

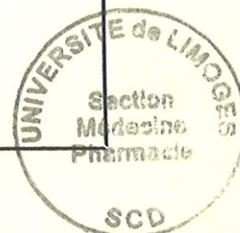
UNIVERSITE de LIMOGES  
Faculté de Pharmacie

ANNEE 1996



THESE N° 239/1

**PROLACTINEMIE :**  
**DOSAGE**  
**ET INTERPRETATION**



**THESE**

POUR LE

**DIPLOME D'ETAT**  
**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

*présentée et soutenue publiquement le 25 Novembre 1996*

par

**Emmanuelle ARGY**

née le 2 Mars 1971 à Châteauroux (Indre)

**EXAMINATEURS de la THESE**

Monsieur le Professeur HABRIOUX .....	PRESIDENT
Madame ARCHAMBEAUD, <i>Professeur</i> .....	JUGE
Monsieur CARDI, <i>Maître de Conférences</i> .....	JUGE
Monsieur SAMSON, <i>Pharmacien</i> .....	JUGE

1

# UNIVERSITE DE LIMOGES FACULTE DE PHARMACIE

---

**DOYEN DE LA FACULTE :** Monsieur le Professeur GHESTEM Axel

**ASSESEURS :** Monsieur le Professeur HABRIOUX Gérard  
Monsieur DREYFUSS Gilles-Maître de Conférences

**PROFESSEURS :**

BENEYTOUT Jean-Louis	BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE
BERNARD Michel	PHYSIQUE-BIOPHYSIQUE
BOSGIRAUD Claudine	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE PARASITOLOGIE
BROSSARD Claude	PHARMACOTECHNIE
BUXERAUD Jacques	CHIMIE ORGANIQUE CHIMIE THERAPEUTIQUE
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
CHULIA Albert	PHARMACOGNOSIE
CHULIA Dominique	PHARMACOTECHNIE
DELAGE Christiane	CHIMIE GENERALE et MINERALE
GHESTEM Axel	BOTANIQUE et CRYPTOLOGIE
HABRIOUX Gérard	BIOCHIMIE FONDAMENTALE
LACHATRE Gérard	TOXICOLOGIE
MOESCH Christian	HYGIENE
OUDART Nicole	PHARMACODYNAMIE
RABY Claude	PHARMACIE CHIMIQUE et CHIMIE ORGANIQUE

**SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE-CHEF DES SERVICES  
ADMINISTRATIFS**

POMMARET Maryse

A ma mère et à mon beau-père,

A ma grand-mère,

A mon frère,

A tous mes amis,

Avec affection je dédie ce travail.

A tous nos Maîtres de la Faculté de Pharmacie à qui nous devons notre formation,

avec notre respectueuse gratitude.

**A notre Maître et Président de Thèse**

**Monsieur le Professeur HABRIOUX Gérard**

Assesseur de Pharmacie

Professeur de Biochimie fondamentale à la Faculté de Pharmacie de Limoges

Professeur attaché au Laboratoire de Biochimie au Centre Hospitalier

Esquirol de Limoges.

Monsieur, nous vous remercions de nous avoir accueilli dans votre service.

Vous avez su nous guider tout au long de ce travail.

Vous nous faites l'honneur de présider ce jury, soyez assuré de notre respectueuse gratitude et de notre profonde reconnaissance.

**A Madame ARCHAMBEAUD Françoise**

Professeur d'Endocrinologie à l'Hôpital du Cluzeau de Limoges

Madame, nous vous remercions de nous avoir permis d'étudier quelques cas cliniques relatifs à ce travail.

Nous sommes très honoré de votre présence dans notre jury de thèse.

**A Monsieur CARDI Patrice**

Maître de Conférences de Physiologie à la Faculté de Pharmacie de Limoges.

Monsieur, nous vous remercions d'avoir accepté de juger cette thèse.

Nous vous exprimons notre plus sincère gratitude.

**A Madame CHASSAING Colette**

Pharmacien, Chef de service de la Pharmacie du Centre Hospitalier Esquirol  
de Limoges

Madame, soyez remerciée de l'aide que vous nous avez apportée et  
notamment pour la mise à disposition du matériel.

**A Monsieur SAMSON**

Pharmacien, laboratoire BEHRING

Monsieur, nous vous remercions de votre présence dans ce jury.

**A la Société BEHRING**

Nous vous remercions pour l'apport matériel qui nous a permis de réaliser les chromatogrammes et les dosages de la prolactine.

# PLAN

## PLAN

### Introduction.

### Première partie :

#### I- Structure de la prolactine.

- 1- Historique.
- 2- Structure.
  - 2-1- Forme monomère.
  - 2-2- Autres formes.
  - 2-3- Récepteurs de la prolactine.

#### II- Physiologie de la prolactine.

- 1- Synthèse et sécrétion.
  - 1-1- Localisation.
  - 1-2- Variations physiologiques de la sécrétion.
    - 1-2-1- En fonction de l'âge.
    - 1-2-2- En fonction de la situation physiologique.
  - 1-3- Rythmes de sécrétion.
- 2- Actions et rôle de la prolactine.
  - 2-1- Action sur la glande mammaire.
  - 2-2- Actions générales.
    - 2-2-1- Sur la fonction de reproduction.
    - 2-2-2- Sur la fonction surrénalienne.
    - 2-2-3- Sur le métabolisme hydroélectrolytique.
    - 2-2-4- Sur le métabolisme glucidique.
    - 2-2-5- Sur le métabolisme phosphocalcique.
  - 2-3- Prolactine et système immunitaire.
- 3- Régulation.
  - 3-1- Contrôle hypothalamique.
    - 3-1-1- Les facteurs inhibiteurs de la sécrétion de prolactine.
    - 3-1-2- Les facteurs stimulants de la sécrétion de prolactine.
    - 3-1-3- Autres neuropeptides et neurotransmetteurs.
  - 3-2- Autorégulation de la sécrétion de prolactine.
  - 3-3- Contrôle par les hormones périphériques.
  - 3-4- Activation de la sécrétion de prolactine par réflexes neuro-endocriniens.

#### III- Les hyperprolactinémies.

- 1- Symptomatologie.
  - 1-1- Chez la femme en âge de concevoir.
  - 1-2- Chez la femme ménopausée.
  - 1-3- Chez l'homme.
  - 1-4- Avant et pendant la puberté.
- 2- Exploration d'une hyperprolactinémie.
  - 2-1- Biologique.
  - 2-2- Radiologique.
- 3- Principaux types d'hyperprolactinémie.
  - 3-1- Hyperprolactinémies organiques.
  - 3-2- Hyperprolactinémies fonctionnelles.

- 3-2-1- Hyperprolactinémie accompagnant une lésion suprahypophysaire ou hypophysaire non lactotrope.
- 3-2-2- Hyperprolactinémies iatrogènes.
- 3-2-3- Hyperprolactinémies et autres pathologies endocriniennes et gynécologiques non hypophysaires.
- 3-2-4- Hyperprolactinémies fluctuantes et hyperprolactinémies "latentes".
- 3-2-5- Hyperprolactinémies idiopathiques, chroniques, de type non adénomateux.
- 3-3- Hyperprolactinémies avec anomalie moléculaire de la prolactine.

#### IV- Traitements.

- 1- Le traitement chirurgical.
- 2- Le traitement médical.

### **Deuxième partie :**

#### I- Méthodologie.

- 1- Principe général de la chromatographie liquide haute performance.
- 2- Matériel.
- 3- Etalonnage de la colonne.

#### II- Protocole.

- 1- Fractionnement des sérums sur colonne.
- 2- Dosage.
  - 2-1- Par chimiluminescence.
  - 2-2- Par RIA.

#### III- Résultats.

- 1- Comparaison des méthodes.
- 2- Fractionnement des différentes formes prolactiniques.
- 3- Influence de la congélation et de la décongélation d'un sérum, sur les taux des différentes formes de prolactine.

### **Conclusion.**

### **Abréviations.**

### **Bibliographie.**

# **INTRODUCTION**

Jusqu'à ces dernières années, les dosages de prolactine étaient effectués par méthode RIA dans des laboratoires spécialisés. Les résultats étaient exprimés en masse par volume. Or, les étalons utilisés étaient différents d'un fabricant à un autre et n'avaient pas la même activité. On dénombre actuellement une vingtaine de trousse sur le marché qui sont calibrées sur différents standards internationaux pour lesquels le facteur de conversion entre ng et  $\mu\text{UI}$  va de 17 à 42 selon la trousse utilisée.

Exemple : CIBA-CORNING : NCR 83562 1 ng/ml = 37  $\mu\text{UI}$ /ml.

BEHRING : WHO 84/500 1 ng/ml = 21,19  $\mu\text{UI}$ /ml.

DPC : WHO 84/500 1 ng/ml = 26  $\mu\text{UI}$ /ml.

IMMUNOTECH : WHO 84/500 1 ng/ml = 30,3  $\mu\text{UI}$ /ml.

On conçoit aisément les problèmes d'interprétation qui se posent aux cliniciens lorsque les valeurs établies par un laboratoire sont exprimées en  $\mu\text{UI}$  ou en ng, sans indiquer en regard les normes correspondantes, qui peuvent fluctuer d'un coffret à l'autre.

Puis ont été développées des techniques de dosage s'affranchissant de la radioactivité, comme la chimiluminescence.

Le dosage de la prolactine sérique présente diverses particularités. Les unes ayant trait à l'évolution des méthodes de dosage immunologique :

- déplacement ou sandwich,
- marquage,

les autres à la normalisation des standards, et, enfin aux différentes formes circulantes de prolactine.

En effet, la prolactine circulante se trouve sous différentes formes.

Les questions que l'on peut se poser alors :

- les anticorps réagissent-ils avec toutes les formes ?
- une forme particulière a-t-elle seule l'activité biologique ?

- certaines situations pathologiques entraînent-elles des modifications des différentes formes respectives de prolactine ?

Que se passe-t-il en cas d'augmentation d'une forme à activité prolactinique décelable par les anticorps entraînant un retentissement ou des perturbations cliniques, d'augmentation d'une forme non reconnue par les anticorps, d'augmentation d'une forme sans activité prolactinique et sans retentissement clinique ?

Se pose le problème de l'interprétation d'un dosage de prolactine.

Dans ce travail, on va tout d'abord présenter une méthode de séparation des différentes formes de prolactine, puis proposer une méthode de dosage non radioimmunologique, une méthode sandwich utilisant des anticorps monoclonaux et des anticorps de marquage en chimiluminescence qui permettent d'atteindre des sensibilités semblables à celles de la méthode par RIA.

Même si les fabricants de réactifs ont contrôlé la qualité de leur méthodologie, il s'avère que compte tenu des différentes activités des standards, les résultats obtenus sont sensiblement différents.

Ainsi dans ce travail, on va tout d'abord rappeler, dans une première partie, la physiopathologie de la prolactine, puis dans une seconde partie, présenter une comparaison des différentes méthodes de dosage et suivre le profil chromatographique de différents patients en fonction de l'état clinique.

Le protocole ainsi décrit sera utilisé pour déterminer si dans certaines situations cliniques, on peut observer une modification d'une forme particulière de prolactine.

# **PREMIERE PARTIE**

# I- STRUCTURE DE LA PROLACTINE :

## 1- Historique :

En 1928, STRICKER et GRUETA signalent une montée laiteuse chez la lapine en pseudogestation, après administration d'un extrait de lobe antérieur d'hypophyse. Ce type d'extrait stimule aussi le développement des glandes du jabot de pigeon qui forment, par desquamation des couches cellulaires internes, une sécrétion communément appelée "lait", utilisée pour nourrir les jeunes par régurgitation (RIDDLE et coll 1931). En 1932, le principe actif a été purifié à partir d'hypophyses de mouton et nommé Prolactine (PRL) en raison de ses effets biologiques (RIDDLE et coll). Mais ce n'est qu'en 1971, que la prolactine fut identifiée en tant qu'hormone unique, car elle présente une certaine analogie avec l'hGH (Human growth hormone ou hormone de croissance humaine) et un peu moins avec la hPL (Human Placental Lactogen ou hormone lactogène placentaire humaine) (LEWIS et coll 1971, HWANG et coll 1972). Ces différentes hormones possèdent en fait un gène ancestral commun, actuellement les gènes de ces trois hormones présentent seulement une organisation structurale commune ; ils sont constitués de 5 exons codants, séparés par 4 introns. Le gène de l'hPRL (Human Prolactin) est porté par le chromosome 6 alors que les gènes de l'hGH et de la hPL sont situés sur le chromosome 17 (COOKE et coll 1980, COOKE et coll 1982, DUPOUY et coll 1992).

Le premier dosage de la prolactine par RIA (Radioimmunoassay) fut mis au point par FRIESEN et ses collaborateurs en 1972. Auparavant, on ne disposait que du test sur jabot de pigeon, qui apparaissait plus ou moins spécifique.

## 2- Structure :

### 2-1- Forme monomère :

Des études biochimiques ont permis d'identifier la prolactine sous forme d'une chaîne polypeptidique de 198 acides aminés, de poids moléculaire d'environ 23 kDaltons porteuse de ponts disulfures, comme les autres hormones du groupe des hormones somatomammotropiques (SHOME et coll 1977).

Depuis, on connaît mieux la structure de cette hormone qui est bien polypeptidique et linéaire, de même poids moléculaire (23 kDa), mais qui est constituée de 199 acides aminés, et comportant 3 ponts disulfures situés en position : 4-11, 58-174, 191-199 (BRUE et coll 1992, DUPOUY et coll 1992). (Figure 1).

On peut remarquer que l'hGH est également une chaîne linéaire polypeptidique, de structure tridimensionnelle voisine de celle de la prolactine (figures 2 et 3 : SMITH et coll 1990), mais ne comportant que 2 ponts disulfures et n'ayant que 191 acides aminés.

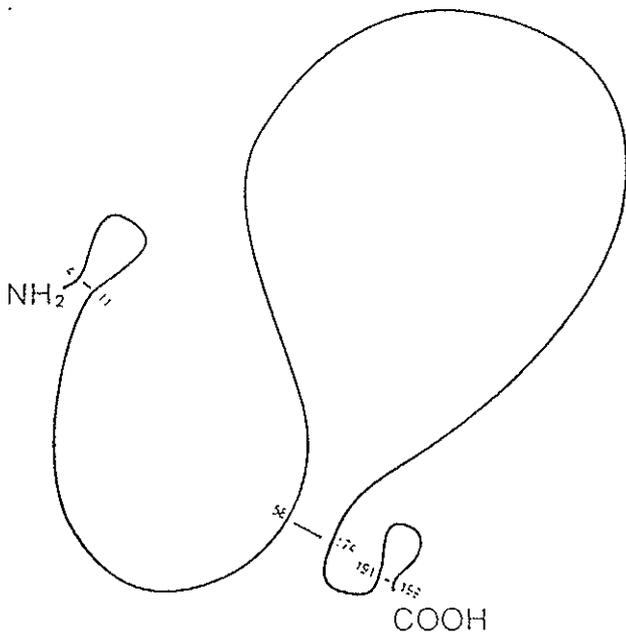


Figure 2 : L'hPRL monomère, un polypeptide de 199 acides aminés avec 3 ponts disulfures.

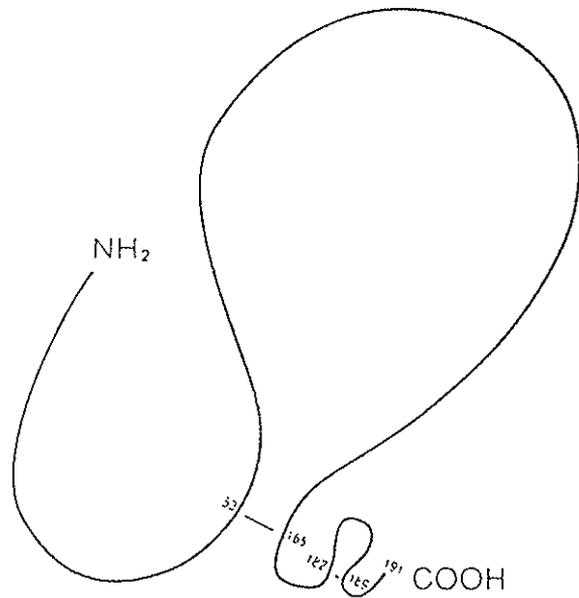
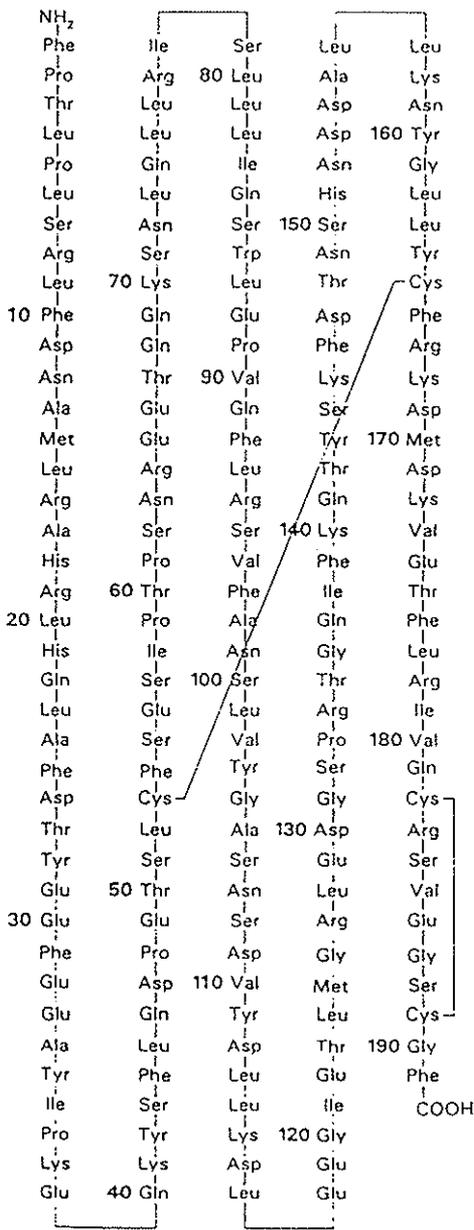
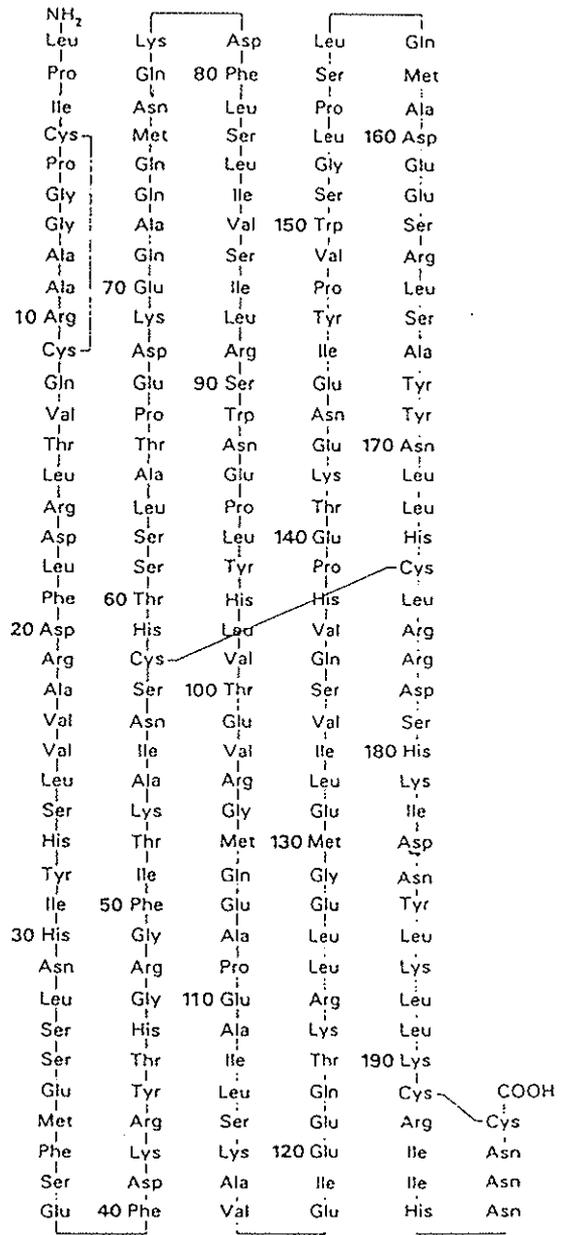


Figure 3 : L'hGH monomère, un polypeptide de 191 acides aminés avec 2 ponts disulfures.



Structure de l'hGH. Elle est constituée de 191 acides aminés, et de 2 ponts disulfures.



Structure de l'hPRL. Elle est constituée de 199 acides aminés et de 3 ponts disulfures.

Figure 1 : structures de la prolactine et de l'hormone de croissance.

Cette forme de prolactine dite monomère représente la forme prédominante dans le sang circulant d'un individu normoprolactinémique. Elle est par ailleurs appelée "little-prolactin".

## **2-2- Autres formes :**

### 2-2-1- Isoformes :

Ce sont des formes ayant un poids moléculaire identique mais ayant une charge électrique différente (ATAYA et coll 1988, PELLEGRINI et coll 1988), soit par désamidation, soit par phosphorylation, soit par acétylation (NYBERG et coll 1980, KOHLI et coll 1987). On remarque que le composant le plus acide (isomère désamidé) possède une activité biologique augmentée et une activité immunologique diminuée par rapport aux deux autres, dont l'activité est équivalente dans les deux types d'essais.

### 2-2-2- Formes de poids moléculaire différent :

Leur structure n'est pas encore clairement définie ; mais on sait que l'on a :

- une forme d'environ 50 kDa, qui serait une forme dimère de la little-prolactine, appelée "big-prolactin".
- une forme d'environ 150 kDa, qui serait un agrégat ou une forme polymère de "little", appelée "big-big prolactin" (ROGOL et coll 1974, SUH et coll 1974, ANDERSEN et coll 1982, PANSINI et coll 1985, WORTSMAN et coll 1989).

Ces deux formes sont minoritaires par rapport à la forme monomère qui représente environ 75% chez un individu normoprolactinémique. Par ailleurs, on constate que la radiothérapie n'affecte pas le taux de big-big PRL, ce qui n'est pas le cas avec le taux de little PRL.

La présence de ces formes de poids moléculaire différent dans le tissu hypophysaire normal et leur assez bonne stabilité dans différentes conditions de conservation (FANG et coll 1978, KIEFER et coll 1978, SUH et coll 1974), montrent qu'elles ne représentent donc pas des formes de dégradation ou d'agrégation de la prolactine monomère dans la circulation générale.

Par contre, si on utilise des agents réducteurs des ponts disulfures (ex : le mercapto-éthanol), on provoque la transformation de big-big et big PRL en little PRL, évoquant alors l'existence de ponts disulfures interchaînes peptidiques au sein de ces variants (BENVENISTE et coll 1979).

Ainsi, ces formes lourdes correspondent probablement à des agrégats de prolactine (dimères ou polymères) ou à des molécules de prolactine liées à d'autres protéines par liaison covalente.

L'activité biologique de ces deux formes est faible. Par contre, l'immunoactivité de ces deux formes est, dans la plupart des systèmes de dosages, comparable à celle de la prolactine monomère.

- des formes de 8 et 16 kDa, donc de poids moléculaire inférieur à celui de la little PRL, ont été récemment identifiées dans l'espèce animale (MITTRA 1980), puis dans l'espèce humaine, dans l'hypophyse normale et dans le plasma, chez la femme enceinte en fin de grossesse (SINHA et coll 1985). Auparavant, on pensait qu'il s'agissait de formes de dégradation après réduction des ponts disulfures. Or ces formes clivées existent bien, mais leur présence n'a été constatée qu'en fin de grossesse, là où le développement mammaire est maximal (SINHA et coll 1985). Leur activité biologique dans l'espèce humaine n'est pas encore démontrée mais chez l'animal cette forme possède un rapport activité biologique/activité immunologique beaucoup plus élevé que celui de la forme monomère non clivée (CLAPP et coll 1988).

### 2-2-3- Formes glycosylées :

Une forme de 25 kDa a été identifiée dans des extraits d'hypophyse, également dans le plasma et le liquide amniotique ; séparée par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (SINHA et coll 1984, LEWIS et coll 1984, LEWIS et coll 1985, MEURIS et coll 1985, MARKOFF et coll 1990).

La fraction glucidique responsable de l'augmentation de taille de la molécule de prolactine n'est pas connue dans l'espèce humaine ; mais elle est probablement fixée, comme dans la prolactine glycosylée ovine, par une liaison N-acétylglucosamine sur l'asparagine en position 31 qui est le seul résidu de la chaîne polypeptidique capable de recevoir une telle liaison, en raison de la séquence Asn-X-Ser (LEWIS et coll 1985).

La prolactine glycosylée représente la majorité de prolactine circulante, de l'ordre de 85% de l'immunoréactivité prolactine totale (MARKOFF et coll 1987), alors que dans le tissu hypophysaire elle ne représente que 15% (PELLEGRINI et coll 1988). Cette discordance peut s'expliquer par l'accumulation de prolactine glycosylée dans le sang, en raison d'une clairance métabolique diminuée liée à la présence d'un groupement glucidique (BLACKER et coll 1990).

Dans un dosage utilisant un anticorps polyclonal, il a été montré que la prolactine glycosylée était deux fois moins immunoréactive que la prolactine non glycosylée (PELLEGRINI et coll 1988). En revanche, certains anticorps monoclonaux reconnaissent de façon équimolaire les deux formes. Les dosages radioimmunologiques classiques ne rendent donc pas compte de l'hétérogénéité moléculaire de la prolactine. Par ailleurs, il a été montré que la glycosylation de la prolactine diminuait de 50% l'efficacité de liaison de l'hormone à son récepteur, et de 50% également l'activité biologique (PELLEGRINI et coll 1988). Ces résultats suggèrent donc que la glycosylation pourrait moduler l'activité biologique de l'hormone. Un argument supplémentaire en faveur de cette hypothèse a été apporté par la démonstration de fluctuations concordantes des proportions de prolactine glycosylée ou non glycosylée au cours de la grossesse. En effet, la proportion de prolactine glycosylée, moins active biologiquement, diminuait nettement au profit de la forme non glycosylée en fin de grossesse puis la prolactine glycosylée redevient majoritaire dans le post-partum (HASHIM et coll 1990, MARKOFF et coll 1988). En outre, des résultats préliminaires semblent montrer

une augmentation de la proportion de cette forme non glycosylée par rapport au monomère glycosylé chez des patients hyperprolactinémiques (HASHIM et coll 1990).

Une forme de 60 kDa a aussi été mise en évidence dans le plasma de femme enceinte (SHOUPE et coll 1983).

### **2-3- Récepteurs de la prolactine :**

La prolactine exerce ses actions biologiques sur de nombreux tissus cibles par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique membranaire (JACQUET et coll 1989). Ce récepteur fait l'objet d'une régulation par la prolactine elle-même, dans le sens d'une diminution du nombre de récepteurs lors d'exposition courte à l'agoniste et dans le sens inverse en cas d'exposition prolongée (grossesse, lactation). Ce récepteur est une protéine de 291 acides aminés, glycosylée, ancrée dans la membrane par une unique région hydrophobe, qui sépare le domaine de liaison extracellulaire d'une courte région intracellulaire. La structure de ce récepteur a été considérée comme le prototype d'une nouvelle classe de récepteurs transmembranaires (COSMAN et coll 1990) qui inclut le récepteur à l'hormone de croissance, ainsi que les récepteurs de plusieurs cytokines.

Outre cette forme "courte" du récepteur de la prolactine, une forme possédant une partie cytoplasmique plus "longue" a été décrite chez le lapin (598 acides aminés), chez l'homme (598 acides aminés) et chez le rat (591 acides aminés).

Les mécanismes de transduction du message induit par la liaison de la prolactine à son récepteur restent encore à élucider.

## II- PHYSIOLOGIE DE LA PROLACTINE

La prolactine contrairement à de nombreuses idées reçues, ne semble pas être uniquement une hormone lactogène. De nombreux travaux fondamentaux lui accordent un rôle physiologique plus large, en particulier dans la fonction de reproduction et dans l'équilibre foetal (CARON et coll 1992). Ainsi la prolactine possède un très large spectre d'activité, depuis les poissons où elle intervient dans l'osmorégulation au cours des migrations anadromes (passage de l'eau de mer en eau douce) jusqu'aux mammifères où elle joue de multiples rôles dans la reproduction. Plus de 85 effets biologiques ont été répertoriés dans diverses espèces ; c'est pourquoi elle fut quelquefois appelée Versatiline (DUPOUY et coll 1992).

### 1- Synthèse et sécrétion :

#### 1-1- Localisation :

La prolactine est une hormone lactotrope sécrétée, d'une part par l'antéhypophyse sous forme d'une prohormone appelée préprolactine, d'environ 30 acides aminés de plus que l'hormone active, soit d'un poids moléculaire de 26 kDa, et, d'autre part, par les cellules de l'endomètre, ce qui permet de la retrouver en concentration relativement élevée dans le liquide amniotique.

Ainsi les cellules lactotropes de l'antéhypophyse (cellules éta) représentent le principal lieu de synthèse de la prolactine. Cependant, cette hormone a été également individualisée dans d'autres milieux (liquide amniotique, liquide céphalo-rachidien, glaire cervicale, sperme, lait, ...) et paraît être sécrétée par d'autres cellules différenciées.

#### 1-1-1- Les cellules lactotropes antéhypophysaires :

Ce sont des cellules acidophiles constituant 20 à 40% du contingent cellulaire de l'hypophyse. Elles sont disséminées dans le lobe antérieur, mais plus nombreuses à la partie postéro-médiane et postéro-latérale. Le nombre de ces cellules est très variable. Ces cellules

sont souvent chromophobes, car elles possèdent peu de granulations ; puisque le contenu hypophysaire en prolactine est faible : 100 à 200 µg/glande, ceci est dû à un faible stockage et à une libération rapide après synthèse. La prolactine est stockée dans des grains de sécrétion de taille très variable, de forme souvent irrégulière, dispersés dans le cytoplasme des cellules lactotropes (MAUVAIS-JARVIS et coll 1982).

#### 1-1-2- Les cellules déciduales ou endométriales :

Elles synthétisent et sécrètent *in vitro* de la prolactine (FOSSATI et coll 1984). Cette production de prolactine apparaît chez la femme, en période d'activité génitale, à la fin de la phase lutéale (23<sup>ème</sup> jour). Elle augmente progressivement jusqu'à l'apparition des règles. Elle chute alors brutalement (DALY et coll 1981). Cette production déciduale de prolactine est considérée comme un marqueur de maturation cellulaire (DALY et coll 1981) ou comme un facteur favorisant l'implantation de l'oeuf (RIDDICK 1985). En effet, si une grossesse survient, la production de prolactine déciduale se poursuit, quelque soit le site d'implantation du blastocyste (FOSSATI et coll 1984, HOCHNER-CELNICKIER et coll 1984).

Cette prolactine sera trouvée dans le liquide amniotique, qu'elle atteint en traversant les membranes foetales par un mécanisme de transport actif (RIDDICK 1985).

Le taux de prolactine amniotique augmente progressivement jusqu'à la moitié de la grossesse puis diminue ensuite (VELDHUIS et coll 1988). On note une forte concentration de prolactine dans le liquide amniotique. Pendant la grossesse, aucune corrélation n'est trouvée entre les taux de prolactine amniotique et de prolactine plasmatique maternelle, bien que les deux molécules soient identiques sur le plan biochimique (KLETZKY et coll 1985 et NICOLL 1974).

La bromocriptine, l'hypophysectomie sont, par ailleurs, sans effet sur les valeurs de prolactine amniotique. Celle-ci joue probablement un rôle pendant la grossesse. Plusieurs hypothèses sont évoquées, comme :

- le maintien de l'osmorégulation foetale ? (PULLANO et coll 1989).

- la tolérance immunitaire qui caractérise la grossesse ? (RIDDICK 1985).
- la sécrétion du surfactant par les pneumocytes de type II ? (JOHNSON et coll 1982, PARKER et coll 1989).

#### 1-1-3- Les cellules de l'utérus :

A l'état basal, aucune sécrétion de prolactine n'est perçue dans le muscle utérin. *In vitro*, après 24 à 48 heures d'incubation, on constate une synthèse de prolactine myométriale (RIDDICK 1985). Cette hormone a des caractéristiques biochimiques identiques à celles de la prolactine sérique. L'origine cellulaire de cette sécrétion n'est pas connue.

Pour HEALY (1983), cette prolactine myométriale participerait au déclenchement du travail obstétrical. Cette hypothèse est confortée par les interrelations existant entre prolactine et synthèse des prostaglandines.

#### 1-1-4- Autres tissus :

La prolactine a été mise en évidence dans de nombreux tissus, sans que l'on puisse dire si le tissu en est le lieu de synthèse (ovaires, pancréas, ... ). (RIDDICK 1985).

#### 1-1-5- Dans le liquide céphalo-rachidien :

Les taux de prolactine sont 3 à 6 fois inférieurs au taux plasmatique. Ces taux varient en fonction du taux plasmatique ; car la prolactine n'est pas synthétisée dans le liquide céphalo-rachidien, mais parce qu'elle passe la barrière hémato-encéphalique (MAUVAIS-JARVIS et coll 1982).

## **1-2- Variations physiologiques de la sécrétion :**

### 1-2-1- En fonction de l'âge :

#### 1-2-1-1- Fœtus :

##### a- In utero :

L'hypophyse du fœtus humain est rapidement formée et sécrète de la prolactine à partir des dixième-douzième semaines de vie intra-utérine, moment à partir duquel on peut commencer à la doser.

La prolactine s'élève très progressivement jusqu'à la 20<sup>ème</sup> semaine de gestation où les taux retrouvés sont proches de 30 ng/ml. L'augmentation de sécrétion se poursuit jusqu'à la 42<sup>ème</sup> semaine. La prolactinémie est alors en moyenne de 260 ng/ml (AUBERT 1982).

Remarque : on peut détecter les cellules lactotropes hypophysaires à partir de la 18<sup>ème</sup> semaine.

##### b- A la naissance :

La prolactinémie, mesurée dans le sang du cordon ombilical, est corrélée à l'âge gestationnel de l'enfant et à son poids de naissance (PARKER et coll 1989). Elle semble sécrétée selon un rythme circadien. Ce taux de prolactine à la naissance est même supérieur au taux de prolactine dans le plasma de la mère.

#### 1-2-1-2- Enfant :

La prolactinémie chute brutalement à 50-80 ng/ml dans la semaine qui suit la naissance, pour se situer à un niveau plateau pendant 6 semaines. Ensuite, elle diminue progressivement pour atteindre un taux moyen de 5 à 10 ng/ml vers l'âge de 6 ans. Ce taux restera stable, tant chez les filles que chez les garçons, jusqu'à la puberté (AUBERT 1982).

#### 1-2-1-3- Adolescent :

A la puberté, une augmentation de la sécrétion de prolactine est constatée chez la jeune fille, contemporaine du développement mammaire et parallèle à la sécrétion d'estradiol (BORSON-CHAZOT 1988).

#### 1-2-1-4- Adulte :

##### a- Sexe féminin :

La prolactinémie atteint les normes de la femme adulte dans les mois qui suivent les premières règles.

Durant le cycle menstruel, il ne semble pas y avoir de variations, sauf peut-être un pic peu important en période ovulatoire, et, un taux moyen en phase lutéale supérieur à celui de la phase folliculaire, avec en plus une réponse accrue sous TRH en phase lutéale (FOSSATI et coll 1984).

Par ailleurs, on constate que dans le liquide folliculaire le taux de prolactine varie en sens inverse de la progestérone. Ainsi, on a pu observer sur des cellules de granulosa en culture, les faits suivants :

- si le taux de prolactine est de 5 à 20 ng/ml (taux normal), alors la production de progestérone est non modifiée.

- si le taux de prolactine est de 25 à 100 ng/ml, alors cette production diminue.

Par contre si on a un taux inférieur à 3 ng/ml, on observe une insuffisance en progestérone (MAUVAIS-JARVIS et coll 1982).

##### b- Sexe masculin :

Chez l'homme, le taux de prolactine varie peu. Cependant on peut observer des pics de sécrétion environ une heure avant les pics de testostéronémie (RUBIN et coll 1975).

#### 1-2-1-5- Sujet âgé :

Pour l'homme, on n'a pas de variations, par contre chez la femme, après la ménopause, les taux de prolactine redescendent à des valeurs prépubertaires.

#### 1-2-2- En fonction de la situation physiologique :

##### 1-2-2-1- Pendant la grossesse :

La prolactinémie augmente progressivement au cours de la grossesse. L'hypophyse double de volume et de poids par croissance des cellules à prolactine. Dès la fin du troisième

mois de grossesse, le taux de prolactine s'élève pour atteindre, et, parfois dépasser 100 à 200 ng/ml à la fin du troisième trimestre de grossesse (Figure 4). Malgré ces taux, la lactation ne se produit pas. Cette augmentation de prolactinémie dépend essentiellement de la production croissante des estrogènes par le placenta, et, est parallèle à celle de l'hPL (FREEMAN et coll 1984).

h PRL  $\mu$ g/l

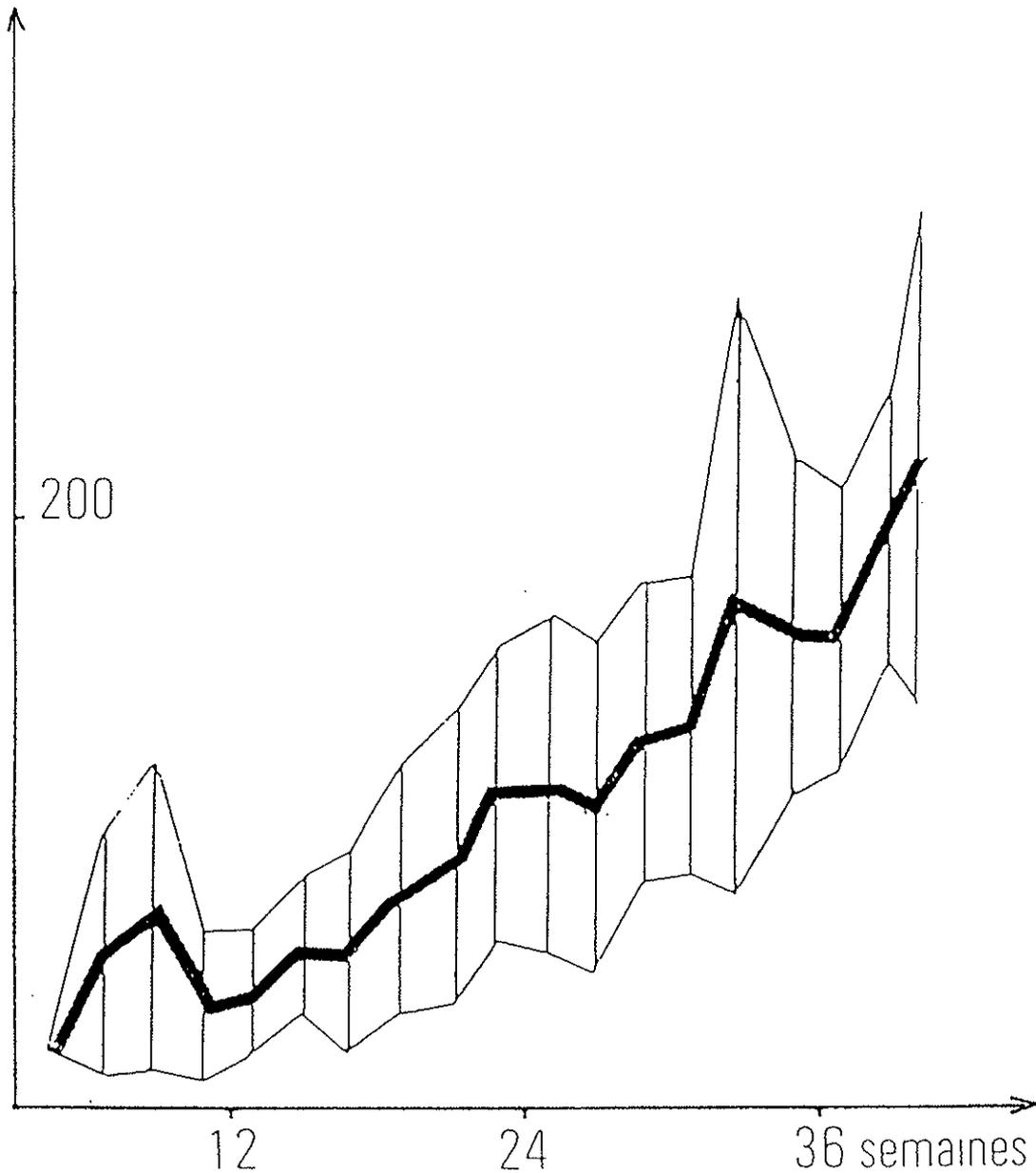


Figure 4 : Variations de la prolactine au cours de la grossesse.

A l'accouchement, les taux de prolactine diminuent au cours du travail (deux heures avant la délivrance jusqu'à deux heures après), puis ils remontent au niveau antérieur (FOSSATI et coll 1984). On remarque qu'il n'y a pas de variations chez la femme césarisée.

En l'absence d'allaitement, les concentrations basales de prolactine diminuent et reviennent aux valeurs normales au cours de la troisième semaine du post-partum.

#### 1-2-2-2- Durant la lactation :

L'allaitement maintient le taux de prolactine supérieur à 100 ng/ml, c'est-à-dire que la prolactinémie a diminué, mais reste à des valeurs supérieures à la normale ; ceci jusqu'au sixième mois d'allaitement.

On observe une inhibition de la sécrétion de LH-RH sans pic de LH, conduisant à une aménorrhée. C'est pourquoi en l'absence d'allaitement, avec le retour aux valeurs normales, on observe un cycle ovulatoire normal ("*retour de couches*").

Pendant les tétées, les pics de prolactine sont secondaires à :

- la stimulation mécanique des mamelons qui, par voie réflexe, stimule la sécrétion hypophysaire (ce phénomène disparaît après dénervation du mamelon).
- la sécrétion de substances hypothalamiques *stimulantes* (sérotonine, TRH).
- l'inhibition de la production hypothalamique de dopamine.

#### 1-2-2-3- Autres situations :

Le stress, le sommeil, une hypoglycémie, les estrogènes, les endorphines, l'exercice physique augmentent la prolactinémie (CARLSON et coll 1983, FOSSATI et coll 1984, HOFMANN et coll 1989, SMITH 1930).

L'hyperprolactinémie observée lors d'un effort physique intense ou prolongé s'associe à une hypersécrétion paroxystique d'androgènes surrénaliens et d'hormone de croissance (FOSSATI et coll 1984, NGUYEN et coll 1984).

### **1-3- Rythmes de sécrétion :**

La sécrétion prolactinique est soumise à différents cycles : nycthéral, veille-sommeil et menstruel.

#### 1-3-1- Rythmes ultradiens :

Dans le compartiment sanguin la prolactine est libérée sous forme de "pulses" approximativement toutes les 20 minutes. Sa demi-vie est courte, d'environ 20 à 30 minutes avec une inactivation probablement hépatique (VELDHUIS et coll 1988).

#### 1-3-2- Rythme nycthéral :

Au cours du nycthéral, le taux de prolactine subit des variations de faible amplitude. Ce rythme, dit circadien ou nycthéral, est proche de celui des gonadotrophines (FOSSATI et coll 1984). On observe un pic maximal de 90 à 120 minutes après l'endormissement. Ainsi les taux maximum de prolactine se situent en deuxième moitié de la nuit, vers 2 heures du matin (Figure 5).

Le sommeil paradoxal (REM) serait un des facteurs déterminants de l'hyperprolactinémie relative nocturne (FOSSATI et coll 1984).

Au réveil, la prolactinémie chute, on observe alors un taux minimal quelques heures après le réveil et à jeun (VELDHUIS et coll 1988). (Figure 5).

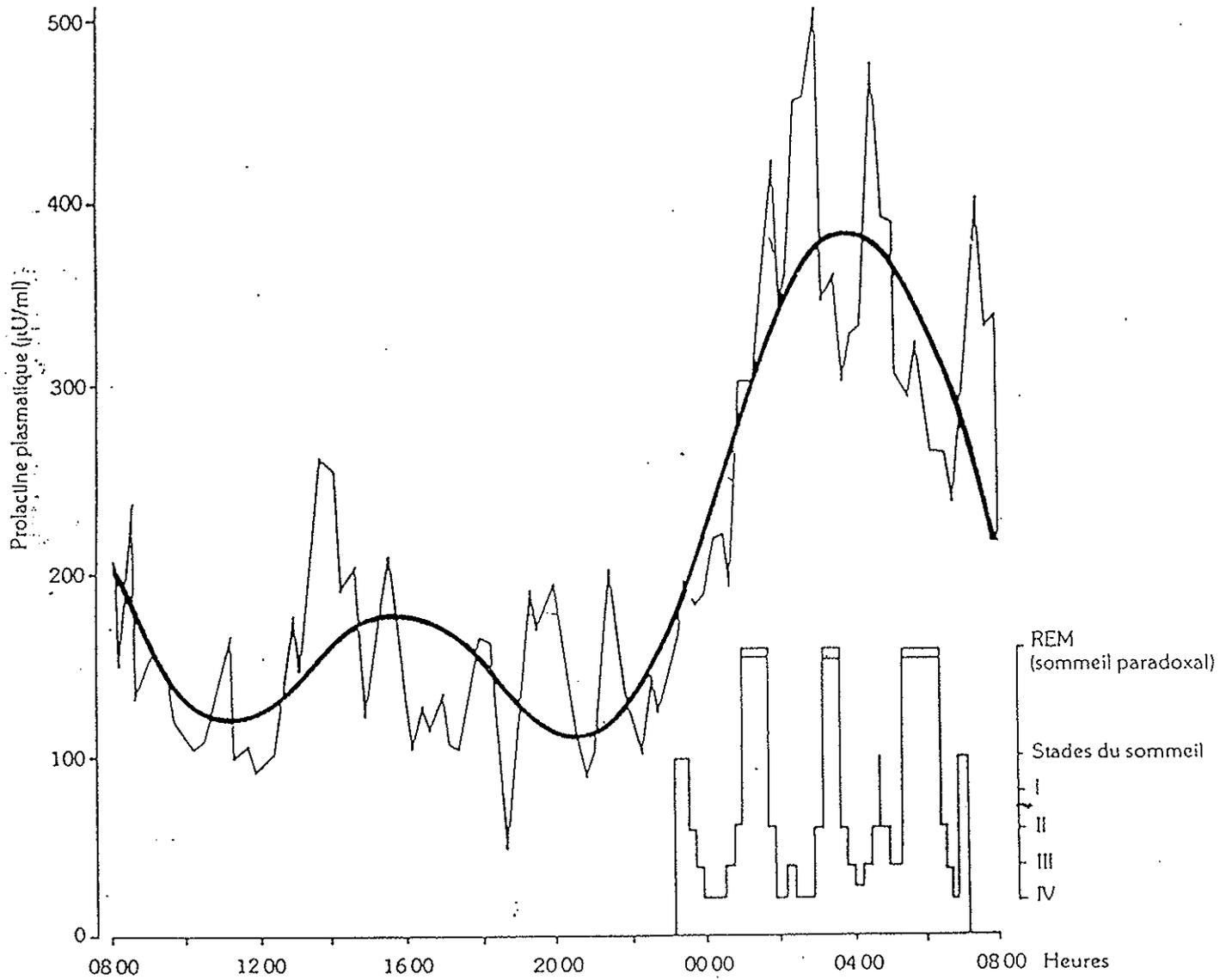


Figure 5 : Variations nyctémérales de la sécrétion de prolactine :

(L'HERMITE et coll 1980).

## 1-3-3- Rythme menstruel :

On observe une augmentation du taux circulant dans la deuxième partie du cycle (Figure 6).

