

# LA PROLACTINE DANS L'UNITÉ FOETO-PLACENTAIRE DONNEES IMMUNOHISTOCHIMIQUES

J. HUSTIN, L. PEREIRA-LEITE, J. R. VAN CAUWENBERGE, P. FRANCHIMONT

Institut de Morphologie Pathologique. Loverval. Belgique.

## RÉSUMÉ

En face de la somme des travaux publiés à ce jour, sur la prolactine du liquide amniotique et le site de production local ou locorégional, on peut se poser la question de savoir si les phénomènes ne sont pas plus complexes que la simple production pour les cellules de la muqueuse utérine décidualisée. Pour essayer d'apporter quelques arguments de réponse à ces questions, les A A ont dans le travail actuel recherché la présence de prolactine par des techniques bien standardisées d'immunocytochimie au niveau du trophoblaste jeune, placentas et leurs annexes provenant de grossesses d'âge très variable et de spécimen de maladie trophoblastique invasive ou non et aussi un essai de solubilisation des récepteurs membranaires. Les résultats permettent démontrer une immunoréactivité prolactinique tout à fait caractéristique présent dans le trophoblaste extra-villoux et uniquement dans ses portions syncytiales, essentiellement au niveau des colonnes trophoblastiques qui dans les grossesses jeunes séparent le placenta jeune de la déciduale et au niveau de la déciduale parmi les cellules trophoblastiques qui envahissent la caduque. Ces cellules trophoblastiques sont également immunoréactives pour HPL mais on trouve par ailleurs HPL dans le trophoblaste villositaire. Outre le trophoblaste primaire, une immunoréactivité prolactinique est aussi présente de façon très irrégulière dans les membranes amniotiques au niveau de l'épithélium. Dans les môles hydatiformes et les tumeurs trophoblastiques, la prolactine est parfaitement définissable par immunocytochimie, parallèlement à l'immunopositivité de HPL. L'essai de solubilisation des récepteurs membranaires à la prolactine avec  $MgCl_2$  ou un détergent a démontré que l'immunoréactivité trophoblastique n'est pas modifiée dans les grossesses jeunes. Par contre, il y a diminution nette de celles-ci au niveau des cellules déciduales. On peut donc suggérer qu'il existe une partie de l'hormone fixée au niveau membranaire à des récepteurs probablement spécifiques. La prolactine, joue certainement un rôle fondamental dans le voisinage immédiat de l'oeuf, mais encore mal connu, notamment ses relations avec l'implantation, le maintien de la décidualisation et la régulation de sa synthèse par la déciduale. Il existe certainement aussi une action que doit se situer à la fin du premier trimestre et qui s'exprime par l'accroissement considérable de la concentration de l'hormone dans le liquide amniotique, probablement manifestation tardive de la fonction d'osmorégulation. La présence de prolactine dans les môles et les tumeurs trophoblastiques peut juger que si la détermination de la transformation molaire apparaît essentiellement de caractère génétique une de ses premières manifestations consisterait en la persistance du trophoblaste primaire et la hyperprolactinémie pourrait être un indicateur précoce de la transformation.

## RESUMO

**A prolactina na unidade feto placentária. Dados imunocitoquímicos.**

Em face do conjunto de trabalhos publicados sobre a prolactina do líquido amniótico e a sua produção local ou loco-regional, pode-se pôr a questão de os fenómenos implicados no processo serem mais complexos do que a simples produção pelas células da mucosa uterina decidualizada. Com a finalidade de esclarecer alguns pontos da questão levantada os A A investigaram a presença de prolactina por técnicas bem estandardizadas de imunocitoquímica ao nível do trofoblasto jovem, placenta e anexos provenientes de gravidezes de tempo muito diverso e em fragmentos de doença trofoblástica invasiva ou não, completando o trabalho com um ensaio de solubilização dos receptores ao nível da membrana celular. Os resultados permitem demonstrar uma imunoreactividade prolactínica característica no trofoblasto extra-vilositário e unicamente nas suas porções sinciciais, nomeadamente ao nível das colunas trofoblásticas que nas gravidezes precoces separam a placenta jovem da decidua e ao nível da decidua nas células trofoblásticas que invadem a caduca. Estas células trofoblásticas são igualmente imunoreactivas para a HPL mas esta hormona identifica-se também no trofoblasto vilositário. A imunoreactividade prolactínica está também presente, embora dum modo muito irregular, nas membranas, ao nível do epitélio. Na mola hidatiforme e tumores trofoblásticos invasivos a prolactina é perfeitamente identificável por imunocitoquímica assim como a HPL. O ensaio de solubilização dos receptores membranosos da prolactina com  $MgCl_2$  ou um detergente evidenciou que a imunoreactividade trofoblástica não se altera nas gravidezes jovens. Pelo contrário a referida imunoreactividade sofre uma redução evidente ao nível das células deciduais o que permite sugerir que existe aqui pelo menos parte da hormona fixa ao nível da membrana a receptores provavelmente específicos. A prolactina desempenha seguramente um papel fundamental na vizinhança imediata do ovo o qual, porém, é ainda imperfeitamente conhecido, nomeadamente nas suas relações com a nidificação, a manutenção da decidualização e a regulação da síntese da hormona pela decidua. Verifica-se certamente, também uma acção que se situa no fim do 1.º trimestre e que se manifesta pelo aumento considerável da concentração da prolactina no líquido amniótico, o que pode considerar-se minifestação tardia da função de osmo-regulação. A presença de prolactina nas molas hidatiformes e tumores trofoblásticos invasivos permite admitir que se o determinismo da transformação molar for essencialmente de natureza genética, como parece, uma das suas primeiras manifestações consistiria na persistência do trofoblasto primário e a hiperprolactinemia poderia ser, nestas condições, um indicador precoce de transformação.

