. Temperature dependence of prolactin endocytosis and casein exocytosis in epithelial mammary cells. *Eur. J. Cell. Biochem.*, 55, 60-70.
- Shyr S.W., Crowley W.R., Grosvenor C.E., 1986. Effect of neonatal prolactin deficiency on prepubertal tubuloinfundibular and tuberohypophyseal dopaminergic neuronal activity. *Endocrinology*, 119, 1217-1221.
- Slebodzinski A.B., Brzezinska-Slebodzinska E., 1991. Local generation of triiodothyronine by the mammary gland as a source of measurable quantities of the hormone in milk. *Endocrine Regulations*, 25, 83-89.
- Strbak V., Giraud P., Resetkova E., Ouafik L. H., Dutour A., Oliver C., Povazanova K., Randuskova A., 1991. Thyroliberin (TRH) and TRH free acid (TRH-OH) presents in milk do not originate from local synthesis in mammary gland. *Endocrine Regulations*, 25, 134-138.
- Werner H., Amarant T., Fridkin M., Koch Y., 1986. Growth hormone releasing factor-like immunoreactivity in human milk. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 135, 1084-1090.
- Werner M., Koch Y., Fridkin M., Fahrenking J., Gozes I., 1985. High levels of vasoactive intestinal peptide in human milk. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 133, 228-232.
- West D. W., 1985. Hormones and related substances in milk. *Hannah Res. Book of the year*, 95-114.
- Wilde C.J., Kuhn N.J., 1979. Lactose synthesis in the rat and the effects of litter size and malnutrition. *Biochem. J.*, 182, 287-294.

## Summary

### *Hormones in milk : origin and roles*

Numerous hormones are present in milk and for some of them concentration is higher in milk than in plasma. Milk hormones are either transferred directly from blood to milk through the mammary epithelial cells, or are synthesised by the mammary tissue. This article describes the postulated

roles of these hormones in regulating mammary epithelial cell secretion and on neonate physiology. It emphasises the importance of hormonal signalling from the mother to the offspring via milk.

OLLIVIER-BOUSQUET M., 1993. Les hormones du lait : provenance et rôles. *INRA Prod. Anim.*, 6 (4), 253-263.