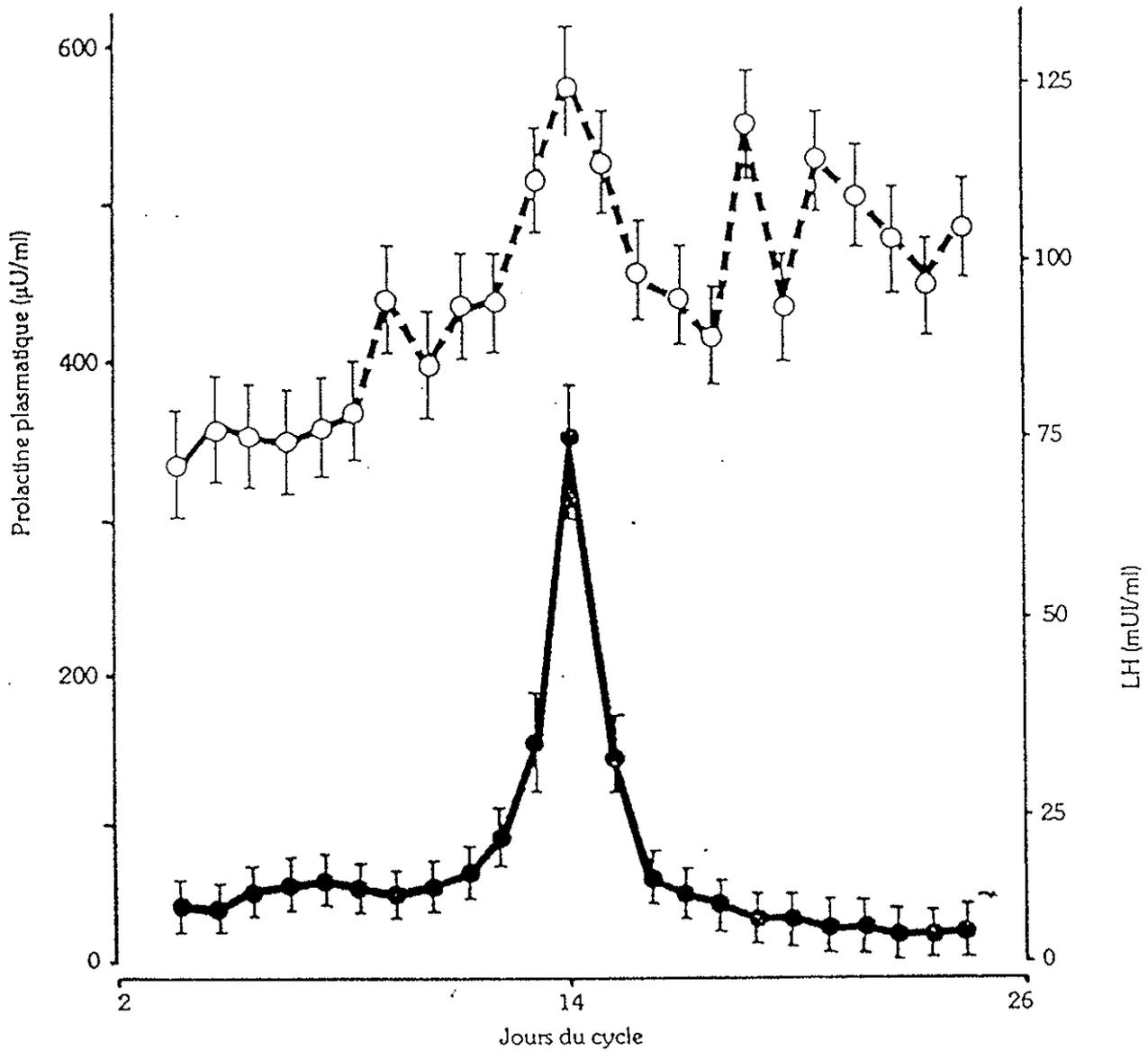


Figure 6 : Evolution de la concentration de prolactine ( o ) au cours du cycle menstruel :

(VEKEMANS et coll 1977).

## **2- Action et rôle de la prolactine :**

Le mode d'action de la prolactine n'est pas connu, mais cette hormone ne semble pas agir par l'intermédiaire de l'AMP cyclique, elle agirait directement au niveau du noyau où elle stimule la synthèse des ARN.

Une partie de son rôle est de développer les seins et de favoriser la lactation. Les taux sériques de base sont accrus pendant la grossesse et durant les 6 à 12 semaines qui suivent l'accouchement. Cependant, cette hormone n'a pas de rôle bien connu chez l'homme, et, chez les femmes non enceintes, excepté dans le cas d'hyperprolactinémie où l'excès de prolactine entraîne un blocage de l'activité des gonadotrophines, se traduisant par une aménorrhée chez la femme et une impuissance chez l'homme, avec parfois une gynécomastie.

### **2-1- Action sur la glande mammaire :**

Le développement mammaire amorcé à la puberté avec la prolifération des canaux galactophores, n'atteint son plein développement qu'en période de gravidité et de lactation ; il dépend de l'action synergique de nombreuses hormones parmi lesquelles les plus importantes sont les stéroïdes sexuels : les estrogènes qui déterminent le développement du système canaliculaire en synergie avec la progestérone entraînant le développement de l'appareil lobulo-alvéolaire (LINQUETTE et coll 1973) ; les hormones lactogènes hypophysaires et placentaires auxquelles s'associent des hormones corticosurréaliennes (glucocorticoïdes), pancréatiques (insuline), thyroïdiennes ( $T_3$ ,  $T_4$ ), hypophysaires (hGH) ou des facteurs de croissance (IGF-I), selon des modalités variables en fonction des espèces (DUPOUY et coll 1992).

La prolactine agit sur la glande mammaire et joue un rôle essentiel dans l'initiation de la lactation. Cependant, l'action lactogène de la prolactine est modulée par d'autres hormones. Ainsi, au cours de la grossesse, l'absence de lactation malgré des taux élevés de prolactine serait secondaire à l'action des estrogènes et de la progestérone (KLEINBERG et coll, 1982). Celle-ci comporte deux processus distincts, d'une part l'élaboration des constituants du lait par les cellules acineuses, puis leur sécrétion dans la lumière des acini, d'autre part l'éjection du lait.

La prolactine joue un rôle important dans le premier processus, l'ocytocine dans le second. Au niveau mammaire, la prolactine provoque la sécrétion de deux enzymes, clés de la fabrication du lait : la lactose synthétase et l'alpha lactalbuminase qui participent à la synthèse des constituants du lait (caséine,  $\alpha$  lactalbumine,  $\beta$  lactoglobuline, lactose, ... ) ceci après accumulation et traduction des ARN messagers correspondants (DUPOUY et coll 1992).

La prolactine provoque aussi la production de lipoprotéine-lipase permettant d'utiliser les triglycérides des chylomicrons, et, stimule la synthèse de lactose, de phospholipides et d'acides gras, particulièrement ceux à chaînes courtes, importants pour le lait. L'action de la prolactine est facilitée par diverses hormones ou facteurs de croissance (glucocorticoïdes, thyroxine, insuline, IGF-I) mais antagonisée par d'autres (progestérone). La prolactine agit via des récepteurs membranaires des cellules acineuses ; toutefois, les mécanismes impliqués dans la transduction ne sont toujours pas clairement définis. La synthèse des protéines du lait, induite par la prolactine, est associée à une élévation des taux de GMP cyclique, qui stimule une protéine kinase induisant et accélérant la synthèse de la caséine (DUPOUY et coll 1992).

Le temps de la galactopoïèse nécessite une excitation du mamelon par succion ou manipulation. C'est un réflexe qui par voie centripète, jusqu'à l'hypothalamus déclenche une réponse hormonale entraînant une levée de l'inhibition avec sécrétion de prolactine, sécrétion d'ocytocine, puis contraction des cellules myoépithéliales des alvéoles mammaires, ce qui détermine l'éjection du lait (LINQUETTE et coll 1973).

## **2-2- Actions générales :**

### 2-2-1- Sur la fonction de reproduction :

#### 2-2-1-1- Prolactine et fonction ovarienne : (CARON et coll 1991).

La prolactine agit sur la fonction de reproduction chez la femme par une action centrale et par une action directe sur l'ovaire.

Pour des concentrations physiologiques, il n'existe actuellement aucun argument en faveur d'un rôle quelconque de la prolactine sur l'hypothalamus ou l'hypophyse. Par contre, au cours des hyperprolactinémies, il existe une diminution ou une inhibition de la sécrétion pulsatile de GnRH entraînant un hypogonadisme hypogonadotrophinique.

#### a- Prolactine et maturation folliculaire :

Des récepteurs à la prolactine ont été mis en évidence sur les cellules de la granulosa (DUNAIF et coll 1982, FOSSATI et coll 1984). Leur synthèse est stimulée par la LH et leur nombre augmente au cours de la maturation folliculaire. La concentration de prolactine dans le liquide folliculaire augmente au cours de la maturation folliculaire et diminue juste avant l'ovulation.

La prolactine présente dans le liquide folliculaire semble jouer un rôle dans la maturation folliculaire. Elle inhibe la production d'estradiol en régulant l'activité de l'aromatase, stimulée par la FSH (DORRINGTON et coll 1982). Ainsi, une concentration physiologique de prolactine est nécessaire pour une maturation folliculaire normale.

Au cours des hyperprolactinémies, les concentrations élevées de prolactine dans le liquide folliculaire inhiberaient la synthèse des estrogènes et perturberaient la maturation folliculaire (LEROY-MARTIN et coll 1989).

#### b- Prolactine et maturation ovocytaire :

Les études *in vivo* et *in vitro* suggèrent un rôle physiologique de la prolactine dans le processus de maturation ovocytaire (CARON et coll 1991).

Au cours des hyperprolactinémies, cette hormone stimulerait la sécrétion d'un inhibiteur de la maturation ovocytaire par les cellules de la granulosa (CHANNING et coll 1982).

#### c- Prolactine et corps jaune :

En 1977, MAC NATTY a démontré *in vitro* que la sécrétion de progestérone par les cellules de la granulosa était dépendante des concentrations de prolactine du milieu.

L'individualisation de récepteurs à la prolactine sur les cellules de la granulosa, dont l'affinité varie au cours du cycle menstruel avec un maximum en phase lutéale, suggère que la prolactine participe à la formation du corps jaune :

- la prolactine maintient le taux des récepteurs à la LH et aux estrogènes au niveau ovarien (CASPER et coll 1981).

- la prolactine stimule la production de progestérone en augmentant la synthèse des récepteurs à HDL (RAJKUMAR et coll 1985), et, en stimulant l'activité de la cholestérol-estérase et de la 3 bêta-ol deshydrogénase (JONES et coll 1983).

- la prolactine diminue le catabolisme de la progestérone en inhibant l'activité de la 20 alpha-hydroxystéroïde deshydrogénase (JONES et coll 1981).

Ainsi, à concentrations physiologiques, la prolactine semble indispensable à la production adéquate de progestérone.

Pendant les hyperprolactinémies, l'excès de prolactine a un rôle lutéolytique en stimulant le catabolisme de la progestérone et en diminuant le nombre de récepteurs à LH sur les cellules de la granulosa (OTA et coll 1985).

## 2-2-1-2- Prolactine et fonction testiculaire :

### a- Prolactine et stéroïdogénèse :

Des études récentes ont mis en évidence la présence de récepteurs à prolactine sur les cellules de Leydig humaines (LEROY-MARTIN et coll 1989).

La prolactine module le nombre de récepteurs à LH et augmente la sensibilité du testicule à l'action des gonadotrophines (FOSSATI et coll 1984). Au cours des hyperprolactinémies, il existe ainsi une augmentation du nombre des récepteurs à LH.

La prolactine pourrait également moduler l'activité des enzymes, intervenant dans la synthèse des androgènes (PAPADOPOULOS et coll 1986, WELSH et coll 1986).

Cependant, au cours des hyperprolactinémies, les variations de la testostéronémie circulante peuvent refléter également les modifications du métabolisme périphérique de la testostérone.

En effet, il existe :

- une diminution de la capacité de fixation de la TeBG avec une augmentation du pourcentage de la fraction libre de testostérone (VERMEULEN et coll 1982).
- une diminution de la 5 alpha-réductase responsable d'une diminution de l'activité aromatasase (MARTIKAINEN et coll 1983).

#### b- Prolactine et spermatogénèse :

La prolactine présente dans le liquide séminal provient en partie du compartiment plasmatique, mais également d'une synthèse ou d'un passage "actif" du sang vers le liquide séminal (SCHOENFELD et coll 1979).

Cependant, le rôle de la prolactine dans la spermatogénèse reste à préciser : la prolactine peut se lier à la membrane des spermatozoïdes humains (DATTATREYAMURTY et coll 1977) et exercerait une action sur les activités métaboliques du spermatozoïde humain (oxydation du glucose, activité maltase, utilisation du fructose et de la production d'AMP cyclique).

A l'état physiologique, la prolactine pourrait jouer un rôle adjuvant sur la spermatogénèse et donc sur le pouvoir fécondant du sperme. Il n'y a cependant pas de lien établi entre la concentration séminale de prolactine et le pouvoir fécondant du sperme (LEROY-MARTIN et coll 1989).

Enfin, des récepteurs à la prolactine ont été mis en évidence au niveau prostatique (LEAKE et coll 1983). La prolactine semble jouer un rôle trophique sur la prostate et les vésicules séminales, probablement en synergie avec les androgènes.

### 2-2-2- Sur la fonction surrénalienne :

Il existe des récepteurs surrénaliens à la prolactine, en particulier chez le fœtus humain (NICOLL 1974).

Au cours des hyperprolactinémies, une augmentation des concentrations plasmatiques du sulfate de déhydroépiandrostérone (DHA) et de corticostérone a été rapportée (DEWAILLY et coll 1985). Les variations du sulfate de DHA pendant une hyperprolactinémie, seraient dues à l'augmentation de l'activité de la C 17-20 desmolase et peut-être de la 3 bêta-ol deshydrogénase (SCHIEBINGER et coll 1986).

### 2-2-3- Sur le métabolisme hydroélectrolytique :

La prolactine intervient dans l'osmorégulation de nombreuses espèces animales, en particulier aviaires. Cependant, les extrapolations de ces données à l'homme doivent être envisagées avec beaucoup de réserve.

Chez l'homme adulte la prolactine pourrait avoir un rôle antidiurétique (BUCKMAN et coll 1973, HORROBIN et coll 1971). PULLANO (1989) donne à la prolactine foetale un rôle important dans le maintien de l'équilibre osmotique pendant la grossesse et en période néonatale. Son action antidiurétique est également évoquée.

### 2-2-4- Sur le métabolisme glucidique :

Chez l'homme, deux situations évoquent des liens entre la prolactine et la glycorégulation :

1°)- une intolérance aux hydrates de carbone est fréquemment retrouvée chez les patients prédisposés ayant une hyperprolactinémie. La correction de cette dernière normalise leur équilibre glycémique (FOSSATI et coll 1977).

2°)- pendant le troisième trimestre de la grossesse, on observe un état d'insulinorésistance, alors que la prolactine non glycosylée augmente (MARKOFF 1988). Cet état

d'hyperinsulinisme est proche de celui observé chez des femmes hyperprolactinémiques (GUSTAFSON et coll 1980).

#### 2-2-5- Sur le métabolisme phosphocalcique :

La diminution de la densité osseuse lombaire, constatée chez les sujets hyperprolactinémiques, serait due à une action directe de la prolactine sur l'os, puisque sans corrélation avec les taux d'estrogènes circulants et corrigée par la normalisation des taux de prolactine (KLIBANSKI et coll 1986, SCHLECHTE et coll 1983). Pour CICCARELLI (1988), l'ostéopénie serait secondaire à l'hypogonadisme induit.

La 1, 25-dihydroxyvitamine D<sub>3</sub> et la calcitonine, qui jouent un rôle majeur dans le métabolisme phosphocalcique, pourraient intervenir dans la sécrétion et la libération de prolactine. Chez des sujets volontaires sains, et à des doses pharmacologiques, la vitamine D augmenterait la prolactinémie, alors que la calcitonine l'inhiberait (ZOFKOVA et coll 1988).

#### **2-3- Prolactine et système immunitaire :**

Des relations entre prolactine et système immunitaire ont été évoquées dès 1930 par SMITH.

On constate par ailleurs :

- qu'il existe des récepteurs lymphocytaires spécifiques à la prolactine. Leur stimulation induit, par activation de la protéine kinase C, le système ornithine décarboxylase intervenant dans la croissance et la différenciation cellulaires.

- que les anticorps antiprolactine inhibent, in vitro, la prolifération lymphocytaire humaine. Ces anticorps semblent pouvoir produire une protéine PRL-like, ayant une homologie avec la prolactine hypophysaire (MONTGOMERY et coll 1987).

- que la ciclosporine inhibe de façon compétitive la fixation de la prolactine sur son récepteur cellulaire (RUSSEL et coll 1985). L'association ciclosporine-bromocriptine a été testée chez l'animal avec succès dans la prévention de l'uvéite auto-immune et du rejet d'organes (WILNER et coll 1990). Cependant les essais cliniques sont restés décevants chez l'homme.

### 3- Régulation :

La sécrétion de prolactine est régulée par de multiples facteurs qui interagissent entre eux. Les principaux sont d'origine hypothalamique comme la dopamine (facteur inhibiteur essentiel) et la TRH (facteur stimulant essentiel).

La libération de prolactine est ainsi régulée par des facteurs hypothalamiques, par des hormones périphériques et par sa propre autorégulation.

#### 3-1- Contrôle hypothalamique :

Liste des neurotransmetteurs et des polypeptides hypothalamiques modifiant la sécrétion de prolactine :

##### Facteurs inhibiteurs

Dopamine  
Noradrénaline  
PIF  
GABA ?  
Acétylcholine

##### Facteurs stimulants

TRH  
PRF  
Sérotonine  
Histamine  
Enképhalines  
Béta-endorphines  
Substance P  
Neurotensine  
VIP (vasointestinal peptide).

(ref : MAUVAIS-JARVIS et coll 1982 : Les hormones gonadotropes de l'hypophyse humaine).

La prolactine subit un contrôle hypothalamique essentiellement inhibiteur.

### 3-1-1- Les facteurs inhibiteurs de la sécrétion de prolactine :

(PIF : Prolactin Inhibiting Factors).

MAC LEOD (1970) a démontré *in vitro* l'effet inhibiteur direct des cathécolamines, dont la dopamine, qui à doses minimes entraînent une diminution de 85% de la sécrétion de prolactine.

Les monoamines tubéro-infundibulaires ont un rôle important dans l'inhibition de la sécrétion prolactinique.

#### 3-1-1-1- Le contrôle dopaminergique :

La déconnexion entre l'hypothalamus et l'hypophyse par des lésions hypothalamiques, la section de la tige pituitaire, la transplantation de l'hypophyse ou des incubations *in vitro*, entraînent une augmentation de la sécrétion de prolactine en même temps qu'une baisse de la sécrétion des autres hormones hypophysaires. L'existence d'un facteur hypothalamique capable d'inhiber la sécrétion de prolactine, facteur appelé PIF a ainsi été envisagée et il est admis aujourd'hui que le PIF appartient à la famille des cathécolamines.

Les cathécolamines sont des neurotransmetteurs types, du fait de leur présence dans les terminaisons nerveuses, leur libération dans la fente synaptique et leur action sur des récepteurs post-synaptiques. Le fait que la dopamine soit en concentration élevée dans l'hypothalamus médiobasal a très tôt suggéré qu'elle pouvait jouer une fonction neuroendocrinienne importante. En effet, on sait depuis déjà longtemps, par des études pharmacologiques, que des modifications des contenus en dopamine hypothalamique entraînaient des changements de sécrétion de la prolactine.

Dans la fin des années 70, la dopamine était finalement acceptée comme PIF sur la base de différentes observations : la dopamine est en concentration élevée dans le sang du système porte hypophysaire (BEN-JONATHAN et coll 1977, GIBBS et coll 1978), il existe des

récepteurs de la dopamine dans l'hypophyse antérieure (CREESE et coll 1977, CARON et coll 1978) et la dopamine est capable d'inhiber *in vitro* la sécrétion de prolactine (MAC LEOD et coll 1970, SHAAR et coll 1974). Cependant, bien que le rôle majeur de la dopamine en tant qu'inhibiteur physiologique de la sécrétion de prolactine ne soit plus mis en cause, la dopamine n'est ni le seul régulateur de la sécrétion de prolactine ni le seul PIF.

La dopamine du système nerveux central peut atteindre l'hypophyse antérieure via 3 voies neuroniques :

- la voie incertohypothalamique : bien que probable, une fonction neuroendocrinienne des neurones de cette voie n'a pas encore été démontrée.
- la voie dopaminergique tubéro-infundibulaire (TIDA).
- la voie dopaminergique tubéro-hypophysaire (THDA).

(BJORKLUND et coll 1973, MOORE et coll 1978).

Ces deux dernières voies sont largement impliquées dans la régulation de la libération de la prolactine.

Les corps cellulaires des neurones TIDA sont situés dans les noyaux arqué et périventriculaire, et projettent leur terminaisons nerveuses dans l'éminence médiane, la région la plus riche en dopamine, à proximité des anses capillaires du plexus primaire (AJIKA et coll 1975). La dopamine libérée par ces terminaisons est transportée à l'antéhypophyse par le sang des vaisseaux porte longs.

Les corps cellulaires des neurones THDA sont situés dans les noyaux rostraux arqué et périventriculaire, et leurs terminaisons dans le lobe neural et le lobe intermédiaire de la post-hypophyse (SAAVEDRA et coll 1985). La dopamine libérée peut rejoindre le lobe antérieur par les vaisseaux porte courts.

Les estrogènes sont capables de moduler l'action de la dopamine sur les cellules à prolactine. Ces stéroïdes gonadiques diminuent en effet le nombre de récepteurs

dopaminergiques présents à la surface des cellules hypophysaires, réduisant ainsi la sensibilité des cellules lactotropes à la dopamine et augmentant en conséquence la prolactinémie.

L'administration intracérébroventriculaire de prolactine à un rat, augmente la sécrétion de dopamine dans le sang portal ce qui témoigne de l'existence probable d'une boucle de feedback négatif court, par laquelle la sécrétion hypophysaire de prolactine peut être contrôlée (DUPOUY et coll 1992).

Il existe trois types de récepteurs dopaminergiques ( $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$ ) mais seul le type  $D_2$  est présent dans l'antéhypophyse (CALABRO et coll 1978, BRESSION et coll 1980, BRESSION et coll 1983).

Les mécanismes par lesquels la dopamine inhibe la sécrétion de prolactine sont multiples. La mise en jeu des récepteurs dopaminergiques ferme progressivement les canaux calciques et freine ainsi l'exocytose des granules contenant l'hormone (ISRAEL et coll 1985). Ces récepteurs  $D_2$  sont essentiellement localisés sur les cellules lactotropes (GOLDSMITH et coll 1979).

Les caractéristiques des récepteurs dopaminergiques de la cellule à prolactine expliquent la réponse hormonale à la bromocriptine (agoniste structurel de la dopamine) mais aussi à tous les neuroleptiques, qui sont des antagonistes du médiateur. Ces substances agissent donc par une action directe sur la cellule à prolactine et non par un effet sur les neurones dopaminergiques de l'hypothalamus comme le font la réserpine, la L-dopa ou l' $\alpha$ -méthyldopa (MAUVAIS-JARVIS et coll 1982).

La dopamine semble avoir un double rôle dans le contrôle de la sécrétion de prolactine :

- elle exerce une répression tonique sur la production de l'hormone.
- elle intervient dans les phénomènes de rétroaction de l'hormone sur sa propre sécrétion. En effet la prolactine stimule spécifiquement la vitesse de renouvellement de la dopamine tubéro-infundibulaire qui freine la production de l'hormone hypophysaire.

### 3-1-1-2- Le contrôle GABAergique :

L'hypophyse possède des récepteurs au GABA (acide gamma hydroxybutyrique). (GRANDISON et coll 1979). Cet acide inhibe la sécrétion de prolactine par action hypophysaire directe et spécifique, et, se comporte donc comme un PIF complémentaire (ENJALBERT et coll 1979). La présence de GABA dans le sang porte hypophysaire est liée à l'existence d'un système neuronique GABAergique tubéro-infundibulaire, avec des corps cellulaires dans le noyau arqué et d'autres noyaux hypothalamiques.

Une dualité d'action du GABA a été signalée : on note que l'action stimulatrice centrale du GABA sur la libération de prolactine pourrait être secondairement liée à l'inhibition du système dopaminergique tubéro-infundibulaire (LOCATELLI et coll 1979, FUCHS et coll 1984).

### 3-1-1-3- Le contrôle peptidergique :

- Le GAP, peptide constitué de 56 acides aminés provenant de la partie C terminale du précurseur du GnRH, inhibe *in vitro* la sécrétion de prolactine par des cellules hypophysaires en culture, c'est ainsi que l'on observe une diminution de 50% de la sécrétion de prolactine et en même temps une stimulation des sécrétions de LH et FSH. L'immunisation de lapins contre le proGAP augmente les taux circulants de prolactine (NIKOLICS et coll 1985) et le GAP est cosécrété avec le GnRH dans le sang porte hypophysaire (CLARKE et coll 1987). *In vivo*, l'administration parentérale de GAP synthétique chez le rat n'abaisse cependant pas les taux de prolactine plasmatique (SCHALLY et coll 1986). Un anticorps antiGAP administré à des rates lactantes n'augmente pas la prolactine et il n'y a pas de relation entre les profils de sécrétion de LH et les pulses de prolactine (POHL et coll 1988). Ce peptide, ou un de ses fragments éventuellement issu de son clivage protéolytique, semble jouer un rôle physiologique de type PIF, mais ce n'est pas encore prouvé.

- Les neurones à  $\alpha$ -MSH du cerveau, avec leurs terminaisons dans l'éminence médiane, paraissent exercer, via le système dopaminergique, un effet inhibiteur tonique sur la sécrétion

de prolactine. Celle-ci est en effet augmentée après administration d'un immunsérum anti alpha-MSH dans le troisième ventricule. Par ailleurs, l' $\alpha$ -MSH endogène pourrait ramener la prolactinémie à sa valeur basale après une éphémère augmentation induite par différents types de stress (DUPOUY et coll 1992).

- Le facteur natriurétique atrial, en administration centrale, inhibe également la sécrétion de prolactine via une stimulation de la libération de dopamine dans la circulation portale (DUPOUY et coll 1992).

### 3-1-2- Les facteurs stimulants de la sécrétion de prolactine :

(PRF : Prolactin Releasing Factors).

S'il est admis que la prolactine est sous un contrôle inhibiteur dopaminergique tonique, les mécanismes responsables des augmentations de la prolactine comme celles induites par le stress, la succion ou les estrogènes, ne sont pas encore bien compris. Ils peuvent impliquer aussi bien une diminution du contrôle inhibiteur, une stimulation du contrôle stimulant ou les deux. Plusieurs substances sont capables de stimuler la sécrétion de prolactine, tels la TRH, le peptide intestinal vasoactif (VIP), l'ocytocine, l'angiotensine II, mais aucune ne peut être reconnue comme étant le facteur de libération de la prolactine physiologique.

#### 3-1-2-1- La thyrolibérine (TRH) :

C'est un tripeptide, avec une amide C-terminale et un résidu pyro-glu en position N-terminale. La préproTRH est constituée de 255 acides aminés et contient 5 copies de la TRH (LECHAN et coll 1986). La TRH stimule, *in vivo* comme *in vitro*, la sécrétion de prolactine. La membrane de la cellule à prolactine possède des récepteurs vis-à-vis du tripeptide qui peut être internalisé dans un deuxième temps et se fixer sur le noyau. Une certaine corrélation a été observée entre la fixation du tripeptide sur des sites nucléaires et la stimulation de la biosynthèse de la prolactine, ce qui suggère qu'il est capable d'agir sur des mécanismes transcriptionnels ou transductionnels (MAUVAIS-JARVIS et coll 1982).

Les hormones thyroïdiennes influencent la réponse des cellules lactotropes à la TRH ; celle-ci est affaiblie par l'hyperthyroïdisme et augmentée par l'hypothyroïdisme, en raison d'un effet inhibiteur de la T<sub>3</sub> sur la transcription du gène de la prolactine. D'ailleurs, la galactorrhée pathologique, qui accompagne certains cas d'hypothyroïdisme, peut être corrigée par administration d'hormones thyroïdiennes. Néanmoins, ces hormones paraissent inhiber les neurones du système TIDA puisque, chez le rat thyroïdectomisé, la concentration de dopamine s'élève dans la circulation portale et l'adénohypophyse tandis que la prolactinémie diminue ; ces effets sont abolis par la thyroxine. L'action des hormones thyroïdiennes sur la sécrétion de prolactine est donc à la fois complexe et ambiguë, dans la mesure où ces hormones réduisent la libération de dopamine et de TRH hypothalamique dont les effets directs sur la fonction prolactinique sont opposés (DUPOUY et coll 1992).

Au niveau des cellules à prolactine, la TRH favorise l'apparition de plateaux de dépolarisation à composante calcique et accroît leur teneur en ARNm de la prolactine par augmentation de la transcription du gène de l'hormone et de la demi-vie de ces ARN. Ces actions génomiques de la TRH vont de pair avec une augmentation, rapide mais transitoire, de la translocation membranaire de la protéine-kinase C et de la phosphorylation d'une protéine de 80 kDa. La durée et l'amplitude de cette action de la TRH sont accrues par la suppression préalable de la dopamine. L'élévation de la conductance calcique et de la concentration intracellulaire en Ca<sup>++</sup> qui en dérive, est impliquée dans la stimulation de sécrétion de prolactine induite par la TRH. La présence d'estradiol favorise la réponse des cellules lactotropes à la TRH par augmentation du nombre de récepteurs à cette neurohormone hypothalamique et par accroissement de la transcription du gène de la prolactine, *in vivo* comme *in vitro*. Ces effets des estrogènes peuvent rendre compte, en partie, d'une réponse prolactinique à l'injection de TRH, bien plus grande chez les femmes que chez les hommes (RACKOFF et coll 1973).

La stimulation de la prolactine par la TRH est biphasique : la première phase est rapide et importante alors que la seconde est plus longue et d'amplitude plus faible. La première phase

concerne la libération de la prolactine stockée et est associée à l'hydrolyse rapide du phosphatidyl inositol (AIZAWA et coll 1985), ce qui entraîne une augmentation du calcium intracellulaire (GERSHENGORN et coll 1985). Cette phase est indépendante du calcium extracellulaire (MARTIN T.F.J. et coll 1984). La seconde phase concerne la libération de prolactine nouvellement synthétisée (AIZAWA et coll 1985) et est dépendante du calcium extracellulaire (GERSHENGORN et coll 1985). Seules de fortes concentrations de dopamine peuvent contrecarrer la stimulation de prolactine induite par la TRH (FAGIN et coll 1981) cependant que le retrait transitoire de la dopamine potentialise l'effet de la TRH sur la sécrétion de prolactine *in vitro* (MARTINEZ-ESCALERA et coll 1988). La TRH stimule non seulement la libération de prolactine mais également la transcription de son gène. Le calcium seul n'a pas d'effet sur la transcription du gène PRL.

En dehors de son origine hypothalamique, la TRH pourrait avoir une origine hypophysaire. En effet, il a été démontré que des cellules hypophysaires humaines étaient capables de sécréter *in vitro* de fortes quantités de TRH (LE DAFNIET et coll 1988), quantités excédant largement le contenu intratissulaire initial (LE DAFNIET et coll 1989). De plus, cette sécrétion est stimulable par la dopamine ou la somatostatine (LE DAFNIET et coll 1988).

### 3-1-2-2- Le VIP (peptide intestinal vasoactif) :

C'est un peptide de 28 acides aminés, isolé à partir d'extraits de duodénum. Il est présent dans le cerveau et certains neurones périphériques. Dans le cerveau, les concentrations les plus importantes se trouvent dans le cortex, l'amygdale ainsi que dans plusieurs noyaux hypothalamiques tels les noyaux paraventriculaire et suprachiasmatique. Il est aussi présent dans l'éminence médiane mais en faible concentration (SAMSON et coll 1979). Le VIP a également été identifié dans l'antéhypophyse (MOREL et coll 1982). Il est en concentration plus élevée dans le sang porte hypophysaire que dans la circulation générale (SAID et coll 1979).

Le VIP est l'un des peptides les plus puissants quant à l'effet sécrétagogue direct sur les cellules à prolactine. Les cellules lactotropes en contiennent. Il se lie à des récepteurs spécifiques de l'antéhypophyse, stimule l'adénylate cyclase et augmente la transcription du gène de la prolactine ainsi que la sécrétion hormonale. Le VIP hypophysaire doit participer au contrôle autocrine/paracrine de la sécrétion de prolactine ; cet effet stimulant est vraisemblablement amplifié par les estrogènes puisque ces stéroïdes ovariens augmentent l'expression du gène du VIP dans l'hypophyse et aussi, semble-t-il, dans l'hypothalamus. Le VIP endogène est impliqué dans l'élévation de la prolactinémie qui accompagne, chez la rate, la tétée (ABE et coll 1985).

Le contenu en VIP de l'hypophyse augmente en situation d'hypothyroïdisme tandis que celui de la prolactine diminue, suggérant un rôle local du VIP dans la stimulation de la prolactine (LAM et coll 1989).

#### 3-1-2-3- Le PHM (Peptide Histidine Méthionine) :

C'est un peptide de 27 acides aminés, homologue du VIP, présent dans des terminaisons nerveuses de l'éminence médiane. Le VIP et le PHM ont un précurseur commun, le préproVIP. Les peptides PHM-like sont de puissants stimulants de la sécrétion de prolactine, qui paraissent impliqués, tout comme le VIP endogène, dans la sécrétion induite par la sérotonine (DUPOUY et coll 1992).

#### 3-1-2-4- L'ocytocine :

Elle est produite dans les corps cellulaires du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus. La plupart de ces neurones projettent directement dans le lobe neural, mais certaines terminaisons ont été identifiées dans la couche externe de l'éminence médiane. Le précurseur de l'ocytocine comprend 145 acides aminés. Sa maturation a lieu au cours du transport axonal et les produits obtenus sont, d'une part, l'ocytocine qui contient 9 acides aminés, et, d'autre part, sa protéine de transport, la neurophysine (GAINER et coll 1977). La concentration d'ocytocine est plus importante dans le sang porte que dans le sang artériel. Des récepteurs spécifiques de l'ocytocine ont été identifiés dans l'antéhypophyse et l'ocytocine

immunoréactive localisée au niveau des cellules lactotropes. L'injection d'ocytocine à des rats mâles ou à des femelles ovariectomisées augmente de 5 à 6 fois la prolactine plasmatique (HYDE et coll 1989) alors qu'une injection intraventriculaire inhibe la sécrétion de prolactine (LUMPKIN et coll 1983).

### 3-1-2-5- Le système rénine-angiotensine :

L'angiotensine II est un octapeptide impliqué dans de nombreuses fonctions. Des neurones contenant de l'angiotensine II ont été localisés dans le noyau paraventriculaire avec projection dans l'éminence médiane. La post et l'antéhypophyse contiennent une concentration élevée de l'enzyme angiotensine convertase (SRITTMATER et coll 1986). Dans l'antéhypophyse, l'angiotensine II est localisée dans les cellules gonadotropes (DESCHEPPER et coll 1986), alors que les récepteurs angiotensine II sont situés sur les cellules lactotropes (AGUILERA et coll 1982). Cela suggère que l'angiotensine II pourrait exercer son effet dans l'antéhypophyse via un mode paracrine. En effet, un travail récent réalisé *in vivo* chez le rat démontre qu'une administration exogène de LH-RH à des rates ovariectomisées traitées par l'estradiol et la progestérone provoque la sortie de prolactine via une action paracrine de l'angiotensine II hypophysaire (STEELE et coll 1990).

Les effets de l'angiotensine II *in vivo* sur la prolactine sont controversés. L'injection intraventriculaire d'angiotensine II inhibe la sécrétion de prolactine (STEELE et coll 1982) alors que l'administration systémique provoque une élévation rapide et transitoire de la prolactine (STEELE et coll 1981). *In vitro*, l'angiotensine II est l'un des agents les plus puissants pour stimuler la prolactine (SCHRAMME et coll 1983).

### 3-1-3- Autres neuropeptides et neurotransmetteurs :

#### 3-1-3-1- La sérotonine :

Elle est impliquée dans la régulation de la prolactine. Des injections de sérotonine stimulent la sécrétion de prolactine (LAWSON et coll 1978). La sécrétion basale de prolactine ne dépend pas de la sérotonine. En effet, lorsque la voie sérotoninergique ascendante, qui

innervent l'hypothalamus, est sectionnée, les taux de prolactine n'augmentent pas (DUNN et coll 1980). En revanche, le rôle de la sérotonine dans la stimulation de la prolactine en réponse aux estrogènes (CALIGARIS et coll 1974) ou à la succion est bien reconnu (KORDON et coll 1973).

La sérotonine n'a pas d'effet direct sur la sécrétion de prolactine *in vitro* (BIRGE et coll 1970). Il est donc admis qu'elle agit sur l'hypophyse via le cerveau, soit en inhibant les neurones TIDA, soit en stimulant la libération de PRF. L'injection intraventriculaire de sérotonine diminue la libération de dopamine, mais des taux périphériques élevés de dopamine n'empêchent pas la sérotonine de stimuler la prolactine (PILOTTE et coll 1981). En revanche, la sérotonine augmente les taux de VIP dans le sang porte (SHIMATSU et coll 1982) et une immunisation passive avec anti-VIP inhibe significativement l'augmentation de prolactine induite par la sérotonine (KAJI et coll 1985). Cela suggère que la sérotonine agit davantage en stimulant un PRF qu'en inhibant un PIF.

### 3-1-3-2- Les opioïdes :

Ils n'ont pas d'effets directs sur l'antéhypophyse, cependant *in vivo*, ils peuvent stimuler la libération de prolactine (DUPONT et coll 1977). En effet, une injection intracarotidienne, chez une rate ovariectomisée, de béta-endorphine stimule la prolactine, effet antagonisé par la naloxone. Un anticorps anti-béta-endorphine abaisse les taux de prolactine basale stimulée par le stress, et la naloxone diminue l'augmentation de prolactine induite par le stress (GRANDISON et coll 1977), la succion (FERLAND et coll 1978) ou les estrogènes (IEIRI et coll 1980). Un des mécanismes par lequel la béta-endorphine pourrait stimuler la prolactine serait par l'intermédiaire d'une inhibition de l'activité des neurones TIDA (HASKINS et coll 1981).

Par ailleurs, les neurones à sérotonine et à  $\beta$ -endorphine paraissent impliqués dans l'augmentation rapide de la prolactinémie induite par la tétée chez les animaux en lactation, ou par divers types de stress. La présence dans l'hypothalamus du précurseur potentiel de la  $\beta$ -endorphine et de l' $\alpha$ -MSH, peut permettre d'envisager que l' $\alpha$ -MSH limite dans le temps et/ou

dans son intensité, la sécrétion de prolactine induite par la mobilisation de la  $\beta$ -endorphine et d'autres neuropeptides ou neuromédiateurs en période de stress (DUPOUY et coll 1992).

### 3-1-3-3- Autres substances :

Beaucoup d'autres substances peuvent réguler la sécrétion de la prolactine, que ce soit par une stimulation, telles la cholécystokinine, la bombésine, la galanine, la substance P, la vasotocine, la vasopressine, la mélatonine ou l'histamine, ou que ce soit par une inhibition, telles la gastrine, la neurotensine, la bradikinine, la MSH ou l'acétylcholine.

### **3-2- Autorégulation de la sécrétion de prolactine :**

A l'inverse de la plupart des hormones de l'antéhypophyse, la prolactine a de multiples organes cibles, tels la glande mammaire, le foie, les surrénales, les gonades, ainsi elle n'a pas un facteur unique pouvant assurer le contrôle de sa sécrétion. Cependant, la prolactine assure elle-même le rétrocontrôle de sa sécrétion. L'existence de cette autorégulation remonte à 1967 quand CHEN a démontré que des implants de prolactine dans l'hypothalamus médiobasal diminuaient le contenu en prolactine hypophysaire et supprimaient la libération endogène de prolactine (VOOGT et coll 1971) ainsi que la lactation. Une des voies par laquelle la prolactine pourrait agir au niveau de l'hypothalamus serait par transport rétrograde via les vaisseaux porte longs. Une autre serait par la circulation générale via un transport spécifique à travers la barrière hématoencéphalique. La prolactine est normalement présente dans le liquide céphalorachidien où ses taux reflètent les taux circulants (CLEMENS et coll 1974). Des récepteurs spécifiques de la prolactine sont présents dans l'éminence médiane et le plexus choroïde.

L'effet principal de la prolactine sur l'hypothalamus se situe au niveau des neurones TIDA. La prolactine exogène augmente la synthèse de dopamine (DEMAREST et coll 1981) et son turnover (MORGAN et coll 1980), alors que l'hypophysectomie a l'effet contraire (DEMAREST et coll 1985), suggérant ainsi que l'autorégulation de la libération de prolactine a

une signification physiologique. Le traitement aigu de l'hypothalamus médiobasal en périperfusion par la prolactine, stimule la libération de dopamine de façon dose-dépendante (FOREMAN et coll 1981). *In vivo*, l'hyperprolactinémie chronique est associée soit à une stimulation, soit à une diminution de la dopamine hypothalamique, sans qu'il y ait de raison claire à cette controverse.

Le feedback négatif de la prolactine sur les cellules lactotropes elles-mêmes est encore controversé, certains ayant démontré l'absence d'effet de la prolactine sur la libération et la synthèse de prolactine (VICIAN et coll 1982) alors que d'autres démontrent une diminution de la sécrétion de prolactine quand les cellules tumorales ou normales sont incubées avec de la prolactine exogène (KADOWAKI et coll 1984).

### **3-3- Contrôle par les hormones périphériques :**

#### **3-3-1- L'estradiol :**

Les taux plasmatiques de prolactine sont contrôlés par l'estradiol dans de nombreuses espèces, y compris chez l'homme. L'estradiol stimule la sécrétion (NEILL et coll 1971, SHIN et coll 1979), la synthèse (KAPLAN et coll 1976, MAURER et coll 1982), le stockage (KIINO et coll 1981) de prolactine et augmente la taille et le nombre des cellules lactotropes (MAURER et coll 1977, BOOCKFOR et coll 1986). En traitement prolongé et à des doses pharmacologiques, l'estradiol peut induire la formation d'adénomes à prolactine (WIKLUND et coll 1981).

Trois mécanismes au moins peuvent rendre compte des effets de l'estradiol sur la prolactine : un effet direct sur l'antéhypophyse, une modulation des hormones hypothalamiques inhibitrices et stimulantes, et, une interaction au niveau hypophysaire avec les facteurs qui régulent la sécrétion de prolactine.

L'antéhypophyse contient des sites de liaison spécifiques de l'estradiol, localisés dans les cellules lactotropes et gonadotropes (KEEFER et coll 1976). L'implantation d'estradiol dans l'antéhypophyse augmente la libération de prolactine (KANEMATSU et coll 1963). Lorsque des cellules hypophysaires sont incubées avec des doses physiologiques d'estradiol, les ARNm préprolactine augmentent, augmentation suivie par la sécrétion accrue de prolactine (STONE et coll 1977, VICIAN et coll 1979). l'estradiol s'oppose à l'effet inhibiteur de la dopamine sur la sécrétion basale de prolactine, ainsi que sur celle stimulée par la TRH, démontrant ainsi ses propriétés antidopaminergiques (RAYMOND et coll 1978, WEST et coll 1980).

L'estradiol exerce un effet sur le nombre de récepteurs de dopamine (BRESSION et coll 1985). En ce qui concerne les sites récepteurs dopamine, un traitement aigu par l'estradiol en diminue *in vitro* et *in vivo* le nombre sans en diminuer l'affinité pour la dopamine chez le rat femelle. Ces observations impliquent donc l'interaction de l'estradiol probablement avec un site récepteur membranaire. Un tel site a été, en effet, décrit dans l'antéhypophyse (BRESSION et coll 1986), déjà décrit dans d'autres tissus, tels que le foie ou l'utérus (SZEGO et coll 1984).

Les propriétés antidopaminergiques de l'estradiol au niveau de l'hypophyse ne mettent pas seulement en cause la régulation des récepteurs dopamine. L'estradiol peut également moduler le couplage du récepteur D<sub>2</sub> à l'adénylate cyclase. En effet, chez le rat mâle, un traitement chronique par l'estradiol diminue l'efficacité de couplage du récepteur dopamine à l'adénylate cyclase (MUNEMURA et coll 1989). D'autre part, parallèlement à ses propriétés antidopaminergiques, l'estradiol module également le contrôle exercé par la TRH sur la prolactine. La stimulation de la prolactine par la TRH est potentialisée lorsque les cellules antéhypophysaires sont incubées en présence d'estradiol, potentialisation médiée par un nombre accru de sites récepteurs TRH (GIGUERE et coll 1982).

De nombreuses observations indiquent que l'estradiol agit au niveau de l'hypothalamus par une interaction avec le système dopamine. Des récepteurs aux estrogènes ont été localisés avec la tyrosine hydroxylase (TH) dans certains neurones hypothalamiques (SAR 1984). Les modulations exercées par l'estradiol sur le turnover, le contenu hypothalamique et

hypophysaire de dopamine sont parfois complexes dans leur interprétation du fait des temps de traitement et des doses très variables d'estradiol utilisés. De plus, il est souvent difficile de séparer l'effet propre de l'estradiol de celui de la prolactine.

Ainsi, les mécanismes par lesquels l'estradiol intervient sont multiples et impliquent au niveau hypophysaire la régulation du gène prolactine et la modulation des contrôles exercés par les neurohormones hypothalamiques, et, au niveau hypothalamique, la modulation de la sécrétion de ces mêmes neurohormones.

### 3-3-2- La progestérone :

L'estradiol et la progestérone agissent fréquemment de façon intégrée. L'action de la progestérone dépend normalement d'une imprégnation préalable des tissus concernés par les estrogènes du fait de l'induction des récepteurs de la progestérone par l'estradiol.

Des récepteurs de la progestérone ont été identifiés dans le cerveau, en particulier dans l'hypothalamus (SCHENBORN et coll 1983) et dans l'hypophyse (MUNN et coll 1983). La progestérone peut exercer un effet inhibiteur ou stimulant sur les neurones TIDA. Un traitement aigu diminuerait l'activité de la tyrosine hydroxylase, alors qu'un traitement chronique la stimulerait (BABU et coll 1984). Dans une autre étude, il était démontré que la progestérone potentialisait l'effet de l'estradiol sur le turnover de la dopamine après 24 heures de traitement (PILOTTE et coll 1984). Au niveau hypophysaire, les récepteurs de la progestérone sont essentiellement présents dans les cellules gonadotropes, ce qui pourrait expliquer par exemple l'absence d'effet direct de la progestérone sur la sécrétion de prolactine à partir de cultures de cellules antéhypophysaires de singe (BETHEA et coll 1988). Cependant, il a été montré que la progestérone pouvait réguler *in vitro* et *in vivo* le nombre de récepteurs dopamine de l'hypophyse chez le rat. En effet, *in vitro*, la progestérone augmente le nombre de sites dopamine présents sur les membranes hypophysaires de rates ovariectomisées (BRESSON et coll 1985). Cet effet est inverse de celui de l'estradiol observé sur des membranes hypophysaires de rates non ovariectomisées.

Les effets de la progestérone sur la sécrétion de prolactine sont contradictoires. *In vivo*, l'injection de progestérone antagonise la stimulation de la sécrétion de prolactine induite par l'estradiol, de même que, *in vitro*, le traitement simultané de cellules tumorales hypophysaires animales par l'estradiol et la progestérone diminue de 80 % la synthèse de prolactine induite par l'estradiol seul (HAUG 1979). Sur des cellules antéhypophysaires normales, la progestérone diminue la stimulation de la prolactine induite par la TRH. Au cours de la gestation, chez la rate, malgré l'augmentation progressive des taux d'estrogènes dans le plasma, la prolactine circulante n'est augmentée que lorsque la progestérone baisse de façon importante. Le traitement par RU486, un antagoniste de la progestérone, augmente les taux de prolactine chez le rat (RAO et coll 1986). Enfin, dans un autre modèle où deux injections successives d'estradiol à 12 heures d'intervalle entraînent deux élévations de la prolactine dans le plasma, la deuxième élévation de prolactine est bloquée par une injection de progestérone une heure avant la deuxième injection d'estradiol (BRANN et coll 1988). D'autres observations iraient cependant dans le sens d'un effet stimulant de la progestérone sur la sécrétion de prolactine (WILLIAMS et coll 1985).

Cependant, tant les faits expérimentaux que certains faits cliniques sont davantage en faveur d'un contrôle négatif de la sécrétion de prolactine par la progestérone. De plus, l'équilibre estroprogestatif semble essentiel au maintien d'un taux de prolactine normal dans le plasma.

### 3-3-3- La testostérone :

S'il a été montré que, *in vivo*, la testostérone peut stimuler la sécrétion de prolactine, la dihydrotestostérone inhibe à l'inverse la libération de prolactine *in vitro* à partir de cultures de cellules hypophysaires. On peut donc se demander si l'effet de la testostérone *in vivo* n'est pas la conséquence de sa conversion en estrogènes au niveau de l'hypothalamus (JOUBERT-BRESSION 1991).