## INTRODUCTION

On sait déjà depuis un certain nombre d'années que le liquide amniotique concentre dans le spécimen en tout cas une quantité importante de prolactine. Différents travaux ont montré que cette prolactine amniotique était biologiquement et immunologiquement très proche voir probablement similaire à la prolactine extraite de l'hypophyse.

De la somme des travaux publiés à ce jour, se dégagent deux notions fondamentales:

1° Il n'y a pas de relation associative entre les taux élevés de prolactine sérique chez la mère pendant la gestation et l'accroissement de loin beaucoup plus considérable des taux amniotiques. Les expériences de transfert de prolactine d'un côté à l'autre des membranes démontrent clairement que la prolactine véhiculée dans les vaisseaux sanguins n'est pratiquement pas concentrée de l'autre côté.

2° De nombreux auteurs se sont attachés à définir le site de production local ou locorégional de cette prolactine nouvelle. Actuellement l'ensemble des chercheurs s'accordent à admettre que les cellules déciduales de la muqueuse utérine, c'est-à-dire des cellules maternelles sont responsables de la production de prolactine *in loco*. Il a même été démontré que la muqueuse utérine décidualisée même sans implantation était capable de produire des quantités significatives de prolactine. Cependant, tous les travaux publiés ne sont pas absolument formels au sujet d'une unicité quant au type cellulaire sécrétant.

Golander et Coll.;<sup>1</sup> Riddick et Coll.;<sup>2</sup> Meuris et Coll.;<sup>3</sup> ont par leur système expérimental propre éliminé toute possibilité de contamination cellulaire. Ces trois groupes ont clairement situé la synthèse prolactinique dans les cellules déciduales.

A l'opposé, Frame et Coll.,<sup>4</sup> étudiant par immunocytochimie la répartition de l'hormone n'ont pu éliminer l'hypothèse que certaines cellules trophoblastiques ne soient aussi positives.

Richards et Coll.<sup>5</sup> n'ont pas pu dans leur système expérimental séparer un décidual pur du chorion contenant des cellules trophoblastiques.

Récemment, Kasai et Coll.,<sup>6</sup> ont montré que le trophoblaste jeune était positif en immunocytochimie pour la prolactine.

Récemment, nous avons également suggéré que l'immunoréactivité prolactinique pouvait être mise en évidence dans les cellules trophoblastiques incluses dans les membranes.

Par ailleurs, un problème se pose qui est celui de la démonstration formelle d'une synthèse prolactinique.

Golander et Coll.<sup>1</sup> semblent avoir bien démontré cette synthèse par des expérimentations incluant une culture avec des précurseurs radioactifs.

Toutefois, Bigazzi et Coll.<sup>7</sup> ont étudié la production de prolactine par les différents compartiments du placenta et des membranes et ces auteurs ont suggéré qu'il y avait certainement une synthèse de prolactine *in loco* mais que il n'était pas exclu de penser qu'une partie de la prolactine produite ne soit secondairement fixée à un récepteur membranaire de la cellule déciduale.

McWey et Coll.<sup>8</sup> viennent de démontrer tout récemment d'ailleurs l'existence de récepteurs à la prolactine dans le tissu choriocidéal.

On peut dès lors se poser la question de savoir si les phénomènes ne sont pas plus complexes et si notamment plusieurs types cellulaires ne sont pas impliqués dans cette synthèse de prolactine avec une autorégulation par saturation des récepteurs membranaires. Pour tenter d'apporter

quelques arguments de réponse à ces questions, nous avons dans le travail actuel recherché la présence de prolactine par des techniques bien standardisées d'immunocytochimie. Nous avons étudié des placentas et leurs annexes provenant de grossesses d'âge très variable. Nous avons recherché la présence d'une immunoréactivité prolactinique au niveau de spécimen de maladie trophoblastique (môle hydatiforme invasive ou non). A chaque fois, nous avons étudié et comparé plusieurs antisérums sur les mêmes spécimens. Nous avons enfin amplifié l'étude antérieure<sup>9</sup> impliquant un essai de désaturation des récepteurs membranaires des cellules déciduales.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les placentas provenant de 21 grossesses dans le premier trimestre (5 à 9 semaines) ont été obtenus par curetage en même temps que la plus grande quantité possible de déciduale. Tous ces produits ont été obtenus lors d'interruption volontaire de grossesses pour raisons psychosociales. De même, on a étudié cinq placentas du second trimestre obtenus par hystérotomie et quinze placentas de grossesse arrivée à terme. Nous avons étudié également six cas de môle hydatiforme simple et deux cas de môle hydatiforme invasive.