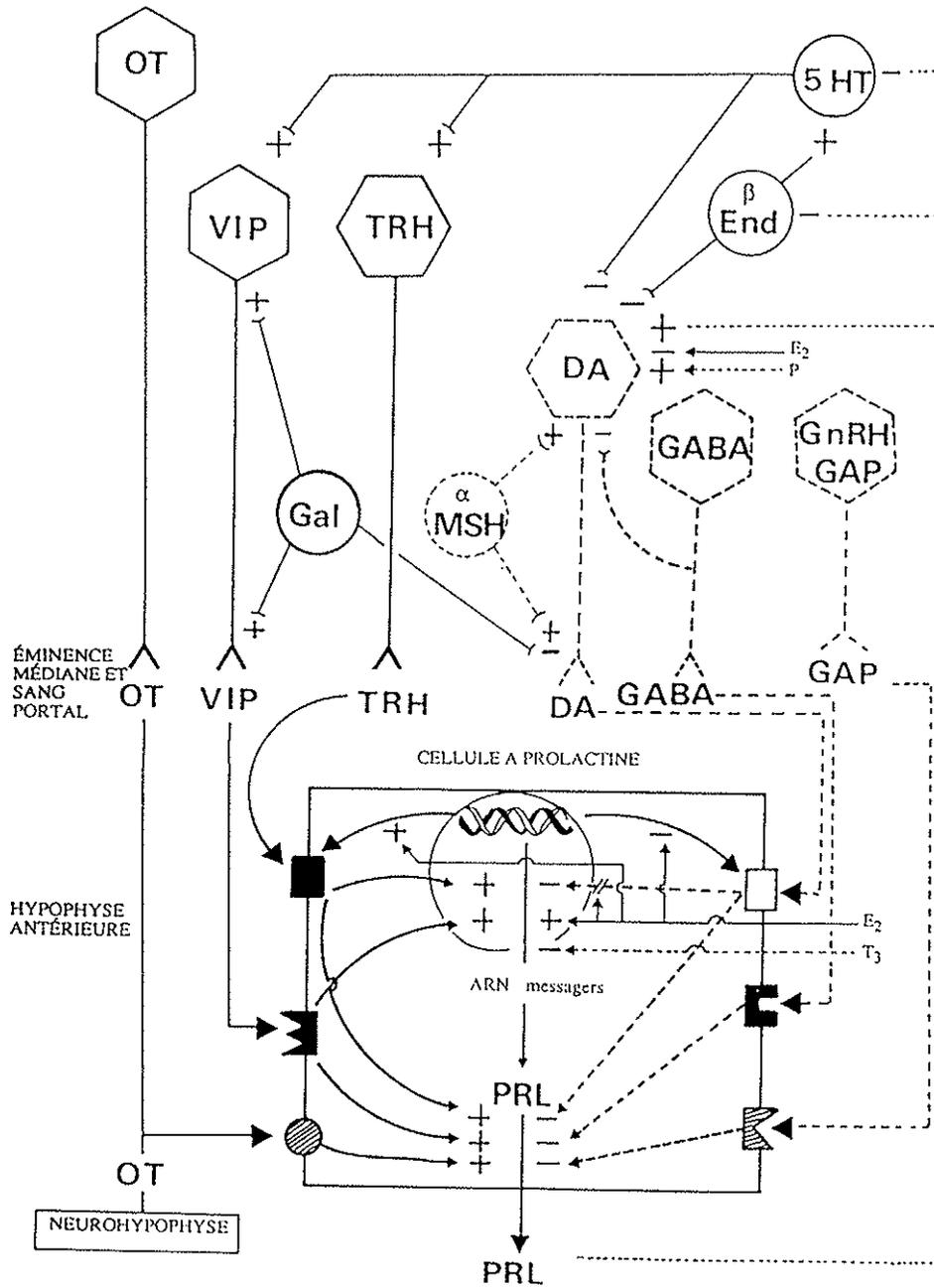
### **3-4- Activation de la sécrétion de prolactine par réflexes neuro-endocriniens :**

La sécrétion de prolactine est augmentée par divers stimuli périphériques dont le plus fréquent est la succion du mamelon au cours de la tétée.

La quantité de prolactine sécrétée dépend de la durée et de l'intensité de la stimulation mammaire au cours de la tétée. Les influx nerveux sensitifs en provenance du mamelon, gagnent la corne dorsale de la moëlle puis, via des fibres médullaires, le tronc cérébral et l'hypothalamus où plusieurs peptides et neuromédiateurs sont mobilisés pour aboutir à la libération concomitante de prolactine, qui entretient la sécrétion de lait, et d'ocytocine, qui assure son éjection. Prolactine et ocytocine constituent la voie efférente de ce réflexe neuro-endocrinien. Des tétées fréquentes sur de longues périodes peuvent, chez la femme, maintenir une hyperprolactinémie pendant plusieurs mois. Chez la plupart des femmes non gestantes ou non allaitantes, la stimulation mammaire peut provoquer une rapide mais éphémère sécrétion de prolactine.

Les stimuli extéroceptifs de la traite ou de la tétée sont donc indispensables au maintien de la fonction prolactinique et de la production de lait sur une longue période (DUPOUY et coll 1992).

La synthèse de ces différents facteurs de régulation peut se présenter sous la forme d'un schéma : Figure 7.



Effets stimulants (+) ou inhibiteurs (-)  
 E<sub>2</sub> = œstradiol  
 P = progestérone  
 T<sub>3</sub> = triiodothyronine

Figure 7 : Régulation de la synthèse de la prolactine.

### III- LES HYPERPROLACTINEMIES :

Les valeurs usuelles sont établies le matin à jeun et hors stress. Les taux observés sont :

- chez les hommes, et les enfants prépubères :

de 5 à 12 ng/ml  $\Leftrightarrow$  90 à 370  $\mu$ UI/ml. (Berilux)

- chez les femmes ménopausées :

de 5 à 15 ng/ml  $\Leftrightarrow$  85 à 490  $\mu$ UI/ml. (Berilux)

- chez les femmes en activité génitale :

de 5 à 20 ng/ml  $\Leftrightarrow$  90 à 700  $\mu$ UI/ml. (Berilux)

Selon le type d'anticorps utilisé on peut observer quelques fluctuations dans les valeurs usuelles. Une homogénéisation des résultats a pu être réalisée grâce à l'utilisation d'étalons internationaux exprimés en Unités biologiques.

#### 1- Symptomatologie :

##### 1-1- Chez la femme en âge de concevoir :

###### a- Troubles du cycle menstruel :

Ils sont quasi constants : oligoménorrhée, spanioménorrhée, aménorrhée ou infertilité sont les signes d'appel les plus fréquents (TOURNIAIRE 1979).

Les troubles menstruels de l'hyperprolactinémie sont dus à une perturbation (diminution ou abolition) de la pulsativité de la GnRH hypothalamique (BOHNET et coll 1975).

###### b- Dysfonctionnement sexuel :

On observe une diminution de la libido.

c- Galactorrhée :

Elle est en général le premier symptôme. Elle est la conséquence directe de l'action "trophique" de la prolactine sur les glandes mammaires préparées par d'autres hormones, notamment l'estradiol. L'écoulement peut être uni ou souvent bilatéral. Le plus souvent intermittent et retrouvé à la pression de la glande mammaire. Il est multipore et lactescent.

La galactorrhée est observée selon une fréquence très variable, dans 30 à 80% des hyperprolactinémies de toutes causes (DEROME et coll 1979).

d- Syndrome aménorrhée-galactorrhée :

Cette association est le fait d'une hyperprolactinémie dans 40 à 75% des cas.

e- Signes compressifs :

Des signes compressifs (notamment céphalées rétro-orbitaires, compression chiasmatique amputant le champ visuel) dus à un macroadénome hypophysaire, sont rarement présents chez la femme en âge de concevoir : l'alerte est donnée bien plus tôt par les troubles menstruels.

**1-2- Chez la femme ménopausée :**

Si une hyperprolactinémie existe, elle est soit découverte fortuitement, soit le plus souvent devant des signes compressifs dus à un macroadénome hypophysaire.

**1-3- Chez l'homme :**

a- Troubles sexuels :

Ils sont dominés par l'impuissance érectile, sporadique ou permanente, avec diminution de la libido.

L'impuissance pourrait être due :

- soit à la diminution de la testostérone.

- soit à la diminution secondaire de la dihydrotestostérone.
- soit directement à la perturbation des systèmes dopaminergiques hypothalamiques.

L'impuissance peut être réduite par la diminution de l'hyperprolactinémie. Cependant, si la testostérone reste basse, l'adjonction de testostérone peut être nécessaire.

b- Retentissement mammaire :

Une gynécomastie est décrite dans 14 à 33% des hyperprolactinémies selon les séries (FOSSATI et coll 1984), dans 39% des adénomes à prolactine (DUPUY et coll 1984), tandis que la galactorrhée est moins souvent observée, en raison du taux moindre d'estradiol chez l'homme.

c- Signes compressifs :

Ces signes sont plus souvent présents que chez la femme, puisque la découverte est en général plus tardive.

**1-4- Avant et pendant la puberté :**

Avant la puberté, une hyperprolactinémie n'a aucune expression clinique. Si l'enfant est à l'âge de la puberté, elle est retardée par l'hyperprolactinémie. Si cette dernière s'exprime pendant la puberté, elle suspend la puberté avec une aménorrhée primaire et une galactorrhée chez la fille, avec ou sans exagération de la gynécomastie pubertaire chez le garçon.

A cet âge, il faut penser au macroprolactinome, le microadénome étant rare chez l'enfant et l'adolescent. On peut observer également un adénome mixte somatoprolactinémique avec acromégalie (WARNET 1991).

## 2- Exploration d'une hyperprolactinémie :

### 2-1- Biologique :

Le taux basal de prolactine est le test le plus simple et le plus utilisé. Il permet dans certains cas d'apporter un élément de diagnostic étiologique. Mais ce sont les tests dynamiques qui sont les plus utiles pour distinguer les différents types d'hyperprolactinémies.

On distingue : les tests de stimulation à la TRH seule et/ou TRH + antidopaminergique (Métoclopramide) : ce sont les tests les plus performants pour différencier les hyperprolactinémies primaires des autres causes.

La TRH exerce un effet biphasique avec initialement libération de prolactine préformée et stockée, puis secondairement stimulation de la synthèse de prolactine. Son action sécrétagogue nécessite la présence de récepteurs spécifiques, l'existence d'un stock de prolactine et enfin l'absence de blocage dopaminergique sur la libération de prolactine. Ainsi, l'effet de la TRH ne pourra s'exercer en présence d'un excès de dopamine qui bloque la libération de prolactine, pas plus qu'en l'absence totale de dopamine puisque celle-ci aboutit à l'épuisement du stock intracellulaire de prolactine.

La réalisation du test TRH-métoclopramide se fait le matin à jeun, 200 µg de TRH sont injectés par voie intraveineuse, suivis 60 minutes plus tard d'une injection de 10 mg de métoclopramide. La prolactine est dosée en base, 20 minutes après la pose d'un cathéter, puis 15, 30 et 60 minutes après injection de TRH et de métoclopramide. Le temps 60 minutes de TRH est considéré comme la base permettant d'apprécier la réponse au métoclopramide.

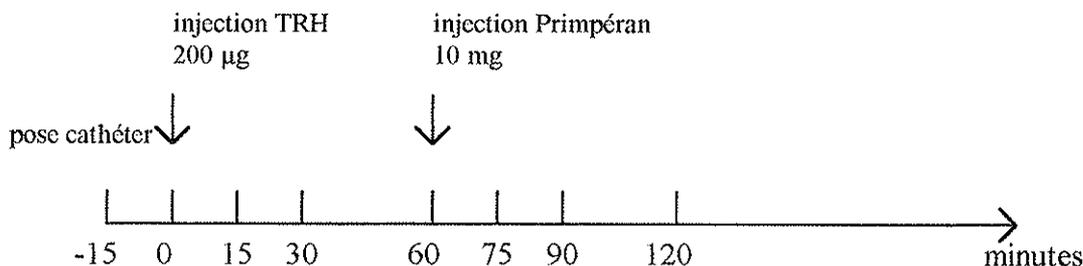


Figure 8 : Prélèvements pour le dosage de la prolactinémie.

Quatre types de réponses ont été observés selon le pourcentage d'augmentation, qui est le suivant :

$$\frac{(\text{valeur du pic} - \text{valeur en base}) \times 100}{\text{valeur en base}}$$

- sujets non répondeurs : réponses à la TRH et au métoclopramide < 100% ;
- réponse à la TRH (> 100%) et non réponse au métoclopramide (< 100%) ;
- réponse à la TRH et au métoclopramide > 100% ;
- non réponse à la TRH (< 100%) et réponse au métoclopramide (> 100%).

La stimulation par la TRH apprécie les réserves en prolactine et celle par le métoclopramide le tonus dopaminergique.

Ainsi, FOSSATI et DEWAILLY (1992) ont observé :

- qu'un adénome à prolactine était non répondeur à ce type de test.
- qu'une tumeur intra ou suprasellaire non prolactinique répondait à la TRH mais pas au métoclopramide.
- qu'une hyperprolactinémie iatrogène ou accompagnant une pathologie périphérique répondait à ce test.
- qu'une macroprolactinémie ne répondait pas à la TRH mais répondait au métoclopramide.

Et le test de freinage par L-dopa : les hyperprolactinémies primaires ne répondent pas à ce test.

Le dosage des autres hormones hypophysaires est souvent réalisé dans le cadre des hyperprolactinémies primaires pour apprécier la sécrétion hypophysaire résiduelle.

## **2-2- Radiologique :**

L'image de la selle turcique permet de définir 4 stades selon sa forme et sa taille :

- stade I : microadénome avec asymétrie du plancher.
- stade II : adénome avec agrandissement de la selle turcique.

- stade III : érosion du plancher.
- stade IV : destruction du plancher.

On effectue tout d'abord une radiographie standard de face et de profil, puis selon les résultats obtenus, il sera fait soit un scanner, soit une IRM (image par résonance magnétique)

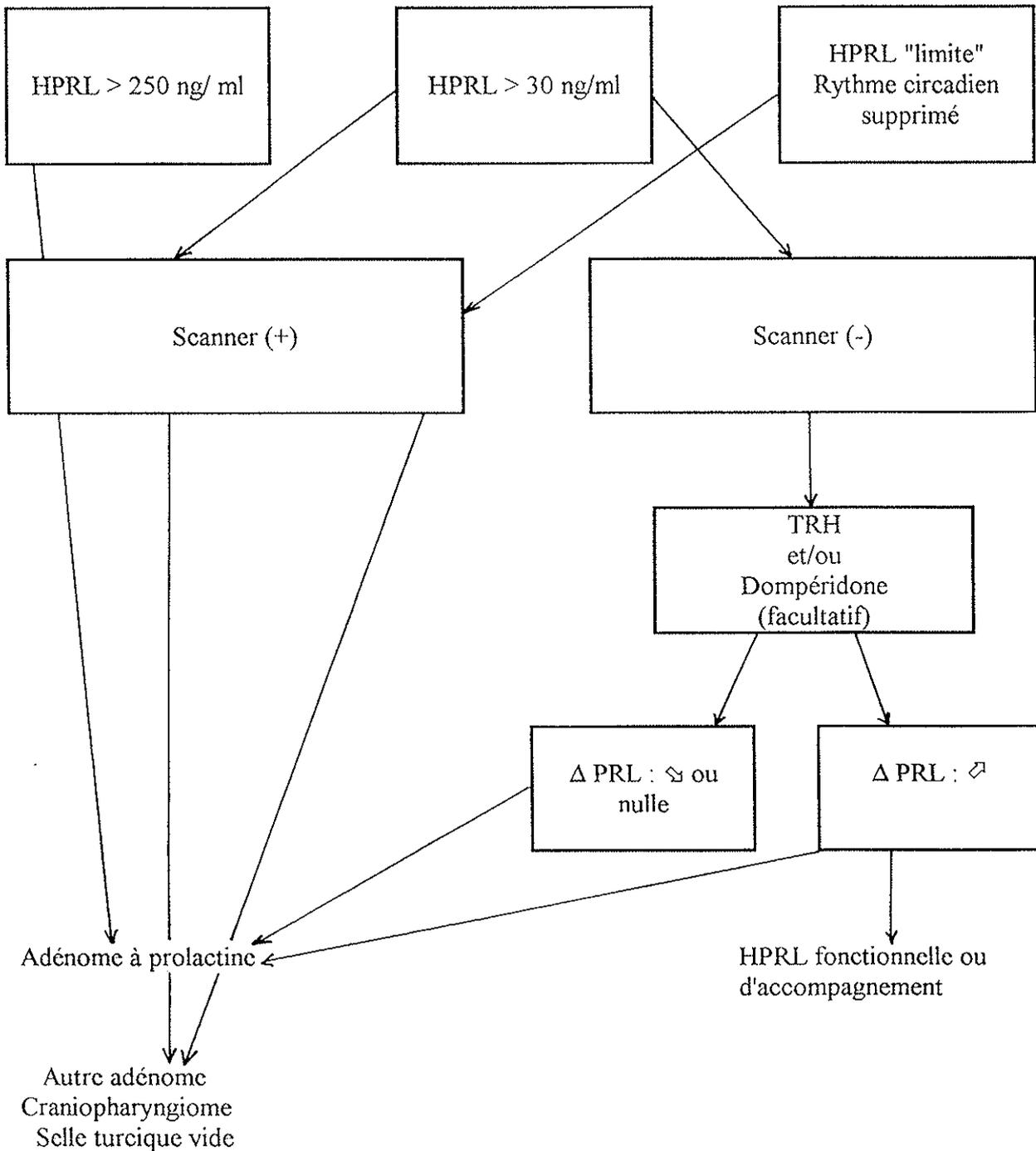


Figure 9 : Stratégie d'exploration d'une hyperprolactinémie (SCHLIENGER 1986).

### 3- Principaux types d'hyperprolactinémie :

#### 3-1- Hyperprolactinémies organiques :

La première étiologie à rechercher est l'adénome hypophysaire :

- soit le macroadénome (supérieur à 10 mm) s'accompagnant de signes tumoraux et visuels,
- soit le microadénome (inférieur à 10 mm) sans signes de compression.

Les prolactinomes sont en relation avec l'existence d'un tissu lactotrope adénomateux dont le volume peut être très variable. Si la sécrétion des microadénomes à prolactine est presque toujours isolée (prolactinome pur), certains macroadénomes à prolactine peuvent sécréter d'autres hormones, provenant du même contingent ou d'autres contingents cellulaires hypophysaires, présents dans des proportions variables d'un cas à l'autre (adénomes mixtes).

##### 3-1-1- Fréquence :

L'adénome à prolactine est le plus fréquent des adénomes hypophysaires. La fréquence serait de 1/1000 chez la femme et de 1/3000 chez l'homme (FOSSATI et coll 1984).

##### 3-1-2- Physiopathologie :

La distinction entre micro et macroadénomes à prolactine ne semble pas simplement basée sur la taille, mais pourrait reposer sur des différences de comportement cellulaire. Ainsi, *in vitro*, les microprolactinomes seraient plus résistants à la dopamine que les macroprolactinomes (FOSSATI et coll 1984). Bien qu'il n'y ait pas de preuve absolue, la progression d'un microadénome vers un macroadénome semble rare. Le rôle des estrogènes dans la genèse d'un prolactinome reste controversé (VELDHUIS 1989). En revanche, il est maintenant bien démontré que la prise antérieure d'un estroprogestatif n'augmente pas le risque de développer un prolactinome (Pituitary Adenoma Study Group 1983).

### 3-1-3- Expression clinique :

Dans la plupart des cas, le degré d'hyperprolactinémie est tel qu'il existe un syndrome hyperprolactinémique typique (céphalées, troubles visuels, ... ). Certains prolactinomes peu sécrétants ont cependant une expression clinique très frustrante.

### 3-1-4- Expression hormonale :

Il existe une corrélation étroite entre la taille de l'adénome et le degré d'hyperprolactinémie. Un microadénome ne s'accompagne qu'exceptionnellement d'une hyperprolactinémie supérieure à 500 ng/ml. Dans les macroadénomes, l'hyperprolactinémie peut atteindre jusqu'à 10000, voire 20000 ng/ml. Cependant, cette corrélation n'est pas absolue, certains macroadénomes pouvant s'accompagner d'une hyperprolactinémie inférieure à 100 ng/ml, en particulier lorsqu'ils sont nécrosés.

La non-réponse de la prolactine à la stimulation par la TRH et le métopropramide est spécifique des prolactinomes, quelle que soit leur taille (FOSSATI et coll 1989). Enfin, dans les formes invasives, l'hyperprolactinémie s'accompagne volontiers d'un hypopituitarisme partiel ou complet. Celui-ci est parfois réversible sous traitement médical par bromocriptine.

### 3-1-5- Expression morphologique :

La séméiologie de base des adénomes hypophysaires peut se résumer à trois grands signes :

- la selle turcique est agrandie ;
- la selle turcique est déformée, asymétrique ;
- la paroi osseuse est amincie ou rompue.

Aucun de ces signes n'est pathognomonique mais leur association est très évocatrice.

Par ailleurs, on peut constater que l'investigation morphologique est parfois totalement négative, alors qu'il existe un profil d'hyperprolactinémie primaire ou adénomateuse. On réserve le qualificatif d'hyperprolactinémie primaire idiopathique à cette éventualité.

### 3-1-6- Adénomes mixtes :

Le plus fréquent d'entre eux est l'adénome somatoprolactinique (sécrétion d'hormone de croissance et de prolactine). L'expression clinique est dominée par l'hypersomatotropisme, mais il n'est pas rare que l'acromégalie soit révélée chez la femme jeune par un syndrome aménorrhée-galactorrhée avant que la dysmorphie ne soit pleinement constituée. Certains adénomes corticotropes, thyrotropes ou gonadotropes s'accompagnent aussi d'une hyperprolactinémie d'origine adénomateuse.

### **3-2- Hyperprolactinémies fonctionnelles :**

Elles correspondent à un dysfonctionnement du tissu lactotrope normal, par influence hypothalamique et (ou) périphérique interposée, endogène ou iatrogène, et (ou) à un trouble du métabolisme de la prolactine.

Dans ce cas, il n'y a pas d'altération des communications hypothalamo-hypophysaires, ainsi les tests ne font que révéler de façon positive, l'excès de fonctionnement basal des cellules lactotropes normales.

La réponse au test de stimulation TRH-métoclopramide est donc généralement explosive avec des taux de prolactine modérément élevés, répondant au test de freinage par L-dopa.

On constate une absence de modification de la selle turcique à la radiologie.

Cette catégorie d'hyperprolactinémies est assez hétérogène, elle regroupe les hyperprolactinémies iatrogènes, inapparentes, post-puerpérales, celles qui s'accompagnent de désordres endocrinométaboliques divers. Parfois, aucune étiologie n'est décelable (hyperprolactinémie fonctionnelle idiopathique), mais ce type d'hyperprolactinémie paraît bien souvent transitoire et semble peu fréquent.

On pourrait également mettre dans ce groupe les hyperprolactinémies "latentes" où le taux de prolactine est normal en base, mais hyperréactif à la TRH et/ou au métoclopramide.

### 3-2-1- Hyperprolactinémie accompagnant une lésion suprahypophysaire ou hypophysaire non lactotrope :

L'hyperprolactinémie est la conséquence du retentissement "mécanique" infundibulo-tubérien, et peut être due à différentes causes :

#### a- Lésion tumorale :

Ex : ▫ suprahypophysaire : craniopharyngiome, méningiome, ...

▫ hypophysaire : adénome non lactotrope sécrétant ou non.

L'hyperprolactinémie est souvent modérée car il existe fréquemment un hypopituitarisme avec hypogonadisme ancien et profond.

#### b- Lésion infiltrative :

Ex : sarcoïdose.

L'expression clinique de l'hyperprolactinémie est fréquemment au second plan, derrière celle d'un hypopituitarisme antérieur et (ou) postérieur.

#### c- Séquelles :

Ex : ▫ de traumatisme (section de tige).

▫ de radiothérapie encéphalique plus ou moins localisée.

#### d- Arachnoïdocèle :

Elle est banale et ne s'accompagne qu'exceptionnellement d'une hyperprolactinémie.

### 3-2-2- Hyperprolactinémies iatrogènes :

Elles sont d'une grande banalité, et cette étiologie est facile à reconnaître à l'interrogatoire du patient.

Les médicaments en cause agissent, soit par inhibition du tonus dopaminergique (antagonistes directs de la dopamine au niveau de ses récepteurs et modulateurs des

postrécepteurs de la dopamine), soit par effet estrogénique direct ou indirect, susceptible d'entraîner une hyperplasie des cellules lactotropes.

Les principales médications susceptibles d'entraîner une hyperprolactinémie sont les suivantes :

1°)- Les psychotropes :

a)- Les neuroleptiques : (+++)

\* Phénothiazines :

LARGACTYL<sup>®</sup> (chlorpromazine)

MAJEPTIL<sup>®</sup> (thiopropérazine)

MELLERIL<sup>®</sup> (thioridazine)

MODITEN<sup>®</sup> (fluphénazine)

NEULEPTIL<sup>®</sup> (propériciazine)

NOZINAN<sup>®</sup> (lévomépromazine)

PIPORTIL<sup>®</sup> (pipotiazine)

TERCIAN<sup>®</sup> (cyamémazine)

TERFLUZINE<sup>®</sup> (trifluopérazine)

\* Butyrophénones :

DIPIPERON<sup>®</sup> (pipampérone)

DROLEPTAN<sup>®</sup> (dropéridol)

HALDOL<sup>®</sup> (halopéridol)

SEMAP<sup>®</sup> (penfluridol)

TRIPERIDOL<sup>®</sup> (triflupéridol)

\* Benzamides :

BARNETIL<sup>®</sup> (sultopride)

DOGMATIL<sup>®</sup>, SYNEDIL<sup>®</sup>, AIGLONYL<sup>®</sup> (sulpiride)

SOLIAN<sup>®</sup> (amisulpride)

TIAPRIDAL<sup>®</sup>, EQUILIUM<sup>®</sup>, TIAPRIDE<sup>®</sup> (tiapride)

## b)- Les antidépresseurs : (±)

## \* Tricycliques :

ANAFRANIL<sup>®</sup> (clomipramine)  
 DEFANYL<sup>®</sup> (amoxapine)  
 INSIDON<sup>®</sup> (opipramol)  
 KINUPRIL<sup>®</sup> (quinupramine)  
 LAROXYL<sup>®</sup> (amitriptyline)  
 MOTIVAL<sup>®</sup> (nortriptyline + fluphénazine)  
 PERTOFRAN<sup>®</sup> (désipramine)  
 PROTHIADEN<sup>®</sup> (dosulépine)  
 QUITAXON<sup>®</sup>, SINEQUAN<sup>®</sup> (doxépine)  
 SURMONTIL<sup>®</sup> (trimipramine)  
 TOFRANIL<sup>®</sup> (imipramine)

## \* IMAO :

HUMORYL<sup>®</sup> (toloxatone)  
 MOCLAMINE<sup>®</sup> (moclobémide)  
 NIAMIDE<sup>®</sup> (nialamide)

## c)- Le lithium :

NEUROLITHIUM<sup>®</sup>  
 TERALITHE<sup>®</sup>

## d)- Les anxiolytiques :

## \* Carbamates :

ATRIUM<sup>®</sup> (fébarbamate + difébarbamate + phénobarbital)  
 EQUANIL<sup>®</sup>, MEPROBAMATE<sup>®</sup> (méprobamate)

## \* Benzodiazépines : (±)

## - Anxiolytiques :

LEXOMIL<sup>®</sup> (bromazépam)

LIBRIUM<sup>®</sup> (chlordiazépoxyde)  
 LYSANXIA<sup>®</sup> (prazépam)  
 NORDAZ<sup>®</sup>, PRAXADIUM<sup>®</sup> (nordazépam)  
 SERESTA<sup>®</sup> (oxazépam)  
 SERIEL<sup>®</sup> (tofisopam)  
 TEMESTA<sup>®</sup> (lorazépam)  
 TRANXENE<sup>®</sup> (clorazépate dipotassique)  
 URBANYL<sup>®</sup> (clobazam)  
 VERATRAN<sup>®</sup> (clotiazépam)  
 XANAX<sup>®</sup> (alprazolam)

- Hypnotiques :

HALCION<sup>®</sup> (triazolam)  
 HAVLANE<sup>®</sup> (loprazolam)  
 MOGADON<sup>®</sup> (nitrazépam)  
 NOCTAMIDE<sup>®</sup> (lormétazépam)  
 NOCTRAN<sup>®</sup> (clorazépate dipotassique +  
 acéprométazine + acépromazine)  
 NORIEL<sup>®</sup> (flunitrazépam)  
 NORMISON<sup>®</sup> (témazépam)  
 NUCTALON<sup>®</sup> (estazolam)  
 ROHYPNOL<sup>®</sup> (flunitrazépam)

- Anticonvulsivantes :

RIVOTRIL<sup>®</sup> (clonazépam)  
 VALIUM<sup>®</sup> (diazépam)

- Myorelaxante :

MYOLASTAN<sup>®</sup> (tétrazépam)

2°)- Les antihistaminiques :

TAGAMET<sup>®</sup>, EDALENE<sup>®</sup> (cimétidine)

3°)- Les antiémétiques :

ANAUSIN<sup>®</sup>, PRIMPERAN<sup>®</sup> (métoclopramide)

VOGALENE<sup>®</sup> (métopimazine)

MOTILIUM<sup>®</sup>, PERIDYS<sup>®</sup> (dompéridone)

4°)- Les hypotenseurs :

ALDOMET<sup>®</sup>, EQUIBAR<sup>®</sup> (alpha méthyldopa)

Les réserpiniques (Réserpine TENSIONORME<sup>®</sup>).

5°)- Les amphétamines :

Ex : ORTENAL<sup>®</sup>

6°)- Les antituberculeux :

RIMIFON<sup>®</sup> (isoniazide), DEXAMBUTOL<sup>®</sup> (isoniazide + éthambutol)

7°)- Les estrogènes de synthèse ou naturels à fortes doses.

8°)- Traitements non hormonaux de la ménopause :

Véralipride AGREAL<sup>®</sup>.

9°)- Morphine et autres stupéfiants.

### 3-2-3- Hyperprolactinémies et autres pathologies endocriniennes et gynécologiques non hypophysaires :

#### a- Hypothyroïdie :

L'hypothyroïdie s'accompagne d'une hyperprolactinémie, essentiellement dans les hypothyroïdies congénitales et dans les hypothyroïdies acquises de la femme jeune. Cette hyperprolactinémie est hyperréactive à la stimulation par la TRH. Elle disparaît sous traitement par hormones thyroïdiennes (FOSSATI et coll 1984).

b- Syndrome des ovaires micropolykystiques :

Une hyperprolactinémie est retrouvée chez environ 10% des femmes présentant ce syndrome. Certains ont cru y voir un trouble du tonus dopaminergique hypothalamique entrant dans la physiopathologie de l'affection. En fait, des données plus récentes suggèrent que cette hyperprolactinémie serait GnRH dépendante et correspondrait en fait à d'amples fluctuations de la prolactine accompagnant celles de la LH (BARNES et coll 1989).

c- Hyperparathyroïdie et pseudo-hypoparathyroïdie.

d- Hyperprolactinémie du post-partum :

Il s'agit en théorie d'une cause physiologique d'hyperprolactinémie, lorsque la femme allaite. Elle constitue le mécanisme principal de la "contraception naturelle" du post-partum. Une étude récente a démontré, en effet, que l'utilisation d'un dopaminergique pour inhiber l'allaitement restaurait l'ovulation en 18 jours, sauf s'il se produit un effet rebond de l'hyperprolactinémie à l'arrêt du traitement (KREMER et coll 1990). Lorsqu'elle n'est pas traitée, cette hyperprolactinémie physiologique disparaît assez rapidement, malgré la poursuite de l'allaitement (FOSSATI et coll 1984). Au-delà de 3 mois de post-partum, il s'agit d'une hyperprolactinémie pathologique qui demande une exploration en tout point identique à celle d'une hyperprolactinémie découverte dans d'autres circonstances.

e- Hyperprolactinémie et affection générale :

L'insuffisance rénale aiguë ou chronique entraîne une hyperprolactinémie modérée, dont le mécanisme ne semble pas être une diminution de la clairance métabolique.

L'insuffisance hépatique s'accompagne volontiers d'une hyperprolactinémie basale modérée, hyperréactive sous TRH (FOSSATI et coll 1984).

Enfin, le stress, l'activité physique intensive, la chirurgie mammaire et thoracique, les traumatismes ou les brûlures de la paroi thoracique peuvent être responsables d'une hyperprolactinémie par divers mécanismes (FOSSATI et coll 1984).

### 3-2-4- Hyperprolactinémies fluctuantes et hyperprolactinémies "latentes" :

#### a- Hyperprolactinémies fluctuantes :

Il faut d'abord éliminer les erreurs de prélèvement. Quand ces hyperprolactinémies existent, elles sont souvent liées à un syndrome d'ovaires polykystiques dont on connaît bien les fluctuations spontanées des anomalies hormonales.

#### b- Hyperprolactinémies "latentes" :

Le taux de prolactine basale est normal, mais on a une réaction positive à la TRH. Elles sont principalement observées chez des femmes ayant une insuffisance lutéale (PEILLON et coll 1982).

### 3-2-5- Hyperprolactinémies idiopathiques, chroniques, de type non adénomateux.

Dans ces cas, l'hyperprolactinémie est modérée avec une évolution vers la rémission ou avec une atténuation et disparition des signes cliniques (MARTIN et coll 1985).

Cependant, il ne faut pas confondre ce type d'hyperprolactinémie avec les hyperprolactinémies idiopathiques primaires ou de type adénomateux.

### **3-3- Hyperprolactinémies avec anomalie moléculaire de la prolactine :**

L'excès de "big" ou plus souvent de "big-big" prolactine dans le sérum (encore appelé macroprolactinémie) provient sans doute de différentes anomalies qui semblent constitutionnelles : excès de sécrétion de prolactine glycosylée ? Sécrétion d'immunoglobulines antiprolactine ? Défaut de structure de la prolactine favorisant sa polymérisation ?

Elles sont le plus souvent retrouvées par hasard ou à l'occasion d'un dépistage systématique (MIYAI et coll 1986).

Il s'agit d'un piège diagnostique qu'il faut déjouer en analysant scrupuleusement les composantes cliniques, biologiques et morphologiques du bilan.

## IV- TRAITEMENTS :

Toute hyperprolactinémie doit être corrigée. Chez la femme, même en l'absence de désir de grossesse, le déficit estrogénique peut entraîner une sécheresse vaginale, responsable de dyspareunie et, surtout, risque de retentir à moyen terme sur le capital osseux. Même si le déficit gonadotrope est moins profond, l'hyperprolactinémie retentit sur la mécanique ovulatoire et entraîne une insuffisance lutéale qu'il importe de corriger. Dans l'un et l'autre sexe, l'hyperprolactinémie est responsable par elle-même, et indépendamment du déficit en stéroïdes sexuels, d'une diminution de la libido.

L'hyperprolactinémie iatrogène disparaît facilement à l'arrêt des médicaments responsables. De même, l'hyperprolactinémie secondaire à une hypothyroïdie cédera sous traitement par la L-thyroxine, et, l'hyperprolactinémie secondaire à un syndrome des ovaires micropolykystiques sera le plus souvent corrigée par le traitement spécifique de ce syndrome. Dans les syndromes psychiatriques évolutifs, le traitement de l'hyperprolactinémie iatrogène par les agents dopaminergiques, la normalisation du taux de prolactine peut s'accompagner d'une aggravation du syndrome psychiatrique. Enfin, chez la femme ménopausée, la présence d'une hyperprolactinémie sans menace tumorale, peut faire l'objet d'une simple surveillance, mais ne contre-indique pas un traitement estroprogestatif faiblement dosé en estrogènes et purement substitutif (PHOLSENA et coll 1993).

En fonction de l'étiologie de l'hyperprolactinémie, le traitement sera différent. Ainsi, on distinguera le traitement chirurgical et le traitement médicamenteux.

## 1- Le traitement chirurgical :

Avant l'utilisation de la bromocriptine, la neurochirurgie représentait le seul traitement du prolactinome. L'apparition de la bromocriptine a transformé les indications thérapeutiques. Certaines équipes restent fidèles à la microchirurgie dont l'innocuité et l'efficacité ont considérablement progressé.

D'autres, cependant, réservent les indications chirurgicales aux cas suivants :

- résistance à la bromocriptine (absence de réponse en terme de normalisation du taux de prolactine et/ou du champ visuel, malgré une posologie supérieure à 10 mg) ;
- incertitude quant au diagnostic anatomopathologique de la lésion hypothalamo-hypophysaire ou adénome mixte ;
- choix thérapeutique du (de la) malade.

Toute tumeur hypophysaire, même compliquée d'une altération du champ visuel, directement adressée au neurochirurgien, doit être au moins documentée par un dosage de prolactine afin de ne pas méconnaître un prolactinome, susceptible de régresser sous traitement dopaminergique (PHOLSENA et coll 1993).

Il existe deux approches chirurgicales vers la région sellaïre et suprasellaïre qui sont la voie intracrânienne (ptériorale et sous frontale) et la voie rhinoseptale (transsphénoïdale). En matière d'adénome hypophysaire, la voie rhinoseptale est de loin la plus fréquemment utilisée, la voie haute étant réservée aux expansions tumorales qui sont inaccessibles à la voie basse (< 4%).

Le microadénome et le macroprolactinome doivent être distingués :

### **1-1- Le microadénome :**

Le résultat de la neurochirurgie (adénomectomie sélective par voie transsphénoïdale) est excellent en postopératoire immédiat, puisque la prolactine est normalisée dans 80% des cas. Cependant, la récurrence à 5 ans est supérieure à 50% et sera traitée par la bromocriptine.

### **1-2- Le macroadénome :**

La chirurgie dans cette indication est satisfaisante sur le plan tumoral, permettant en particulier la normalisation du champ visuel. Mais il est habituel que l'hyperprolactinémie persiste en postopératoire. De nombreuses études ont désormais prouvé l'efficacité du traitement par la bromocriptine tant en ce qui concerne la normalisation du taux de prolactine que l'amélioration du champ visuel et même la réduction tumorale.

Avant tout traitement, une exploration hormonale est nécessaire à la recherche d'une insuffisance antéhypophysaire ou d'une sécrétion pathologique associée. Un bilan ophtalmologique avec champ visuel et acuité, est par ailleurs obligatoire (PHOLSENA et coll 1993).

## **2- Le traitement médical :**

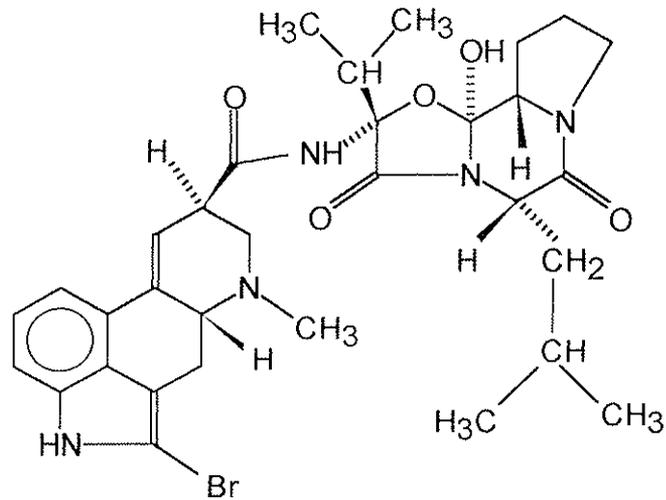
### **2-1- La bromocriptine :** (mésylate de 2-bromo- $\alpha$ -ergocriptine ou CB-154)

PARLODEL<sup>®</sup>

BROMO-KIN<sup>®</sup> (générique)

La bromocriptine est un alcaloïde synthétique dérivé de l'ergot de seigle qui présente des propriétés d'inhibition de la sécrétion de prolactine (DEL POZO et coll 1972, DEL POZO et coll 1973).

## BROMOCRIPTINE



En fait, la bromocriptine inhibe la sécrétion de prolactine par son activité d'agoniste dopaminergique spécifique, qui stimule les récepteurs dopaminergiques  $D_2$ , qui diminue l'adénylate cyclase et la transcription du gène de la prolactine.

De plus, elle diminue l'activité mitotique des cellules lactotropes, permet la normalisation de la fonction gonadique et réduit le volume de l'adénome (VANCE et coll 1984).

Pour traiter l'hyperprolactinémie, on utilise le dosage à 2,5 mg. Une dose quotidienne de 7,5 mg/jour soit 3 comprimés à 2,5 mg en 3 prises, permet habituellement la suppression de la prolactinémie de façon durable et complète. Cette posologie optimale doit être atteinte par palier afin de réduire les effets secondaires, car on note assez souvent des incidents précoces, survenant dès les premières prises du médicament, d'intensité modérée, et généralement de brève durée, cédant à la poursuite de la thérapeutique. Ce sont surtout des troubles digestifs (nausées, vomissements, constipation, dyspepsie). Ils s'associent volontiers à des sensations vertigineuses et à une impression de malaise général. Les céphalées, en dehors de toute évolution hypophysaire tumorale démontrée, la somnolence, l'hypotension

orthostatique, la bradycardie, sont plus rares (FOSSATI et coll 1976). On peut remarquer que l'association avec une thérapeutique antiémétique (type dompéridone) est fortement déconseillée, en raison de son activité hyperprolactinémisante (SCHERRER et coll 1986).

Ainsi, on pourra donner par exemple, un demi comprimé le soir au dîner, puis un demi comprimé au petit déjeuner et au dîner pendant 4 jours, puis 2 comprimés en 2 prises pendant 4 jours, puis 3 comprimés en 3 prises au milieu des repas.

Par ailleurs, il existe une forme injectable de bromocriptine : PARLODEL LP 50 mg/ml<sup>®</sup>.

Cette forme pour usage intramusculaire est composée de microcapsules et d'une solution à libération prolongée. Elle n'est utilisée que pour une hyperprolactinémie due à un macroadénome non curable chirurgicalement. La posologie initiale est de 50 mg avec augmentation progressive de la dose, si nécessaire, tous les 28 à 30 jours en fonction de la réponse clinique et hormonale. Ensuite on maintiendra à 50 mg, ou on augmentera à 100 mg, exceptionnellement 150 mg, voire 200 mg. Un espacement plus important des injections ne pourra être tenté que si la prolactinémie est normalisée depuis au moins 6 mois jusqu'au 28<sup>ème</sup> jour (VIDAL 1996).

## 2-2- Le lisuride :

DOPERGINE<sup>®</sup> 0,2 mg.

Le lisuride est également un dérivé de l'ergot de seigle utilisé comme antimigraineux, antiparkinsonien et quelques fois comme inhibiteur de la sécrétion de prolactine. C'est un agoniste dopaminergique D<sub>2</sub> préférentiel à action centrale prédominante.

Dans ce cas, sa posologie est de 0,6 mg/ jour en 3 prises, tout en respectant un début de traitement à dose progressive. Ses effets secondaires sont des agonistes dopaminergiques (troubles digestifs, hypotension orthostatique, sécheresse buccale, constipation, ... ).

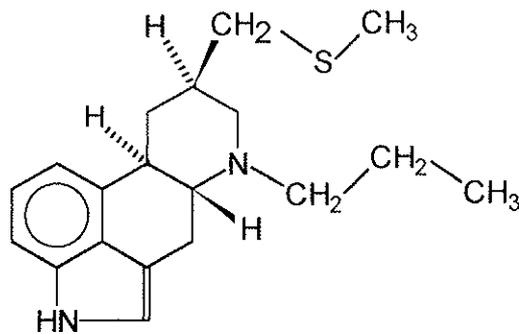


#### 2-4- Le pergolide :

Ce dérivé de l'ergot de seigle présente une activité prolongée permettant une prise journalière. Par ses propriétés d'agoniste dopaminergique, il est employé comme antiparkinsonien et inhibiteur de la prolactine. Sa posologie est alors de 50 à 150 mg/ jour.

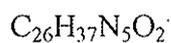
Ce dérivé présente un effet tératogène chez la souris (HOYT et coll 1994).

#### PERGOLIDE



Ces 3 derniers dérivés ne sont employés que si le patient présente une intolérance à la bromocriptine, mais ils sont inefficaces en cas de résistance à celle-ci.

#### 2-5- La cabergoline :



Ce dopaminergique, qui est le plus récent des dérivés de l'ergot de seigle, a été sélectionné pour la puissance et la durée de son effet d'inhibition vis-à-vis de la sécrétion de prolactine.

La cabergoline est utilisée pour le traitement des hyperprolactinémies et tout particulièrement du macroprolactinome, à des doses de 0,5 à 1,5 mg par semaine, en une,

deux ou trois prises orales (FERRARI et coll 1986, MATTEI et coll 1988, MELIS et coll 1987). La dose de 1 mg 2 fois par semaine permet le contrôle de la prolactinémie dans 95% des cas (WEBSTER et coll 1992). Une étude montre la réduction de la taille des prolactinomes chez la totalité des patients de cette étude (MELIS et coll 1989).

Les effets secondaires rapportés avec la cabergoline consistent essentiellement en une baisse modérée (environ 10%) des différents paramètres de la pression artérielle, surtout orthostatique. Cette variation est maximale à la sixième heure suivant la prise du produit, pour disparaître entre la 48<sup>e</sup> et la 72<sup>e</sup> heure. Des nausées, une sensation ébrieuse ou une congestion de la muqueuse nasale, d'intensité modeste, ont été notées, durant au maximum deux jours (CICCARELLI et coll 1989). Ces effets ne sont plus rapportés dans les traitements au long cours.

Par ailleurs, une étude en double insu montre que la cabergoline a une plus grande efficacité et une meilleure tolérance digestive que le produit de référence, la bromocriptine. Ainsi, ce nouvel hypoprolactinémiant, dérivé de l'ergot, a des avantages en termes d'efficacité, de tolérance et de simplicité de prise (PASCAL-VIGNERON et coll 1995).

#### **2-6- La mésulergine :**

Dérivé semi-synthétique de l'ergot de seigle, agoniste des récepteurs D<sub>2</sub> et antagoniste sérotoninergique.

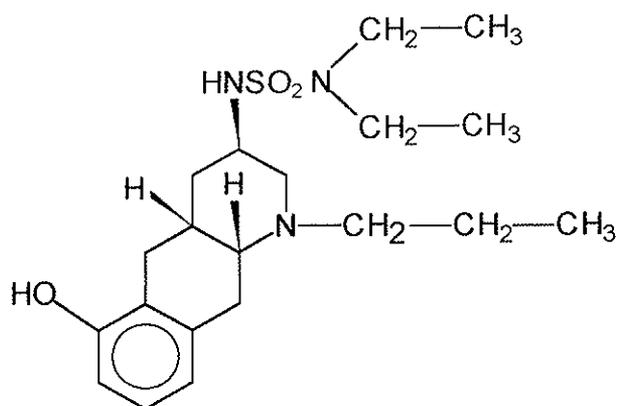
#### **2-7- Le roxindol :**

C'est un agoniste dopaminergique des récepteurs D<sub>2</sub> non dérivé de l'ergot de seigle, présentant une meilleure tolérance que la bromocriptine (JASPERS et coll 1994).

## 2-8- Le CV 205-502 ou quinagolide :

Ce nouvel agoniste dopaminergique puissant et sélectif, interagissant essentiellement avec les récepteurs D<sub>2</sub> et faiblement avec les récepteurs D<sub>1</sub>, non dérivé de l'ergot, a des propriétés antiprolactiniques.

### CV 205-502 OU QUINAGOLIDE



Dans les différents modèles animaux étudiés, *in vivo* et *in vitro*, l'effet d'inhibition de la sécrétion basale et stimulée de prolactine, est plus puissant que celui de la bromocriptine d'environ 2 ordres de grandeur.

Le quinagolide a été utilisé pour le traitement de l'hyperprolactinémie (RASMUSSEN et coll 1987, VANCE et coll 1989) ; la dose la plus communément employée est 0,075 mg par jour, en une prise vespérale. Des études comparatives de tolérance du quinagolide et de la bromocriptine ont montré que pour des doses équivalentes, en termes de suppression de la prolactine (0,075 mg de quinagolide, 5 mg de bromocriptine), les effets secondaires du quinagolide sont de même nature, d'intensité moindre et de durée moins prolongée que ceux de la bromocriptine. Ils consistent en des nausées, une congestion nasale, des céphalées, une sensation de fatigue. La pression artérielle n'est pas modifiée par le traitement de quinagolide

et il n'a été rapporté qu'exceptionnellement des épisodes d'hypotension orthostatique symptomatique (KHALFALLAH et coll 1990).

Le quinagolide peut être utilisé dans le traitement des prolactinomes, avec normalisation des concentrations plasmatiques de prolactine et réduction de la masse tumorale.

Une autre étude s'est attachée à évaluer l'effet du quinagolide chez des patients présentant un prolactinome considéré comme résistant à la bromocriptine (DURANTEAU et coll 1991). Cette population est définie par l'absence de normalisation de la prolactinémie malgré l'utilisation de doses supérieures ou égales à 15 mg, ce qui représente environ 10% des patients et par l'absence de réduction de la taille tumorale qui existe dans un tiers des cas. Le quinagolide s'est avéré plus puissant que la bromocriptine pour réduire, voire normaliser la prolactinémie dans 3 cas sur 7, mais n'a pas amené de réduction tumorale additionnelle.

Ainsi le quinagolide pourra représenter un traitement de deuxième intention après la bromocriptine, en cas d'intolérance ou de résistance à celle-ci (RAZZAQ et coll 1993).

Par ailleurs, on pourra utiliser le quinagolide pour des patients allergiques aux dérivés de l'ergot de seigle ou si ces derniers sont contre-indiqués (NEROLA et coll 1992).