Ces spécimens ont été immédiatement fixés tantôt dans le liquide de Bouin tantôt au formol sucrose tamponné ou encore au liquide de Zenker ou enfin au mélange periodate-lysine-paraformaldehyde. Les fragments ont été ensuite déshydratés inclus en paraffine et coupés en sémisériation. Dans toutes les séries expérimentales, on a inclus systématiquement une des coupes histologiques provenant d'une ante-hypophyse prélevée à l'autopsie et fixée routinièrement dans le formol tamponné.

Dans cette série de prélèvements provenant de grossesse jeune, (moins de 12 semaines), des fragments choisis de placenta et de membranes et de déciduale ont été préincubés pendant des temps variables dans un milieu de survie (HAM F-10 contenant  $MgCl_2$  5 M ou du Zwittergent (Sigma) à la concentration de 1% Après incubation à 37°, pendant des temps variant de 30 à 120 minutes, ces fragments ont été lavés dans du liquide Ham frais puis fixés dans différents fixateurs. Ils ont été inclus en paraffine et coupés en sémisériation.

La révélation de l'activité immunoprolactinique a toujours été pratiquée conjointement à des séries non traitées.

### Anti-sérums utilisés

Nous avons employé trois anti-sérums différents.

1° L'antisérum S 17 de l'IRE, antisérum polyclonal développé chez le lapin et dont la spécificité est tout à fait bien établie.

2° Le sérum antiprolactine commercialisé par Dakopatts: antisérum polyclonal développé chez le lapin.

3° L'antisérum monoclonal d'antiprolactine de la firme Hybritech (surnageant de liquide d'ascite de souris).

Ces antisérums ont été utilisés à des dilutions variant de 1 sur 400 à 1/1000 en ce qui concerne les anticorps polyclonaux et à une dilution variant de 1/2000 à 1/10 000 pour l'anticorps monoclonal. Les incubations ont toujours eu lieu à 4° et ont duré de 16 à 20 heures. La révélation des sites immunopositifs a été pratiquée selon la technique classique des complexes immuns solubles (PAP) suivie d'une révélation à l'aminoéthylcarbazole (AEC ou la 3-3' diaminobenzidine-DAB).

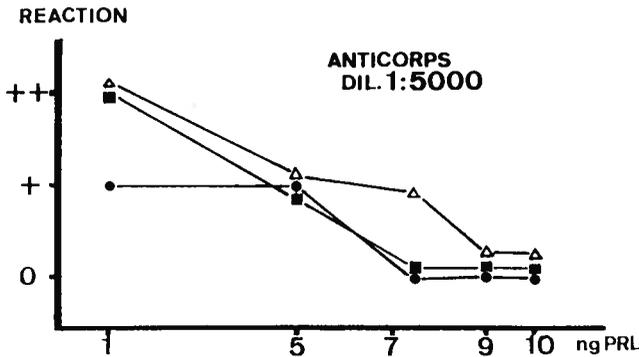


Figure 1: Titre de l'anticorps monoclonal en chromatographie d'affinité (colonne de Sépharose - 4 - B, activée par le CNBr). Une quantité de 9 ng de prolactine pure suffit à fixer complètement l'anticorps présent dans une dilution de travail 1/5 000 et ce quel que soit le fixateur employé pour la préparation des coupes tests. A 7.5 ng, une certaine positivité des cellules déciduales est encore notée; quand elles ont été fixées au Zenker (Δ), Bouin: ●, Formol sucré tamponné ■)

En ce qui concerne le système d'anticorps monoclonal, la révélation s'est faite par un triple sandwich: anticorps de lapin antisouris-sérum de porc antilapin-PAP suivi d'une révélation soit par AEC soit DAB.

**CONTROLES**

L'application des critères rigoureux de contrôle nous a permis de vérifier les titres des différents anti-sérums. Nous avons employé pour ce faire une technique d'absorption par colonne de chromatographie d'affinité: une colonne de sepharose 4-B activée au CNBr (PHARMACIA — SUEDE) a été saturée par de l'hormone pure (radio-Assay-System). Sur cette colonne où la prolactine était liée de façon covalente, on a chromatographié une dilution de travail de l'antisérum choisi.

L'éluat recueilli a donc servi de contrôle, la totalité de l'anticorps étant théoriquement fixée aux molécules de prolactine restant dans la colonne.

Par ailleurs, nous avons employé en guise de contrôle de sérum anti hPL (du Docteur Gaspard) et des sérums anti hGH. Ceux-ci ont été appliqués après une pré-incubation avec un excès de prolactine pure.