## **DEUXIEME PARTIE**

# **I- METHODOLOGIE**

## **1- Principe général de la chromatographie liquide haute performance (HPLC) :**

La technique utilisée est la chromatographie d'exclusion.

La chromatographie, au sens propre, est une méthode d'analyse immédiate, permettant de séparer les différents composants d'un mélange. Leur partage s'effectue entre une phase mobile, dans laquelle ils sont solubles, et une phase stationnaire, qui exerce sur eux un effet retardataire.

En chromatographie d'exclusion, la séparation est fondée sur la différence de taille des molécules que l'on cherche à différencier. Dans ce cas, la phase stationnaire (qui est le plus souvent un gel), dont les pores ont un diamètre déterminé, retarde le cheminement des petites molécules.

Ce sont donc les différences de cheminement des molécules dans la phase stationnaire (en fonction de leur poids moléculaire), qui déterminent le temps d'élution de ces molécules en chromatographie d'exclusion.

## **2- Matériel :**

### **2-1- La pompe :**

Celle utilisée est la pompe "HPLC 420" fabriquée par KONTRON. Elle possède deux têtes de pompes fonctionnant en alternance et à des vitesses différentes, de façon à éviter les temps morts, ainsi que les pulsions dues à une pompe unique.

Afin de conserver les propriétés de la phase stationnaire, on a fixé au cours de ce travail la pression haute de sécurité à 100 bars.

### **2-2- L'injecteur :**

C'est un injecteur classique (Rhéodyne 425) à deux positions :

- une position "load" (charger) servant à introduire le volume d'échantillon souhaité dans la boucle d'injection, qui est ici de 20  $\mu$ l. C'est une position d'attente.
- une position "inject" (injecter) permettant l'injection en tête de colonne de l'échantillon introduit dans la boucle.

### **2-3- La colonne chromatographique :**

La colonne utilisée est la "Bio-Sil SEC 250-5 column". Sa longueur et son diamètre font respectivement 300 et 7,8 mm. Cette colonne fabriquée par la société Bio-Rad, possède une matrice de silice constituée de particules de 5  $\mu$ m de diamètre, dont la taille des pores est de 250 Å.

Cette colonne est recommandée pour la séparation des peptides, des protéines et des acides aminés, dans un intervalle de pH allant de 2 à 8. Par ailleurs, elle a la faculté de séparer des molécules dont le poids moléculaire est compris entre 10000 et 300000 Daltons inclus. D'où son choix pour la séparation que l'on veut effectuer, puisque les formes principales de prolactine ont des poids moléculaires avoisinant 23000, 50000 et 150000 Da.

Cette colonne chromatographique présente une capacité allant de 0,01 à 1,5 mg de protéines.

Une colonne de garde : "Bio-Sil SEC 250 guard" est placée en amont de cette colonne. Son diamètre est identique à celui de la colonne (7,8 mm), mais sa longueur est de 80 mm. Sa matrice est également composée de silice. Cette colonne possède un rôle de protection, en filtrant

les particules ou impuretés éventuellement présentes dans la phase mobile. Ce qui empêche le colmatage de la colonne et assure une parfaite reproductibilité des séparations.

Remarques :

- La température maximale d'utilisation est de 45 °C.
- La pression doit être inférieure ou égale à 1000 psi (environ 71 bars), et au maximum de 1500 psi (106 bars).

#### **2-4- Le spectrophotomètre :**

Celui utilisé est l'UVIKON 720 LC fabriqué par KONTRON. Cet appareil permet de détecter l'absorbance, de façon continue, de toutes les fractions, en sortie de colonne.

On utilise une lampe au deutérium permettant de travailler à des longueurs d'onde comprises entre 185 et 370 nm. Dans le cadre de l'expérience, il a fallu régler le spectrophotomètre à 280 nm, car à cette longueur d'onde, les acides aminés insaturés comme le tryptophane, la phénylalanine et la tyrosine, qui sont présents dans la plupart des protéines, absorbent à cette longueur d'onde. Par cette méthode, toutes les protéines sont donc détectées, en sortie de colonne, dont la prolactine (hormone protéique).

#### **2-5- L'intégrateur :**

L'intégrateur utilisé est le CR 6 A SHIMADZU fourni par TOUZART-MATIGNON. Son rôle, comme son nom l'indique, est d'intégrer, à l'aide d'une imprimante traçante, la détection faite par le spectrophotomètre, sous forme de chromatogramme en sortie de colonne.

**2-6- Le collecteur de fractions :**

Celui utilisé est le CF 20 d'EUROSAS. Son rôle est de recueillir, de manière régulière et fractionnée, ce qui est élué en sortie de colonne.

Grâce à ses différentes fonctions, il est possible, d'une part, d'ajuster à quel moment il convient de commencer et de terminer la collecte, et, d'autre part, de recueillir les fractions à intervalles de temps égaux.

**2-7- Le lyophilisateur :**

Celui utilisé est le RP 1 V fabriqué par SERAIL FRANCE. C'est un lyophilisateur à panier ne permettant de travailler que sur de faibles volumes.

Après lyophilisation, les extraits secs doivent être repris, dans des volumes de phase aqueuse préalablement définis, le plus vite possible, pour éviter une resolubilisation rapide due à l'humidité de l'air ambiant. Si cependant, ils se réhydrataient, il faudrait en tenir compte dans les volumes de reprises.

### 3- Etalonnage de la colonne :

Afin d'étalonner la colonne, on dispose d'un standard fournit par la société BIO-RAD. Ce standard est composé d'un mélange de protéines purifiées, dont le poids moléculaire est connu :

- Thyroglobuline 5 mg (poids moléculaire = 670000 daltons).
- Gammaglobuline de bovin 5 mg (PM = 158000 Da).
- Ovalbumine de poulet 5 mg (PM = 44000 Da).
- Myoglobine de cheval 2,5 mg (PM = 17000 Da).
- Cyanocobalamine (vitamine B<sub>12</sub>) 0,5 mg (PM = 1350 Da).

Ce mélange est fourni sous forme de lyophilisat, que l'on réhydrate par 500 µl d'eau distillée. Ainsi, la concentration du mélange est de 18 mg de protéines dans 0,5 ml d'eau, soit pour une injection de 20 µl, 0,72 mg de protéines (la capacité de la colonne allant jusqu'à 1,5 mg).

Ensuite, ce mélange est conservé à 4°C, pour éviter sa dégradation.

Avant sa première utilisation, on le filtre afin d'enlever les petites particules non dissoutes, susceptibles de colmater la colonne.

La phase mobile employée est un tampon phosphate de pH 6,8 composé :

- de dihydrogénophosphate de sodium NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : 0,05 M
- d'hydrogénophosphate de sodium Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 0,05 M
- de chlorure de sodium NaCl : 0,15 M
- d'azide de sodium NaN<sub>3</sub> : 0,01 M.

L'élution du standard à un débit de 1 ml/minute donne un chromatogramme (figure 11) semblable à celui de BIO-RAD (figure 10).

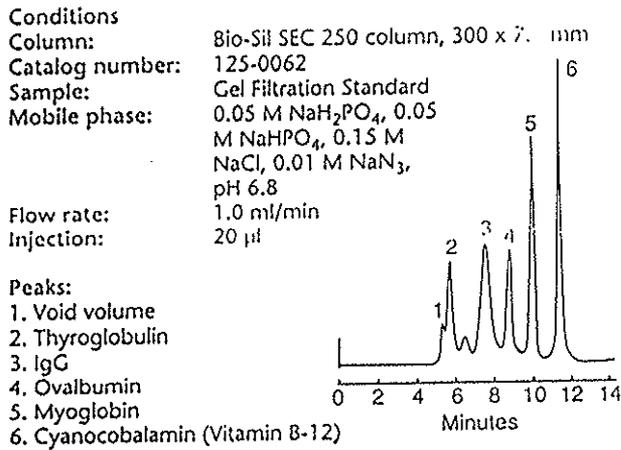


Figure 10 : Chromatogramme théorique  
du standard selon BIO-RAD.

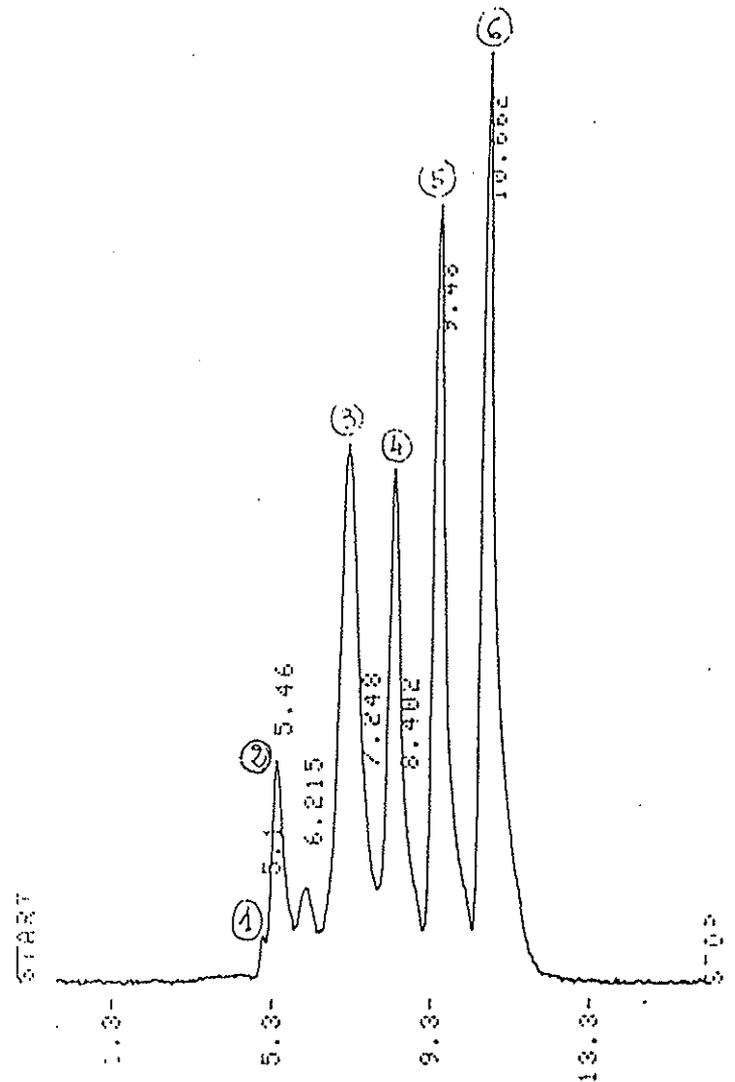


Figure 11 : Chromatogramme  
expérimental du standard.

Pour le fractionnement des sérums, on préfère travailler à un débit du tampon de 0,5 ml/minute (figure 12), afin :

- de minimiser la pression de la colonne pour préserver la matrice de silice dans un bon état de fonctionnement à long terme,
- de collecter des fractions plus petites pour réduire le risque de recueillir des molécules différentes d'éluion proche.

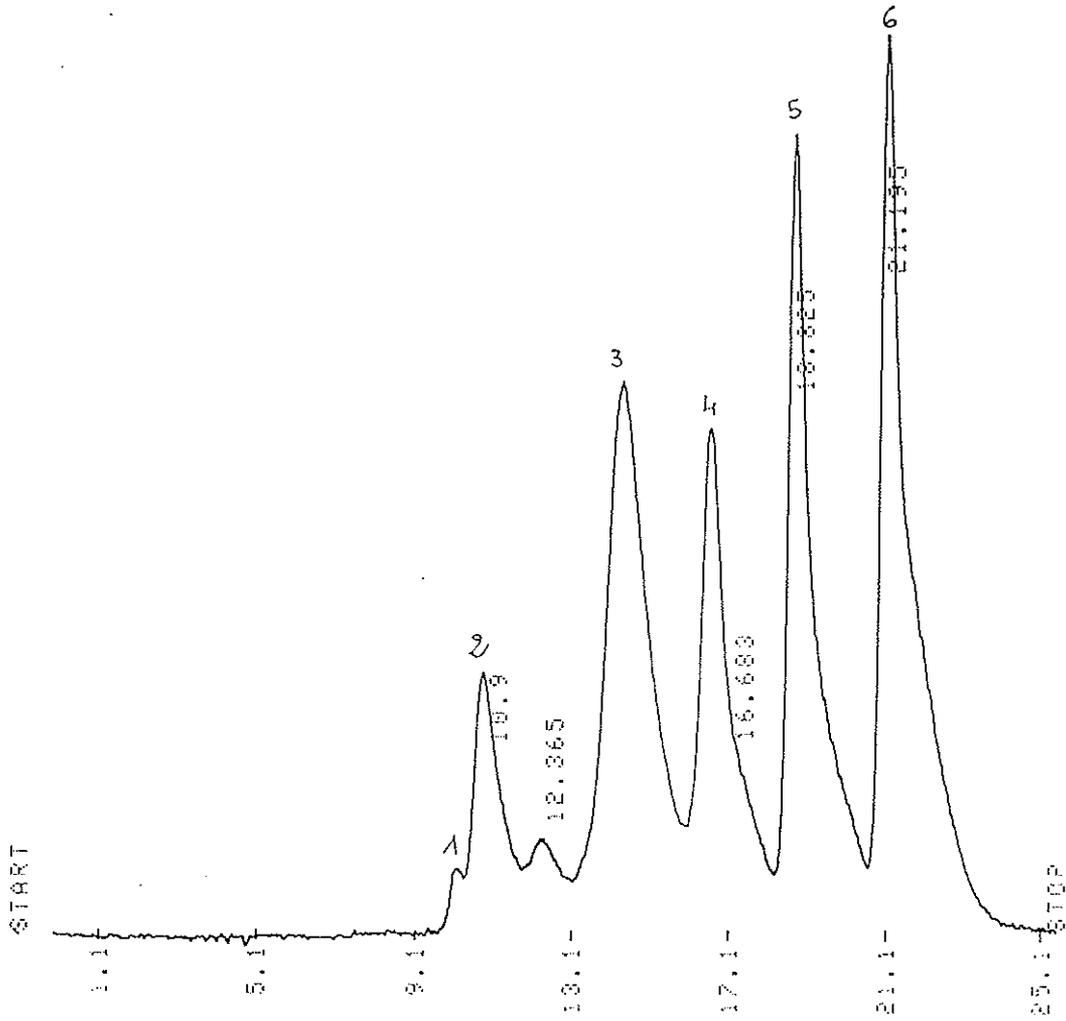


Figure 12 : Chromatogramme du standard obtenu avec un débit de 0,5 ml/minute.

## II- PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Tous les dosages ont été effectués sur des sérums humains.

### 1- Fractionnement des sérums sur colonne :

**1-1- Fabrication du tampon :** représentant la phase mobile.

Pour préparer un litre de solution on doit peser :

- 7,8 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$
- 17,9 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$
- 8,76 g de  $\text{NaCl}$
- 0,65 g de  $\text{NaN}_3$ .

Ces différents produits sont mis à solubiliser dans de l'eau distillée, sous agitation. Ensuite on ajuste le pH et on finit de compléter à un litre. Ce tampon est filtré et conservé à 4°C, en attendant son utilisation.

### 1-2- Décongélation et filtration du sérum.

Avant utilisation, le sérum subit une filtration stérilisante sur filtre millipore MILLEX SLGV 025 BS 0,22  $\mu\text{m}$ .

### 1-3- Injection :

- 1°)- de 20  $\mu\text{l}$  du mélange standard.
- 2°)- de 20  $\mu\text{l}$  de sérum.

Cette opération fut effectuée 10 fois (soit 200  $\mu\text{l}$  de sérum), afin d'obtenir une sensibilité suffisante lors du dosage de l'activité prolactinique.

### 1-4- Collection :

Les différentes fractions ont été recueillies :

- entre la 17<sup>ème</sup> et la 27<sup>ème</sup> minute, sur 20 tubes lors de l'expérience utilisant la pré-colonne.

- entre la 10<sup>ème</sup> et la 22<sup>ème</sup> minute, sur 24 tubes lors de l'expérience sans pré-colonne.

Quelque soit l'expérience, l'intervalle entre chaque fraction est de 30 secondes.

Le débit étant de 0,5 ml/minute, on recueille 0,25 ml/tube à chaque fois. L'opération étant répétée 10 fois, on a donc obtenu un volume de 2,5 ml.

#### **1-5- Congélation :**

Les différentes fractions recueillies sont congelées à - 20°C, jusqu'au moment de la lyophilisation.

#### **1-6- Lyophilisation :**

Cette opération fut effectuée pour augmenter la concentration de la prolactine dans les extraits à doser et ainsi améliorer la sensibilité du dosage.

#### **1-7- Reprise des lyophilisats :**

Immédiatement après la lyophilisation, les échantillons ont été repris en général avec 0,5 ml d'eau distillée, quelque soit la méthode de dosage ultérieurement utilisée (chimiluminescence ou RIA).

Ensuite, ces fractions ont été conservées à 4°C, puis dosées. Si le dosage n'a pu être effectué rapidement, ces fractions ont alors été congelées en attendant.

#### **1-8- Remarques :**

##### **a- Le pH du tampon :**

Celui recommandé pour la colonne est de 6,8. Cependant, la colonne peut tolérer des pH allant de 2 à 8.

Comme le pH de sérum humain est de l'ordre de 7,4 ; on a comparé le chromatogramme du standard soit à pH 6,8 (figure 13), soit à pH 7,4 (figure 14).

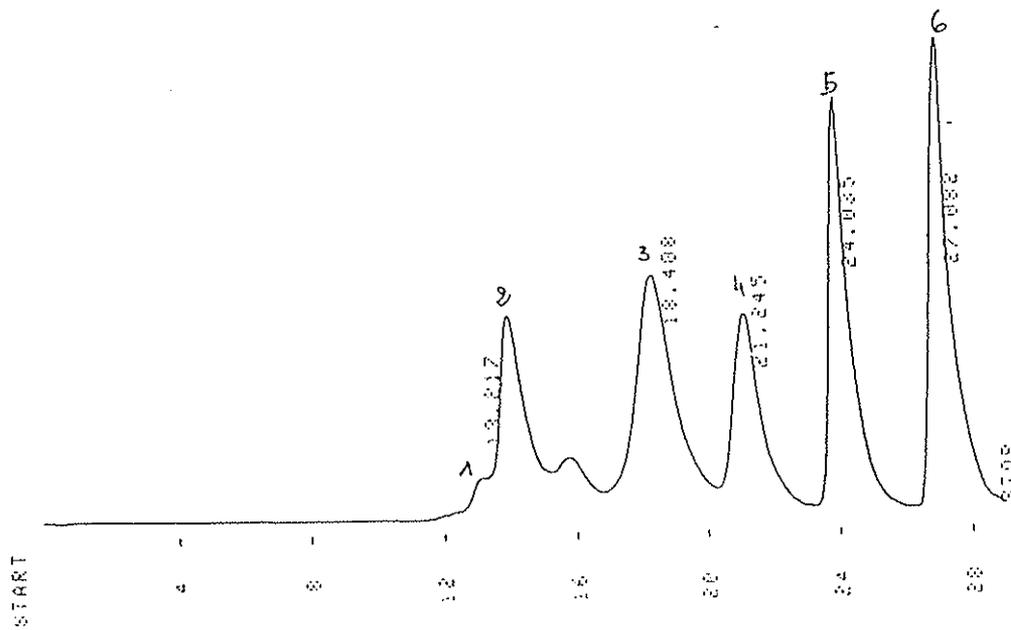


Figure 13 : Profil chromatographique du mélange étalon à pH 6,8.

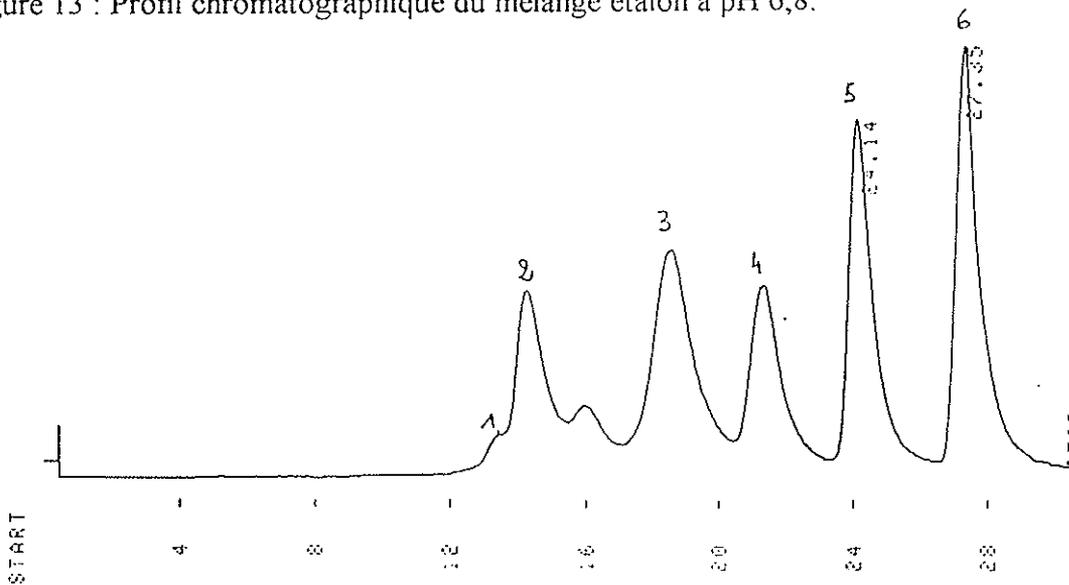


Figure 14 : Profil chromatographique du mélange étalon à pH 7,4.

On peut constater que le tracé à pH 7,4 est pratiquement superposable à celui effectué à pH 6,8. Ainsi, on a tout d'abord utilisé la colonne avec un tampon de pH 7,4. Mais, après avoir travaillé un certain temps à ce pH, l'efficacité de la colonne a décliné (figure 15). Ce phénomène peut s'expliquer par une perte d'activité de la silice à un pH supérieur à 7. C'est pourquoi, on a travaillé à pH 6,8 pour la suite des manipulations.

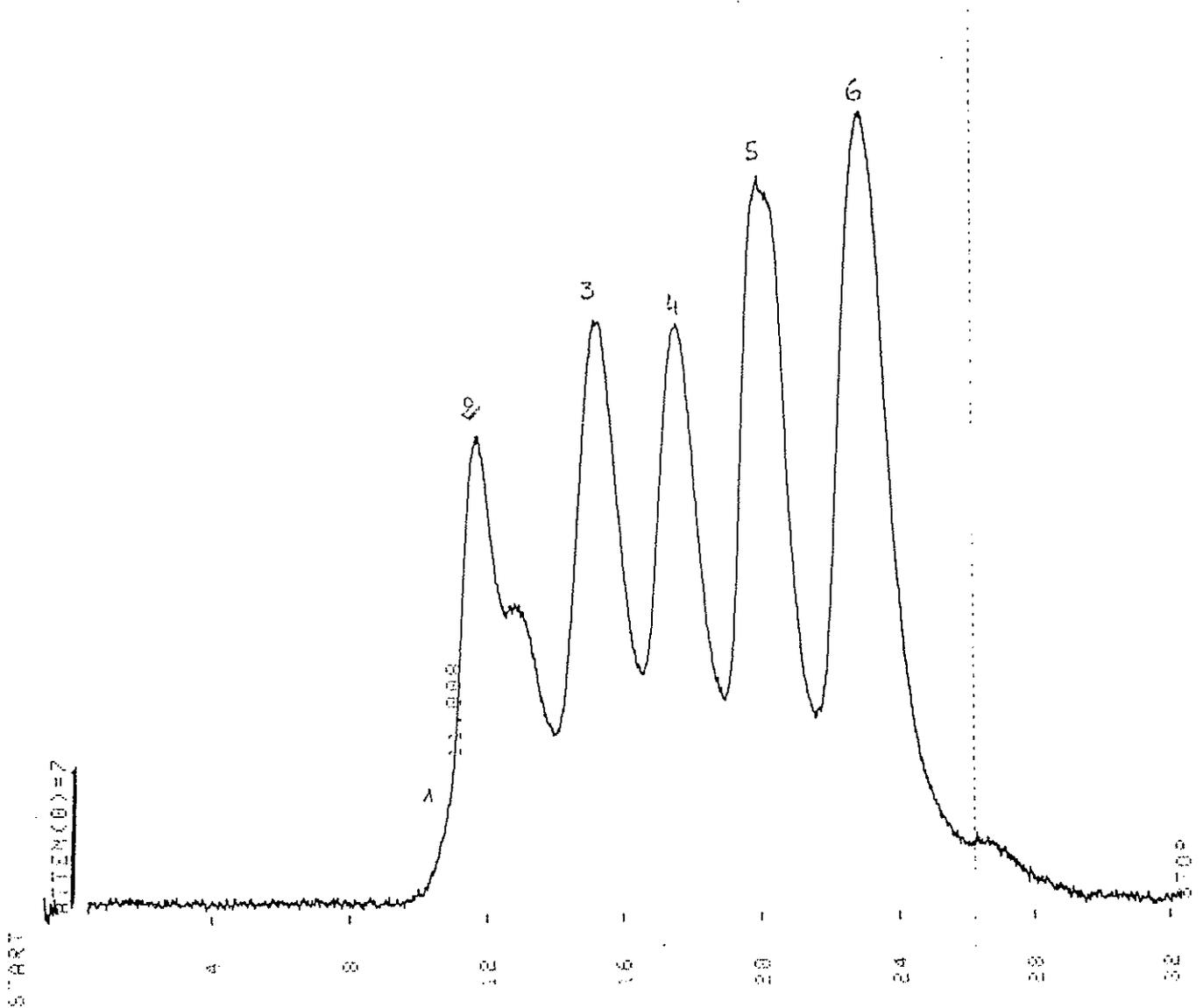


Figure 15 : Profil chromatographique du standard après altération de la colonne.

b- Détermination du temps de collection :

Les différentes formes de prolactine ont un poids moléculaire compris entre 23000 et 150000 Da environ, soit entre la myoglobine (17000 Da) et l'immunoglobuline (158000 Da) de la gamme d'étalonnage. Lorsque l'on a travaillé avec la pré-colonne, les différentes formes de

prolactine étaient éluées entre la 17<sup>ème</sup> et la 27<sup>ème</sup> minute (Figure 16). On a donc programmé le collecteur entre ces deux temps.

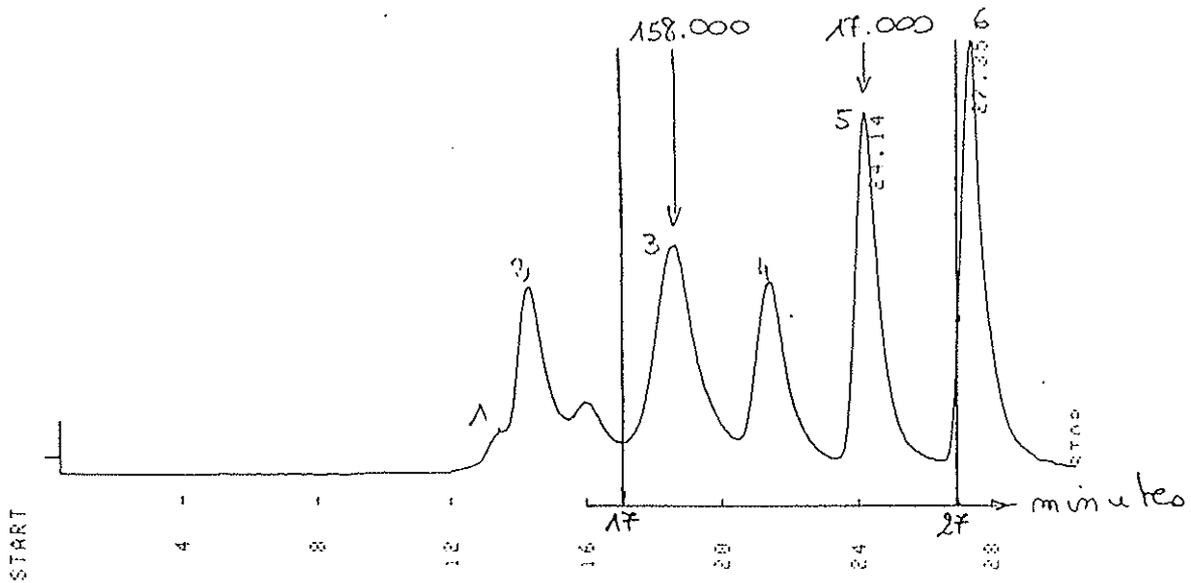


Figure 16 : Détermination du temps de collection d'après le profil chromatographique du standard.

De même, lorsque l'on a travaillé sans pré-colonne, le temps était compris entre 10 et 22 minutes.

#### c- Capacité de la colonne :

Sa capacité maximale est de 1,5 mg de protéines. Or, la teneur protéique sérique est de l'ordre de 70 g/l soit 7 mg/100  $\mu$ l. Par conséquent, on ne peut injecter dans cette colonne que 20  $\mu$ l de sérum ( $1,5 \times 100/7 = 21,4$   $\mu$ l au plus) pour être certain de ne pas saturer la colonne.

## 2- DOSAGE :

### 2-1- Par chimiluminescence :

#### 2-1-1- Principe :

Il s'agit d'un immunodosage par chimiluminescence qui s'effectue en deux étapes, utilisant des anticorps monoclonaux de souris, selon la méthode dite "sandwich". Dans un premier temps, la prolactine contenue dans l'échantillon se fixe sur un premier anticorps anti-prolactine, lui-même fixé aux parois du tube de dosage. Puis, dans un second temps, un deuxième anticorps anti-prolactine à marquage luminophore (ester d'acridinium) se lie à la prolactine précédemment immobilisée. L'excès de traceur sera éliminé. En présence d'un oxydant en milieu alcalin le traceur fixé au tube est oxydé et émet des photons mesurés par le luminomètre.

#### 2-1-2- Protocole :

Pour effectuer ce dosage on dispose :

- des tubes à essais revêtus d'anticorps anti-prolactine (anticorps monoclonal de souris) sur 7 mm, à partir du fond des tubes,
- d'un sérum de contrôle C,
- de deux calibrateurs  $K_1$  et  $K_2$ ,
- d'un tampon de dosage (ou d'incubation) utilisé pour fixer la prolactine à son anticorps spécifique sur les parois des tubes,
- d'un anticorps anti-prolactine (anticorps monoclonal de souris) conjugué à un dérivé de l'acridinium,
- d'un tampon de lavage (reconstitué avant le dosage et conservé à 4°C),
- des réactifs  $R_1$  : peroxyde d'hydrogène à 0,5% et azide de sodium 0,1 N,

$R_2$  : hydroxyde de sodium 0,25 N.

Ces différents produits représentent le kit de dosage BERILUX-Prolactine fourni par BEHRING.

- d'un agitateur horizontal : 4010 Multi-tube Vortexer de CORNING,

- et d'un luminomètre : Magic Lite Analyser de CIBA-CORNING, doté d'un calculateur traduisant les impulsions électriques en RLU (Unité relative de luminescence).

### Protocole de dosage :

On introduit 50  $\mu$ l de solution  $K_1$  dans un tube (opération effectuée deux fois). De même on prépare deux tubes avec la solution  $K_2$  et deux tubes avec le sérum C. Ensuite on met 50  $\mu$ l de sérum à doser dans le tube correspondant ; on répète cette opération autant de fois que l'on a d'échantillons à doser.

Dans tous les tubes on ajoute 200  $\mu$ l du tampon de dosage.

On laisse incuber pendant 45 minutes, sous agitation, à température ambiante (Figure 17).

Ensuite, les tubes sont vidés, puis rincés avec le tampon de lavage (1 ml/tube). (Figure 17).

Cette opération est répétée deux fois. Puis les tubes sont égouttés sur du papier absorbant.

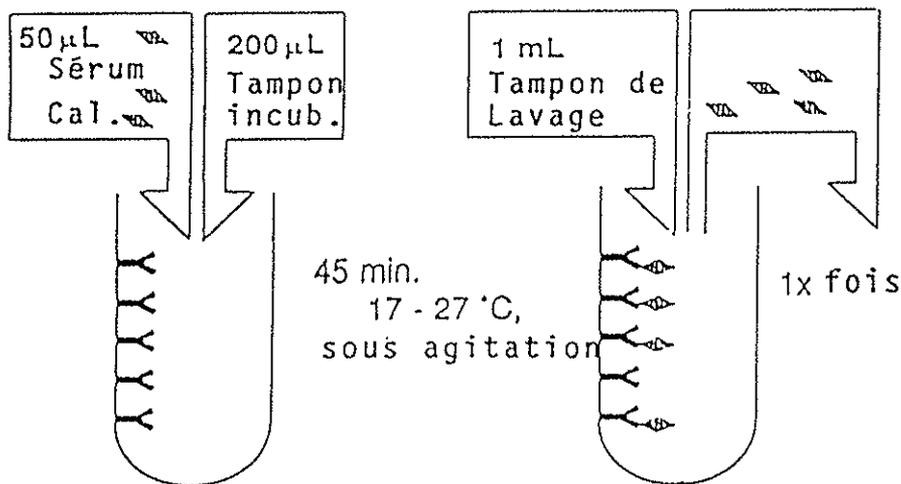


Figure 17 : Incubation avec le tampon de dosage puis rinçage.

Ensuite, les tubes sont incubés pendant 15 minutes sous agitation en présence de 200  $\mu\text{L}$  de traceur (Figure 18).

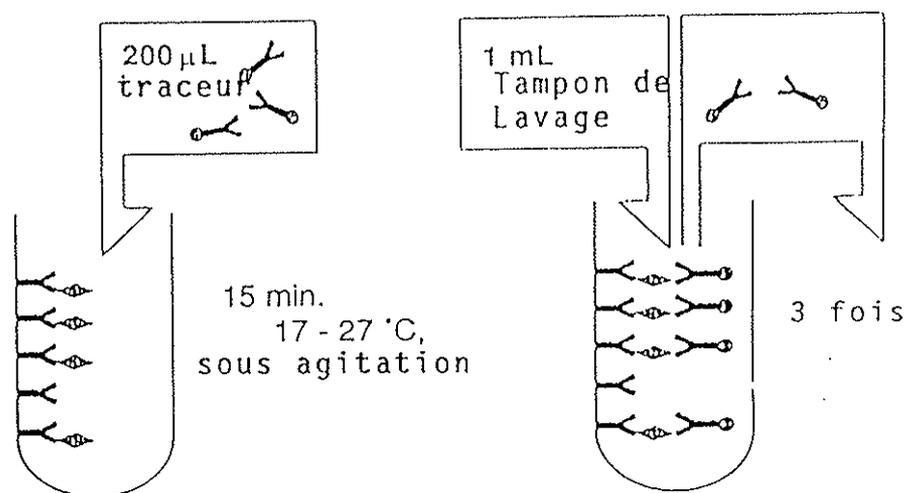


Figure 18 : Incubation avec le traceur puis rinçage.

Puis les tubes sont vidés et rincés avec du tampon de lavage. Dans ce cas, on effectue quatre rinçages (Figure 18). Après le dernier lavage, on retourne les tubes sur du papier absorbant pendant 5 à 10 minutes.

Pendant ce temps, on règle le luminomètre et on vérifie les données de la courbe standard servant à la lecture.

Les tubes sont alors introduit un à un dans le luminomètre, où 300  $\mu\text{L}$  de solution  $R_1$  et 300  $\mu\text{L}$  de solution  $R_2$  sont injectés automatiquement, déclenchant alors la réaction de chimiluminescence (Figure 19).

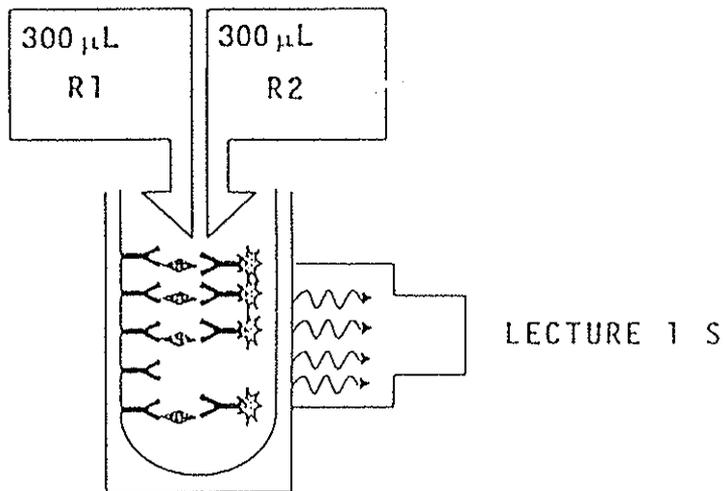


Figure 19 : Réaction de chimiluminescence et lecture.

La mesure est tout d'abord effectuée en RLU. Puis à l'aide de la courbe de référence :

$$RLU = f(\text{concentration de prolactine})$$

effectuée à partir d'une gamme de concentrations connues de prolactine, l'activité prolactinique de chaque tube est déterminée en  $\mu\text{UI/ml}$ .

### 2-2- Par RIA (Radio-Immunoassay) :

Le dosage se fait par radio-immunologie où l'on combine marqueur radioactif et immunoréaction.

Ce dosage de prolactine utilise des anticorps monoclonaux de souris dirigés contre deux épitopes différents de la molécule et réagissant sans compétition. Le dosage radioimmunologique de la prolactine est donc un dosage de type sandwich.

Dans des tubes recouverts d'un premier anticorps monoclonal, les échantillons ou les standards sont incubés en présence d'un second anticorps monoclonal marqué à l'iode 125. Après incubation, le contenu des tubes est vidé par aspiration, les tubes sont rincés pour éliminer les anticorps marqués non fixés et la radioactivité liée est mesurée par un compteur gamma

(Figure 19'). Parallèlement, une courbe étalon est établie avec les standards. Ensuite, les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de la courbe. La quantité de radioactivité est directement proportionnelle à la concentration de prolactine dans l'échantillon.

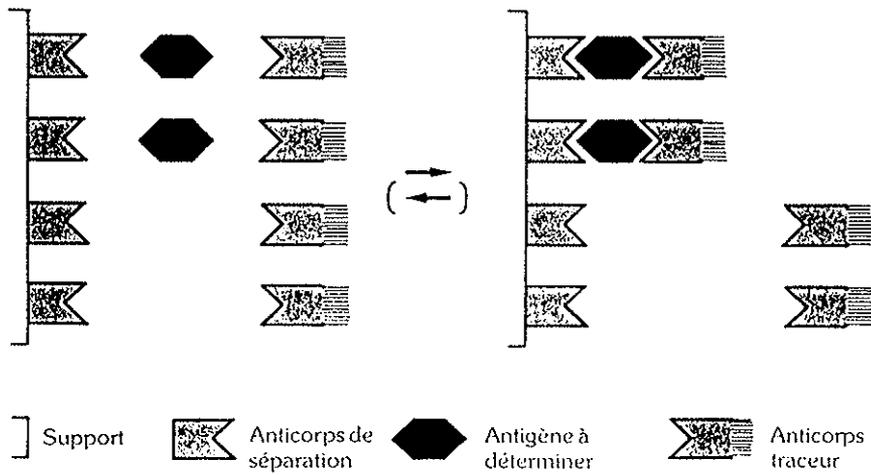


Figure 19' : Principe du dosage immunoradiométrique.

Les dosages de nos serums ont été effectués avec le protocole CIBA-CORNING au CHRU de LIMOGES et avec le protocole BEHRING à TOULOUSE.

### III- RESULTATS :

Dans un premier temps, on va comparer les résultats de prolactine sérique obtenus avec différentes méthodes. Puis, après avoir sélectionné une méthode, on va déterminer les différentes formes de prolactine sérique par chromatographie avec le protocole présenté précédemment.

#### 1- Comparaison des méthodes :

##### 1-1- Premier essai :

Cet essai consiste à comparer une technique chimiluminescente (Behring) à trois techniques RIA (Ciba-Corning, Behring et Immunotech) sur 23 échantillons sanguins, sans préjuger de l'état physiologique du patient.

Les résultats sont présentés dans le tableau I.

Cet échantillon étant de petite taille, on ne peut en tirer que certaines indications.

Il semblerait que les résultats obtenus avec un standard provenant du WHO 84/500 donnent des résultats en **masse** sensiblement équivalents (Berilux/RIA Behring = 1,02). Par contre les taux en **masse** obtenus avec le standard NCR 83562 sont très inférieurs à ceux obtenus avec ces trois méthodes (Tableau I).

Mais, si on exprime les résultats en activité prolactinique, alors on constate une plus grande homogénéité des résultats, quelque soit le standard utilisé (Tableau II). Ainsi, on obtient les rapports suivants :

- en masse (ng/ml) :

1,02 (Berilux/RIA Behring),

1,16 (Berilux/RIA Immunotech),

4,48 (Berilux/RIA Ciba-Corning).

- en activité prolactinique ( $\mu$ UI/ml), on obtient respectivement les rapports suivants :

1,02

0,82

2,59.

Tableau I : Comparaison entre différentes méthodes de dosage de la prolactine.

Méthodes	RIA CIBA-CORNING NCR 83562 1 ng/ml = 37 µUI/ml (CHRU de LIMOGES)		RIA BEHRING WHO 84/500 1 ng/ml = 21,19 µUI/ml lode 125		RIA IMMUNOTECH WHO 84/500 1 ng/ml = 30,3 µUI/ml lode 125 TOULOUSE		BERILUX WHO 84/500 1 ng/ml = 21,19 µUI/ml Magic Lite	
	ng/ml	µUI/ml	ng/ml	µUI/ml	ng/ml	µUI/ml	ng/ml	µUI/ml
1	6.1	225	14.5	306	9.9	300	13	275.5
2	23	851	71	1495	60	1818	67.7	1435
3	44	1628	92.2	1955	85	2575	110	2330
4	3.8	140	25	530	25	757	21	445
5	7	259	17	361	12	363	15.5	328
6	43	1591	124	2630	95	2878	129	2733
7	10	370	47.5	1006	47	1424	47	996
8	43	1591	82.6	1750	70	2121	57	1209
9	12	444	41.7	883	39	1181	42.9	909
10	8.2	303	19.5	413	18	545	20.9	443
11	13	481	35.1	744	33	1000	39.3	833
12	32	1184	70.5	1494	70	2121	87.5	1854
13	6.2	229	38.1	808	35	1030	44.5	943
14	30	1110	60	1271	55	1666	68.8	1458
15	2.2	81.4	70	1485	60	1818	72.5	1536
16	96	3552	183	3885	185	5605	208.2	4400
17	15	555	46.4	983	41	1242	47	996
18	5.6	207	15.8	334	12	363	15.8	334
19	4.2	155	25.1	532	23	697	23.4	496
20	14	518	37.1	787	33	1000	38.6	817
21	14	518	41.6	883	36	1091	45.7	967
22	6	222	16.7	354	13	394	16.85	357
23	11	407	33.3	706	31	939	30.8	652

Tableau II : Comparaison d'une méthode de chimiluminescence par rapport à différentes méthodes par RIA.

Rapports Echantillons	BERILUX/RIA BEHRING		BERILUX/RIA IMMUNOTECH		BERILUX/RIA CIBA	
	ng/ml	µUI/ml	ng/ml	µUI/ml	ng/ml	µUI/ml
1	0.89	0.90	1.31	0.92	2.13	1.22
2	0.95	0.96	1.13	0.80	2.94	1.69
3	1.19	1.19	1.29	0.91	2.50	1.43
4	0.84	0.84	0.84	0.59	5.53	3.18
5	0.91	0.91	1.29	0.90	2.21	1.27
6	1.04	1.04	1.36	0.95	3.00	1.72
7	0.99	0.99	1.00	0.70	4.70	2.69
8	0.69	0.69	0.81	0.57	1.33	0.76
9	1.03	1.03	1.10	0.77	3.57	2.05
10	1.07	1.07	1.16	0.81	2.55	1.46
11	1.12	1.12	1.19	0.83	3.02	1.73
12	1.24	1.24	1.25	0.87	2.73	1.57
13	1.17	1.17	1.27	0.91	7.18	4.12
14	1.15	1.15	1.25	0.87	2.29	1.31
15	1.03	1.03	1.21	0.84	32.95	18.87
16	1.14	1.13	1.12	0.78	2.17	1.24
17	1.01	1.01	1.15	0.80	3.13	1.79
18	1.00	1.00	1.32	0.92	2.82	1.61
19	0.93	0.93	1.02	0.71	5.57	3.20
20	1.04	1.04	1.17	0.82	2.76	1.58
21	1.10	1.09	1.27	0.89	3.26	1.87
22	1.01	1.01	1.30	0.91	2.81	1.61
23	0.92	0.92	0.99	0.69	2.80	1.60
Moyenne	1.02	1.02	1.16	0.82	4.48	2.59

**En conséquence, on peut déjà dire que tout résultat de prolactine devrait être exprimé en  $\mu\text{UI/ml}$ .**

**1-2- Deuxième essai sur un échantillon de grande taille :**

L'échantillon précédant étant de trop petite taille, on a réalisé une autre comparaison sur un grand échantillon (94 patients) avec deux méthodes RIA (CIBA-CORNING, DPC) et une méthode chimiluminescente (BEHRING).

Les résultats exprimés, soit en ng/ml, soit en  $\mu\text{UI/ml}$  sont présentés dans le tableau III.

On constate que si l'on compare, soit BEHRING à CIBA, soit DPC à CIBA, les résultats obtenus avec la méthodologie CIBA sont toujours inférieurs à ceux obtenus avec les méthodologies BEHRING ou DPC, quelque soit le mode d'expression des résultats. Ce qui confirme les tendances observées dans le premier essai.

Ce qui indique d'une part que ces deux méthodes (RIA DPC, Behring, et chimiluminescence Behring) sont comparables, et d'autre part que seule l'expression des résultats en  $\mu\text{UI/ml}$  est valable.

En outre, cet essai nous a permis de sélectionner une méthodologie non radioactive utilisable dans notre laboratoire, pour réaliser le profil prolactinique de sérum de différents patients. Dans la suite du travail on utilisera la technique dont la réalisation est décrite dans le protocole de dosage.

Tableau III : Tableau comparatif des dosages de prolactine par différentes méthodes ou par différents étalons.

Tubes	CIBA		BEHRING		DPC		Rapport Behring/Ciba		Rapport DPC/Ciba		Rapport Behring/DPC	
	NRC83562 1ng/ml=37µl/ml		WH084/500 1ng/ml=21,19µl/ml		WH084/500 1ng/ml=26µl/ml		RIA		RIA		RIA	
	ng/ml	µl/ml	ng/ml	µl/ml	ng/ml	µl/ml	ng/ml	µl/ml	ng/ml	µl/ml	ng/ml	µl/ml
1	27	999	65.9	1396	64.9	1687	2.44	1.4	2.4	1.69	1.02	0.83
3	13	481	50.6	1072	35.5	923	3.89	2.23	2.73	1.92	1.43	1.16
4	7.9	292	27	572	20.9	543	3.42	1.96	2.65	1.86	1.29	1.05
5	15	555	43.1	913	34.8	905	2.87	1.65	2.32	1.63	1.24	1.01
6	1.2	44	3.6	76	3.2	83	3	1.72	2.67	1.87	1.13	0.92
7	1.9	70	5	106	5.5	143	2.63	1.51	2.89	2.03	0.91	0.74
8	11	407	33.6	712	24.4	634	3.05	1.75	2.22	1.56	1.38	1.12
9	14	518	45.4	962	31	806	3.24	1.86	2.21	1.56	1.46	1.19
10	15	555	49.5	1049	38.3	996	3.3	1.89	2.55	1.79	1.29	1.05
11	2.7	100	8.9	189	7.1	185	3.3	1.89	2.63	1.85	1.25	1.02
12	61	2257	206	4365	140.4	3650	3.38	1.93	2.3	1.62	1.47	1.2
13	18	666	62.3	1320	42.9	1115	3.46	1.98	2.38	1.67	1.45	1.18
14	12	444	27.4	581	20.1	523	2.28	1.31	1.66	1.18	1.36	1.11
15	29	1073	104.3	2210	74.9	1947	3.6	2.06	2.56	1.81	1.39	1.13
16	9.4	348	26.4	559	20.9	543	2.81	1.61	2.22	1.56	1.26	1.03
17	7.6	281	24.4	517	18.2	473	3.21	1.84	2.39	1.68	1.34	1.09
18	6.7	248	23.8	504	18.2	473	3.55	2.03	2.72	1.91	1.31	1.07
19	12	444	39.8	843	26.4	686	3.32	1.9	2.2	1.55	1.51	1.23
20	16	592	41	869	35.9	933	2.56	1.47	2.24	1.58	1.14	0.93
21	14	518	39.9	845	31.6	822	2.85	1.63	2.26	1.59	1.26	1.03
22	24	888	61.8	1310	47.5	1235	2.58	1.47	1.98	1.39	1.3	1.06
23	5.3	196	15	318	11.4	296	2.83	1.62	2.15	1.51	1.32	1.07
24	6.2	229	18.1	384	13.5	351	2.92	1.67	2.18	1.53	1.34	1.09
25	11	407	31.3	663	23.2	603	2.85	1.63	2.11	1.48	1.35	1.1
26	4.9	181	14.6	309	12	312	2.98	1.71	2.45	1.72	1.22	0.99
29	3.1	115	9.7	206	7.8	203	3.13	1.79	2.52	1.77	1.24	1.01
30	21	777	58.5	1240	43.7	1136	2.79	1.6	2.08	1.46	1.34	1.09
31	40	1480	147.3	3121	96.8	2517	3.68	2.11	2.42	1.7	1.52	1.24
34	25	925	85.8	1818	56.4	1466	3.43	1.97	2.26	1.59	1.45	1.24
35	7.9	292	20.9	443	14.4	374	2.65	1.52	1.82	1.28	1.52	1.22
36	29	1073	95.3	2019	63.7	1656	3.29	1.88	2.2	1.54	1.5	1.22
37	30	1110	78.7	1668	61.2	1591	2.62	1.5	2.04	1.43	1.29	1.05
38	26	962	83.4	1767	63.4	1648	3.21	1.84	2.44	1.71	1.32	1.07
39	11	407	29.8	631	31.8	827	2.71	1.55	2.89	2.03	0.94	0.76
40	6.8	252	23.5	498	20.2	525	3.46	1.98	2.97	2.09	1.16	0.95
41	53	1961	167.6	3551	133.3	3466	3.16	1.81	2.52	1.77	1.26	1.02
42	20	740	70.3	1490	50.3	1308	3.52	2.01	2.52	1.77	1.4	1.14
43	41	1517	152.8	3238	114.1	2967	3.73	2.13	2.78	1.96	1.34	1.09
44	44	1628	158.9	3367	115.4	3000	3.61	2.07	2.62	1.84	1.38	1.12
45	7.1	263	25.5	540	20.4	530	3.59	2.06	2.87	2.02	1.25	1.02
46	59	2183	174.7	3702	142.9	3715	2.96	1.7	2.42	1.7	1.22	1
47	8.5	315	27.9	591	22.4	582	3.28	1.88	2.64	1.85	1.25	1.02

Tableau III : Tableau comparatif des dosages de prolactine par différentes méthodes ou par différents étalons.