Enfin, de manière à éliminer au maximum, les réactions non spécifiques, on a de façon systématique bloqué l'activité peroxydasique endogène par un pré-traitement des lames avec du méthanol contenant 0,1% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> suivi d'un lavage des lames au tampon phosphate comportant 1% d'albumine humaine.

**RESULTATS**

1. L'évaluation du titre de l'antisérum monoclonal perd tout pouvoir de se fixer sur les sites prolactiniques lorsqu'il a été élué sur une colonne de chromatographie d'affinité comportant 10 NG de prolactine humaine pure (pour une quantité de 1 ml d'antisérum à la dilution de 1/5000).

Une réaction tout à fait positive est au contraire observée lorsque la quantité d'hormones absorbées est de 1 ng; la zone d'absorption idéale se situe entre 7 et 9 ng (toujours pour une dilution à 1/5000 de l'antisérum) et pour autant que le système de révélation comporte des fragments tissulaires préalablement fixés soit au formol tamponné soit au liquide de Bouin.

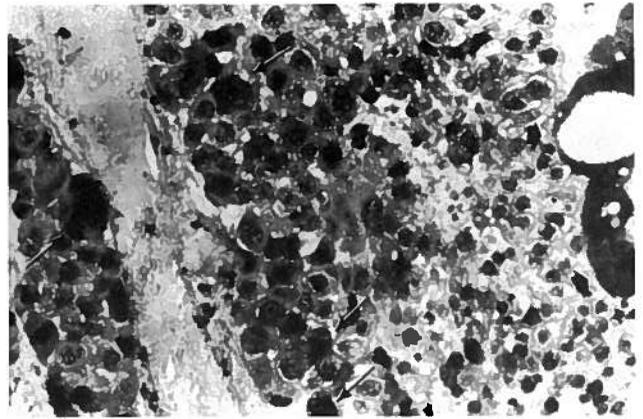


Figure 2: Grossesse jeune (35 jours) colonne trophoblastique. Seul le trophoblaste primaire et quelques cellules trophoblastiques intermédiaires (flèches) montrent une immunoréactivité prolactinique (contre-coloration à l'hématoxyline de Harris X 250).

Lorsqu'on s'adresse à des coupes fixées au Zenker formol, une positivité modérée mais toujours nette est présente lorsque l'antisérum a été mis en présence d'une quantité de 7.5 ng de prolactine (Fig. 1).

Des résultats superposables sont obtenus pour les antisérums polyclonaux qui sont eux alors employés à la dilution de travail de 1/400 ou 1/600.

Le calcul de la dernière dilution utile des antisérums utilisés donne les résultats suivants sur des préparations standardisées de déciduale:

A - du sérum monoclonal (Hybritech), fixation Zenker, la dilution 1/10 000 donne toujours des résultats très satisfaisants.

La fixation au Bouin ne permet pas de dépasser la dilution de travail de 1/1000.

B - Anticorps polyclonaux (Dako et IRE): bonne positivité à la dilution 1/1000, positivité conservée de façon irrégulière à la dilution 1/2500.

**2. Résultats observés sur les grossesses normales**

Dans l'exemple d'oeuf très jeune (trois jours post conceptionnels), aucune positivité n'est remarquée dans le trophoblaste primaire. Toutefois, dans les grossesses jeunes dont l'âge peut être estimé à 30-45 jours, nous retrouvons outre l'immunoréactivité des cellules déciduales déjà connues une positivité isolée nette pour le syncytiotrophoblaste

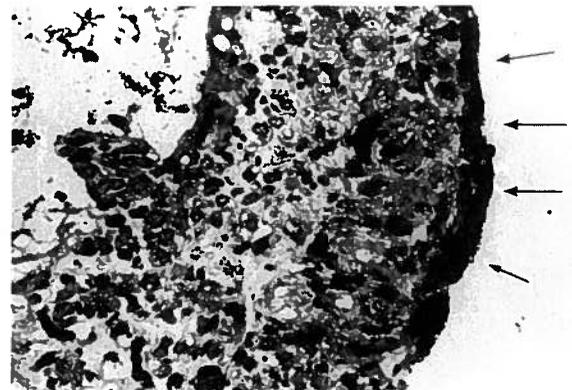


Figure 3: Site d'insertion placentaire (grossesse de 10 semaines) Le trophoblaste superficiel (flèches) est Prl-positif de même que les cellules trophoblastiques et déciduales sous-jacentes (contre-coloration: Hématoxyline de Harris X 125)

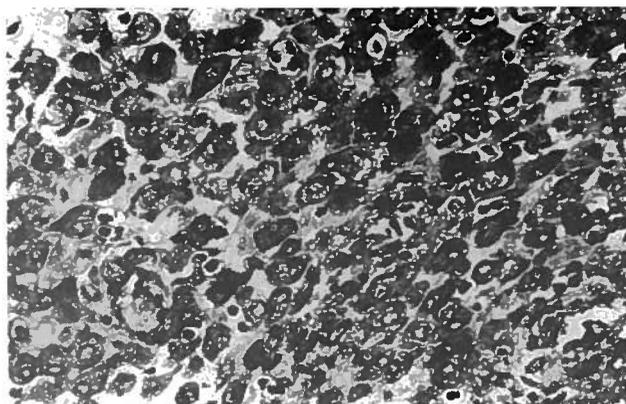


Figure 4: Déciduale. Grossesse de 14 semaines. La majorité des cellules déciduales maternelles sont Prl positives (contre-coloration à l'hématoxyline de Harris X 250.)

extravilleux, le cytotrophoblaste qu'il soit vilieux ou des colonnes trophoblastiques étant constamment négatif (Figs. 2-3).

Le syncytiotrophoblaste villositaire ne présente quant à lui aucune immunoréactivité.

Il est intéressant de noter qu'en ce qui concerne la positivité des cellules déciduales, il semble bien exister un gradient: le maximum d'immunopositivité est observé au niveau du site d'insertion.

Dans le second trimestre, la majorité de l'immunoréactivité se situe dans la déciduale (Fig 4). Au niveau des membranes, il y a à ce moment des cellules trophoblastiques profondément incluses et mélangées à la déciduale. Celles-ci présentent une immunoréactivité nette. Au niveau de la face chorale du placenta, sous l'épithélium amniotique, et dans la couche de fibrine surmontant la chambre intervillieuse, on peut rencontrer là aussi des cellules de type trophoblastique tout à fait isolées présentant une immunoréactivité prolactinique variable (Fig. 5).

Dans le troisième trimestre, les résultats sont dans l'ensemble très superposables.

A partir du second trimestre, l'épithélium amniotique présente une immunoréactivité prolactinique nette. Cette immunoréactivité varie toutefois de cellules à cellules ou de secteurs cellulaires à secteurs cellulaires comme cela a déjà été démontré antérieurement.<sup>9</sup> Certaines cellules sont totalement dépourvues de toute immunopositivité, d'autres sont faiblement positives, d'autres enfin montrent une immunopositivité tout à fait marquée.

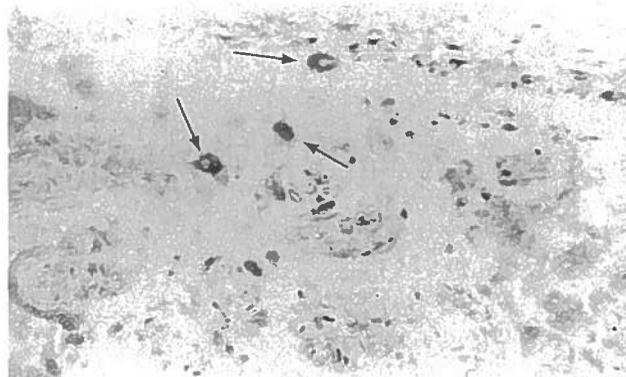


Figure 5: Grossesse à terme: sous la plaque chorale, quelques cellules trophoblastiques incluses sont immunoréactives. Le trophoblaste des villosités sous-jacentes est négatif (contre-coloration bleu de Toluidine X 125).

### 3. Maladie trophoblastique

Dans les cas de maladie trophoblastique, on découvre une immuno-réactivité prolactinique importante (Fig. 6).

Au niveau du syncytio-trophoblaste même recouvrant les villosités molaïres et également au niveau des cellules trophoblastiques récurrentes, intra-villositaires. Le maximum de positivité se retrouve dans le syncytio-trophoblaste présentant au sommet des villosités des altérations ballonnissantes, ou lorsqu'on le retrouve en cours de détachement.

De la prolactine est également mise en évidence dans les grandes cellules uninucléées, présentes également dans les îlots trophoblastiques isolés en même temps que le syncytio-trophoblaste (trophoblaste intermédiaire extra-villeux). Dans le cas du chorio-adénome (môle invasive) on trouve une positivité variable du syncytio-trophoblaste et du trophoblaste intermédiaire. L'intensité de la réaction est toujours extrêmement variable.

### 4. Comparaison avec la répartition d'hPL

Le sérum anti-hPL employé à la dilution de 1/400 (sérum polyclonal), montre une positivité massive du syncytio-trophoblaste jeune, y compris dans les oeufs pré-villeux (notamment à 13 jours post-conceptionnel).

Dans tous les placentas examinés quelque soit l'âge gestationnel, la positivité syncytio-trophoblastique se cantonne au syncytio-trophoblaste et particulièrement au syncytio-trophoblaste vilieux où l'immuno-positivité apparaît progressivement croissante en fonction de l'âge gestationnel (Fig. 7).

L'immuno-réactivité pour l'hPL est également présent dans tous les cas de maladie trophoblastique et toujours strictement au niveau du syncytio-trophoblaste.

### 5. Essai de solubilisation des récepteurs membranaires

Dans les coupes provenant de fragments de placenta ou de déciduale incubée préalablement soit par un détergent soit par MgC<sub>2</sub> 5 M, on note de façon constante des diminutions globales de l'immuno-réactivité prolactinique.

La meilleure préservation est obtenue en employant le détergent.