Tubes	CIBA		BEHRING		DPC		Rapport Behring/Ciba		Rapport DPC/Ciba		Rapport Behring/DPC	
	NRC83562 RIA	ng/ml	WH084500 Chimiluminescence	µl/1ml	WH084500 RIA	µl/1ml	ng/ml	µl/1ml	ng/ml	µl/1ml	ng/ml	µl/1ml
1	27	999	65.9	1396	64.9	1687	2.44	1.4	2.4	1.69	1.02	0.83
3	13	481	50.6	1072	35.5	923	3.89	2.23	2.73	1.92	1.43	1.16
4	7.9	292	27	572	20.9	543	3.42	1.96	2.65	1.86	1.29	1.05
5	15	555	43.1	913	34.8	905	2.87	1.65	2.32	1.63	1.24	1.01
6	1.2	44	3.6	76	3.2	83	3	1.72	2.67	1.87	1.13	0.92
7	1.9	70	5	106	5.5	143	2.63	1.51	2.89	2.03	0.91	0.74
8	11	407	33.6	712	24.4	634	3.05	1.75	2.22	1.56	1.38	1.12
9	14	518	45.4	962	31	806	3.24	1.86	2.21	1.56	1.46	1.19
10	15	555	49.5	1049	38.3	996	3.3	1.89	2.55	1.79	1.29	1.05
11	2.7	100	8.9	189	7.1	185	3.3	1.89	2.63	1.85	1.25	1.02
12	61	2257	206	4365	140.4	3650	3.38	1.93	2.3	1.62	1.47	1.2
13	18	666	62.3	1320	42.9	1115	3.46	1.98	2.38	1.67	1.45	1.18
14	12	444	27.4	561	20.1	523	2.28	1.31	1.68	1.18	1.36	1.11
15	29	1073	104.3	2210	74.9	1947	3.6	2.06	2.58	1.81	1.39	1.13
16	9.4	348	24.4	559	20.9	543	2.81	1.61	2.22	1.56	1.26	1.03
17	7.6	281	26.4	517	18.2	473	3.21	1.84	2.39	1.68	1.34	1.09
18	6.7	248	23.8	504	18.2	473	3.55	2.03	2.72	1.91	1.31	1.07
19	12	444	39.8	843	26.4	696	3.32	1.9	2.2	1.55	1.51	1.23
20	16	592	41	869	35.9	933	2.56	1.47	2.24	1.58	1.14	0.93
21	14	518	39.9	845	31.6	822	2.85	1.63	2.26	1.59	1.26	1.03
22	24	888	61.8	1310	47.5	1235	2.58	1.47	1.98	1.39	1.3	1.06
23	5.3	196	15	318	11.4	296	2.83	1.62	2.15	1.51	1.32	1.07
24	6.2	229	18.1	384	13.5	351	2.92	1.67	2.18	1.53	1.34	1.09
25	11	407	31.3	663	23.2	603	2.85	1.63	2.11	1.48	1.35	1.1
26	4.9	181	14.6	309	12	312	2.98	1.71	2.45	1.72	1.22	0.99
29	3.1	115	9.7	206	7.8	203	3.13	1.79	2.52	1.77	1.24	1.01
30	21	777	58.5	1240	43.7	1136	2.79	1.6	2.08	1.46	1.34	1.09
31	40	1480	147.3	3121	96.8	2517	3.68	2.11	2.42	1.71	1.52	1.24
34	25	925	85.8	1818	56.4	1466	3.43	1.97	2.26	1.69	1.52	1.24
35	7.9	292	20.9	443	14.4	374	2.65	1.52	1.82	1.28	1.45	1.18
36	29	1073	95.3	2019	63.7	1656	3.29	1.88	2.2	1.54	1.45	1.22
37	30	1110	78.7	1668	61.2	1591	3.21	1.5	2.04	1.43	1.29	1.05
38	26	962	83.4	1767	63.4	1648	3.21	1.84	2.44	1.71	1.32	1.07
39	11	407	29.8	631	31.8	827	2.71	1.55	2.89	2.03	0.94	0.76
40	6.8	252	23.5	498	20.2	525	3.46	1.98	2.97	2.09	1.16	0.95
41	53	1961	167.6	3551	133.3	3466	3.16	1.81	2.52	1.77	1.26	1.02
42	20	740	70.3	1490	50.3	1308	3.52	2.01	2.52	1.77	1.26	1.02
43	41	1517	152.8	3238	114.1	2967	3.73	2.13	2.78	1.96	1.34	1.09
44	44	1628	158.9	3367	115.4	3000	3.61	2.07	2.62	1.84	1.38	1.12
45	7.1	263	25.5	540	20.4	530	3.59	2.06	2.87	2.02	1.25	1.02
46	59	2183	174.7	3702	142.9	3715	2.96	1.7	2.42	1.7	1.22	1
47	31.5	315	27.9	591	22.4	582	3.28	1.88	2.64	1.86	1.25	1.02
48	9.8	363	30.9	655	21.9	569	3.15	1.81	2.23	1.57	1.41	1.15
49	15	555	50.5	1070	39.9	1037	3.37	1.93	2.66	1.87	1.27	1.03
51	10	370	34.4	729	24.3	632	3.44	1.97	2.43	1.71	1.42	1.03
52	6.6	244	17.9	379	14.1	367	2.71	1.55	2.14	1.55	1.27	1.03
53	23	851	70.6	1496	50.9	1323	3.07	1.76	2.21	1.56	1.39	1.13
54	24	888	77.9	1651	58.1	1511	3.25	1.86	2.42	1.7	1.34	1.09
55	13	461	49.6	1031	39.9	1037	3.82	2.19	3.07	2.16	1.24	1.01
56	8.1	300	22.2	470	19.8	515	2.74	1.57	2.44	1.72	1.12	0.91
57	12	444	35.5	752	30.5	793	2.96	1.69	2.54	1.79	1.16	0.95
58	8.7	322	23.9	506	20.2	525	2.75	1.57	2.32	1.63	1.18	0.96
59	2.7	100	7.4	157	6.55	170	2.74	1.57	2.43	1.7	1.13	0.92
60	18	666	47.2	1000	41.9	1089	2.62	1.5	2.33	1.64	1.13	0.92
61	6.7	248	17.5	371	14.1	367	2.61	1.41	2.1	1.48	1.24	1.01
62	4.1	152	9.4	199	8.66	230	2.29	1.31	2.16	1.52	1.06	0.86
63	31	1147	91.7	1943	75.3	1958	2.96	1.69	2.43	1.71	1.22	0.99
64	23	851	63.3	1341	54.9	1427	2.75	1.58	2.39	1.68	1.15	0.94
65	3.7	137	9.58	203	9.43	245	2.59	1.48	2.55	1.79	1.02	0.83
66	2.7	999	69.8	1479	68.6	1734	2.59	1.48	2.54	1.79	1.02	0.83
67	2.8	104	5.05	107	5.98	155	1.8	1.03	2.14	1.5	0.84	0.69
68	8.5	315	27.3	578	23.4	608	3.21	1.84	2.75	1.93	1.17	0.95
69	11	407	47.3	1002	34.1	887	4.3	2.46	3.1	2.18	1.39	1.13
70	7.3	270	35.7	756	26.2	881	4.89	2.8	3.59	2.52	1.36	1.11
71	17	629	53.4	1132	47.9	1245	3.14	1.8	2.82	1.98	1.11	0.91
72	0.27	10	1.6	34	0.9	23	5.93	3.39	3.33	2.34	1.78	1.45
73	9.9	366	27.1	574	22.9	595	2.74	1.57	2.31	1.63	1.18	0.96
74	21	777	66.8	1415	60.2	1565	3.18	1.82	2.87	2.01	1.11	0.9
75	2.5	93	6.47	137	6.54	170	2.59	1.48	2.62	1.84	0.99	0.81
76	14	518	33.2	704	30.7	798	2.37	1.36	2.19	1.54	1.08	0.88
77	2.7	100	7.74	164	7.76	202	2.87	1.64	2.87	2.02	1.18	0.96
78	5.7	211	18.6	394	15.8	411	3.03	1.73	2.77	2.02	1.18	0.96
79	2.2	814	66.6	1411	67	1742	3.03	1.73	3.05	2.14	1.29	0.99
81	2.3	851	63.6	1348	58.1	1511	2.77	1.58	2.53	1.78	1.09	0.89
82	2.4	89	6.65	141	5.35	139	2.77	1.51	2.23	1.57	1.24	1.01
83	3.3	122	8.68	184	8.79	229	2.63	1.51	2.66	1.87	0.99	0.8
84	4.3	159	11.94	253	11.9	309	2.78	1.59	2.77	1.94	1	0.82
85	3.3	1221	92.1	1952	79.7	2072	2.79	1.6	2.42	1.7	1.16	0.94
86	16	592	42.3	896	39.3	1022	2.65	1.52	2.46	1.73	1.08	0.88
87	3.2	1184	92.9	1969	82.3	2140	2.9	1.66	2.57	1.81	1.13	0.92
88	15	555	39.6	839	36.3	944	2.64	1.51	2.42	1.7	1.09	0.89
89	4.3	159	11	233	11.8	307	2.56	1.47	2.74	1.93	0.93	0.76
90	7.2	266	24.2	513	21.8	567	3.36	1.92	3.03	2.13	1.11	0.9
91	5.6	207	16.5	350	14.7	382	2.95	1.69	2.63	1.84	1.12	0.91
92	5.2	192	15	318	14.2	369	2.88	1.66	2.73	1.66	1.06	0.86
93	61	2257	152.1	3223	137.2	3567	2.49	1.43	2.25	1.58	1.11	0.9
94	3.5	130	9.16	194	8.75	228	2.62	1.5	2.5	1.76	1.05	0.85
95	3.4	126	7.83	166	10	260	2.3	1.32	2.94	2.07	1.21	0.99
96	3.4	1258	116.6	2471	96.2	2501	3.43	1.96	2.83	2.07	1.21	0.99
97	5.3	196	15.7	333	15.9	413	2.96	1.7	3	2.11	0.99	0.8
98	4.3	159	15.2	322	16.7	434	2.96	1.7	3	2.11	0.99	0.8
99	5.7	2109	195.2	4136	144.3	3752	3.42	1.96	3.88	2.73	1.35	1.1
100	4	148	12	254	11.6	302	3	1.72	2.9	2.04	1.03	0.84
101	6.4	237	24	509	24	624	3.75	2.15	3.75	2.64	1	0.82
			Moyenne				3.06	1.75	2.54	1.78	1.21	0.99

Erreurs

est alors de 22,42 ng soit 186,83 ng/ml (22,42/0,12). Ainsi le pourcentage de prolactine séparée lors de la chromatographie par rapport à la prolactine sérique est de  $186,83/250 \times 100 = 74,7\%$ .

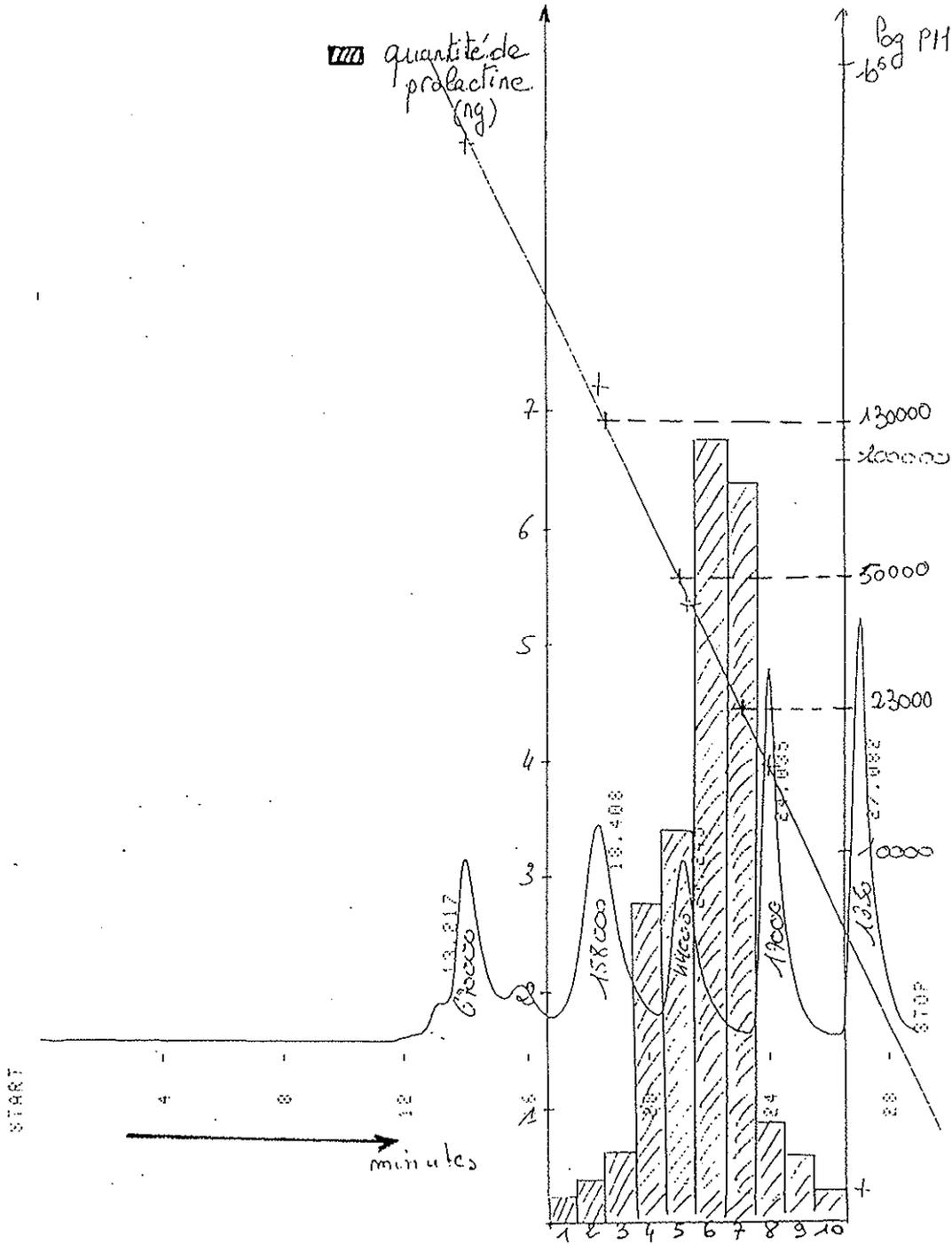


Figure 21 : Histogramme du sérum de femme enceinte sur 10 tubes. 

Dans un second temps, on a effectué un fractionnement sur 20 tubes, toujours collectés entre la 17<sup>ème</sup> et la 27<sup>ème</sup> minute, mais avec un intervalle de 30 secondes. 10 injections successives furent effectuées soit au total 200 µl (Figure 22). Le taux de prolactine total mesuré est de 38,33 ng soit 191,65 ng/ml. Le pourcentage de prolactine éluée par rapport à la prolactine totale du sérum de femme enceinte est alors de 76,6%.

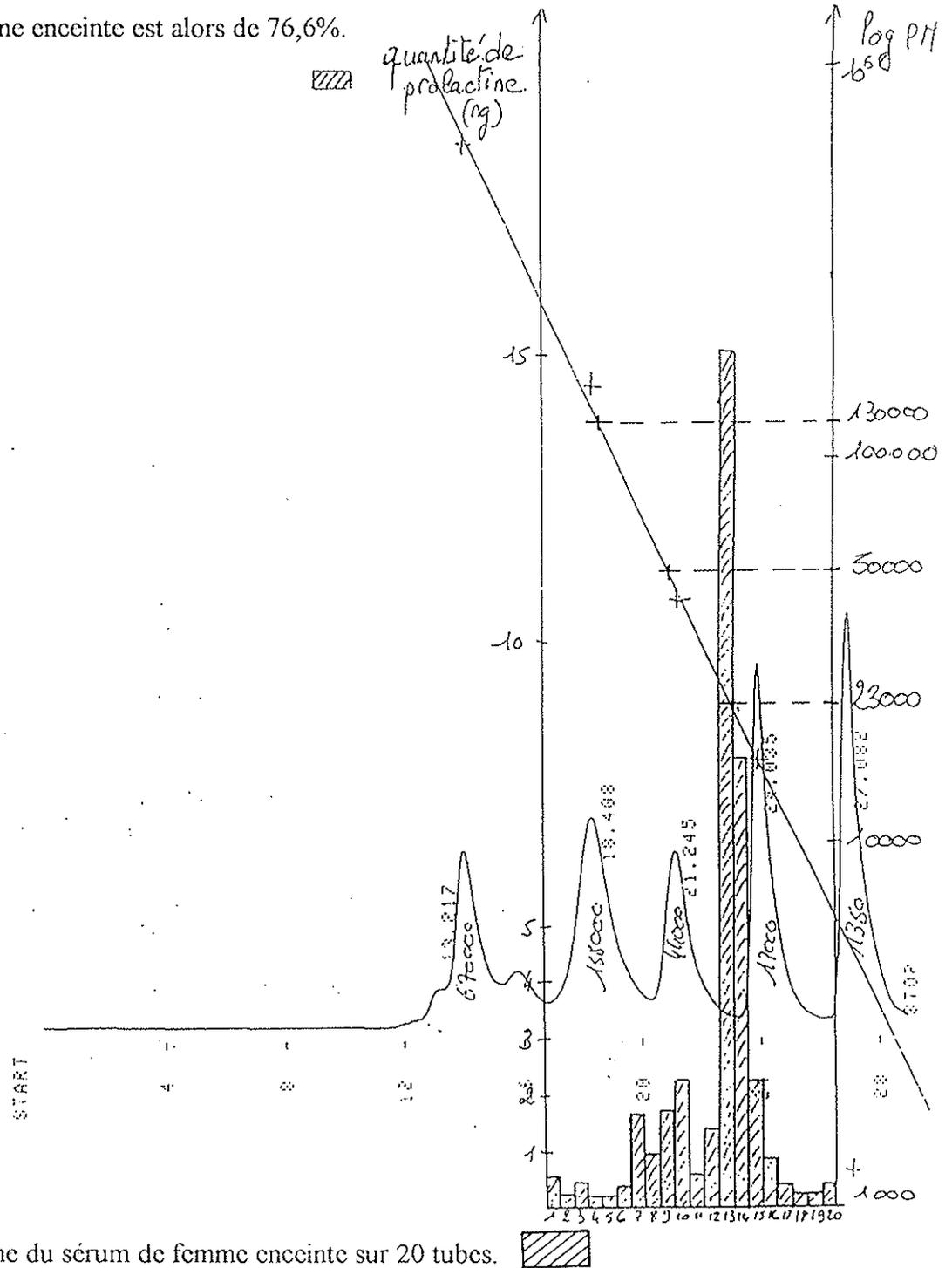


Figure 22 : Histogramme du sérum de femme enceinte sur 20 tubes.

Pour ces deux séries, le dosage a été effectué dans les mêmes conditions.

On peut observer que la différenciation entre les formes prolactiniques est plus nette lorsque l'on utilise un intervalle de fraction de 30 secondes (Figure 22) plutôt qu'un intervalle d'une minute (Figure 21). C'est pourquoi lors des études à venir, avec des sérums d'autres patients, on effectuera une collection avec un intervalle de 30 secondes, et ceci quelque soit la durée de collection.

## **2-2- Patient n°2 :**

Il s'agit d'un garçon âgé de 17 ans, dont l'hyperprolactinémie fut découverte deux ans auparavant alors qu'il consultait pour un problème de surpoids. Un premier bilan hormonal avait montré une hyperprolactinémie à 80, puis à 120 ng/ml.

Ce patient ne présente pas de céphalées, ni de troubles visuels, ni de galactorrhée, ni de signes d'hypothyroïdie.

Pour ce garçon on a disposé de 2 sérums prélevés à des époques différentes : l'un en juillet 1994 alors que ce patient prenait de la bromocriptine et l'autre en novembre 1994, après avoir arrêté ce traitement en septembre.

Pour ce patient qui présente en définitive peu de signes cliniques, on va chercher s'il n'existerait pas une macroprolactinémie ; c'est pourquoi on va étudier deux sérums prélevés dans des conditions différentes.

### 2-2-1- Prélèvement de juillet 1994 :

A cette date le patient prenait 15 mg de Parlodel<sup>®</sup> (bromocriptine) par jour.

On a effectué un fractionnement de ce sérum pour déterminer le pourcentage des diverses formes de prolactine. Pour simplifier l'expression des résultats, ce sérum a été nommé Sérum A.

Ainsi, on a tout d'abord réalisé une injection de standard, puis 10 injections successives de 20  $\mu\text{l}$  (soit 200  $\mu\text{l}$ ), collectées sur 20 tubes numérotés de  $A_0$  à  $A_{19}$ , entre la 17<sup>ème</sup> et la 27<sup>ème</sup> minute.

Lors du passage de ce sérum on a obtenu le profil chromatographique suivant (Figure 23) :

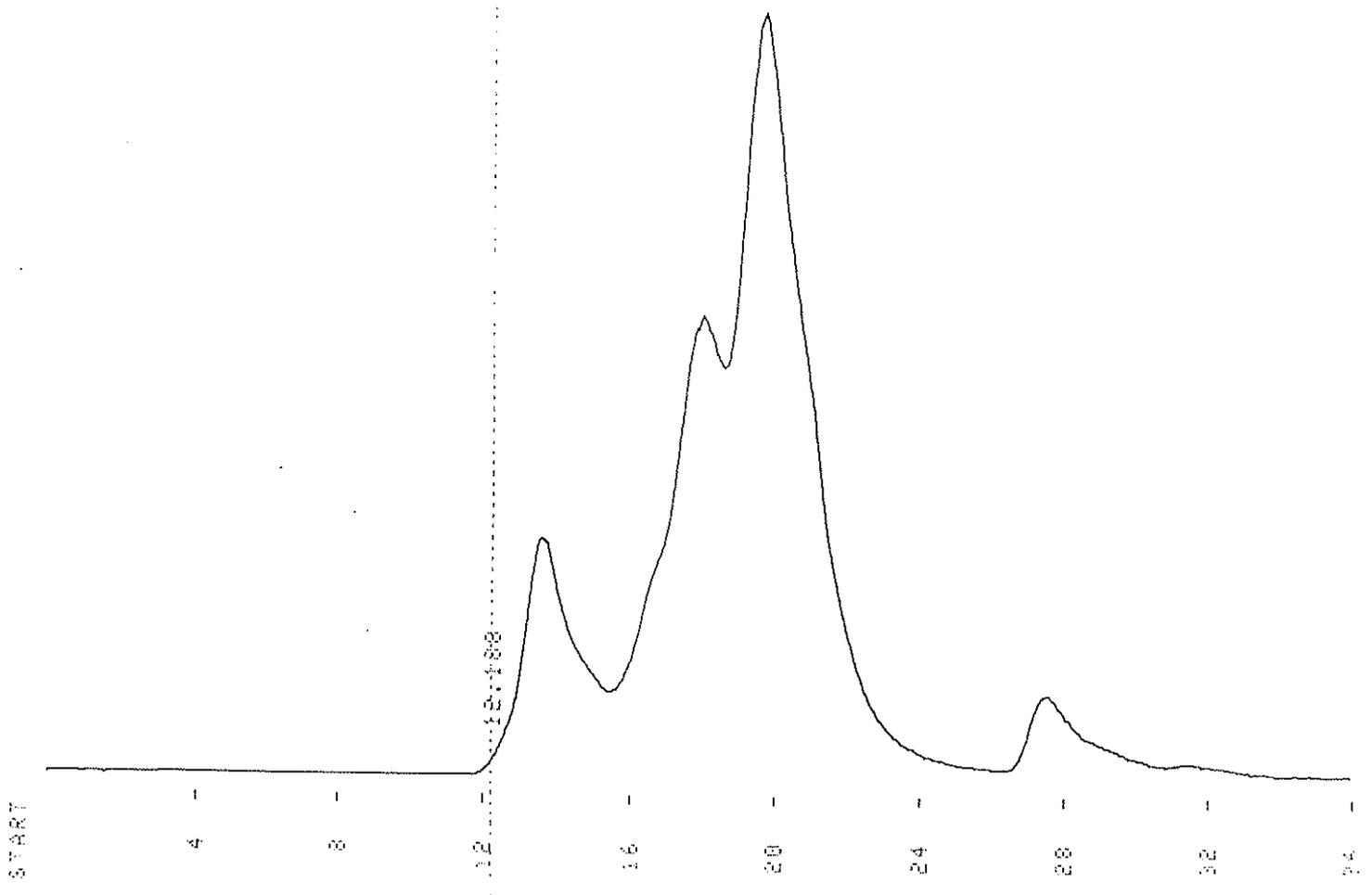


Figure 23 : Profil chromatographique du sérum A.

Ensuite on a effectué le dosage par chimiluminescence, d'où les résultats suivants :

Tableau IV : Dosage prolactinique par chimiluminescence des différentes fractions du sérum A.

Tubes n°	μUI/ml/tube	μUI/ml sérum	ng/ml/tube	ng/ml sérum	activité prolactinique en %
A0	9	21.65	0.41	1.02	1.13
A1	8	20.45	0.39	0.97	1.06
A2	6	14.93	0.28	0.70	0.78
A3	12	30.74	0.58	1.45	1.60
A4	16	40.96	0.77	1.93	2.13
A5	24	59.16	1.12	2.79	3.08
A6	35	88.52	1.67	4.18	4.61
A7	47	116.88	2.21	5.52	6.08
A8	46	114.12	2.15	5.39	5.94
A9	50	124.39	2.35	5.87	6.47
A10	70	173.96	3.28	8.21	9.05
A11	129	322.39	6.09	15.22	16.78
A12	96	239.31	4.52	11.30	12.46
A13	61	151.63	2.86	7.16	7.89
A14	49	121.55	2.29	5.74	6.33
A15	33	83.32	1.57	3.93	4.34
A16	27	67.10	1.27	3.17	3.49
A17	23	57.70	1.09	2.72	3.00
A18	15	38.52	0.73	1.82	2.00
A19	14	33.94	0.64	1.60	1.77
<b>TOTAL</b>	<b>768</b>	<b>1921.19</b>	<b>36.27</b>	<b>90.68</b>	<b>100.00</b>
<b>sérum total A</b>		<b>766.35</b>		<b>36.17</b>	

A l'aide de ces résultats, on a réalisé un histogramme où la concentration prolactinique (en ng/ml) est donnée en fonction de chaque fraction recueillie (n° de tube). Figure 24.

Concentration  
de prolactine  
en mg/ml

Pog P17

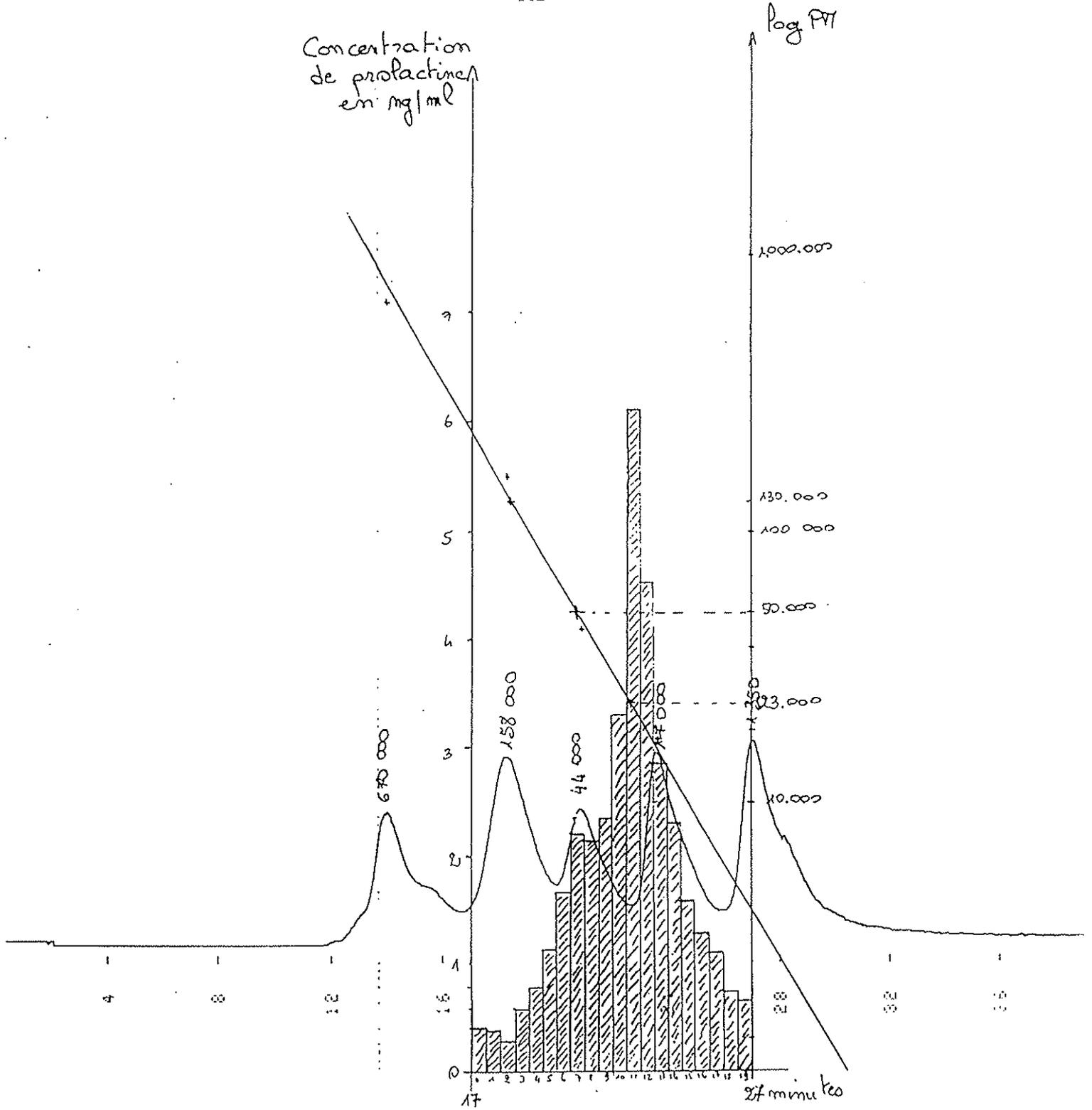


Figure 24 : Histogramme du sérum A sur 20 tubes.



On peut observer un pic important vers 20000 daltons, poids moléculaire de la little-prolactine, dont le pourcentage représente 52,65%. Par ailleurs, la forme big représente 19,71% et la forme big-big 6,70%.

Le dosage par RIA (CIBA) effectué sur sérum total A était de 29 ng/ml alors que par chimiluminescence (Behring) le résultat est de 36,2 ng/ml, soit un rapport de 1,25. Ce qui confirme les résultats précédents, c'est-à-dire que les résultats de CIBA sont inférieurs aux résultats des autres méthodes. On peut constater aussi que l'activité prolactinique recueillie sur la colonne est de 2,5 fois plus élevée que celle du sérum total.

Ce patient a arrêté son traitement de Parlodel<sup>®</sup> en septembre, en vue des examens qu'il a eu à effectuer au mois de novembre.

#### 2-2-2- Prélèvement de novembre 1994 :

On a cherché s'il existait une différence entre le sérum précédent où le patient était traité, et ce sérum où le traitement a été suspendu depuis un mois.

Le taux de prolactine de ce sérum effectué par dosage RIA (CIBA) est de 35 ng/ml.

Par ailleurs ce patient a subi un test TRH-métoclopramide dont les résultats sont donnés ci-dessous :

Temps (en minutes)	Taux de prolactine (en ng/ml)	
-15	36	
0	35	← TRH
15	40	
30	40	
60	37	← Métoclopramide
75	69	
90	61	
120	48	

Ce test montre une faible réponse aux stimulations, ce qui est en faveur d'un adénome à prolactine.

Comme pour le sérum de juillet, on a effectué une chromatographie afin de fractionner les différentes formes de prolactine (Figure 25).

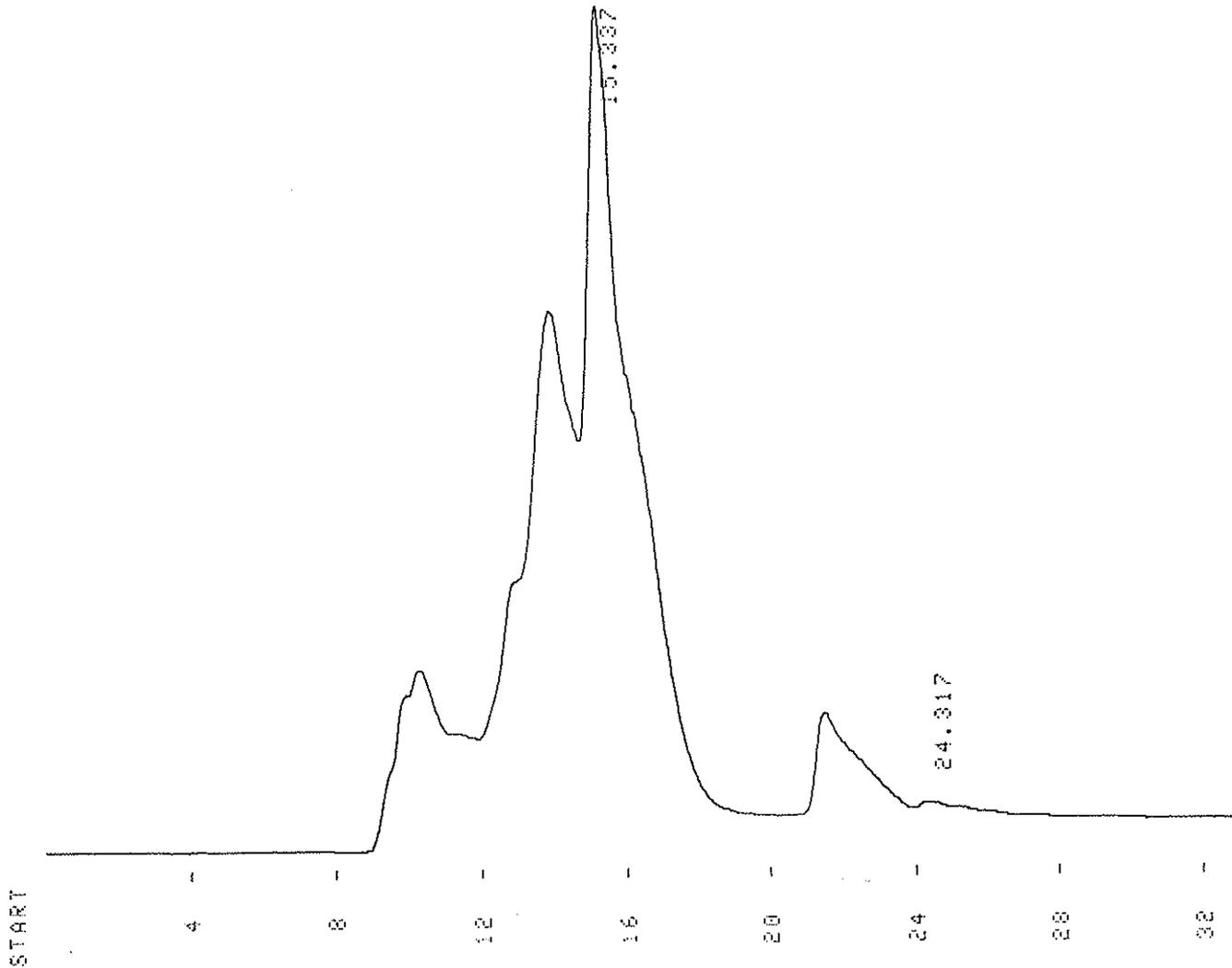


Figure 25 : Profil chromatographique du sérum B.

La collecte s'est faite sur 24 tubes de B<sub>0</sub> à B<sub>23</sub> entre la 10<sup>ème</sup> et la 22<sup>ème</sup> minute. Le dosage a également été effectué par chimiluminescence, dont les résultats sont notés dans le tableau V.

Tableau V : Dosage prolactinique par chimiluminescence des différentes fractions du sérum B.

Tubes n°	μUI/ml/tube	μUI/ml sérum	ng/ml/tube	ng/ml sérum	activité prolactinique en %
B0	32	80	1.52	3.79	2.82
B1	50	125	2.35	5.89	4.38
B2	57	142	2.68	6.70	4.99
B3	48	119	2.25	5.62	4.18
B4	39	98	1.85	4.62	3.44
B5	33	83	1.56	3.89	2.9
B6	32	80	1.50	3.76	2.79
B7	32	79	1.49	3.72	2.77
B8	37	93	1.75	4.38	3.25
B9	30	75	1.42	3.54	2.64
B10	35	88	1.67	4.17	3.1
B11	41	103	1.95	4.88	3.63
B12	58	145	2.73	6.83	5.08
B13	61	151	2.86	7.14	5.31
B14	68	170	3.21	8.04	5.98
B15	203	508	9.60	23.99	17.85
B16	98	244	4.61	11.53	8.58
B17	53	132	2.49	6.22	4.63
B18	18	44	0.84	2.09	1.56
B19	34	86	1.62	4.06	3.02
B20	15	39	0.73	1.83	1.36
B21	22	56	1.05	2.62	1.95
B22	24	61	1.14	2.86	2.13
B23	19	47	0.89	2.23	1.66
<b>TOTAL</b>	<b>1139</b>	<b>2847</b>	<b>53.76</b>	<b>134.39</b>	<b>100</b>
<b>sérum total B</b>		<b>1004</b>		<b>47.39</b>	

De nouveau la prolactinémie obtenue par chimiluminescence (47,4 ng/ml) est supérieure à celle obtenue par RIA (35 ng/ml), donnant un rapport de 1,35.

Par ailleurs, l'activité prolactinique recueillie sur la colonne est de 2,8 fois plus élevée que celle du sérum total. On avait observé un résultat similaire lors du premier prélèvement.

Le tableau a permis de réaliser l'histogramme ci-dessous :

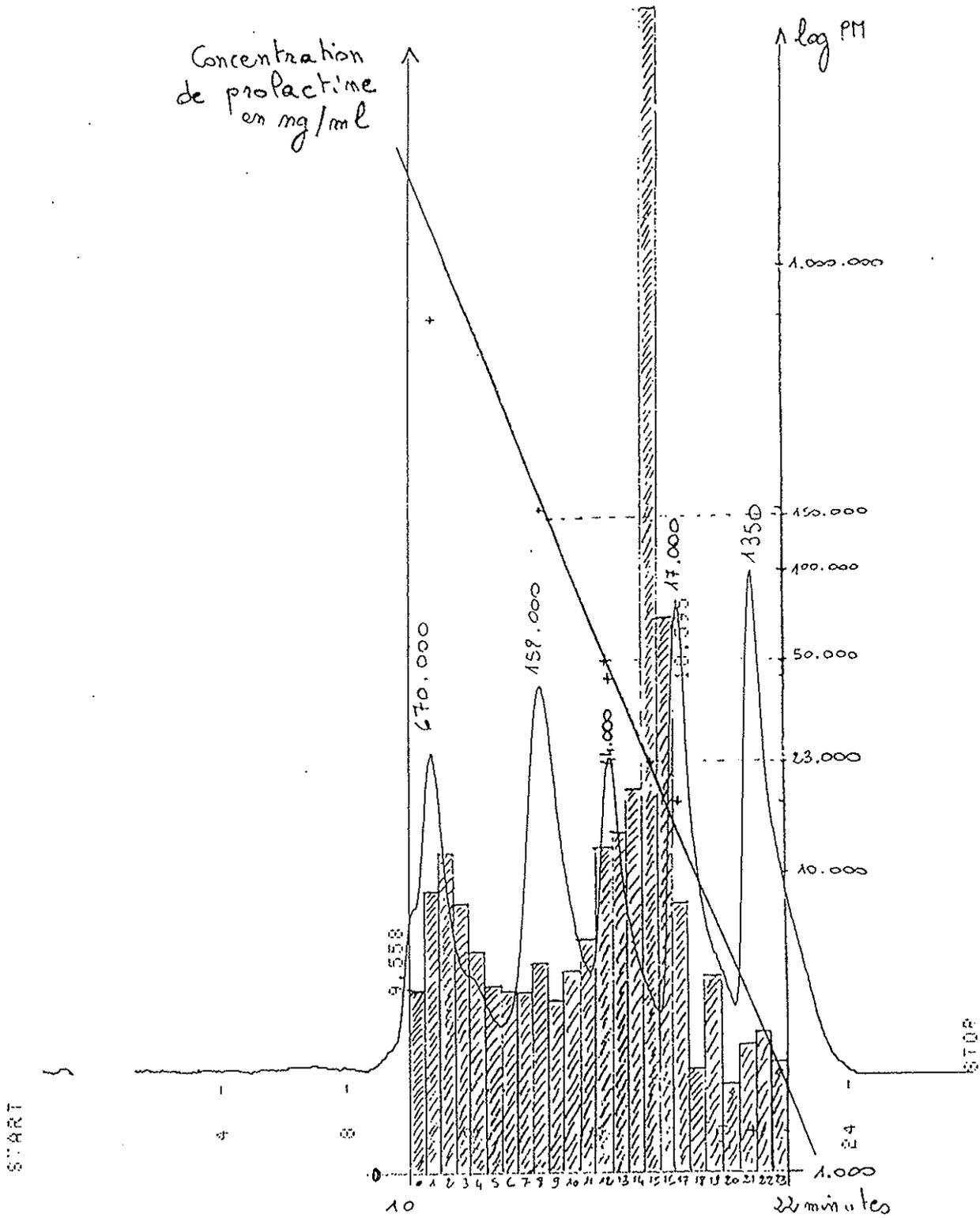


Figure 26 : Histogramme du sérum B sur 24 tubes. 

Cette fois-ci, on observe un pic important pour la forme little qui représente 37%, mais aussi une portion non négligeable pour les formes big et big-big qui représentent respectivement 17,1% et 14,35%. Par ailleurs, on observe un pic pour des formes lourdes ayant un poids moléculaire situé approximativement entre 300000 et 800000 daltons. Ces formes inconnues représentent 19,8%. Il est à noter que pour le sérum de juillet 1994, on n'a pas pu observer ce pic puisque l'on a recueilli des fractions ayant un poids moléculaire maximum de 200000 daltons.

En conclusion, les pourcentages sont les suivants :

- 37% de little prolactine,
- 17,1% de big prolactine,
- 14,35% de big-big prolactine,
- **et environ 20% de formes très lourdes.**

### **2-3- Patient n°3 :**

Ce patient est une femme âgée de 37 ans ayant un traitement neuroleptique au long cours qui est le suivant :

Tercian <sup>®</sup>	25-25-25-25 gouttes
Orap 4 <sup>®</sup>	0-0-0-3 comprimés
Semap <sup>®</sup>	3 comprimés le lundi.

Cette patiente ne souffre pas de céphalées. Mais, elle présente depuis 3 mois une aménorrhée, coïncidant avec l'arrêt d'un estroprogestatif (Cycléane 20<sup>®</sup>) qu'elle a pris durant 2 ans. Ses premières règles étaient apparues à l'âge de 12 ans et demi, avec des cycles plus ou moins réguliers et plutôt longs. Elle présente également une galactorrhée bilatérale minime, et, récemment des troubles de la vision (diplopie).

Le dosage de son sérum effectué à l'époque par chimiluminescence donne un taux de 1900  $\mu$ UI/ml de prolactine (Berilux).

Par ailleurs, elle a subi un examen ophtalmologique s'avérant normal, y compris le champ visuel, et, une IRM hypothalamo-hypophysaire également normale.

Le taux de prolactine de base (mars 1995) alors effectué par un dosage RIA CIBA) est de 41 ng/ml.

Par ailleurs, la prolactine s'avère non stimulable par le test à la TRH et au métoclopramide dont les résultats sont donnés ci-dessous :

Temps (en minutes)	Taux de prolactine (en ng/ml)	
-15	42	
0	41	← TRH
15	57	
30	57	
60	47	← Métoclopramide
75	51	
90	55	
120	46	

Ces résultats excluent la possibilité d'une hyperprolactinémie iatrogène due aux neuroleptiques, où la prolactine aurait répondu aux 2 substances.

Ainsi, le bilan clinique est donc en faveur d'une hyperprolactinémie primaire, qui compte tenu de l'absence d'image de microadénome à la RMN, doit faire évoquer une hyperplasie diffuse des cellules lactotropes. Néanmoins, il peut exister un microadénome qui ne serait pas encore vu par la RMN.

Cette patiente a alors été mise sous traitement de Parlodel 2,5<sup>®</sup> avec 2 comprimés par jour et de Duphaston<sup>®</sup> pour déclencher les règles, puis ensuite du Lutényl<sup>®</sup> du 5<sup>ème</sup> au 24<sup>ème</sup> jour du cycle.

Elle a été revue en mai 1995, où sous Parlodel<sup>®</sup> et Lutényl<sup>®</sup>, elle ne présentait plus de syndrome aménorrhéc-galactorrhéc. Mais son taux de prolactine était alors de 1150  $\mu$ UI/ml (Berilux) soit environ 50 ng/ml. D'où le passage à 3 comprimés par jour de Parlodel<sup>®</sup>.

On a cherché à déterminer le pourcentage des différentes formes de prolactine, pour déceler une éventuelle macroprolactinémie.