On note que ce sont les cellules déciduales maternelles qui présentent la diminution la plus marquée d'immuno-réactivité. Le syncytio-trophoblaste extra-villeux positif le restant avec une intensité qui ne semble guère modifiée.

Au niveau des cellules déciduales, on localise l'immuno-positivité rémanante prolactinique en intra-cytoplasmique avec une concentration du produit de réaction autour du noyau.

## DISCUSSION

De façon à accroître la fiabilité des résultats que nous présentons, nous avons voulu avoir recours à un système d'expérimentation immunocytochimique dans lesquelles les contrôles étaient à la fois nombreux et rigoureux.

Ceci nous a amené à employer des antisérums spécifiques de provenance différente et d'avoir également recours à un antisérum de type monoclonal.

Quel que soit l'antisérum employé, les résultats sont tout à fait superposables en ce qui concerne la localisation de l'immunoréactivité prolactinique.

Par ailleurs, nos épreuves de contrôle et notamment de pré-incubation des antisérums avec d'autres hormones protéiques plus ou moins apparentées (lactogène placentaire, hormone de croissance) nous permettent d'attester l'excellente spécificité des préparations employées.



Figure 6: Môle hydatiforme — Importante immunoréactivité prolactinique du syncytiotrophoblaste (contre-coloration hématoxyline de Harris X 40).

Nous avons appliqué enfin au contrôle de l'immunoréactivité prolactinique le système de fixation de l'anticorps sur un excès d'antigène préalablement lié à une colonne de chromatographie d'affinité.

L'avantage de cette technique de contrôle est évident; d'une part, on peut fixer commodément et rapidement la totalité de l'antisérum et disposer d'un éluat strictement dépourvu de toute activité et d'autre part le contrôle inverse est également possible: il est parfaitement possible dans une étape secondaire de récupérer le complexe antigène — anticorps en lavant la colonne dans des conditions précises.

Enfin, la chromatographie d'affinité permet de connaître le titre utile de l'antisérum pour une recherche immunocytochimique. Dans le cadre de notre étude, nous avons défini que la dilution de travail de l'antisérum la plus intéressante était celle qui était totalement neutralisée par 10 ng de prolactine fixés sur la colonne. Comme sur une préparation histologique de dimension habituelle, on dépose une quantité moyenne de 25  $\mu$  L d'antisérum, ceci revient à dire que par lame, la quantité d'antisérum que nous avons jugée intéressante était celle qui serait neutralisée par 0.25 ng de Prl.

En ce qui concerne la localisation immunocytochimique de la prolactine, on sait et des travaux récents<sup>10-12</sup> ont clairement démontré dans leur système expérimental que la déciduale, c'est-à-dire les cellules stromales maternelles, était la source exclusive de synthèse prolactinique extra-hypophysaire.

A l'opposé, Frame n'a pas pu éliminer l'hypothèse que des cellules trophoblastiques soient également prolactine (+).

Kasai et Coll.;<sup>6</sup> Ranta et Coll.;<sup>13</sup> très récemment, on démontré une immunoréactivité prolactinique dans le trophoblaste.

Nous confirmons cette donnée et nous amplifions nos résultats antérieurs.<sup>9</sup> Il existe au niveau du trophoblaste extra-villeux et uniquement dans ses portions syncytiales une immunoréactivité prolactinique tout à fait caractéristique. Où trouve-t-on des cellules trophoblastiques prolactine (+) ?

Essentiellement au niveau des colonnes trophoblastiques qui dans les grossesses jeunes séparent le placenta jeune de la déciduale et au niveau de la déciduale parmi les cellules trophoblastiques qui envahissent la caduque.

Ces cellules trophoblastiques sont également immunoréactives pour hPL mais on trouve par ailleurs hPL dans le trophoblaste villositaire.



Figure 7: Grossesse jeune. Immunoréactivité pour hPL massive au niveau du syncytiotrophoblaste villositaire (contre-coloration hématoxyline de Harris X 125).

Cette différence nous amène à suggérer l'existence d'une opposition fondamentale entre le trophoblaste villositaire et le trophoblaste non villositaire.

Nous suggérons qu'il y a deux poussées de croissance trophoblastique: d'abord le trophoblaste primaire qui va former les colonnes trophoblastiques et d'autre part l'ensemble des cellules trophoblastiques qui occupent la caduque et d'autre part le trophoblaste villositaire. On peut expliquer de la sorte la persistance d'une immunoréactivité prolactinique au niveau des cellules trophoblastiques incluses dans la plaque chorale mais dans des placentas à terme. Il s'agit là bien sûr de restes de la première poussée trophoblastique.

Outre le trophoblaste primaire, une immunoréactivité prolactinique est aussi présente de façon très irrégulière dans les membranes amniotiques au niveau de l'épithélium.

Nous avons déjà démontré cette particularité<sup>9</sup> et, Mc Coshen et Coll.,<sup>14</sup> viennent tout récemment d'en apporter la preuve auto-radiographique.