Le fractionnement a été effectué sur le **sérum du mois de mars 1995**, sérum C, où l'on a obtenu le profil chromatographique suivant (Figure 27) :

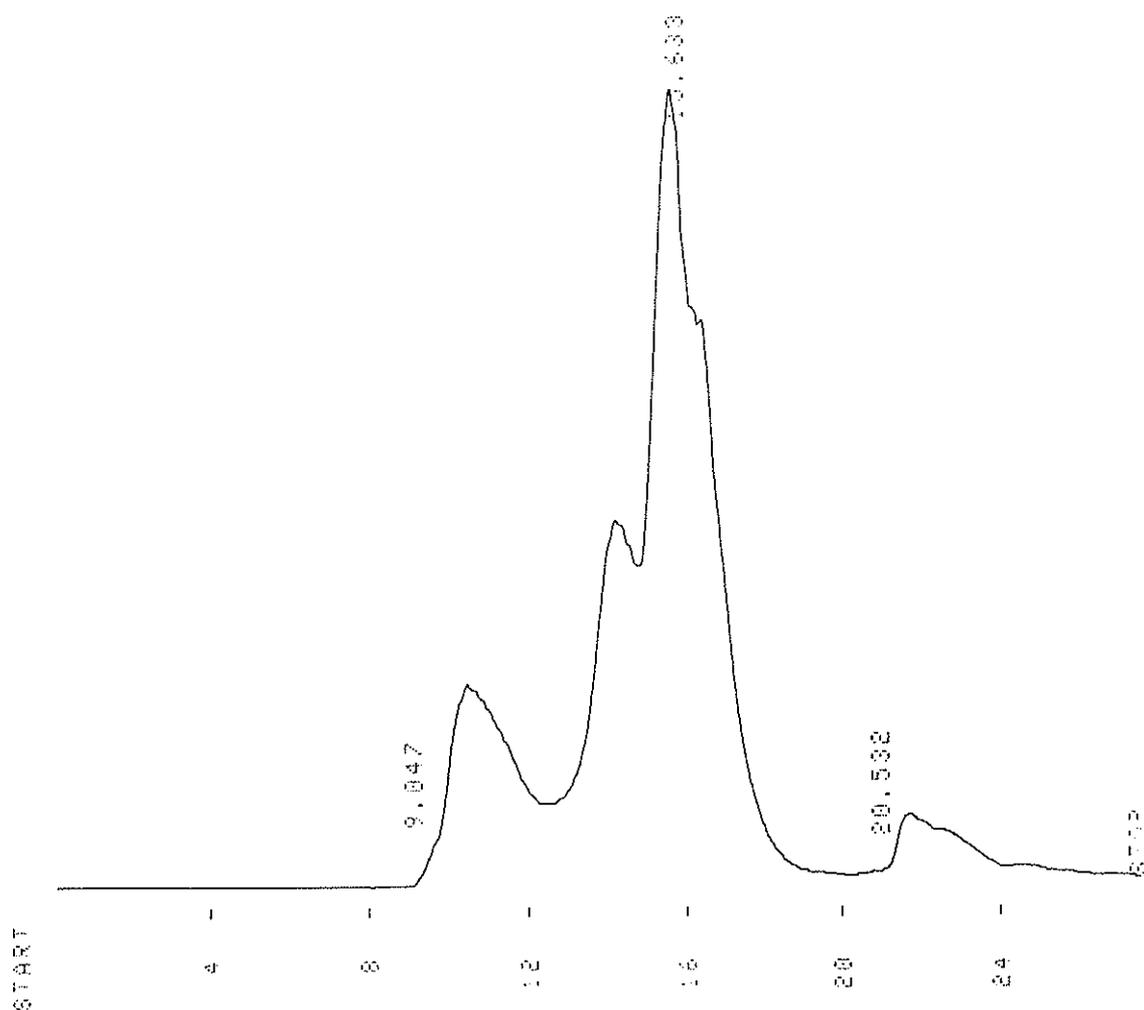


Figure 27 : Profil chromatographique du sérum C.

La collecte s'est faite sur 24 tubes de C<sub>0</sub> à C<sub>23</sub> entre la 10<sup>ème</sup> et la 22<sup>ème</sup> minute. Le dosage de ces différents tubes a été fait par la méthode **RIA**, dont les résultats sont notés dans le tableau suivant :

Tableau VI : Dosage prolactinique par **RIA** des différentes fractions du sérum C.

Tubes n°	ng/ml/tube	ng/ml sérum	μUI/ml/tube	μUI/ml sérum	activité prolactinique en %
C0	0.20	0.50	7	19	2.05
C1	0.13	0.33	5	12	1.33
C2	0.16	0.40	6	15	1.64
C3	0.11	0.28	4	10	1.13
C4	0.10	0.25	4	9	1.02
C5	0.19	0.48	7	18	1.95
C6	0.10	0.25	4	9	1.02
C7	0.13	0.33	5	12	1.33
C8	0.16	0.40	6	15	1.64
C9	0.11	0.28	4	10	1.13
C10	0.12	0.30	4	11	1.23
C11	0.22	0.55	8	20	2.25
C12	0.36	0.90	13	33	3.69
C13	0.54	1.35	20	50	5.53
C14	0.89	2.23	33	82	9.12
C15	2.20	5.50	81	204	22.54
C16	1.80	4.50	67	167	18.44
C17	0.60	1.50	22	56	6.15
C18	0.36	0.90	13	33	3.69
C19	0.31	0.78	11	29	3.18
C20	0.23	0.58	9	21	2.36
C21	0.30	0.75	11	28	3.07
C22	0.18	0.45	7	17	1.84
C23	0.26	0.65	10	24	2.66
<b>TOTAL</b>	<b>9.76</b>	<b>24.40</b>	<b>361</b>	<b>903</b>	<b>100</b>
<b>sérum total C</b>		<b>38.6</b>		<b>1428</b>	

La prolactinémie obtenue par RIA sur le sérum total est de 38,6 ng/ml au lieu de 41 ng/ml sur ce même sérum et par la même méthode, soit un rapport de 1,06.

Par ailleurs, l'activité prolactinique recueillie sur la colonne (903  $\mu$ UI/ml) est 0,6 fois moins élevée que celle du sérum total (1428  $\mu$ UI/ml). On peut alors constater un résultat inverse par rapport à ceux observés lors de dosages par chimiluminescence.

On réalise un histogramme sur le profil du standard (Figure 28) pour voir l'allure des pics des diverses formes de prolactine, et déterminer leur pourcentage. On observe ainsi, un pic important pour la forme little représentant 59,9% et des résultats beaucoup plus faibles pour les autres formes, soit 12,7% de big prolactine et 7,1% de big-big.

On peut remarquer que les formes de faible poids moléculaire (8 et 16 kDa) représentent dans ce cas environ 13%.

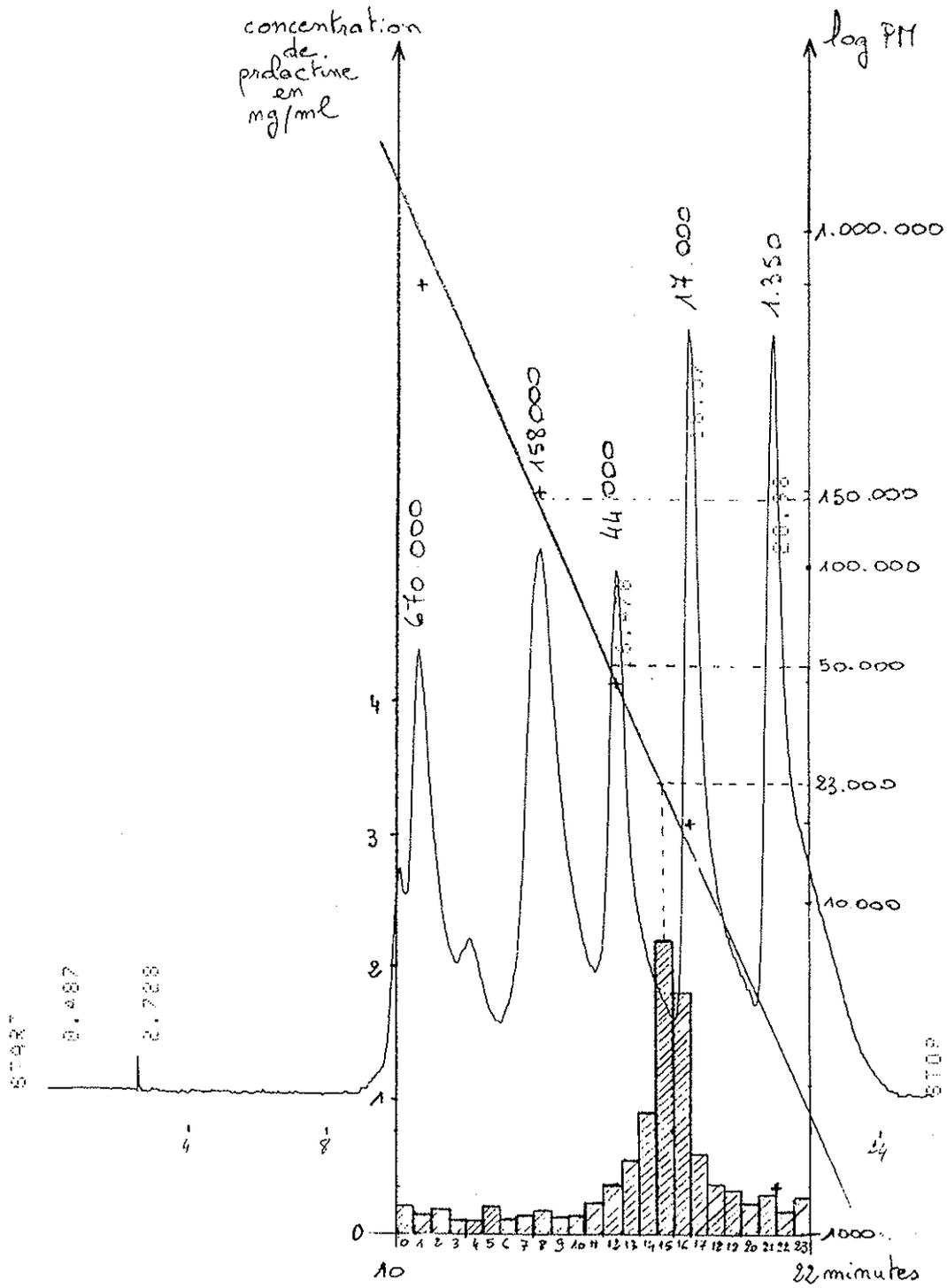


Figure 28 : Histogramme du sérum C sur 24 tubes. 

**2-4- Patient n°4 :**

Il s'agit d'une femme âgée de 24 ans et demi, présentant une hyperprolactinémie avec une galactorrhée spontanée à gauche depuis environ 8 mois. Par ailleurs, elle prenait une contraception orale (Trinordiol<sup>®</sup>), qu'elle a arrêtée il y a 2 mois. Ses premières règles étaient apparues à l'âge de 14 ans avec des cycles réguliers. En janvier 1995 son taux de prolactine était de 62 ng/ml, un autre dosage a donné un taux de 68 ng/ml. C'est pourquoi cette patiente a subi un test à la TRH et au métoclopramide dont les résultats sont donnés ci-dessous :

Temps (en minutes)	Taux de prolactine (en ng/ml)	
-15	22	
0	20	← TRH
15	23	
60	22	← Métoclopramide
75	28	
90	27	
120	24	

D'après ce test, la prolactine ne répond ni à la TRH, ni au métoclopramide, ce qui s'avère en faveur d'un microadénome. Mais le scanner ne présente aucune anomalie. Par ailleurs, il est à noter qu'il s'agit d'une femme actuellement anxieuse et stressée.

On a cherché à savoir quels pouvaient être les pourcentages des différentes formes de prolactine dans un tel cas.

Le fractionnement fut effectué sur le sérum prélevé avant le test.

Lors des différents passages du sérum, on a obtenu le profil chromatographique suivant (Figure 29).

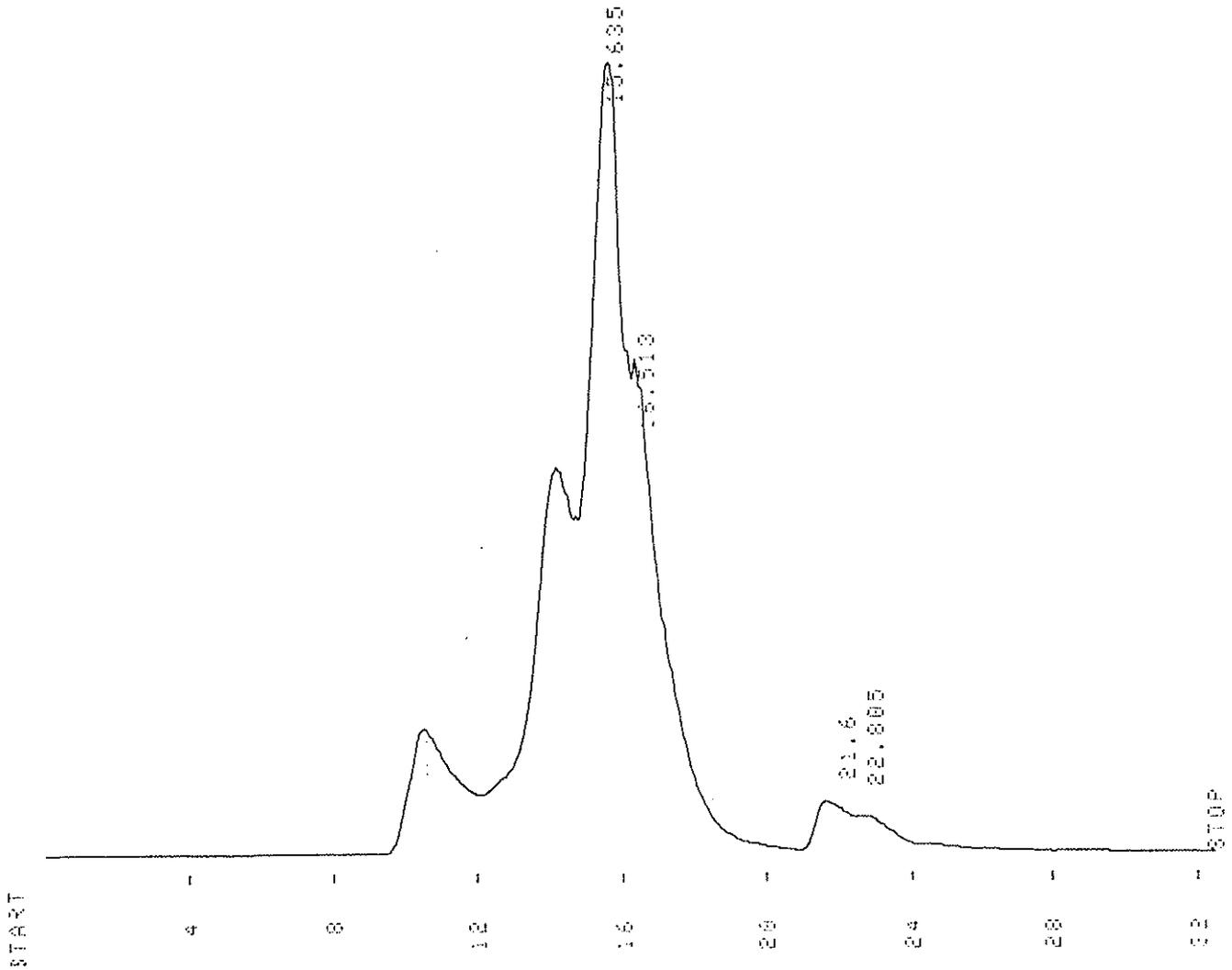


Figure 29 : Profil chromatographique du sérum D.

La collecte s'est faite sur 24 tubes de  $D_0$  à  $D_{23}$  toujours dans le même intervalle de temps et le dosage a été effectué par méthode **RIA**, dont les résultats sont notés dans le tableau VII.

Tableau VII : Dosage prolactinique par RIA des différentes fractions du sérum D.

Tubes n°	ng/ml/tube	ng/ml sérum	μUI/ml/tube	μUI/ml sérum	activité prolactinique en %
D0	0.23	0.58	9	21	3.03
D1	0.13	0.33	5	12	1.72
D2	0.22	0.55	8	20	2.90
D3	0.16	0.40	6	15	2.11
D4	0.22	0.55	8	20	2.90
D5	0.15	0.38	6	14	1.98
D6	0.03	0.08	1	3	0.40
D7	0.09	0.23	3	8	1.19
D8	0.18	0.45	7	17	2.37
D9	0.12	0.30	4	11	1.58
D10	0.13	0.33	5	12	1.72
D11	0.20	0.50	7	19	2.64
D12	0.29	0.73	11	27	3.83
D13	0.40	1.00	15	37	5.28
D14	0.49	1.23	18	45	6.46
D15	1.30	3.25	48	120	17.15
D16	1.10	2.75	41	102	14.51
D17	0.63	1.58	23	58	8.31
D18	0.35	0.88	13	32	4.62
D19	0.25	0.63	9	23	3.30
D20	0.21	0.53	8	19	2.77
D21	0.24	0.60	9	22	3.17
D22	0.23	0.58	9	21	3.03
D23	0.23	0.58	9	21	3.03
<b>TOTAL</b>	<b>7.58</b>	<b>18.95</b>	<b>280</b>	<b>701</b>	<b>100</b>
<b>sérum total D</b>		<b>21.81</b>		<b>807</b>	

La prolactinémie obtenue sur le sérum total est de 21,8 ng/ml au lieu de 22 ng/ml (même méthode, même sérum), soit un rapport de 1,01. Par ailleurs, l'activité prolactinique recueillie sur la colonne (701 μUI/ml) est 0,9 fois moins élevée que celle du sérum total (807 μUI/ml). Ceci est comparable avec les résultats obtenus chez le précédent patient.

L'histogramme qui découle de ce tableau (Figure 30) montre un pic pour la forme little, représentant 51%, alors que les formes big et big-big représentent respectivement 13,5 et 7,5%.

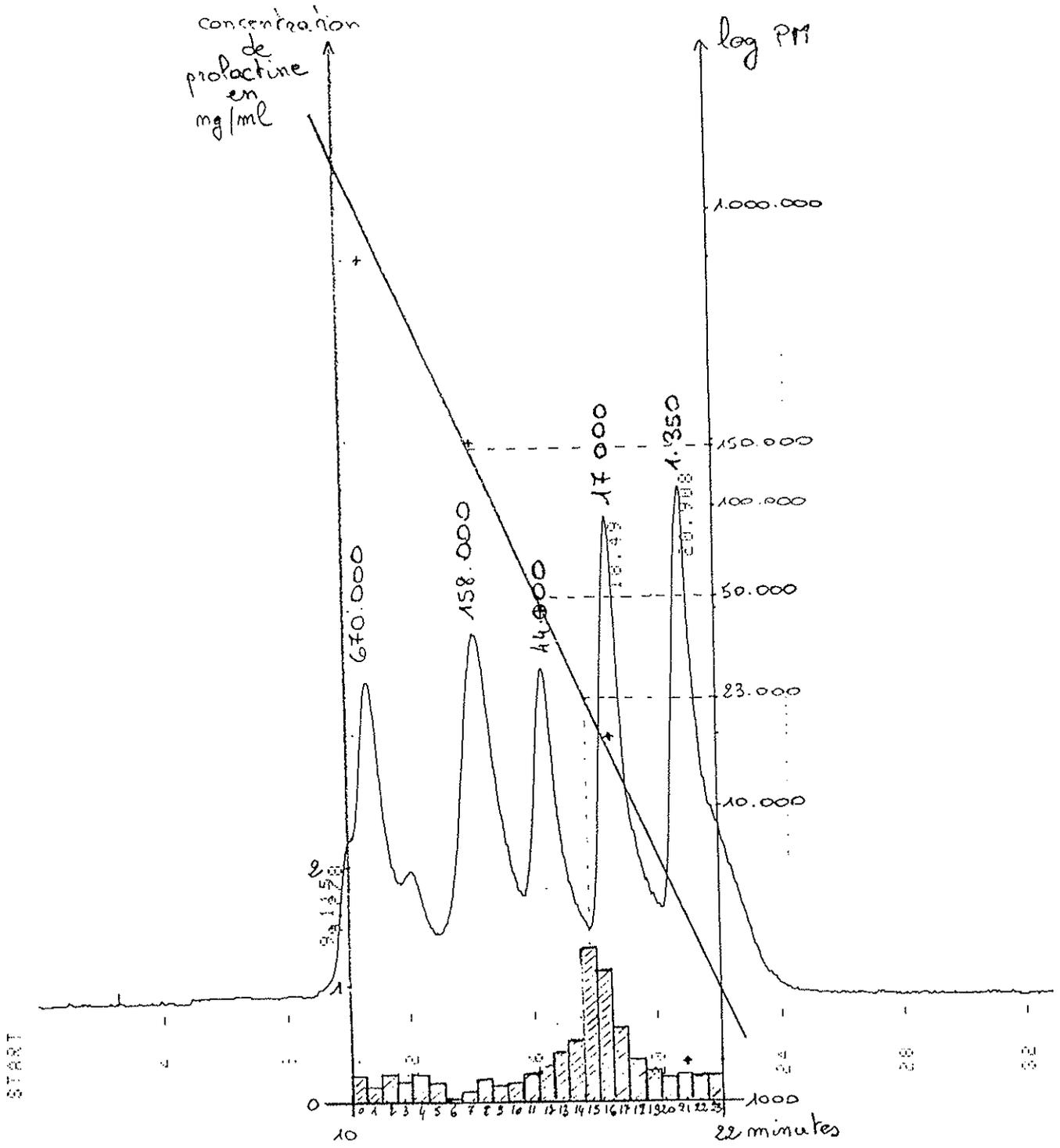


Figure 30 : Histogramme du sérum D sur 24 tubes. 

**2-5- Patient n°5 :**

Il s'agit d'une patiente âgée de 34 ans, présentant une stérilité primaire (supérieure à 5 ans) accompagnée d'une hyperprolactinémie. L'IRM est normale. La réponse du test sous TRH dont les résultats sont présentés ci-dessous est normale, mais présente une discrète hyperstimulation sous métoclopramide. Ce qui serait en faveur d'une hyperprolactinémie fonctionnelle. Cette patiente présente, en fait, un syndrome d'ovaires micropolykystiques avec une hyperprolactinémie d'accompagnement. Par ailleurs, lors de ce test on peut noter que le taux de base (16 ng/ml) est un taux normal pour une femme !

Temps (en minutes)	Taux de prolactine (en ng/ml)	
-15	16	
0	10	← TRH
15	50	
30	44	
60	23	← Métoclopramide
75	88	
90	122	
120	91	

Pour cette femme, on a également cherché à savoir quels étaient les pourcentages des différentes formes prolactiniques.

Le fractionnement fut réalisé sur un sérum prélevé en avril 1995 (Sérum E), ayant un taux de prolactine de 1,7 ng/ml (RIA), ce qui s'avère être très faible. Le profil chromatographique observé lors des différentes injections de sérum est le suivant : (Figure 31).

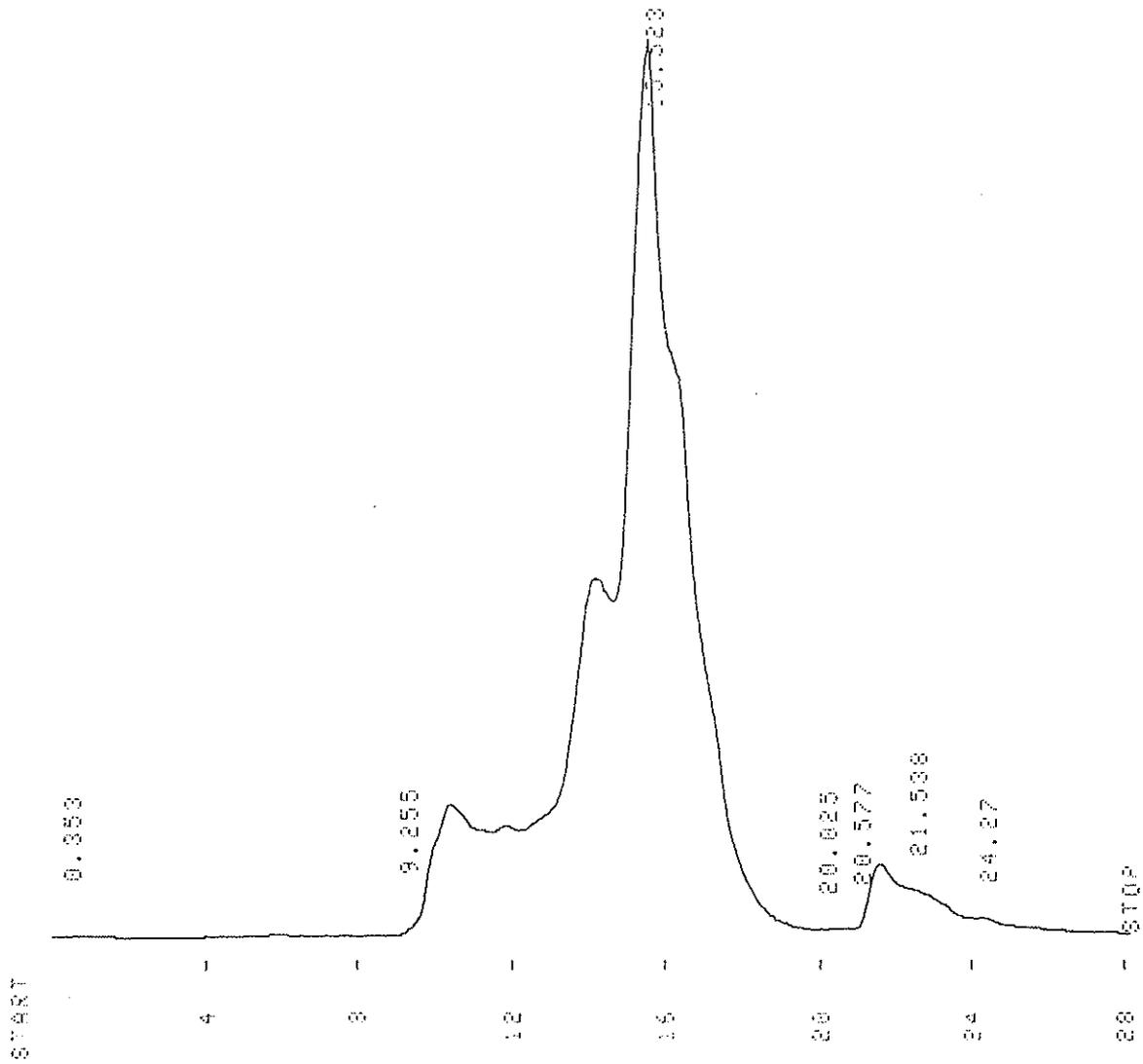


Figure 31 : Profil chromatographique du sérum E.

La collecte s'est faite sur 24 tubes ( $E_0$  à  $E_{23}$ ) et le dosage a été réalisé par **RIA** dont les résultats sont présentés dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Dosage prolactinique par **RIA** des différentes fractions du sérum E.

Tubes n°	ng/ml/tube	ng/ml sérum	μUI/ml/tube	μUI/ml sérum	activité prolactinique en%
E0	0.25	0.63	9	23	4.50
E1	0.19	0.48	7	18	3.42
E2	0.20	0.50	7	19	3.60
E3	0.25	0.63	9	23	4.50
E4	0.19	0.48	7	18	3.42
E5	0.19	0.48	7	18	3.42
E6	0.13	0.33	5	12	2.34
E7	0.11	0.28	4	10	1.98
E8	0.21	0.53	8	19	3.78
E9	0.12	0.30	4	11	2.16
E10	0.26	0.65	10	24	4.68
E11	0.24	0.60	9	22	4.32
E12	0.23	0.58	9	21	4.14
E13	0.20	0.50	7	19	3.60
E14	0.21	0.53	8	19	3.78
E15	0.38	0.95	14	35	6.85
E16	0.31	0.78	11	29	5.59
E17	0.20	0.50	7	19	3.60
E18	0.30	0.75	11	28	5.41
E19	0.36	0.90	13	33	6.49
E20	0.20	0.50	7	19	3.60
E21	0.27	0.68	10	25	4.86
E22	0.27	0.68	10	25	4.86
E23	0.28	0.70	10	26	5.05
<b>TOTAL</b>	<b>5.55</b>	<b>13.88</b>	<b>205</b>	<b>513</b>	<b>100</b>
<b>sérum total E</b>		<b>1.33</b>		<b>49</b>	

La prolactinémie obtenue sur le sérum total est de 1,33 ng/ml au lieu de 1,7 ng/ml (même méthode, même sérum), soit un rapport de 1,28. On note que dans ce cas le rapport n'est plus approximatif de 1 comme pour les résultats précédemment observés.

Par ailleurs, l'activité prolactinique recueillie sur la colonne (513 μUI/ml) est 10,5 fois plus élevée que celle du sérum total (49 μUI/ml). Ceci étant dû aux faibles taux obtenus sur le sérum total (pas sur le fractionnement).

L'histogramme (Figure 32) présente peu d'intérêt, car les différents pourcentages obtenus pour les formes little, big et big-big sont respectivement 25,2%, 16,7% et 13,7%.

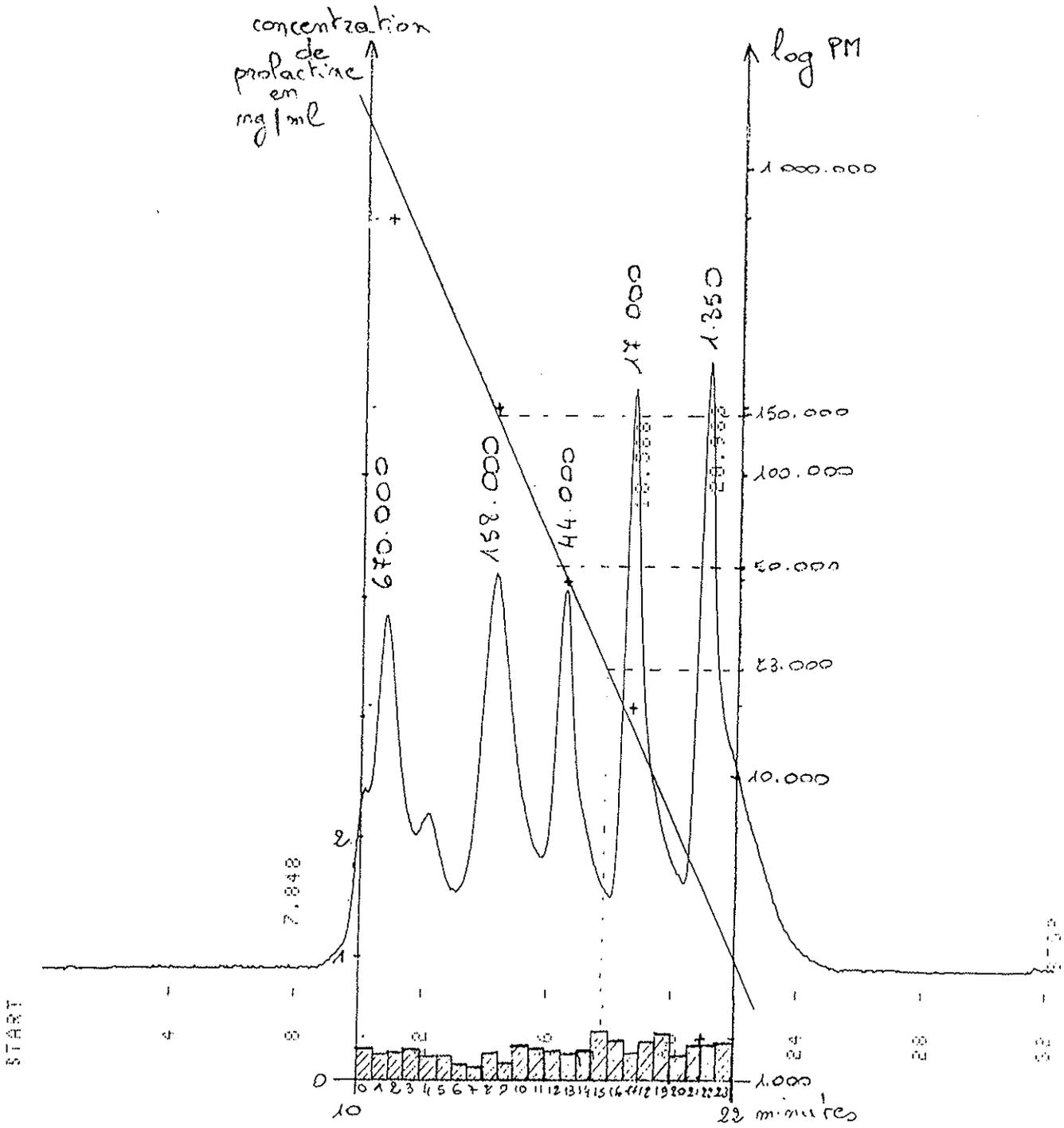


Figure 32 : Histogramme du sérum E sur 24 tubes. 

**2-6- Patient n°6 :**

Il s'agit d'une femme âgée de 42 ans présentant des céphalées, des troubles visuels, une hypoménorrhée et une galactorrhée bilatérale. Par ailleurs, cette patiente a eu trois grossesses, elle présente un syndrome dépressif ancien et une hypothyroïdie découverte il y a deux ans. Son scanner hypophysaire et cérébral est normal.

Cette patiente est sous le traitement suivant :

Anafranil 75<sup>®</sup> 1-0-1 et Anafranil 25<sup>®</sup> 1-0-1 (antidépresseur tricyclique  
anticholinergique)  
Lévothyrox 100<sup>®</sup> 1-0-0 et Lévothyrox 25<sup>®</sup> 1-0-0 donné pour son hypothyroïdie  
Séresta 50<sup>®</sup> 0-0-0-1/2 (anxiolytique)  
Mépronizine<sup>®</sup> 0-0-0-1 (anxiolytique et antihistaminique H<sub>1</sub> à propriétés  
sédatives et anticholinergiques)  
Pursénide<sup>®</sup> 0-0-3 (laxatif)

Un tel traitement peut-il influencer le pourcentage des formes de prolactine ?

Le taux de prolactine en base est de 9,8 ng/ml, ce qui représente un taux normal. Par ailleurs, cette patiente a subi un test TRH-métoclopramide présentant une réponse normale, dont les résultats sont donnés ci-dessous :

Temps (en minutes)	Taux de prolactine (en ng/ml)
-15	13
0	9,8 ← TRH
15	27
30	23
60	16 ← Métoclopramide
75	37
90	46
120	41

Le fractionnement et la collecte ont été réalisés comme précédemment sur 24 tubes (L<sub>0</sub> à L<sub>23</sub>). On a observé le profil chromatographique suivant (Figure 33).

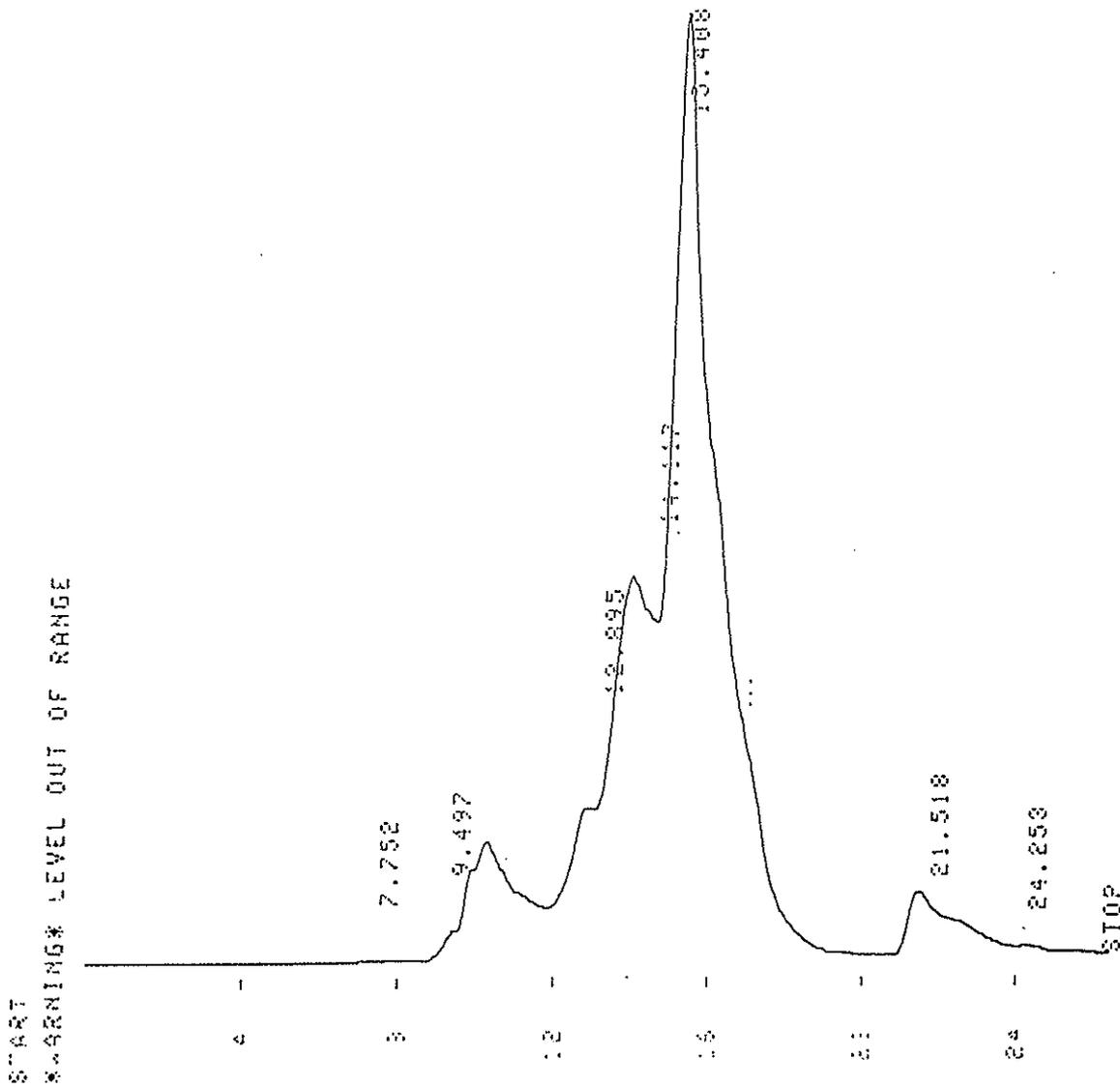


Figure 33 : Profil chromatographique du sérum L.

Le dosage a été réalisé par **RIA**, dont les résultats sont notés dans le tableau IX.

Tableau IX : Dosage prolactinique par RIA des différentes fractions du sérum L.

Tubes n°	ng/ml/tube	ng/ml sérum	μUI/ml/tube	μUI/ml sérum	activité prolactinique en %
L0	0.23	0.58	9	21	3.99
L1	0.33	0.83	12	31	5.72
L2	0.20	0.50	7	19	3.47
L3	0.21	0.53	8	19	3.64
L4	0.21	0.53	8	19	3.64
L5	0.20	0.50	7	19	3.47
L6	0.13	0.33	5	12	2.25
L7	0.04	0.10	1	4	0.69
L8	0.12	0.30	4	11	2.08
L9	0.10	0.25	4	9	1.73
L10	0.23	0.58	9	21	3.99
L11	0.15	0.38	6	14	2.60
L12	0.13	0.33	5	12	2.25
L13	0.22	0.55	8	20	3.81
L14	0.39	0.98	14	36	6.76
L15	0.55	1.38	20	51	9.53
L16	0.40	1.00	15	37	6.93
L17	0.25	0.63	9	23	4.33
L18	0.25	0.63	9	23	4.33
L19	0.32	0.80	12	30	5.55
L20	0.25	0.63	9	23	4.33
L21	0.35	0.88	13	32	6.07
L22	0.24	0.60	9	22	4.16
L23	0.27	0.68	10	25	4.68
<b>TOTAL</b>	<b>5.77</b>	<b>14.43</b>	<b>213</b>	<b>534</b>	<b>100</b>
<b>sérum total L</b>		<b>3.24</b>		<b>120</b>	

La prolactinémie obtenue sur le sérum total est de 3,24 ng/ml au lieu de 9,8 ng/ml, soit un rapport de 3,02. Dans ce cas, le rapport est donc 3 fois plus élevé que dans les cas des patients n°3 et 4.

Par ailleurs, l'activité prolactinique recueillie sur la colonne (534 μUI/ml) est 4,45 fois plus élevée que celle du sérum total (120 μUI/ml). Ainsi pour de faibles taux de prolactine sur sérum total (patients n°5 et 6), les résultats tendent dans le même sens, mais en sens inverse de ceux où les taux prolactiniques sont supérieurs ou égaux aux valeurs normales.

L'histogramme (Figure 34) présente peu d'intérêt, pour les mêmes raisons que celui du patient n°5. Cependant, les pourcentages de little, big et big-big prolactine sont respectivement les suivants : 37,4%, 12,65% et 10,2%.

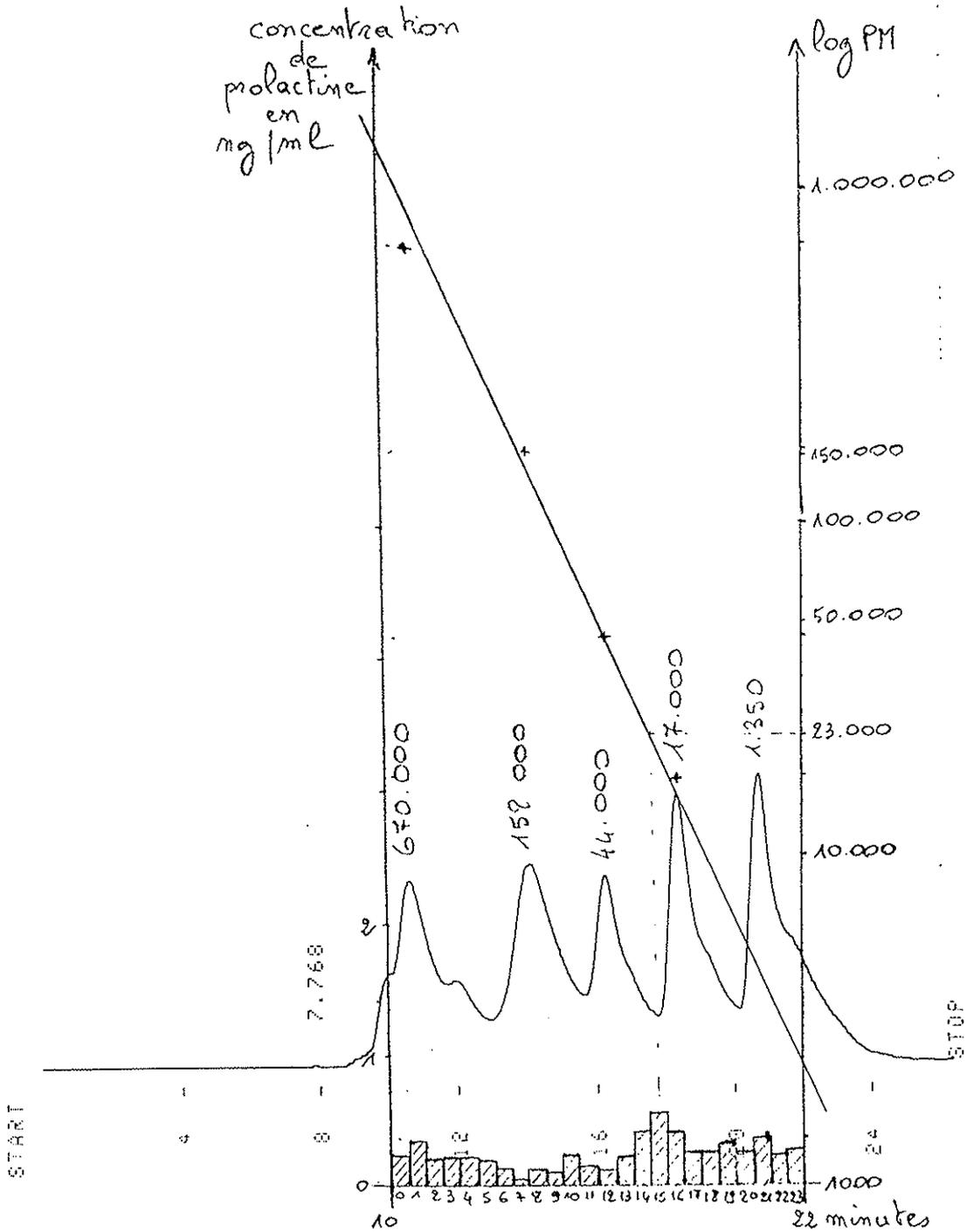


Figure 34 : Histogramme du sérum L sur 24 tubes. 

**2-7- Patient n°7 :**

Il s'agit d'un homme âgé de 66 ans ayant été opéré d'un macroprolactinome hypophysaire invasif, le taux de prolactine était avant l'opération de 3000 ng/ml. Ce patient fut ensuite traité par :

Hydrocortisone <sup>®</sup>	30 mg par jour, pour son insuffisance corticotrope post-opératoire
Parlodel 2,5 mg <sup>®</sup>	3 comprimés/jour
Lévothyrox 25 µg <sup>®</sup>	2,5 comprimés/jour, pour l'insuffisance thyroïdienne,
puis Lévothyrox 75 µg <sup>®</sup>	1 comprimé/jour
Zestril 5 mg <sup>®</sup>	1 comprimé le matin

ensuite Pantestone<sup>®</sup> jusqu'à 3 comprimés/jour, pour l'insuffisance gonadique.

Malgré les 3 comprimés de bromocriptine, le taux de prolactine est resté à 787 ng/ml (avril 1995). C'est pourquoi la posologie de bromocriptine a été progressivement augmentée à 5 comprimés par jour. Ce qui a permis de réduire le taux à 366 ng/ml (août 1995).

On va donc chercher quels peuvent être les pourcentages des différentes formes de prolactine lors d'un macroprolactinome opéré, avec hyperprolactinémie résiduelle.

Le fractionnement a été effectué sur le sérum prélevé **en avril** (Sérum V). Son profil chromatographique est représenté par la figure 35.

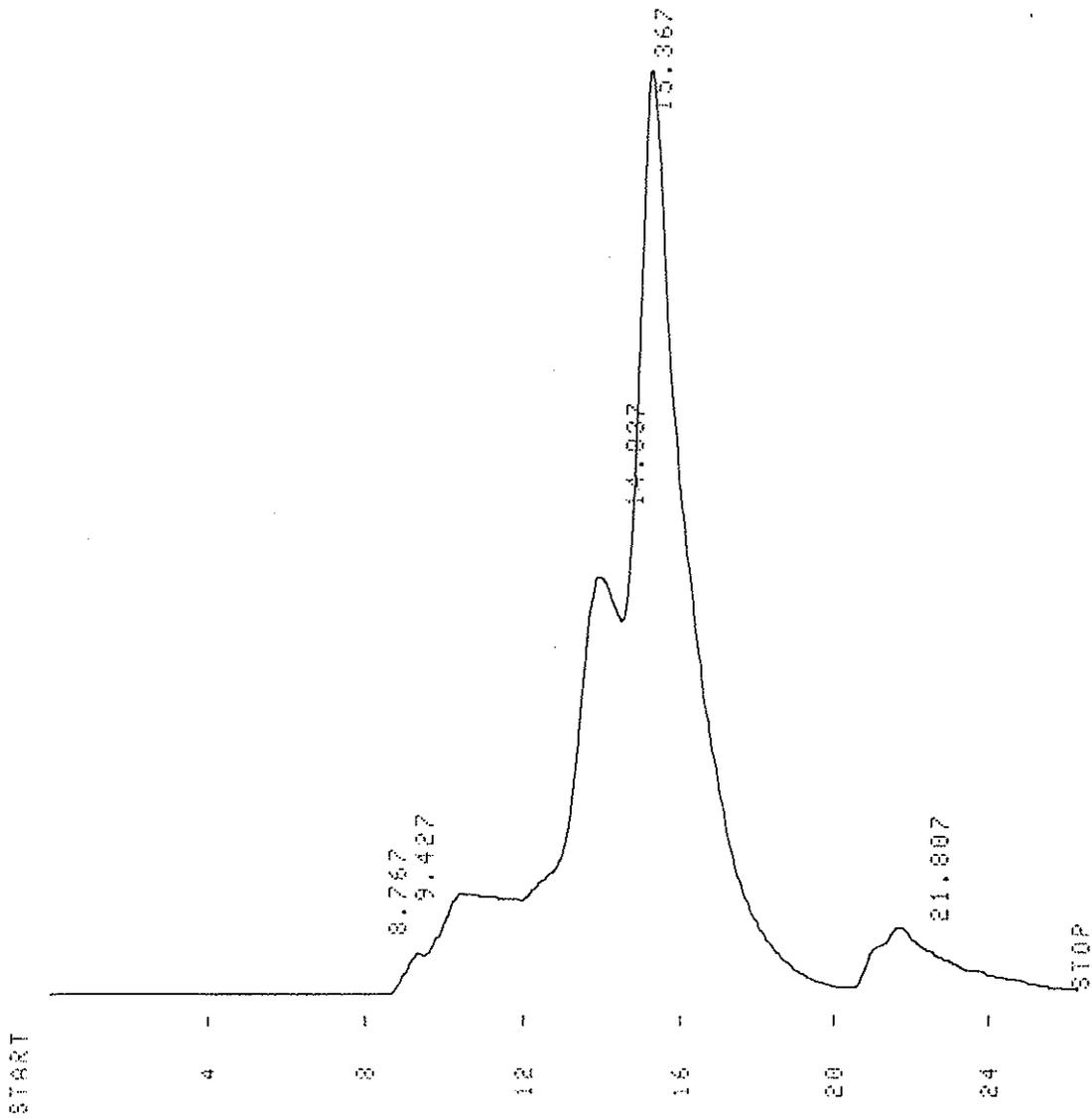


Figure 35 : Profil chromatographique du sérum V.

La collecte s'est faite sur 24 tubes de  $V_0$  à  $V_{23}$  et le dosage a été réalisé par **RIA**, dont les résultats sont notés dans le tableau X.

Tableau X : Dosage prolactinique par RIA des différentes fractions du sérum V.

Tubes n°	ng/ml/tube	ng/ml sérum	μUI/ml/tube	μUI/ml sérum	activité prolactinique en %
V0	0.27	0.68	10	25	0.23
V1	0.34	0.85	13	31	0.29
V2	0.26	0.65	10	24	0.22
V3	0.17	0.43	6	16	0.14
V4	0.24	0.60	9	22	0.20
V5	0.28	0.70	10	26	0.24
V6	0.26	0.65	10	24	0.22
V7	0.27	0.68	10	25	0.23
V8	0.30	0.75	11	28	0.26
V9	0.33	0.83	12	31	0.28
V10	0.63	1.58	23	58	0.54
V11	1.80	4.50	67	167	1.53
V12	3.20	8.00	118	296	2.73
V13	5.90	14.75	218	546	5.02
V14	27.00	67.50	999	2498	22.99
V15	31.00	77.50	1147	2868	26.40
V16	23.00	57.50	851	2128	19.59
V17	11.00	27.50	407	1018	9.37
V18	5.10	12.75	189	472	4.34
V19	2.80	7.00	104	259	2.38
V20	1.30	3.25	48	120	1.11
V21	0.75	1.88	28	69	0.64
V22	0.82	2.05	30	76	0.70
V23	0.41	1.03	15	38	0.35
<b>TOTAL</b>	<b>117.43</b>	<b>293.58</b>	<b>4345</b>	<b>10862</b>	<b>100</b>
<b>sérum total V</b>		<b>711.00</b>		<b>26307</b>	

La prolactinémie obtenue sur le sérum total est de 711 ng/ml au lieu de 787 ng/ml, soit un rapport de 1,1. Dans ce cas, le rapport redevient voisin de 1, comme pour celui des patients n°3 et 4. Par ailleurs, l'activité prolactinique recueillie sur la colonne (10862 μUI/ml) est 0,4 fois moins élevée que celle du sérum total (26307 μUI/ml). Ce cas présente donc un rapport similaire à celui des patients n°3 et 4.

L'histogramme (Figure 36), résultant de ces chiffres montre un pic très important au niveau de la forme little qui représente 82,7%, alors que les formes big et big-big représentent respectivement 9,8 et 1,2%. L'hyperprolactinémie est constituée en majorité de forme active.

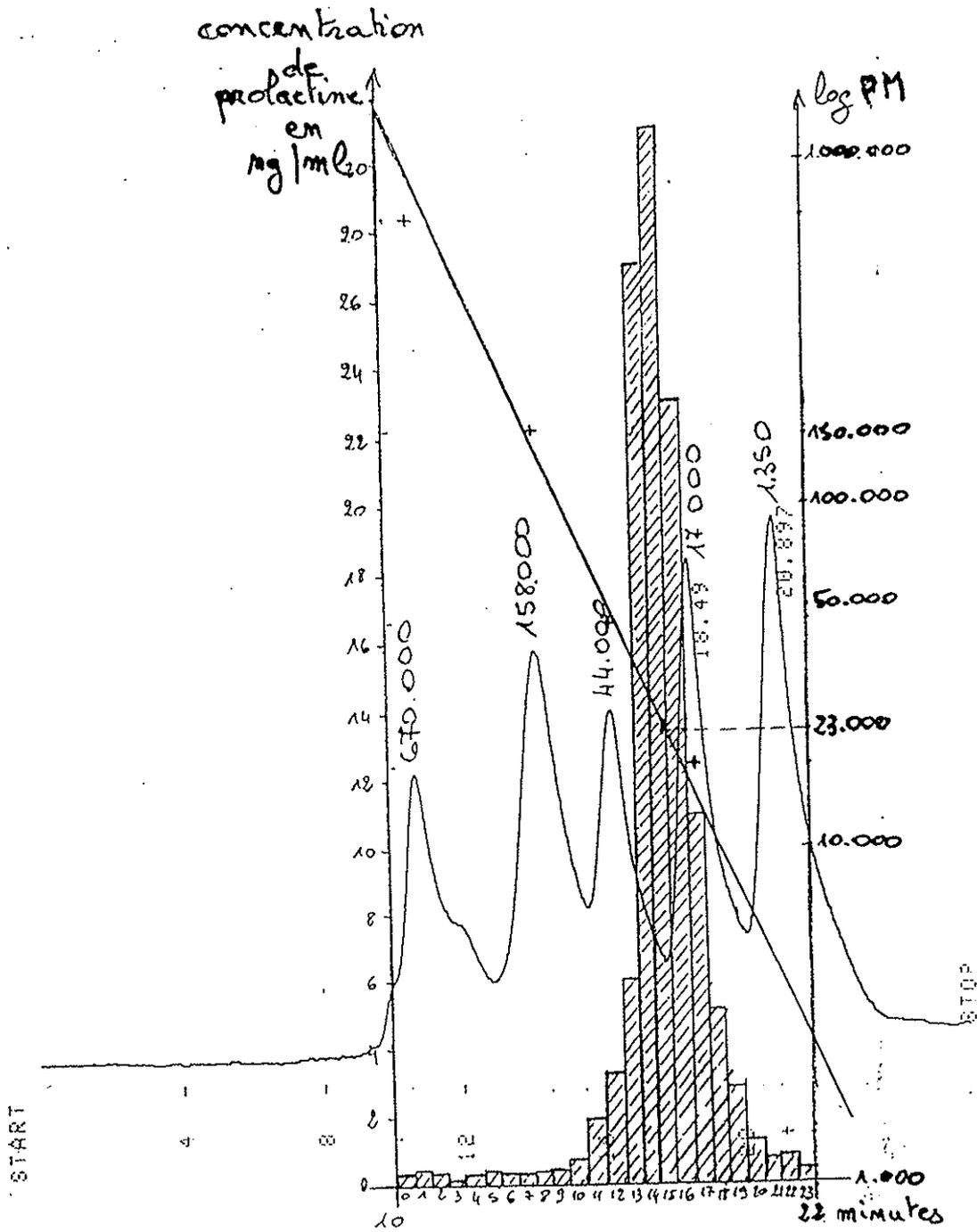


Figure 36 : Histogramme du sérum V sur 24 tubes. 

**2-8- Patient n°8 :**

Il s'agit d'une femme hospitalisée au CHS Esquirol, étant sous traitement psychotrope. En étudiant son sérum ayant un taux élevé de prolactine, dû semble-t-il à son traitement, on a cherché à savoir si ce traitement pouvait modifier le pourcentage des différentes formes de prolactine.

Le fractionnement et la collecte ont été effectués sur 24 tubes de T<sub>0</sub> à T<sub>23</sub>. Le profil chromatographique obtenu est le suivant (Figure 37) :

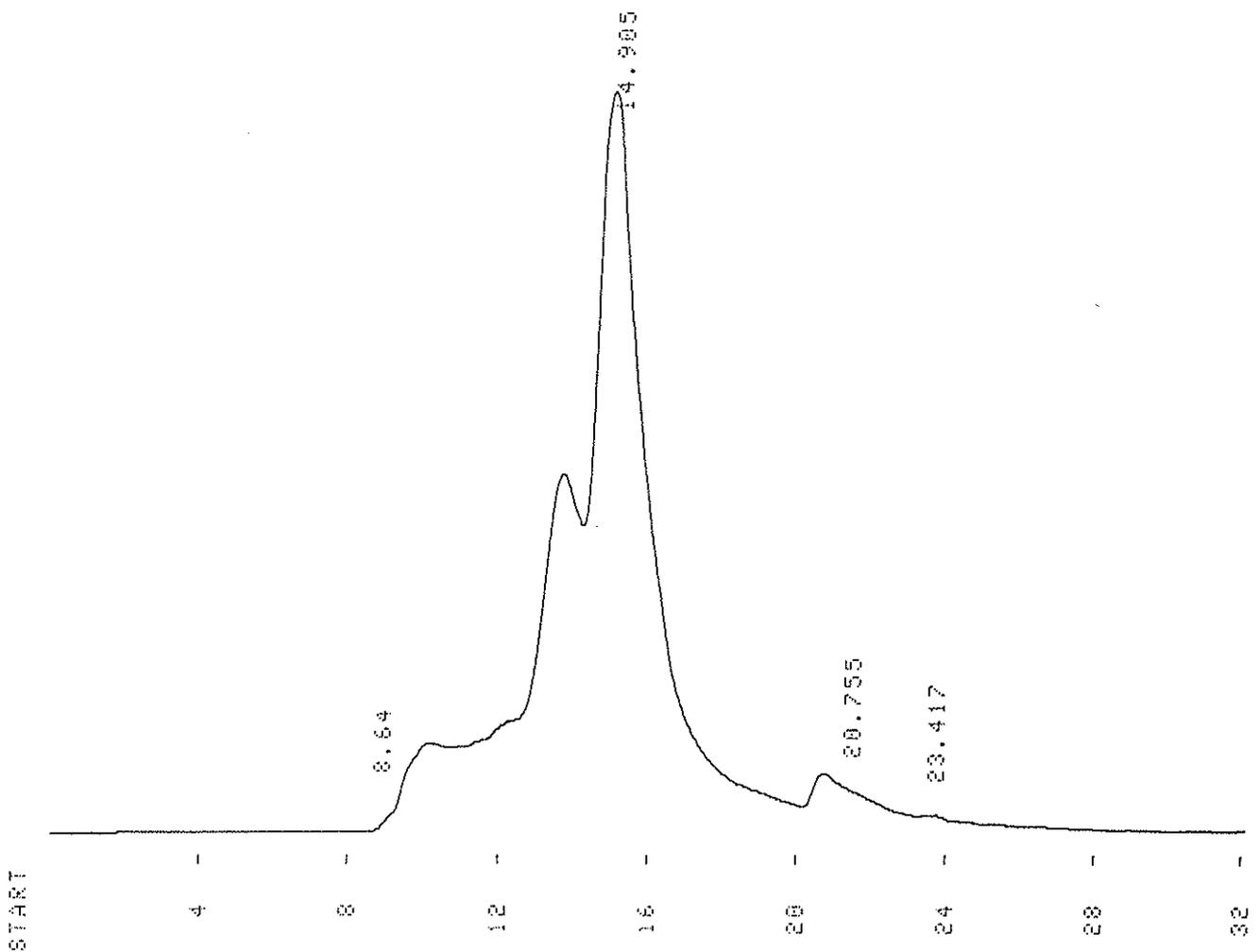


Figure 37 : Profil chromatographique du sérum T.

Le dosage a été réalisé par **RIA**, dont les résultats sont exprimés dans le tableau XI.

Tableau XI : Dosage prolactinique par **RIA** des différentes fractions du sérum T.

Tubes n°	ng/ml/tube	ng/ml sérum	μUI/ml/tube	μUI/ml sérum	activité prolactinique en %
T0	0.28	0.70	10	26	1.17
T1	0.21	0.53	8	19	0.88
T2	0.26	0.65	10	24	1.08
T3	0.24	0.60	9	22	1.00
T4	0.12	0.30	4	11	0.50
T5	0.14	0.35	5	13	0.58
T6	0.37	0.93	14	34	1.54
T7	0.26	0.65	10	24	1.08
T8	0.24	0.60	9	22	1.00
T9	0.73	1.83	27	68	3.04
T10	1.20	3.00	44	111	5.00
T11	1.80	4.50	67	167	7.51
T12	1.60	4.00	59	148	6.67
T13	3.50	8.75	130	324	14.60
T14	5.20	13.00	192	481	21.68
T15	3.20	8.00	118	296	13.34
T16	1.60	4.00	59	148	6.67
T18	0.88	2.20	33	81	3.67
T19	0.70	1.75	26	65	2.92
T20	0.47	1.18	17	43	1.96
T21	0.43	1.08	16	40	1.79
T22	0.30	0.75	11	28	1.25
T23	0.25	0.63	9	23	1.04
<b>TOTAL</b>	<b>23.98</b>	<b>59.95</b>	<b>887</b>	<b>2218</b>	<b>100</b>
<b>sérum total T</b>		<b>144.30</b>		<b>5339</b>	

L'activité prolactinique recueillie sur la colonne (2218 μUI/ml) est 0,4 fois moins élevée que celle du sérum total (5339 μUI/ml).

L'histogramme (Figure 38), résultant de ces données montre un pic important pour la forme little qui représente 48,3% (alors qu'il manque le taux du tube n°17) ; mais aussi un pic pour la forme big qui représente 33,8%. La forme big-big ne représente quant à elle que 7,2%.

Remarque : le tube T<sub>17</sub> a été cassé, son dosage s'est alors avéré impossible, mais compte tenu du profil du pic sa participation à la forme little reste faible.

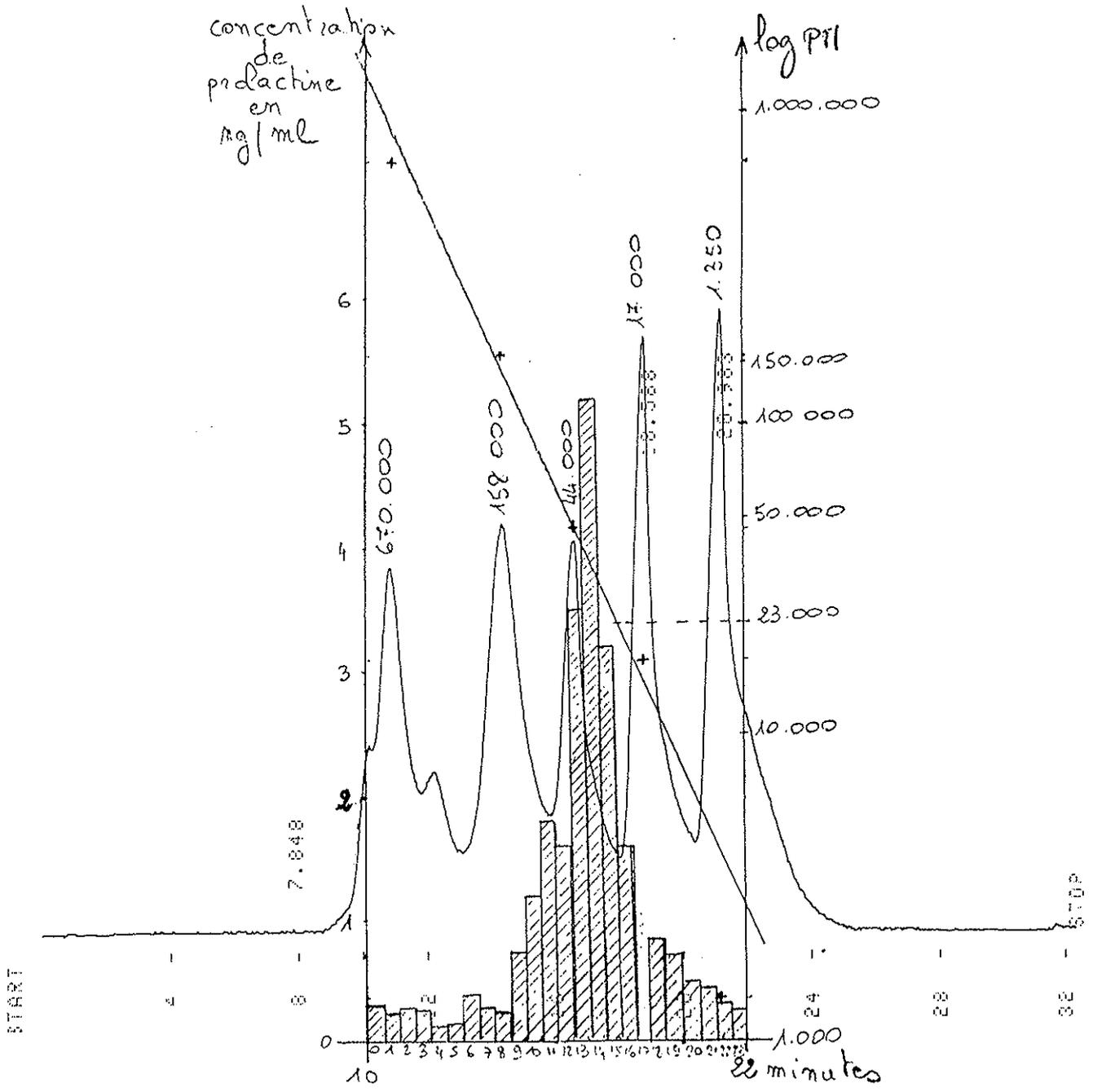


Figure 38 : Histogramme du sérum T sur 24 tubes. 

### 3- Influence de la congélation et de la décongélation d'un sérum, sur le taux des différentes formes de prolactine.

Pour cette étude on a fait subir au sérum A une série de 8 congélations et décongélation successives. Pour ne pas mélanger les résultats ce sérum a alors été appelé sérum A'.

Ainsi, après sa dernière décongélation, on a effectué à nouveau 10 injections successives de 20  $\mu$ l, mais collectées sur 24 tubes entre la 10<sup>ème</sup> et la 22<sup>ème</sup> minute, afin d'élargir la collecte vers de plus grands poids moléculaires. Ces tubes sont numérotés de A'\_4 à A'\_19. On peut rappeler que pour le sérum A on avait collecté sur 20 tubes seulement, de A<sub>0</sub> à A<sub>19</sub>.

Le profil obtenu lors de ce fractionnement est le suivant (Figure 39) :

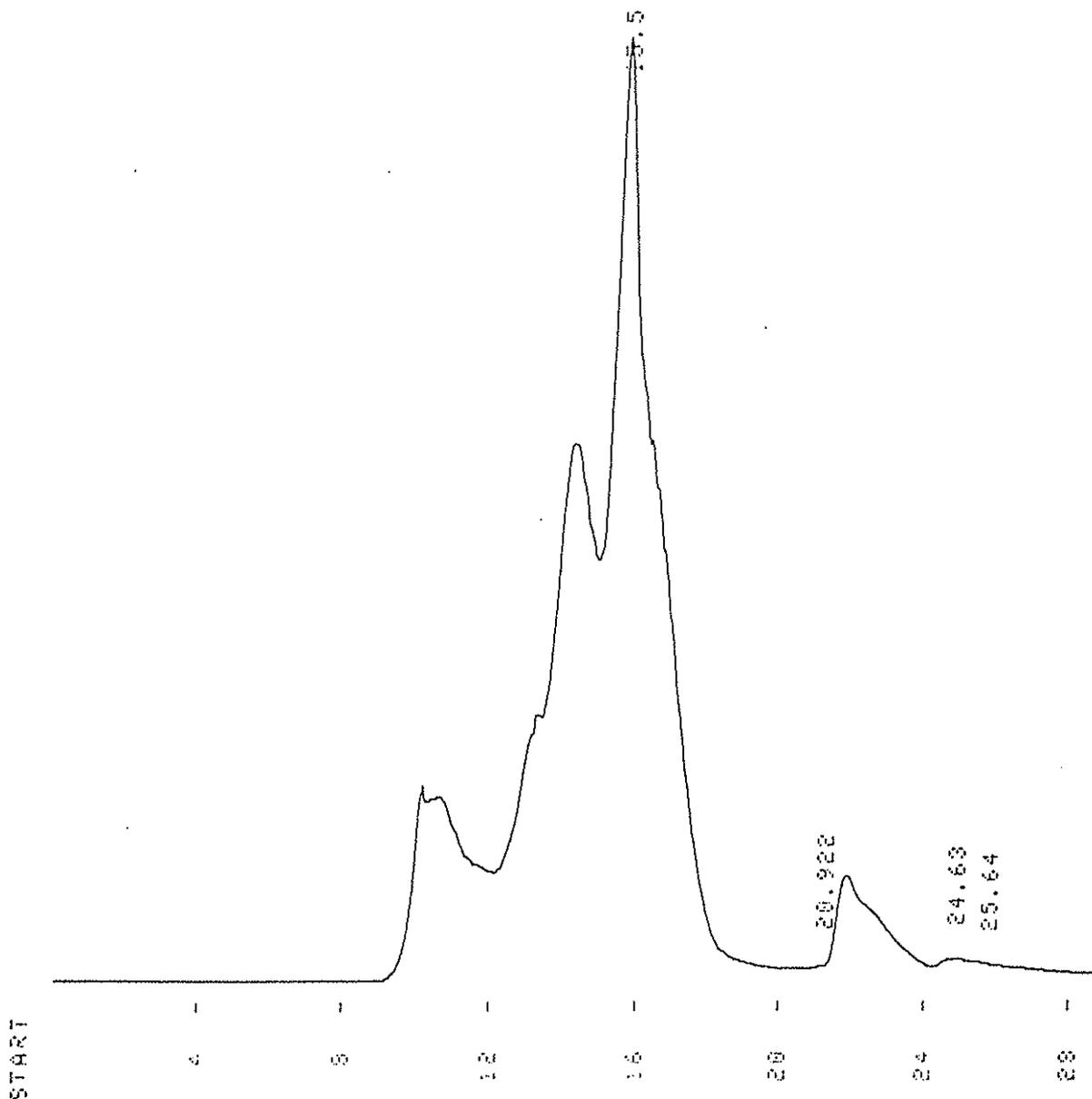


Figure 39 : Profil chromatographique du sérum A'.

Ce profil présente des similitudes avec le profil obtenu avec le sérum A (Figure 23), la série de congélations-décongélations n'ayant apparemment pas dégradé les protéines de ce sérum.

Le dosage a été effectué par **chimiluminescence**, dont les résultats sont notés dans le tableau XII.

Tableau XII : Dosage par **chimiluminescence** des différentes fractions du sérum A'.

Tubes n°	μUI/ml/tube	μUI/ml sérum	ng/ml/tube	ng/ml sérum	activité prolactinique en %
A'-4	31	78.49	1.48	3.70	7.44
A'-3	16	39.85	0.75	1.88	3.77
A'-2	0	0.00	0.00	0.00	0.00
A'-1	0	0.00	0.00	0.00	0.00
A'-0	15	38.74	0.73	1.83	3.67
A'1	4	10.71	0.20	0.51	1.01
A'2	5	11.28	0.21	0.53	1.07
A'3	34	84.95	1.60	4.01	8.05
A'4	24	58.91	1.11	2.78	5.58
A'5	17	41.41	0.78	1.95	3.93
A'6	20	49.16	0.93	2.32	4.66
A'7	12	29.05	0.55	1.37	2.75
A'8	0	0.00	0.00	0.00	0.00
A'9	14	34.16	0.64	1.61	3.24
A'10	33	83.32	1.57	3.93	7.90
A'11	70	175.45	3.31	8.28	16.63
A'12	37	92.15	1.74	4.35	8.74
A'13	29	71.95	1.36	3.40	6.82
A'14	0	0.00	0.00	0.00	0.00
A'15	0	0.00	0.00	0.00	0.00
A'16	8	20.65	0.39	0.97	1.96
A'17	17	42.30	0.80	2.00	4.00
A'18	17	43.66	0.82	2.06	4.14
A'19	20	48.93	0.92	2.31	4.64
<b>TOTAL</b>	<b>422</b>	<b>1055</b>	<b>19.92</b>	<b>49.80</b>	<b>100.00</b>
<b>sérum total A'</b>		<b>890</b>		<b>42.03</b>	

Le rapport entre l'activité prolactinique recueillie sur la colonne (49,8 ng/ml) et celle du sérum total (42 ng/ml) est de 1,18 ; alors qu'il était de 2,5 avant la série de congélations-décongélations.



L'histogramme (Figure 40), résultant de ces données s'avère être totalement différent de celui obtenu avec le sérum A (Figure 24). En effet, on observe un pic pour la forme little un peu moins élevé avec un pourcentage de 43,33%, alors qu'il était de 52,65% pour le sérum A, et surtout, un pic pour la forme big-big et une quasi disparition de la forme big, leur pourcentage respectif étant de 23,31 et 7,41% au lieu de 6,7 et 19,7%.

En conclusion, les pourcentages sont donc :

- de 43,33% de little prolactine, soit un pourcentage qui diminue.
- de 7,41% de big prolactine, avec un pourcentage qui diminue de façon importante.
- de 23,31% de big-big prolactine, avec un pourcentage augmentant considérablement.
- le pic de forme très lourde n'a pas disparu (11,22%).

Ainsi, la congélation-décongélation altère les résultats en transformant une partie des formes little et big en big-big. On a donc une tendance à l'agglomération.

## **CONCLUSION**

## CONCLUSION :

### 1- Comparaison des méthodes.

Sur un échantillon de petite taille, on a pu observer qu'il était important d'exprimer les résultats de prolactinémie en  $\mu\text{UI/ml}$  et non en  $\text{ng/ml}$ . Ceci afin de mieux comparer des résultats obtenus par différentes méthodes et différents standards. Puisque les rapports étaient plus proches de 1 en  $\mu\text{UI/ml}$  (Tableau XIII, issu du tableau II).

Tableau XIII : Rapports entre les différentes méthodes de dosage de la prolactine, établis sur un petit échantillon (n = 23).

Rapports	En masse	En activité prolactinique
BERILUX/RIA BEHRING	1,02	1,02
BERILUX/RIA IMMUNOTECH	1,16	0,82
BERILUX/RIA CIBA-CORNING	4,48	2,59

Berilux : dosage par chimiluminescence.

Sur un échantillon de plus grande taille (n = 94), on a constaté que les résultats obtenus par la méthode CIBA étaient toujours inférieurs à ceux obtenus avec les autres méthodes par RIA. Par ailleurs, les rapports entre les différentes méthodes (Tableau XIV) nous font aboutir aux mêmes conclusions que précédemment, c'est-à-dire faire l'expression des résultats en  $\mu\text{UI/ml}$ .

Tableau XIV : Rapports entre différentes méthodes de dosage de la prolactine, établis sur un grand échantillon.

Rapports	En masse $\text{ng/ml}$	En activité prolactinique $\mu\text{UI/ml}$
BEHRING/CIBA	3,06	1,75
DPC/CIBA	2,54	1,78
BEHRING/DPC	1,21	0,99

Behring : dosage par chimiluminescence.  
Ciba et DPC par RIA.

## 2- Résultats obtenus chez les patients :

Deux types de dosage de la prolactine ont été utilisés : une méthode par chimiluminescence (Berilux) et une méthode par RIA (Ciba-Corning).

Les résultats obtenus par chimiluminescence chez divers patients sont rassemblés dans le tableau suivant.

Tableau XV : Dosages par chimiluminescence (en  $\mu\text{UI/ml}$ ) et pourcentages des différentes formes de prolactine.

Serum	Dosage par chimiluminescence			Pourcentages			
	par addition des fractions	sur serum total	Rapport	Little	Big	Big-big	Formes très lourdes
A	1921	766	2,5	52,65	19,71	6,70	
A'	1055	890	1,2	43,33	7,41	23,31	11,22
B	2847	1004	2,8	37,00	17,10	14,35	20

On constate que par cette méthode, les résultats obtenus par addition des différentes fractions sont toujours supérieurs à ceux obtenus sur sérum total. Existerait-il un facteur empêchant la réaction antigène-anticorps dans le sérum, facteur qui serait retenu par la colonne ou élué en dehors des temps de collection ?

Les rapports sont proches pour les sérums A et B (2,5 et 2,8), tandis que le rapport du sérum A' représente environ la moitié (1,2). Ce sérum étant le sérum ayant subi des congélations et décongélations successives. Ces opérations auraient-elles alors un effet sur le facteur précédemment évoqué ?

Les différents résultats du tableau XV ont en fait été obtenus à partir de sérums provenant d'un même malade. On peut observer chez ce patient la présence de forme très lourde (sauf pour le sérum où la collecte n'a pas été faite pour de tels poids moléculaires), pouvant représentée jusqu'à 20%.

Cependant, ce patient ne présente pas de macroprolactinémie, car la forme little reste toujours la forme majoritaire, malgré un pourcentage relativement peu élevé.

Par ailleurs, les résultats obtenus par RIA (Ciba-Corning, NCR 83562), chez d'autres patients sont rassemblés dans le tableau XVI.

Tableau XVI : Dosages par RIA (en  $\mu\text{UI/ml}$ ) et pourcentages des différentes formes de prolactine.

Serum	Dosage par RIA			Pourcentages		
	Par addition des fractions	Sur serum total	Rapport	Little	Big	Big-big
C	903	1428	0,63	59,9	12,7	7,1
D	701	807	0,87	51,0	13,5	7,5
E	513	49	10,40	25,2	16,7	13,7
L	534	120	4,45	37,4	12,65	10,2
V	10862	26307	0,40	82,7	9,8	1,2
T	2218	5339	0,41	48,3	33,8	7,2

Par cette méthode, les résultats obtenus par addition des différentes fractions sont inférieurs à ceux obtenus sur le sérum total, sauf dans 2 cas (sérums E, figure 32 et L, figure 33) où l'on a vu que l'interprétation des résultats était difficile, à cause des faibles valeurs du sérum total.

Les rapports sont inférieurs à 1 (sauf pour les sérums E et L). On peut penser qu'il existe des auto-anticorps dans le sérum.

Par ailleurs, aucun de ces patients ne présente de macroprolactinémie, la forme little restant toujours majoritaire.

Peut être que ces anticorps réagissent avec d'autres molécules présentes dans le sérum et qui sont éliminées par chromatographie ?

### 3- Influence de la congélation-décongélation :

On a pu observer qu'une série de congélations-décongélation sur un sérum (A→A') entraînait une modification des pourcentages des différentes formes de prolactine (Tableau XV), avec une tendance à l'agglomération des formes little et big en forme big-big.

Par ailleurs, SUH et FRANTZ (1974) ont déjà démontré que la congélation, ainsi qu'une conservation supérieure à 3 mois entraînaient une modification du sérum. La forme little diminuant au profit des formes lourdes, avec l'apparition d'une réactivité dans le volume mort (début de collection) qu'ils n'ont pu expliquer. Cette réactivité correspondrait-elle au pic de forme "très lourde" retrouvé chez ce patient ? Puisque le dosage du sérum A' s'est fait après une série de congélations-décongélations, et celui du sérum B après une conservation à - 20°C pendant 7 mois.

On peut donc en conclure qu'il est important d'effectuer le dosage de prolactine sur un sérum juste recueilli, tout au plus dans les 24 heures.

#### **4- Réactivité des différentes formes de prolactine :**

(formes little, big, big-big, glycosylées ...).

L'hétérogénéité des formes circulantes de prolactine est responsable de certaines discordances biocliniques observées. En effet, les systèmes de dosages ne reconnaissent pas de façon identique les différentes formes de prolactine. Ainsi, l'immunoactivité mesurée n'est pas le reflet exact du taux circulant de prolactine monomère, la plus active biologiquement, les formes de poids moléculaires différents et les formes glycosylées étant également reconnues, et de façon variable, par les divers anticorps. De plus, les résultats des immunodosages utilisant des anticorps différents ne peuvent être comparés puisqu'ils ne reconnaissent pas de la même façon les différentes formes moléculaires. Enfin, dans une technique donnée, des taux identiques peuvent correspondre à des répartitions variables des différentes formes qui peuvent avoir une signification physiopathologique différente.

L'étude des différentes formes circulantes de prolactine nécessite la mise en œuvre de techniques complexes qui ne peuvent être réservées qu'à des cas cliniques rigoureusement sélectionnés. Ainsi, les chromatographies sur gels ont permis d'individualiser les macroprolactinémies et sont indiquées dans les cas d'hyperprolactinémies avec fonction ovarienne normale, puisqu'elles permettent, en particulier, de prévoir un bon pronostic fonctionnel en ce qui concerne la fertilité. Pour la prolactine glycosylée, il n'existe pas encore

actuellement de dosage quantitatif qui permette d'apprécier directement sa concentration. Néanmoins, la nette prédominance de prolactine glycosylée, d'activité biologique réduite, dans le sang circulant éclaire d'un jour nouveau les rôles physiologiques et pathologiques de la prolactine : en effet, de même qu'en fin de grossesse on observe une prédominance de la forme non glycosylée. On peut envisager que dans certains troubles de la fonction ovarienne, des taux de prolactine immunoréactive apparemment normaux puissent correspondre à la présence prépondérante de formes non glycosylées, biologiquement les plus actives, responsables d'anomalies au niveau des organes cibles (BLACKER et coll 1990).

## **5- Réactivité, spécificité, sensibilité des méthodes.**

Quelque soit la méthode utilisée, actuellement seuls les anticorps monoclonaux sont utilisés. Car ils constituent une population homogène en étant produits indéfiniment par clonage. Ces anticorps assurent une stabilité dans le temps des réactifs, facilitant ainsi le suivi des patients.

Que ce soit par RIA ou par chimiluminescence, deux anticorps monoclonaux sont utilisés contre deux épitopes différents de l'antigène, améliorant la reconnaissance spécifique de ce dernier. Cette spécificité accrue permet, en choisissant bien les épitopes reconnus, de distinguer les molécules présentant une forte homologie. Ainsi, la méthode par chimiluminescence (Behring) présente une absence de réactions croisées avec la TSH, l'hPL, la FSH, la LH. La méthode par RIA (Immunotech) présente des réactions croisées presque nulles, avec une réaction inférieure à 0,01% pour la TSH et la FSH, inférieure à 0,04% pour la LH, et inférieure à 0,1% pour l'hGH et l'hPL.

Par ailleurs, l'utilisation d'anticorps marqués permet d'obtenir des activités spécifiques plus élevées et donc d'introduire une quantité plus importante de marqueur dans la réaction, augmentant la précision des mesures.

Néanmoins, il existe un inconvénient à ces méthodes : l'existence d'un phénomène appelé "effet crochet" qui peut apparaître pour des concentrations élevées en antigène (prolactine). Dans ce cas, on observe une diminution de la valeur du signal passant au-dessous

de celle obtenue pour le dernier point de gamme. Le résultat ainsi obtenu est anormalement sous-estimé, conduisant à une interprétation complètement erronée. Il est alors nécessaire de diluer l'échantillon. Pour chaque technique, la zone de concentration où cet effet peut se produire est mentionnée. Exemple :

Bérilux à 500000  $\mu\text{UI/ml}$  ( $\approx 23000 \text{ ng/ml}$ )

RIA Behring à 750000  $\mu\text{UI/ml}$  ( $\approx 35000 \text{ ng/ml}$ )

RIA Immunotech à 15000  $\text{ng/ml}$  ( $\approx 455000 \mu\text{UI/ml}$ ).

L'utilisation de la chimiluminescence (Bérilux) garantit une importante sensibilité dans une large fourchette de mesure. La limite inférieure de détection, ramenée à l'étalon K1 est inférieure à 2  $\mu\text{UI/ml}$  (0,1  $\text{ng/ml}$ ) de prolactine. La limite supérieure est à environ 16000  $\mu\text{UI/ml}$  (755  $\text{ng/ml}$ ). De même, la méthode par RIA de Behring a une sensibilité de 0,8  $\mu\text{UI/ml}$  (0,04  $\text{ng/ml}$ ), celle d'Immunotech de 0,5  $\text{ng/ml}$  (15  $\mu\text{UI/ml}$ ). Pour améliorer cette sensibilité, nous avons concentré chaque fraction recueillie.

Actuellement la méthode de référence pour le dosage de prolactine est la technique par RIA, mais le problème des multiples standards sur le marché reste toujours. Le meilleur moyen serait de disposer d'une source unique d'approvisionnement. En attendant, il serait judicieux que tous les résultats soient exprimés en unités internationales, mais les habitudes sont telles que cette réforme semble difficile à mettre en application.

En conclusion, la standardisation de la prolactinémie paraît nécessaire et l'on pourrait alors envisager :

- 1)- de déterminer "un" standard.
- 2)- de déterminer les réactivités des différents anticorps avec des formes little, big et big-big (isolées et caractérisées) de prolactine.

La technique de résonance plasmonique de surface semblerait bien adaptée pour cette étude.

A partir de ces conditions, on pourrait alors discuter des significations physiopathologiques des différentes proportions de ces formes de prolactine. Mais tout ceci nécessiterait du temps (concertation et consensus au niveau mondial du standard) et des moyens (validité des différents anticorps).

Ce dosage de prolactinémie est donc un bon exemple de l'influence d'une technique d'analyse sur l'interprétation physiopathologique d'un résultat biologique.

## **ABBREVIATIONS**

## Liste alphabétique des principales abréviations utilisées :

Å : Angström (1 Å = 10<sup>-10</sup> mètre).  
 Ala : alanine.  
 αMSH : alpha mélanostimuline.  
 Arg : arginine.  
 ARN : acide ribonucléique.  
 ARN<sub>m</sub> : ARN messenger.  
 Asn : asparagine.  
 Asp : acide aspartique.  
 β End : béta endorphines.  
 cm : centimètre.  
 Cys : cystéine.  
 Da : dalton.  
 DA : dopamine.  
 FSH : *follicule stimulating hormone*.  
 g : gramme.  
 GABA : acide gamma aminobutyrique.  
 GAP : *Gonadotropin releasing hormone-Associated Peptide*.  
 Gln : glutamine.  
 Glu : acide glutamique.  
 Gly : glycine = glycoColle.  
 GMP cyclique : guanosine 5'-monophosphate cyclique.  
 GnRH : *gonadotropin releasing hormone* = gonadolibérine.  
 HDL : *high density lipoproteins*.  
 hGH : hormone de croissance humaine.  
 His : histidine.  
 hPL : hormone lactogène placentaire humaine.  
 HPRL : hyperprolactinémie.  
 5HT : sérotonine.  
 IGF-I : somatomédine C.  
 Ile : isoleucine.  
 IMAO : inhibiteur de la monoamine oxydase.  
 IRM : imagerie par résonance magnétique.  
 Leu : leucine.  
 LH : *lutening hormone* = hormone lutéinisante.  
 LH-RH : hormone libérant l'hormone lutéinisante.  
 Lys : lysine.  
 Met : méthionine.  
 μ : micro = 10<sup>-6</sup>.  
 mg : milligramme.  
 ml : millilitre.  
 mm : millimètre.  
 ng : nanogramme.  
 nm : nanomètre = 10<sup>-9</sup> mètre.  
 OT : ocytocine.  
 Phe : phénylalanine.  
 pH : potentiel hydrogène.

PHM : peptide histidine méthionine.

PIF : *prolactin inhibiting factor* = facteur d'inhibition de la prolactine.

PM : poids moléculaire.

PRF : *prolactin releasing factor* = facteur de libération de la prolactine.

**PRL : prolactine.**

Pro : proline.

RIA : radio immunoassay.

RLU : unité relative de luminescence.

RMN : résonance magnétique nucléaire.

Ser : sérine.

T<sub>3</sub> : triiodothyronine.

T<sub>4</sub> : tétraiodothyronine = thyroxine.

TeBG : *testosterone binding globulin* = globuline de transport de la testostérone.

THDA : voie dopaminergique tubéro-hypophysaire.

Thr : thréonine.

TIDA : voie dopaminergique tubéro-infundibulaire.

TRH : thyrolibérine = *thyrotropin releasing hormone*.

Trp : tryptophane.

TSH : thyrotropine.

Tyr : tyrosine.

UI : unité internationale.

Val : valine.

VIP : *vasoactive intestinal peptide* : peptide intestinal vasoactif.

## **BIBLIOGRAPHIE**

- **ABE H., ENGLER D., MOLITCH M.E., BOLLINGER-GRUBER J., REICHLIN S.**  
Vasoactive intestinal peptide is a physiological mediator of prolactin release in the rat.  
Endocrinology 1985 ; 116 : 1383-1390.
- **AGUILERA G., HYDE C.L., CATT K.J.**  
Angiotensin II receptors and prolactin release in pituitary lactotrophs.  
Endocrinology 1982 ; 111 : 1045-1050.
- **AIZAWA T., HINKLE P.M.**  
Thyrotropin-releasing hormone rapidly stimulates a biphasic secretion of prolactin and growth hormone in GH4C1 rat pituitary tumor cells.  
Endocrinology 1985 ; 116 : 73-82.
- **AJIKI K., HOKFELT T.**  
Projections to the median eminence and the arcuate nucleus with special reference to monoamine systems : effects of lesions.  
Cell Tissue Res 1975 ; 158 : 15-35.
- **ANDERSEN A.N., PEDERSEN H., DJURSING H., ANDERSEN B.N., FRIESEN H.G.**  
Bioactivity of prolactin in a woman with excess of large molecular size prolactin, persistent hyperprolactinemia and spontaneous conception.  
Fertil Steril 1982 ; 38 : 625-628.
- **ATAYA K.M., HAYES M.F., SUBRAMANIAN M.G., LAWSON D.M., MOGHISSI K.S., GALA R.R., MAGYAR D.M.**  
Clinical value of prolactin bioassay in euprolactinemic reproductive disorders.  
Fertil Steril 1988 ; 49 : 71-75.
- **AUBERT M.L.**  
Hormone de croissance et prolactine.  
Bertrand J, Rappaport R, Sizonenko PC, eds. Endocrinologie pédiatrique. Paris : Doin, Lausanne : Payot, 1982 ; 2 : 50-59.
- **BABU G.N., VUAYAN E.**  
Hypothalamic tyrosine hydroxylase activity and plasma gonadotropin and prolactin levels in ovariectomized steroid treated rats.  
Brain Res Bull 1984 ; 12 : 555-558.
- **BARNES R., ROSENFELD R.L.**  
The polycystic ovary syndrome : pathogenesis and treatment.  
Ann Intern Med 1989 ; 110 : 386-399.
- **BEN-JONATHAN N., OLIVER C., WINER H.J., MICAL R.S., PORTER J.C.**  
Dopamine in hypophysial portal plasma of the rat during the estrous cycle and throughout pregnancy.  
Endocrinology 1977 ; 100 : 452-458.

- **BENVENISTE R., HELMAN J.D., ORTH D.N., MAC KENNA T.J., NICHOLSON W.E., RABINOWITZ D.**

Circulating big human prolactin : conversion to small human prolactin by reduction of disulfide bonds.

J Clin Endocrinol Metab 1979 ; 48 : 883-886.

- **BETHEA C.L., SPRANGERS S.A., WEST N.B., BRENNER R.M.**

The effect of silmutaneous versus sequential estradiol and progesterone treatment on prolactin production in monkey pituitary cell cultures.

Endocrinology 1988 ; 122 : 1786-1792.

- **BIRGE C.A., JACOBS L.S., HAMMER C.T., DAUGHADAY W.H.**

Catecholamine inhibition of prolactin secretion by isolated rat adenophysis.

Endocrinology 1970 ; 86 : 120-126.

- **BJORKLUND A., MOORE R.Y., NOBIN A., STENEVI V.**

The organization of the tuberohypophysial and reticuloinfundibular catecholamine neuron system in the rat brain.

Brain Res 1973 ; 51 : 171-191.

- **BLACKER C., FEINSTEIN M.C., GERVASI G.**

Multiplicité des prolactines : conséquences pratiques.

Immunoanal Biol Spec 1990 ; 22 : 53-57.

- **BOHNET H.G., DAHLEN H.B., WUTTKE W.**

Hyperprolactinemic anovulatory syndrom.

J Clin Endocrinol Metab 1975 ; 42 : 132-143.

- **BOOCKFOR F.R., HOFFLER J.P., FRAWLEY L.S.**

Estradiol induces a shift in cultured cells that release prolactin or growth hormone.

Am J Physiol 1986 ; 250 : E103-105.

- **BORSON-CHAZOT F.**

Sécrétion de prolactine et régulation.

Ed Sandoz. Cycléos 1988 ; 1 : 2-8.

- **BRANN D.W., RAO I.M., MAHESH V.B.**

Antagonism of estrogen-induced prolactin release by progesterone.

Biol Reprod 1988 ; 39 : 1067-1073.

- **BRESSION D., BRANDI A.M., LEDAFNIET M., PEILLON F., RACADOT J.**

Modifications of the high and low affinity pituitary domperidone-binding sites in chronic estrogenized rats.

Endocrinology 1983 ; 113 : 1799-1805.

- **BRESSION D., BRANDI A.M., MARTRES M.P., PEILLON F.**

Dopaminergic receptors in human prolactin-secreting adenomas : a quantitative study.

J Clin Endocrinol Metab 1980 ; 51 : 1037-1043.

- **BRESSION D., BRANDI A.M., PAGESY P., LE DAFNIET M., MARTINET M., BRAILLY S., MICHARD M., PEILLON F.**

In vitro and in vivo antagonistic regulation by estradiol and progesterone of the rat pituitary domperidone binding sites : correlation with ovarian steroid regulation of the dopaminergic inhibition of prolactin secretion in vitro.

Endocrinology 1985 ; 116 : 1905-1911.

- **BRESSION D., MICHARD M., LE DAFNIET M., PAGESY P., PEILLON F.**

Evidence for a specific estradiol binding site on rat pituitary membrane.

Endocrinology 1986 ; 119 : 1048-1051.

- **BRUE T., MORANGE I., GUNZ G., JAQUET P.**

Les macroprolactinémies : un piège diagnostique.

Rev Fr Endocrinol Clin 1992 ; 33 (4-5) : 147-151.

- **BUCKMAN M.T., PEAKE F.T.**

Osmolar control of prolactin secretion in man.

Science 1973 ; 181 : 755-757.

- **CALABRO M.A., MAC LEOD R.M.**

Binding of dopamine to bovine anterior pituitary gland membranes.

Neuroendocrinology 1978 ; 25 : 32-46.

- **CALIGARIS L., TALEISNIK S.**

Involvement of neurons containing 5-hydroxytryptamine in the mechanism of prolactin release induced by estrogen.

J Endocrinol 1974 ; 62 : 25-32.

- **CARLSON H.E., WASSER H.L., LEVIN S.R., WILKINS J.N.**

Prolactin stimulation by meals is related to protein content.

J Clin Endocrinol Metab 1983 ; 57 : 334-338.

- **CARON M.G., BEAULIEU M., RAYMOND V., GAGNE B., DROUIN J., BLEFKOWITZ R.J., LABRIE F.**

Dopaminergic receptors in the anterior pituitary gland.

J Biol Chem 1978 ; 253 : 2244-2253.

- **CARON P., SIMONETTA-CHATEAUNEUF C.**

Physiologie de la prolactine.

La prolactine, éditions SANDOZ et BEHRING, 1991 ; 39-52.

- **CASPER R.F., ERICKSON G.F.**

In vitro heteroregulation of LH receptors by prolactin and FSH in rat granulosa cells.

Mol Cell Endocrinol 1981 ; 23 : 161-171.

- **CHANNING C.P., EVANS V.W.**

Simulatory effect of ovine prolactin upon cultured porcine granulosa cell secretion of inhibitory activity of ovocyte maturation.

Endocrinology 1982 ; 111 : 1746-1748.

**- CHEN C.L., MINAGUCHI H., MEITES J.**

Effects of transplanted pituitary tumors on host pituitary prolactin secretion.  
Proc Soc Exp Biol Med 1967 ; 126 : 317-320.

**- CICCARELLI E., GIUSTI M., MIOLA C., POTENZONI F., SGHEDONI D., CAMANNI F., GIORDANO G.**

Effectiveness and tolerability of long term treatment with cabergoline, a new long-lasting ergoline derivative, in hyperprolactinemic patients.  
J Clin Endocrinol Metab 1989 ; 69 : 725-728.

**- CICCARELLI E., SAVINO L., CARLEVATTO V., BERTAGNA A., ISAIA G.C., CAMANNI F.**

Vertebral bone density in non amenorrheic hyperprolactinaemic women.  
Clin Endocrinol 1988 ; 28 : 1-6.

**- CLAPP C., SEARS P.S., RUSSEL D.H., RICHARDS J., LEVAY-YOUNG B.K., NICOLL C.S.**

Biological and immunological characterization of cleaved and 16 K forms of rat prolactin.  
Endocrinology 1988 ; 122 : 2892-2998.

**- CLARKE I.J., CUMMINS J.T., KARSCH F.J., SEEBURG P.H., NIKOLICS K.**

GnRH-associated peptide (GAP) is cosecreted with GnRH into the hypophysial portal blood of ovariectomized sheep.  
Biochem Biophys Res Commun 1987 ; 143 : 665-669.

**- CLEMENS J.A., SAWYER B.D.**

Identification of prolactin in cerebrospinal fluid.  
Exp Brain Res 1974 ; 21 : 399-402.

**- COOKE N.E., BAXTER J.D.**

Structural analysis of the prolactin gene suggests a separate origin for its 5' end.  
Nature 1982 ; 297 : 603-606.

**- COOKE N.E., COIT D., WEINER R.I., BAXTER J.D., MARTIAL J.A.**

Structure of cloned DNA complementary to rat prolactin messenger RNA.  
J Biol Chem 1980 ; 255 : 6502-6510.

**- COSMAN D., LYMAN S.D., IDZERDA R., BECKMAR M.P., PARK L.S., GOODWILL R.G., MARCH C.J.**

A new cytokine receptor superfamily.  
Trends Biochem Sci 1990 ; 15 : 265-270.

**- CREESE I., SCHNEIDER R., SNYDER S.H.**

<sup>3</sup>H-spiperone labels dopamine receptors in pituitary and brain.  
Eur J Pharmacol 1977 ; 46 : 377-401.

**- DALY D.C., MASLAR I.A., ROSENBERG S.M., TOHAN N., RIDDICK D.H.**

Prolactin production by luteal phase defect endometrium.  
Am J Obstet Gynecol 1981 ; 140 : 587.

**- DATTATREYAMURTY B., SHETH A.R.**

Size heterogeneity and specific binding property of immunoreactive PRL in human seminal plasma.

Moll Cell Endocrinol 1977 ; 7 : 273-279.