Il semble actuellement bien établi que la prolactine du liquide amniotique est d'origine locale, c'est-à-dire libérée dans les membranes.<sup>2</sup> Wang et Schneider<sup>15</sup> ont démontré que dans le système chorion-déciduale, le transport de protéines se faisait par voie interstitielle probablement intercellulaire.

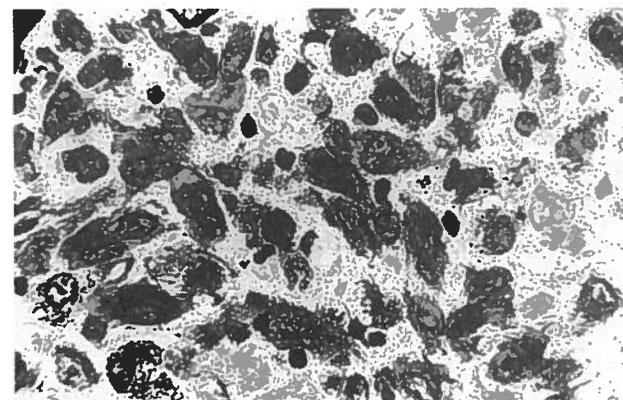


Figure 8: Déciduale 1er trimestre. Préincubation au Zwittergent 120 minutes. Noter la bonne préservation tissulaire. L'immunoréactivité prolactinique est réduite mais non supprimée (pas de contre-coloration X 125).

Rosenberg<sup>16</sup> suggère à cet effet que le liquide amniotique est nettement moins riche en prolactine dans les cas d'implantation ectopique.

Il faut noter que les valeurs trouvées par cet auteur s'opposent à l'étude que nous avons réalisée concernant la prolactine amniotique dans le premier trimestre où même en implantation intra-utérine, le rapport entre la prolactine amniotique et la prolactine sérique est compris entre 1 et 2.

Beaucoup plus important est le fait que dans les môles hydatiformes et les tumeurs trophoblastiques, la prolactine est présente. Elle est parfaitement définissable par immunocytochimie<sup>13, 17</sup> et nous confirmons parfaitement cette immunopositivité. Il y a là une hypothèse intéressante à soulever: l'immunopositivité prolactinique dans la môle ou tumeur trophoblastique est une propriété du syncytiotrophoblaste. Elle est parallèle à l'immunopositivité de hPL.

On peut se poser la question de savoir s'il ne s'agit pas là de l'expression d'une persistance anormale (et même au niveau villositaire) du trophoblaste primaire dont la faculté de prolifération est libérée. Cette hypothèse de la persistance et de la continuation de la première poussée trophoblastique nous paraît plus intéressante que le postulat des répressions géniques (de type néoplasique) au niveau d'un trophoblaste déjà différencié.

Il nous reste enfin à commenter les modifications expérimentales que nous avons essayé de pratiquer sur les fragments membranaires en solubilisant les récepteurs à la prolactine<sup>18, 19</sup> que l'on emploie le chlorure de magnésium à haute concentration molaire ou un détergent, les résultats sont très superposables: l'immunoréactivité trophoblastique n'est pas modifiée dans les grossesses jeunes par contre il y a diminution nette de celles-ci au niveau des cellules déciduales. On peut donc suggérer qu'il existe une partie de l'hormone fixée au niveau membranaire à des récepteurs probablement spécifiques.<sup>8</sup> Il n'est pas inutile de noter à ce sujet que de toute façon c'est au niveau du site d'insertion placentaire que l'immunoréactivité est et demeure maximale. Nous en arrivons donc à nous interroger sur le rôle fondamental que doit jouer la prolactine dans le voisinage immédiat de l'unité foetoplacentaire.

Il est certain que cette action doit être primordiale à différents niveaux mais qu'elle est mal connue. On peut suggérer que la prolactine joue un rôle dans l'implantation de l'oeuf fécondé, dans le maintien de la décidualisation et probablement dans la régulation de sa synthèse par la déciduale.

Il existe certainement aussi une action qui doit se situer à la fin du premier trimestre et qui s'exprime par l'accroissement considérable de la concentration de l'hormone dans le liquide amniotique au second trimestre. S'agit-il là d'une manifestation tardive de la fonction d'osmorégulation?

La reconnaissance par la présence de l'hormone des différents types de trophoblaste apparaît en tout état de cause très prometteuse.

Si le déterminisme de la transformation molaire apparaît essentiellement de caractère génétique, une de ses premières manifestations consisterait en la persistance du trophoblaste primaire.

Il conviendrait à ce sujet de rechercher de façon formelle si les cas de maladie trophoblastique présentent une hyperprolactinémie plus importante que les grossesses normales.

Il pourrait s'agir là d'un indicateur précoce de la transformation.

## BIBLIOGRAFIA

1. GOLANDER, A.; HURLEY, T.; BARRETT, J.; HANDWERGER, S.: Synthesis of prolactin by human decidua in vitro. *J. Endocr.*, 1979; 82: 263-267.

2. RIDDICK, D. H.; MASLAR, I. A.: The transport of prolactin by human fetal membranes. *Jl. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1981; 52: 220-224.
3. MEURIS, S.; SOUMENKOFF, G.; MALENGREAU, A.; ROBYN, C.: Immunoenzymatic localization of prolactin-like immunoreactivity in decidual cells of the endometrium from pregnant and non pregnant women. *J. Histochem. Cytochem.*, 1980; 28: 1347-1350.
4. FRAME, L. T.; WILEY, L.; ROGOL, A. D.: Indirect immunofluorescent localization of prolactin to the cytoplasm of decidua and trophoblast cells in human placental membranes at term. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 1979; 49: 435-437.
5. RICHARDS, S. R.; KIM, M. H.; MALARKEY, W. B.: Evidence that chorion-decidual prolactin release is calcium dependent. *Jl. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1982; 54: 820-823.
6. KASAI, K.; SHIK, S. S.; YOSHIDA, Y.: Production and localization of human prolactin in placenta and decidua in early and at term normal pregnancy. *Biol. Res. Pregn.*, 1982; 3: 25-29.
7. BIGAZZI, M.; POLLICINO, G.; NARDI, E.; PETRUCCI, F.; RONGA, R.; SCARSELLI, G. F.: Prolactin from human decidua: specific production and biological activity. In: Klopfer, A.; Genazzani, A.; Crosignani, P. G.: *The Human Placenta: Proteins and Hormones*, London, Academic Press, 1980.
8. MC WEY, L.; SINGHAS, C. A.; ROGOL, A. D.: Prolactin binding sites on human chorion decidua tissue. *Am. Jl. Obstet. Gynecol.*, 1982; 144: 283-288.
9. HUSTIN, J.; VAN, CAUWENBERGE, J. R.; FRANCHIMONT, P.: Sites de production de prolactine au sein de l'unité foeto-placentaire. *Arch. Anat. Cytol. Path.*, 1983; 31: 95-100.
10. BRAVERMAN, M. B.; BAGNI, A.; ZIEGLER, D.; DEN, T.; GURPIDE, E.: Isolation of prolactin-producing cells from first and second trimester decidua. *Jl. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1984; 58: 521-525.
11. DALY, D. C.; MASLAR, I. A.; RIDDICK, D. H.: Prolactin production during in vitro decidualization of proliferative endometrium. *Am. Jl. Obstet. Gynec.*, 1983; 145: 672-678.
12. KUBOTA, T.; KUMASAKA, T.; YAOI, Y.; SUSUKI, A.; SAITO, M.: Study on immunoreactive prolactin secretion by decidua in normal pregnancy and abortion. *Neuroendocrinol. Lett.*, 1981; 3: 27-33.
13. RANTA, T.; WAHLSTRÖM, T.; RUTANEN, E.; STENMAN, V. H.; SEPPÄLÄ, M.: Serum prolactin levels and immunohistochemical localization of prolactin in trophoblastic disease. *Acta Path. Microbiol. Scand. A.*, 1981; 89: 235-239.
14. MC, COSHEN, J. A.; TOMITA, K.; FERNANDEZ, C.; TYSON, J. E.: Specific cells of human amnion specifically localize prolactin. *Jl. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1982; 55: 166-169.
15. WANG, T.; SCHNEIDER, J.: Localization of anions in Human Amnion. *Arch. Gynecol.*, 1982; 231: 269-277.
16. ROSENBERG, S. M.: Amniotic fluid prolactin levels in tubal gestation: support for the unique role of decidua. *Am. Jl. Obstet. Gynec.*, 1984; 150: 102-103.
17. LEE, J. N.; WAHLSTRÖM, T.; OUYANG, F. C.; CHEN, T. Y.; SEPPÄLÄ, M.: Immunohistochemical evidence for prolactin in trophoblastic tumours. *Gynec. Oncol.*, 1981; 11: 299-303.
18. DJIANE, J.; DELOUIS, C.; KELLY, P. A.: Prolactin receptors in organ culture of rabbit mammary gland: effect of cycloheximide and prolactin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1979; 162: 342-345.
19. CHURCH, W. R.; EBNER, K. E.: Solubilization of prolactin receptor by a zwitterionic detergent *Experientia*, 1982; 38: 434-435.

20. TOMITA, K.; MC COSHEN, J. A.; FERNANDEZ, C. S.; TYSON, J. E.: Immunologic and biologic characteristics of human decidual prolactin. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1982; 142: 240.
21. TOMITA, K.; MC COSHEN, J. A.; FRIESEN, H. G.; TYSON, J. E.: Quantitative comparison between biological and immunological activities of prolactin derived from human fetal and maternal sources. *Jl. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1982; 55: 269-271.
22. VAN, CAUWENBERGE, J. R.; HUSTIN, J.; GASPARD, V.; BRUWIER, M.; LAMBOTTE, R.; FRANCHIMONT, P.: Evolution de la prolactine sérique et amniotique en cours des vingt premières semaines de la gestation. (A parâitre)

Pedido de separatas: L. Pereira Leite  
Serviços de Obstetrícia  
Faculdade de Medicina  
Hospital de São João  
4200 Porto. Portugal