**- DEL POZO E., BRUN DEL RE R., VARGA L., FRIESEN H.**

The inhibition of prolactin secretion in man by CB-154 (2-Br- $\alpha$  ergocryptine).

J Clin Endocrinol Metab 1972 ; 35 : 768-771.

**- DEL POZO E., FLÜCKIGER E.**

Prolactin inhibition : experimental and clinical studies.

In Human prolactin p 291. Excerpta Medica Fondation édit. , Amsterdam, 1973.

**- DEMAREST K.T., MOORE K.E.**

Sexual differences in the sensitivity of tuberoinfundibular dopamine neurons to the actions of prolactin.

Neuroendocrinology 1981 ; 33 : 230-234.

**- DEMAREST K.T., RIEGLE G.D., MOORE K.E.**

Hypoprolactinemia induced by hypophysectomy and long-term bromocriptine treatment decreases tuberoinfundibular dopaminergic neuronal activity and the responsiveness of these neurons to prolactin.

Neuroendocrinology 1985 ; 40 : 369-376.

**- DEROME P.J., PEILLON F., BARD R.H., JEDYNAK C.P., RACADOT J., GUIOT G.**

Adénomes à prolactine : résultats du traitement chirurgical - 120 cas féminins, 30 cas masculins.

Nouv Press Méd 1979 ; 8 : 577-583.

**- DESCHEPPER C.F., CRUMRINE D.A., GANONG W.F.**

Evidence that the gonadotrophs are the likely site of production of angiotensin II in the anterior pituitary of the rat.

Endocrinology 1986 ; 119 : 36-43.

**- DEWAILLY D., GOUGEON E., BUVAT J.**

Élévation du DHA-S plasmatique au cours de l'hyperprolactinémie : effets de la dexaméthasone et de la B1-24-corticotrophine.

Rev Fr Endocrinol Clin 1985 ; 26 : 53-58.

**- DORRINGTON J.H., GORE-LANGTON R.E.**

Antigonadal action of prolactin : further studies on the mechanism of inhibition of follicle stimulating hormone-induced aromatase activity in rat granulosa cell cultures.

Endocrinology 1982 ; 110 : 1701-1707.

**- DUNAIF A.E., ZIMMERMANN E.A., FRIESEN H.G., FRANTZ A.G.**

Intracellular localization of prolactin receptor and prolactin in the rat ovary by immunocytochemistry.

Endocrinology 1982 ; 110 : 1465-1471.

**- DUNN J.D., JOHNSON D.C., CASTRO A.J., AWENSON R.**

Twenty-four hour pattern of prolactin levels in female rats subjected to transection of the mesencephalic raphe or ablation of the suprachiasmatic nuclei.  
Neuroendocrinology 1980 ; 31 : 85-91.

**- DUPONT A., CUSAN L., LABRIE F.**

Stimulation of prolactin release in the rat by intraventricular injection of beta-endorphin and methionine-enkephalin.  
Biochem Biophys Res Commun 1977 ; 75 : 76-82.

**- DUPOUY J.P., BOISSIN J., CLOS J., DESCHAUX P., LEGRAND C., PICON L.O.**

Hormones et grandes fonctions. Tome I. Ellipses. Paris. 1992.

**- DUPUY M., DEROME P.J., PEILLON F.**

L'adénome à prolactine chez l'homme. Etude pré et postopératoire de 80 cas.  
Sem Hôp Paris 1984 ; 60 : 2943-2954.

**- DURANTEAU L., CHANSON P., LAVOINNE A., HORLAIT S., LUBETZSKI J., KUHN J.M.**

Effect of the new dopaminergic agonist CV 205-502 on plasma prolactin levels and tumour size in bromocriptine-resistant prolactinomas.  
Clin Endocrinol 1991 ; 34 : 25-29.

**- FAGIN K.D., NEILL J.D.**

The effect of dopamine on thyrotropin-releasing hormone induced prolactin secretion in vitro.  
Endocrinology 1981 ; 109 : 1835-1840.

**- FANG V.S., REFETTOFF S.**

Heterogeneous human prolactin from a giant pituitary tumor in a patient with panhypopituitarism.  
J Clin Endocrinol Metab 1978 ; 47 : 780-787.

**- FERLAND L., KLEDZIK G.S., CUSAN L., LABRIE F.**

Evidence for a role of endorphins in stress and suckling-induced prolactin release in the rat.  
Mol Cell Endocrinol 1978 ; 12 : 267-272.

**- FOREMAN M.M., PORTER J.C.**

Prolactin augmentation of dopamine and norepinephrine release from superfused medial basal hypothalamic fragments.  
Endocrinology 1981 ; 108 : 800-804.

**- FERRARI C., BARBIERI C., CALDARE R., MUCCI M., CODECASA F., PARACCHI A., ROMANO C., BOGHEN M., DUBINI A.**

Long-lasting prolactin-lowering effects of cabergoline, a new dopamine agonist, in hyperprolactinemic patients.  
J Clin Endocrinol Metab 1986 ; 63 : 941-945.

**- FOSSATI P., BUVAT J., DEWAILLY D.**

Physiologie de la prolactine.  
Encycl Méd Chir, Glandes Nutr 1984 ; 9 : 10017 M.

**- FOSSATI P., BUVAT J., DEWAILLY D.**

Les hyperprolactinémies.

Encycl Méd Chir, Glandes Nutr 1984 ; 9 : 10018 L10 p16.

**- FOSSATI P., DEWAILLY D., COMBES M.E., RACADOT A., LEMAIRE C., MERIGNARGUES I.**

Classification des hyperprolactinémies en pathologie. Intérêt du test séquentiel TRH-métoclopramide.

Rev Fr Endocrinol Clin 1989 ; 30 : 331-337.

**- FOSSATI P., DEWAILLY D., THOMAS-DESROUSSEAU P., BUVAT J., FERMON C., LEMAIRE A., BOURDELLE-HEGO M.F., POUYOL-MOTTE H., LEMAITRE G., CLARISSE J., CHRISTIAENS J.L., MAZZUCA M.**

Medical treatment of hyperprolactinemia.

Horm Res 1985 ; 22 : 228-238.

**- FOSSATI P., DEWAILLY D., VINCENT-MARTIN C.**

Les hyperprolactinémies.

Encycl Méd Chir (Paris), Gynécologie, 3-1988 ; 812 A 10 : 8 p.

**- FOSSATI P., GRENIER J.L., ASFOUR M., FOURLINNIE J.C., RACADOT A., L'HERMITE M.**

Etude de la glycémie et de l'insulinémie sous charge glucidique chez 27 sujets hyperprolactinémiques, influence de la normalisation des taux de prolactine dans 13 cas.

Diab Metab 1977 ; 3 : 71.

**- FOSSATI P., STRAUCH G., TOURNIAIRE J.**

Etude de l'activité de la bromocriptine dans les états d'hyperprolactinémie.

La Nouvelle Presse Médicale 1976 ; 5 (27) : 1687-1690.

**- FREEMAN R., LEV-GUR M., KOSLOW E., SCHULMAN H., GATZ M.**

Maternal plasma and amniotic fluid levels of estradiol, estrone, progesterone and prolactin in early pregnancy.

Obstet Gynecol 1984 ; 63 : 507-510.

**- FRIESEN H., BELANGER C., GUYDA H., HWANG P.**

Lactogenic hormones. Wolstenholme GEW, Knight J, eds. Edimbourg : Churchill Livingstone 1972 : 83.

**- FUCHS E., MANSKY T., STOCK K.W., VIJAYAN E., WUTTKE W.**

Involvement of catecholamines and glutamate in GABAergic mechanisms regulatory to luteinizing hormone and prolactin secretion.

Neuroendocrinology 1984 ; 38 : 484-489.

**- GAINER H., SARNE Y., BROWSTEIN M.**

Biosynthesis and axonal transport of rat neurohypophysial proteins and peptides.

J Cell Biol 1977 ; 73 : 366-381.

**- GERSHENGORN M.C., THAW C.**

Thyrotropin-releasing hormone (TRH) stimulates biphasic elevation of cytoplasmic free calcium in GH3 cells. Further evidence that TRH mobilizes cellular and extracellular calcium. *Endocrinology* 1985 ; 116 : 591-596.

**- GIBBS D.M., NEILL J.D.**

Dopamine levels in hypophysial stalk blood in the rat are sufficient to inhibit prolactin secretion in vivo. *Endocrinology* 1978 ; 102 : 1895-1900.

**- GIGUERE V., MEUNIER H., VEILLEUX R., LABRIE F.**

Direct effect of sex steroids on prolactin release at the anterior pituitary level : interactions with dopamine, thyrotropin-releasing hormone and isobutylmethylxanthine. *Endocrinology* 1982 ; 111 : 857-862.

**- GOLDSMITH P.L., CRONIN M.F., WEINER R.I.**

Dopamine receptor sites in the anterior pituitary. *J Histochem Cytochem* 1979 ; 27 : 1205-1207.

**- GRANDISON L., GUIDOTTI A.**

Regulation of prolactin release by endogenous opiates. *Nature* 1977 ; 270 : 357-359.

**- GRANDISON L., GUIDOTTI A.**

Gamma-aminobutyric acid receptor function in the rat anterior pituitary ; evidence for control of prolactin release. *Endocrinology* 1979 ; 105 : 754-759.

**- GUSTAFSON A.B., BANASIAK M.F., KALKHOFF R.K., HAGEN T.C., KIM H.J.**

Correlation of hyperprolactinemia with altered plasma insulin and glucagon. *J Clin Endocrinol Metab* 1980 ; 51 : 242-246.

**- HASHIM I.A., ASTON R., BUTLER J., MAC GREGOR A.M., SMITH C.R., NORMAN M.**

The proportion of glycosylated prolactin in serum is decreased in hyperprolactinemic states. *J Clin Endocrinol Metab* 1990 ; 71 : 111-115.

**- HASKINS J.T., GUDELSKY G.A., MOSS R.L., PORTER J.C.**

Iontophoresis of morphine into the arcuate nucleus : effects on dopamine concentrations in the hypophysial portal plasma and serum prolactin concentrations. *Endocrinology* 1981 ; 108 : 767-771.

**- HAUG E.**

Progesterone suppression of estrogen-stimulated prolactin secretion and estrogen receptor levels in rat pituitary cells. *Endocrinology* 1979 ; 104 : 429-437.

**- HEALY D.L., HODGEN G.D.**

The endocrinology of human endometrium. *Obstet Gynecol Surv* 1983 ; 38 : 509-530.

**- HOCHNER-CELNIKIER D., RON M., ELDOR A., SEGAL S., PALT Z., FUKS Z., VLODAVSKY I.**

Growth characteristics of human first trimester decidual cells cultured in serum-free medium : production of prolactin, prostaglandins and fibronectin.

Biol Reprod 1984 ; 31 : 827-836.

**- HOFMANN G.E., DENIS A.L., SCOTT T.R.T., MUASHER S.J.**

The incidence of transient hyperprolactinemia in gonadotropin-stimulated cycles for in vitro fertilization and its effect on pregnancy outcome.

Fertil Steril 1989 ; 52 (4) : 622-626.

**- HORROBIN D.F., LLOYD I.J., LIPTON A., BURSTYN P.G., DURKIN N., MUIRURU K.L.**

Actions of prolactin on human renal function.

Lancet 1971 ; 2 : 352-354.

**- HOYT J.A., BYRD R.A., OWEN N.V.**

Reproductive and developmental toxicity of the dopamine agonist pergolide mesylate in mice.

Arzneimittelforschung 1994 ; 44 (11) : 1177-1183.

**- HWANG P., GUYDA H., FRIESEN H.**

Purification of human prolactin.

J Biol Chem 1972 ; 247 : 1955-1958.

**- HYDE J.F., BEN-JONATHAN N.**

The posterior pituitary contains a potent prolactin-releasing factor : in vivo studies.

Endocrinology 1989 ; 125 : 736-741.

**- IEIRI T., CHEN H.T., CAMPBELL G.A., MEITES J.**

Effects of naloxone and morphine on the proestrous surge of prolactin and gonadotropins in the rat.

Endocrinology 1980 ; 106 : 1568-1570.

**- ISRAEL J.M., JAQUET P., VINCENT J.D.**

The electrical properties of isolated human prolactin-secreting adenoma cells and their modifications by dopamine.

Endocrinology 1985 ; 117 : 1448-1455.

**- JACQUET P., PELLEGRINI I.**

Interactions de la prolactine avec son récepteur.

Ann Endocrinol (Paris) 1989 ; 50 : 399-403.

**- JASPERS C., BENKER G., REINWEIN D.**

Treatment of prolactinoma patients with the new non-ergot dopamine agonist roxindol : first results.

Clin Investig 1994 ; 72 (6) : 451-456.

**- JOHNSON J.W.C., TYSON J.E., WODZICKI A.**

Society for gynecological investigation.

Dallas 1982 ; A : 320.

**- JONES P.B.C., HSUEH A.J.N.**

Regulation of progesterone metabolizing enzyme by adrenergic agents, prolactin and prostaglandins incultured rat ovarian granulosa cells.  
Endocrinology 1981 ; 109 : 1347-1354.

**- JONES P.B.C., VALK C.A., HSUEH A.J.W.**

Regulation of progestin biosynthetic enzymes in cultured rat granulosa cells. Effects of prolactin, beta-2 adrenergic agonist, human chorionic gonadotropin and gonadotropin releasing hormone.  
Biol Reprod 1983 ; 29 : 572-585.

**- JOUBERT-BRESSION D.**

Régulation de la sécrétion de la prolactine.  
Dans : Prolactine, Berhring-Sandoz Eds, 1991 ; 15-38.

**- KADOWAKI J., KU N., OETTING W.S., WALKER A.M.**

Mammotroph autoregulation : uptake of secreted prolactin and inhibition of secretion.  
Endocrinology 1984 ; 114 : 2060-2067.

**- KAJI H., CHIHARA K., ABE H., KITA T., KASHIO Y., OKIMURA Y., FUJITA T.**

Effect of passive immunization with antisera to vasoactive intestinal polypeptide and peptide histidine isoleucine amide on 5-hydroxy-1-tryptophan-induced prolactin release in rats.  
Endocrinology 1985 ; 117 : 1914-1919.

**- KANEMATSU S., SAWYER C.H.**

Effect of intrahypothalamic and intrahypophysial estrogen implants on pituitary prolactin and lactation in the rabbit.  
Endocrinology 1963 ; 72 : 243-252.

**- KAPLAN S.E., DE NICOLA A.F.**

Protein and RNA synthesis in pituitary tumors from F344 rats given implants of estrogens.  
J Natl Cancer Inst 1976 ; 56 : 37-41.

**- KEEFER D.A., STUMPF W.E., PETRUSZ P.**

Quantitative autoradiographic assessment of <sup>3</sup>H-estradiol uptake in immunocytochemically characterized pituitary cells.  
Cell Tissue Res 1976 ; 166 : 25-35.

**- KHALFALLAH Y., CLAUSTRAT B., GROCHOWICKI M., FLOCARD F., HORLAIT S., SERUSCLAT P., SASSOLAS G.**

Effects of a new prolactin inhibitor, CV 205-502, in the treatment of human macroprolactinomas.  
J Clin Endocrinol Metab 1990 ; 71 : 354-359.

**- KIEFER K.A., MALARKEY W.B.**

Size heterogeneity of human prolactin in CSF and serum : experimental conditions that alter gel filtration patterns.  
J Clin Endocrinol Metab 1978 ; 46 : 119-124.

**- KIINO D.R., DANNIES P.S.**

Insulin and 17 beta-estradiol increase the intracellular prolactin content of GH4C1 cells.  
Endocrinology 1981 ; 109 : 1264-1269.

**- KLEINBERG D.L., TODD J., BABITSKY G., GREISING J.**

Estradiol inhibits prolactin induced alpha lactalbumin production in normal primate mammary tissue in vitro.

Endocrinology 1982 ; 110 : 279-281.

**- KLETZKY D.A., ROSSMAN F., BERTOLLI S.I., PLATT L.D., MISHELL D.R.J.**

Dynamics of human chorionic gonadotropin, prolactin and growth hormone in serum and amniotic fluid throughout normal human pregnancy.

Am J Obstet Gynecol 1985 ; 151 : 878-884.

**- KLIBANSKI A., GRENNSPAN S.L.**

In crease in bone mass after the treatment of hyperprolactinemic amenorrhea.

N Engl J Med 1986 ; 315 : 542-546.

**- KOHLI R., CHADHA N., MURALIDHAR K.**

Are sheep and buffalo prolactin sulfated ?

Biochem Biophys Res Commun 1987 ; 149 : 515-522.

**- KORDON C., BLAKE C.A., TERKEL J., SAWYER C.H.**

Participation of serotonin-containing neurons in the suckling-induced rise in plasma prolactin levels in lactating rats.

Neuroendocrinology 1973 ; 13 : 213-223.

**- KREMER J.A.M., VAN DER HEIJDEN P.F.M., SCHELLEKENS L.A., THOMAS C.M.G., BROWNELL J., ROLLAND R.**

Post-partum return of pituitary and ovarian activity during lactation inhibition with the new dopamine agonist CV 205-502 and during normal lactation.

Acta Endocrinol (Copenh) 1990 ; 122 : 759-765.

**- LAM K.S.L., LECHAN R.M., MINAMITANI N., SEGERSON T.P., REICHLIN S.**

Vasoactive intestinal peptide in the anterior pituitary is increased in hypothyroidism.

Endocrinology 1989 ; 124 : 1077-1084.

**- LAWSON D.M., GALA R.R.**

The influence of pharmacological manipulation of serotonergic and dopaminergic mechanisms on plasma prolactin in ovariectomized estrogen-treated rats.

Endocrinology 1978 ; 102 : 973-979.

**- LE DAFNIET M., BLUMBERG-TICK J., BRANDI A.M., YUAN-LI J., BRESSION D., BARRET A., FEINSTEIN M.C., PEILLON F.**

Libération de thyrolibérine (TRH) par les cellules adénomateuses hypophysaires humaines à prolactine. Modulation par la dopamine.

C R Acad Sci 1988 ; 306 : 129-134.

**- LE DAFNIET M., BLUMBERG-TICK J., GOZLAN H., BARRET A., JOUBERT-BRESSION D., PEILLON F.**

Altered balance between thyrotropin-releasing hormone (TRH) and dopamine (DA) in prolactinomas and other pituitary tumors compared to normal pituitaries.

J Clin Endocrinol Metab 1989 ; 69 : 267-271.

**- LEAKE A., CHRISHOLM G.D., HABIB F.K.**

Characterization of the prolactin receptor in the human prostate.

J Endocrinol 1983 ; 99 : 321-328.

**- LECHAN R.M., WU P., JACKSON I.M.D., WOLF H., COOPERMAN S., MANDEL G., GOODMAN R.H.**

Thyrotropin-releasing hormone precursor : characterization in rat brain.

Science 1986 ; 231 : 159-161.

**- LEROY-MARTIN B., BOUHDIBA M., PEYRAT J.P., SAINT-POL P.**

Effets périphériques de la prolactine dans la fonction de reproduction. I. Fonction de reproduction mâle.

J Gynecol Obstet Biol Reprod 1989 ; 18 : 39-45.

**- LEROY-MARTIN B., BOUHDIBA M., SAINT-POL P., PEYRAT J.P.**

Effets périphériques de la prolactine dans la fonction de reproduction. II. Fonction de reproduction femelle.

J Gynecol Obstet Biol Reprod 1989 ; 18 : 288-294.

**- LEWIS U.J., SINGH R.N.P., LEWIS L.J., SEAVEY B.K., SINHA Y.N.**

Glycosylated ovine prolactin.

Proc Natl Acad Sci USA 1984 ; 81 : 385-389.

**- LEWIS U.J., SINGH R.N.P., SEAVEY B.K.**

Human prolactin : isolation and some properties.

Biochem Biophys Res Commun 1971 ; 44 : 1169-1176.

**- LEWIS U.J., SINGH R.N.P., SINHA Y.N., VANDERLAAN W.P.**

Glycosylated human prolactin.

Endocrinology 1985 ; 116 : 359-363.

**- LOCATELLI V., COCCHI D., FRIGERIO C., BETTI R., KROGSGAARD-LARSEN P., RACAGNI G., MÜLLER E.E.**

Dual gamma-aminobutyric acid control of prolactin secretion in the rat.

Endocrinology 1979 ; 105 (3) : 778-785.

**- LUMPKIN M.D., SAMSON W.K., MAC CANN S.M.**

Hypothalamic and pituitary sites of action of oxytocin to alter prolactin secretion in the rat.

Endocrinology 1983 ; 112 : 1711-1717.

**- MAC LEOD R.M., FONTHAM E.H., LEHMEYER J.E.**

Prolactin and growth hormone production are influenced by catecholamines and agents that affect brain catecholamines.

Neuroendocrinology 1970 ; 6 : 283-294.

- **MAC NATTY K.P., MAC NEILLY A.S., SAWERS R.N.**  
Prolactin and progesterone secretion by human granulosa cells in vitro.  
CROSIGNANI PG, ROBYN C, eds. "Prolactin and human reproduction. NEW-YORK :  
Academic Press, 1977.
- **MARKOFF E., BEATTIE G.M., HAYEK A., LEWIS U.J.**  
Effects of prolactin on proinsulin synthesis and insulin release from cultured rat pancreatic  
islets.  
Pancreas 1990 ; 5 : 99-103.
- **MARKOFF E., LEE D.**  
Glycosylated prolactin is a major circulating variant in human serum.  
J Clin Endocrinol Metab 1987 ; 65 : 1102-1106.
- **MARKOFF E., LEE D., HOLLINGS-WORTH D.**  
Glycosylated and non glycosylated prolactin in serum during pregnancy.  
J Clin Endocrinol Metab 1988 ; 67 : 519-523.
- **MARTIKAINEN H., HUHTANIEMI I., MYLLYLÄ V., SOTANIEMI K., NUMMI  
K., VIHKO R.**  
Testicular responsiveness to a single dose of hCG during chronic hyper and hypoprolactinemia  
in aged men.  
J Androl 1983 ; 4 : 192-196.
- **MARTIN T.F.J., KOWALCHYK J.A.**  
Evidence for the role of calcium and diacylglycerol as dual second messengers in thyrotropin-  
releasing hormone action : involvement of calcium.  
Endocrinology 1984 ; 115 : 1527-1536.
- **MARTIN T.L., KIM M., MALARKEY W.B.**  
The natural history of idiopathic hyperprolactinemia.  
J Clin Endocrinol Metab 1985 ; 60 : 855-858.
- **MARTINEZ-ESCALERA G., WEINER R.I.**  
Mechanism(s) by which the transient removal of dopamine regulation potentiates the prolactin-  
releasing action of thyrotropin-releasing hormone.  
Neuroendocrinology 1988 ; 47 : 186-193.
- **MATTEI A.M., FERRARI C., BAROLDI P., CAVIONI V., PARACCHI A.,  
GALPAROLI C., ROMANO C., SPELLECCHIA D., GEREVINI G., CROSIGNANI  
P.G.**  
Prolactin-lowering effect of acute and once weekly repetitive oral administration of cabergoline  
at two dose levels in hyperprolactinemic patients.  
J Clin Endocrinol Metab 1988 ; 66 : 193-198.
- **MAURER R.A.**  
Estradiol regulates the transcription of the prolactin gene.  
J Biol Chem 1982 ; 257 : 2133-2136.

**- MAURER R.A., GORSKI J.**

Effects of estradiol-17 beta and pimozide on prolactin synthesis in male and female rats.  
Endocrinology 1977 ; 101: 76-84.

**- MAUVAIS-JARVIS P., SITRUK-WARE R., LABRIE F.**

Médecine de la reproduction : gynécologie endocrinienne. Flammarion médecine-sciences.  
Paris. 1982.

**- MELIS G.B., GAMBACCIANI M., PAOLETTI A.M., BENEVENTI F., MAIS V., BAROLDI P., FIORETTI P.**

Dose-related prolactin inhibitory effect of the new long-acting dopamine receptor agonist cabergoline in normal cycling, puerperal, and hyperprolactinemic women.  
J Clin Endocrinol Metab 1987 ; 65 : 541-545.

**- MELIS G.B., GAMBACCIANI M., PAOLETTI A.M., MAIS V., SGHEDONI D., FIORETTI P.**

Reduction in the size of prolactin-producing pituitary tumor after cabergoline administration.  
Fertil Steril 1989 ; 52 : 412-415.

**- MEURIS S., SVOBODA M., CHRISTOPHE J., ROBYN C.**

Evidence for a glycosylated variant in human pituitary and amniotic fluid.

MAC LEOD R., THORNER M.O., SCAPAGNINI U., eds. Prolactin, basic and clinical correlate. Padova : Liviana Press, 1985 : 487.

**- MITTRA I.**

A novel "cleaved prolactin" in the rat pituitary : part I, part II.  
Biochem Biophys Res Commun 1980 ; 95 : 1750-1767.

**- MIYAI K., ICHIHARA K., KONDO K., MORI S.**

Asymptomatic hyperprolactinaemia and prolactinoma in the general population, mass screening by paired assays of serum prolactin.

Clin Endocrinol 1986 ; 25 : 549-554.

**- MONTGOMERY D.W., ZUKOSKI C.F., SHAH N.G., BUCKLER A.R., PACHOLCZYK T., RUSSEL D.H.**

Concanavalin A-stimulated murine splenocytes produce a factor with prolactin-like bioactivity and immunoreactivity.

Biochem Biophys Res Commun 1987 ; 145 : 692-698.

**- MONTINI M., PAGANI G., GIANOLA D., PAGANI M.D., SALMOIRAGHI M., FERRARI L., LANCRANJAN I.**

Long-lasting suppression of prolactinomas after a long-acting injectable form of bromocriptine.  
J Clin Endocrinol Metab 1986 ; 63 : 266-270.

**- MOORE R.Y., BLOOM F.E.**

Central catecholamine neuron systems : anatomy and physiology of the dopamine systems.  
Rev Neurosci 1978 ; 1 : 129-169.

**- MOREL G., BESSON J., ROSSELIN G., DUBOIS P.M.**

Ultrastructural evidence for endogenous vasoactive intestinal peptide-like immunoreactivity in the pituitary gland.

Neuroendocrinology 1982 ; 34 : 85-90.

**- MORGAN W.W., HERBER D.C.**

Early responses of the dopaminergic tuberoinfundibular neurons to anterior pituitary homografts.

Neuroendocrinology 1980 ; 31 : 215-221.

**- MUNEMURA M., AGUI T., SIBLEY D.R.**

Chronic estrogen treatment promotes a functional uncoupling of the D2 dopamine receptor in rat anterior pituitary gland.

Endocrinology 1989 ; 124 : 346-355.

**- MUNN A.R., SAR M., STUMPF W.E.**

Topographic distribution of progestin target cells in hamster brain and pituitary after injection of [<sup>3</sup>H]-R5020.

Brain Res 1983 ; 274 : 1-10.

**- NEILL J.D., REICHERT L.E.**

Control of the proestrus surge of prolactin and luteinizing hormone secretion by estrogens in the rat.

Endocrinology 1971 ; 89 : 1448-1453.

**- NEROLA B., SARNACCHIARO F., COLAO A., DI-SOMMA C., DI-SARNO, CARUSO E., LOMBARDI G.**

Usefulness of CV 205-502 in a case of allergy to ergot-derived drugs.

Horm Res 1992 ; 38 (3-1) : 190-192.

**- NGUYEN N.U., WOLF J.P., SIMON M.L., HENRIET M.T., DUMOULIN G., BERTHELAY S.**

Variations de la prolactine et de l'hormone de croissance circulantes au cours d'un exercice physique chez l'homme.

C R Soc Biol 1984 ; 178 : 450-457.

**- NICOLL C.S.**

Physiological actions of prolactin.

KNOBIL E, SAWYER WH, eds. Handbook of Physiology Society, 1974 : 253-292.

**- NIKOLICS K., MASON A.J., SZONY E., RAMACHANDRAN J., SEEBURG P.H.**

A prolactin-inhibiting factor within the precursors for human gonadotropin-releasing hormone.

Nature 1985 ; 316 : 511-517.

**- NYBERG F., ROOS P., WIDE L.**

Isolation and characterization of 3 isohormones with different bioassay and radioimmunoassay activities.

Biochem Biophys Acta 1980 ; 625 : 255-265.

- **OTA H., WAKIZAKA A., FUKUSHIMA M., MAKI M.**  
Dual regulation of rat ovarian LH-receptor by the administration of prolactin or sulpiride.  
IRCS Med Sci 1985 ; 63 : 257-264.
- **PANSINI F., BERGAMINI C.M., MALFACCINI M., COCILOVO G., LINCIANO M., JACOBS M., BAGNI B.**  
Multiple molecular forms of prolactin during pregnancy in women.  
J Clin Endocrinol Metab 1985 ; 106 : 81-85.
- **PAPADOPPOULOS V., DROSDOWSKI M.A., CARREAU S.**  
In vitro effects of PRL and DXM on rat Leydig cell aromatase activity.  
Andrologia 1986 ; 18 : 79-83.
- **PARKER C.R.J., MAC DONALD P.C., GUZICK D.S., PORTER J.C., ROSENFELD C.R., HAUTH J.C.**  
Prolactin levels in umbilical cord blood of human infants : relation of gestational age, maternal complications and neonatal lung function.  
Am J Obstet Gynecol 1989 ; 161 (3) : 795-802.
- **PASCAL-VIGNERON V., WERYHA G., BOSC M., LECLERE J.**  
Aménorrhée hyperprolactinémique : traitement par cabergoline versus bromocriptine. Résultats de l'étude nationale, multicentrique, randomisée, en double insu.  
Presse Méd 1995 ; 24 (16) : 753-757.
- **PEILLON F., VINCENS M., CESSÉLIN F., DOUMITH R., MOWSZOWICZ I.**  
Exaggerated prolactin response of thyrotropin-releasing hormone in women with anovulatory cycles : possible role of endogenous estrogens and effect of bromocriptine.  
Fertil Steril 1982 ; 37 : 530-534.
- **PELLEGRINI I., GUNZ G., RONIN C., FENOUILLET E., PEYRAT J.P., DELORI P., JAQUET P.**  
Polymorphism of prolactin secreted by human prolactinoma cells : immunological, receptor binding and biological properties of the glycosylated and non glycosylated forms.  
Endocrinology 1988 ; 122 : 2667-2674.
- **PHOLSENA M., SCHAISON G.**  
Hyperprolactinémie : physiopathologie, diagnostic, traitement.  
Rev du Praticien 1993 ; 43 (19) : 2581-2584.
- **PILOTTE N.S., BURT D.R., BARRACLOUGH C.A.**  
Ovarian steroids modulate the release of dopamine into hypophysial portal blood and the density of anterior pituitary [<sup>3</sup>H]spiperone-binding sites in ovariectomized rats.  
Endocrinology 1984 ; 114 : 2306-2311.
- **PILOTTE N.S., PORTER J.C.**  
Dopamine in hypophysial portal plasma and prolactin in systemic plasma of rats treated with 5-hydroxytryptamine.  
Endocrinology 1981 ; 108 : 2137-2141.

**- Pituitary Adenoma Study Group.**

Pituitary adenomas and oral contraceptives : a multicenter case-control study.  
Fertil Steril 1983 ; 39 (6) : 753-760.

**- POHL C.R., WEINER R.I., SMITH M.S.**

Relation between luteinizing hormone and prolactin pulses in ovariectomized rats with or without dopamine inhibition.  
Endocrinology 1988 ; 123 : 1591-1597.

**- PULLANO J.G., COHEN-ADDAD N., APUZZIO J., GANESH V.L., JOSIMOVICH J.B.**

Water and salt conservation in the human fetus and newborn : evidence for a role of fetal prolactin.  
J Clin Endocrinol Metab 1989 ; 69 (6) : 1180-1186.

**- RACKOFF J.S., SILER T.M., SINHA Y.N., YEN S.S.C.**

Prolactin and growth hormone release in response to sequential stimulation by arginine and synthetic TRH.  
J Clin Endocrinol Metab 1973 ; 37 : 641-644.

**- RAJKUMAR K., COUTURE R.L., MURPHY B.D.**

Binding of high density lipoproteins.  
Biol Reprod 1985 ; 32 : 546-555.

**- RAO I.M., MAHESH V.B.**

Role of progesterone in the modulation of the preovulatory surge of gonadotropins and ovulation in the pregnant mare's serum gonadotropin-primed immature rat and the adult rat.  
Biol Reprod 1986 ; 35 : 1154-1161.

**- RASMUSSEN C., BERGH T., WIDE L., BROWNELL J.**

CV 205-502 : a new long-acting drug for inhibition of prolactin hypersecretion.  
Clin Endocrinol 1987 ; 26 : 321-326.

**- RAYMOND V., BEAULIEU M., LABRIE F., BOISSIER J.**

Potent antidopaminergic activity of estradiol at the pituitary level on prolactin release.  
Science 1978 ; 200 : 1173-1175.

**- RAZZAQ R., O'HALLORAN D.J., BEARDWELL C.G., SHALET S.M.**

The effects of CV 205-502 in patients with hyperprolactinaemia intolerant and/or resistant to bromocriptine (BMC).  
Horm Res 1993 ; 39 (5-6) : 218-222.

**- RIDDICK D.H.**

Regulation and physiological relevance of non pituitary prolactin.  
MAC LEOD RM, ed. Prolactin basis and clinical correlates. Padova : Liviana Press, 1985 : section VII, 463-473.

**- RIDDLE O., BATES R.W., DYKSHORN S.W.**

A new hormone of the anterior pituitary.  
Proc Soc Exp Biol Med 1932 ; 29 : 1211-1215.

**- RIDDLE O., BAUCHER P.F.**

Studies on the physiology of reproduction in birds. XXX. Control of the special secretion of the crop-gland in pigeons by anterior pituitary hormone.

Am J Physiol 1931 ; 97 : 617-627.

**- ROGOL A.D., ROSEN S.W.**

Prolactin of apparent large molecular size ; the major immunoreactive prolactin component in plasma of a patient with a pituitary tumor.

J Clin Endocrinol Metab 1974 ; 38 : 714-717.

**- RUBIN R.T., GOUIN P.R., LUBIN A., POLAND R.E., PIRKE K.M.**

Nocturnal increase of plasma testosterone in men : relation to gonadotropins and prolactin.

J Clin Endocrinol Metab 1975 ; 40 : 1027-1033.

**- RUSSEL D.H., KIBLER R., MATRISIAN L., LARSON D.**

Prolactin receptors on human T and B lymphocytes : antagonism of prolactin binding by cyclosporine.

J Immunol 1985 ; 134 (5) : 3027-3031.

**- SAAVEDRA J.M.**

Central and peripheral catecholamine innervation of the rat intermediate and posterior pituitary lobes.

Neuroendocrinology 1985 ; 40 : 281-284.

**- SAID S.I., PORTER J.C.**

Vasoactive intestinal polypeptide : release into hypophyseal portal blood.

Life Sci 1979 ; 24 : 227-231.

**- SAMSON W.K., LUMPKIN M.D., MAC CANN S.M.**

Evidence for a physiological role for oxytocin in the control of prolactin secretion.

Endocrinology 1986 ; 119 : 554-560.

**- SAMSON W.K., SAID S.I., MAC CANN S.M.**

Radioimmunologic localization of vasoactive intestinal polypeptide in hypothalamic and extrahypothalamic sites in the rat brain.

Neurosci Lett 1979 ; 12 : 265-270.

**- SAR M.**

Estradiol is concentrated in tyrosine hydroxylase-containing neurons of the hypothalamus.

Science 1984 ; 223 : 938-940.

**- SCHALLY A.V., OLSEN D.B., GULYAS J.**

In vitro and in vivo studies with synthetic gonadotropin releasing hormone-associated peptide (GAP), a proposed prolactin releasing-inhibiting peptide.

68th Annual Meeting of the Endocrine Society, ANHEIM, CA, June 25-27, 1986, Abstr 8.

**- SCHENBORN E.T., KARAVOLAS H.J.**

Hypothalamic progestin receptors : evidence for two classes of high affinity binding sites.

Endocrinology 1983 ; 112 : 121-128.

**- SCHERRER H., TURPIN G., VERMET M., DE GENNES J.L.**

Association de la dompéridone à la bromocriptine dans le traitement des prolactinomes.  
Presse Méd 1986 ; 15 : 934.

**- SCHIEBINGER R.J., CHROUSOS G.P., CUTLER G.B.J., LORIAUX L.D.**

The effect of serum prolactin on plasma adrenal androgens and the production and metabolic clearance rate of DHA-sulfate in normal and hyperprolactinemic subjects.  
J Clin Endocrinol Metab 1986 ; 62 : 202-209.

**- SCHLECHTE J.A., SHERMAN B., MARTIN R.**

Bone density in amenorrheic women with and without hyperprolactinemia.  
J Clin Endocrinol Metab 1983 ; 56 : 1120-1123.

**- SCHOENFELD C.Y., AMELAR R.D., DUBIN C., NUMEROFF M.**

Prolactin, fructose and zinc levels found in human seminal plasma.  
Fertil Steril 1979 ; 32 : 206-208.

**- SCHRAMME C., DENEFF C.**

Stimulation of prolactin release by angiotensin II in superfused rat anterior pituitary cell aggregates.  
Neuroendocrinology 1983 ; 36 : 483-485.

**- SHAAR C.J., CLEMENS J.A.**

The role of catecholamines in the release of anterior pituitary prolactin in vitro.  
Endocrinology 1974 ; 95 : 1202-1212.

**- SHIMATSU A., KATO Y., MATSUSHITA N., KATAKAMI H., YANAIHARA N., IMURA H.**

Stimulation by serotonin of vasoactive intestinal polypeptide release into rat hypophysial portal blood.  
Endocrinology 1982 ; 111 : 338-353.

**- SHIN S.H.**

Estradiol generates pulses of prolactin secretion in castrated male rats.  
Neuroendocrinology 1979 ; 29 : 270-275.

**- SHOME B., PARLOW A.F.**

Human pituitary prolactin (hPRL) : the entire linear amino acid sequence.  
J Clin Endocrinol Metab 1977 ; 45 : 1112-1115.

**- SHOUBE D., MONTZ F.J., KLETSKY O.A., DIZEREGA G.S.**

Prolactin molecular heterogeneity. Response to thyrotropin-releasing hormone stimulation of concanavalin A-bound and -unbound immunoassayable prolactin during human pregnancy.  
Am J Obstet Gynecol 1983 ; 147 : 482-497.

**- SINHA Y.N., GILLIGAN T.A., LEE D.W.**

Detection of high molecular weight variant of prolactin in human plasma by a combination of electrophoretic and immunologic techniques.  
J Clin Endocrinol Metab 1984 ; 58 : 752-754.

- **SINHA Y.N., GILLIGAN T.A., LEE D.W., HOLLINGSWORTH D., MARKOFF E.**  
Cleaved prolactin : evidence for its occurrence in human pituitary gland and plasma.  
J Clin Endocrinol Metab 1985 ; 60 : 239-243.
  
- **SMITH C.R., NORMAN M.R.**  
Prolactin and growth hormone : molecular heterogeneity and measurement in serum.  
Ann Clin Biochem 1990 ; 27 : 542-550.
  
- **SMITH M.S.**  
Effects of the intensity of the suckling stimulus and ovarian steroids on pituitary gonadotropin-releasing hormone receptors during lactation.  
Biol Reprod 1984 ; 31 : 548-555.
  
- **SMITH P.E.**  
The effect of hypophysectomy upon the involution of the thymus in the rat.  
Anat Rec 1930 ; 47 : 119-126.
  
- **SRITTMATER S.M., DE DOUZA E.B., LYNCH D.R., SNYDER S.H.**  
Angiotensin-converting enzyme localized in the rat pituitary and adrenal glands by <sup>3</sup>H-captopril autoradiography.  
Endocrinology 1986 ; 118 : 1690-1699.
  
- **STEELE M.K., MAC CANN S.M., NEGRO-VILAR A.**  
Modulation by dopamine and estradiol of the central effects of angiotensin II on the anterior pituitary hormone release.  
Endocrinology 1982 ; 111 : 722-729.
  
- **STEELE M.K., MYERS L.S.**  
In vivo studies on paracrine actions of pituitary angiotensin II in stimulating prolactin release in rats.  
Am J Physiol 1990 ; 258 : E619-624.
  
- **STEELE M.K., NEGRO-VILAR A., MAC CANN S.M.**  
Effect of angiotensin II on in vivo and in vitro release of anterior pituitary hormones in the female rat.  
Endocrinology 1981 ; 109 : 893-899.
  
- **STONE R.T., MAURER R.A., GORSKI J.**  
Effect of estradiol 17  $\beta$  on preprolactin messenger ribonucleic acid activity in the rat pituitary gland.  
Biochem 1977 ; 16 : 4915-4921.
  
- **STRICKER S., GRUETA F.**  
Action du lobe antérieur de l'hypophyse sur la montée laiteuse.  
C R Soc Biol 1928 ; 99 : 1978-1980.
  
- **SUH H.K., FRANTZ A.G.**  
Size heterogeneity of human prolactin in plasma and pituitary extracts.  
J Clin Endocrinol Metab 1974 ; 39 : 928-935.

**- SZEGO C.M.**

Mechanism of hormone action : parallels in receptor mediated signal propagation for steroid and peptide effectors.

Life Sci 1984 ; 35 : 2383-2396.

**- TOURNIAIRE J.**

Hyperprolactinémie et insuffisance lutéale.

Ann Endocrinol (Paris) 1979 ; 40 : 324-328.

**- VANCE M.L., CRAGUN J.R., REIMNITZ C., CHANG R.J., RASHEF E., BLACKWELL R.E., MILLER M.M., MOLITCH M.E.**

CV 205-502 treatment of hyperprolactinemia.

J Clin Endocrinol Metab 1989 ; 68 : 336-339.

**- VANCE M., EVANS W., THORNER M.**

Drugs five years later : bromocriptine.

Ann Intern Med 1984 ; 100 : 78-91.

**- VELDHUIS J.D.**

The estrogen-prolactinoma nexus in humans. Fact or fable ?

Mayo Clin Proc 1989 ; 64 : 1190-1192.

**- VELDHUIS J.D., JOHNSON M.L.**

Operating characteristics of the hypothalamo-pituitary gonadal axis in men : circadian, ultradian and pulsatile release of prolactin and its temporal coupling with luteinizing hormone.

J Clin Endocrinol Metab 1988 ; 67 (1) : 116-123.

**- VERMEULEN A., ANDO S., VERDONCK L.**

Prolactinomas, TeBG and androgen metabolism.

J Clin Endocrinol Metab 1982 ; 54 : 409-412.

**- VICIAN L., LIEBERMAN M.E., GORSKI J.**

Evidence that autoregulation of prolactin production does not occur at the pituitary level.

Endocrinology 1982 ; 110 : 722-726.

**- VICIAN L., SHUPNIK M.A., GARKI J.**

Effects of estrogen on primary ovine pituitary cell cultures : stimulation of prolactin secretion, synthesis and preprolactin messenger ribonucleic acid activity.

Endocrinology 1979 ; 104 : 736-743.

**- VOOGT J., MEITES J.**

Effects of an implant of prolactin in median eminence of pseudopregnant rats on serum and pituitary LH, FSH and prolactin.

Endocrinology 1971 ; 88 : 286-292.

**- WEBSTER J., PISCITELLI G., POLLI A.**

Dose-dependent suppression of serum prolactin by cabergoline in hyperprolactinemia : a placebo controlled, double-blind, multicentre study.

Clin Endocrinol (Oxf) 1992 ; 37 : 534-541.

**- WELSH T.H., KASSON B.G., HSUEH A.J.N.**

Direct biphasic modulation of gonadotropin-stimulated testicular androgen biosynthesis by prolactin.

Biol Reprod 1986 ; 34 : 796-804.

**- WEST B., DANNIES P.S.**

Effects of estradiol on prolactin production and dihydroergocryptine-induced inhibition of prolactin production in primary cultures of rat pituitary cells.

Endocrinology 1980 ; 106 : 1108-1113.

**- WIKLUND J., WERTZ N., GORSKI A.**

A comparison of estrogen effects on uterine and pituitary growth and prolactin synthesis in F344 and Holtzman rats.

Endocrinology 1981 ; 109 : 1700-1707.

**- WILLIAMS R.F., GIANFORTONI J.G., HODGEN G.D.**

Hyperprolactinemia induced by an estrogen-progesterone synergy : quantitative and temporal effects of estrogen priming in monkeys.

J Clin Endocrinol Metab 1985 ; 60 : 126-132.

**- WILNER M.L., ETTENGER R.B., KOYLE M.A., ROSENTHAL T.**

The effect of hypoprolactinemia alone and in combination with cyclosporine on allograft rejection.

Transplantation 1990 ; 49 (2) : 264-267.

**- WORTSMAN J., CARLSON H.E., MALARKEY W.B.**

Macroprolactinemia as the cause of elevated serum prolactin in men.

Am J Med 1989 ; 86 : 704-706.

**- ZOFKOVA I., NEDVIDKOVA J.**

Influence of the interaction of calcitonin and 1, 25 (OH)-vitamine D3 on prolactin secretion.

Exp Clin Endocrinol 1988 ; 92 (3) : 262-267.

# **TABLE DES MATIERES**

# TABLE DES MATIERES

	Pages
<b>Introduction.</b>	12
<b>Première partie :</b>	15
<b>I- Structure de la prolactine.</b>	16
1- Historique.	16
2- Structure.	17
2-1- Forme monomère.	17
2-2- Autres formes.	19
2-2-1- Isoformes.	19
2-2-2- Formes de poids moléculaire différent.	19
2-2-3- Formes glycosylées.	21
2-3- Récepteurs de la prolactine.	22
<b>II- Physiologie de la prolactine.</b>	23
1- Synthèse et sécrétion.	23
1-1- Localisation.	23
1-1-1- Les cellules lactotropes antéhypophysaires.	23
1-1-2- Les cellules déciduales ou endométriales.	24
1-1-3- Les cellules de l'utérus.	25
1-1-4- Autres tissus.	25
1-1-5- Dans le liquide céphalo-rachidien.	25
1-2- Variations physiologiques de la sécrétion.	26
1-2-1- En fonction de l'âge.	26
1-2-1-1- Fœtus.	26
a- In utero.	26
b- A la naissance.	26
1-2-1-2- Enfant.	26
1-2-1-3- Adolescent.	26
1-2-1-4- Adulte.	27
a- Sexe féminin.	27
b- Sexe masculin.	27
1-2-1-5- Sujet âgé.	27
1-2-2- En fonction de la situation physiologique.	27
1-2-2-1- Pendant la grossesse.	27
1-2-2-2- Durant la lactation.	29
1-2-2-3- Autres situations.	29
1-3- Rythmes de sécrétion.	30
1-3-1- Rythmes ultradiens.	30
1-3-2- Rythme nyctéméral.	30
1-3-3- Rythme menstruel.	32
2- Actions et rôle de la prolactine.	33
2-1- Action sur la glande mammaire.	33
2-2- Actions générales.	34
2-2-1- Sur la fonction de reproduction.	34
2-2-1-1- Prolactine et fonction ovarienne.	34

a- Prolactine et maturation folliculaire. . . . .	35
b- Prolactine et maturation ovocytaire. . . . .	35
c- Prolactine et corps jaune. . . . .	35
2-2-1-2- Prolactine et fonction testiculaire. . . . .	36
a- Prolactine et stéroïdogénèse. . . . .	36
b- Prolactine et spermatogénèse. . . . .	37
2-2-2- Sur la fonction surrénalienne. . . . .	38
2-2-3- Sur le métabolisme hydroélectrolytique. . . . .	38
2-2-4- Sur le métabolisme glucidique. . . . .	38
2-2-5- Sur le métabolisme phosphocalcique. . . . .	39
2-3- Prolactine et système immunitaire. . . . .	39
3- Régulation. . . . .	40
3-1- Contrôle hypothalamique. . . . .	40
3-1-1- Les facteurs inhibiteurs de la sécrétion de prolactine. . . . .	41
3-1-1-1- Le contrôle dopaminergique. . . . .	41
3-1-1-2- Le contrôle GABAergique. . . . .	44
3-1-1-3- Le contrôle peptidergique. . . . .	44
3-1-2- Les facteurs stimulants de la sécrétion de prolactine. . . . .	45
3-1-2-1- La thyrolibérine. . . . .	45
3-1-2-2- Le VIP. . . . .	47
3-1-2-3- Le PHM. . . . .	48
3-1-2-4- L'ocytocine. . . . .	48
3-1-2-5- Le système rénine-angiotensine. . . . .	49
3-1-3- Autres neuropeptides et neurotransmetteurs. . . . .	49
3-1-3-1- La sérotonine. . . . .	49
3-1-3-2- Les opioïdes. . . . .	50
3-1-3-3- Autres substances. . . . .	51
3-2- Autorégulation de la sécrétion de prolactine. . . . .	51
3-3- Contrôle par les hormones périphériques. . . . .	52
3-3-1- L'estradiol. . . . .	52
3-3-2- La progestérone. . . . .	54
3-3-3- La testostérone. . . . .	55
3-4- Activation de la sécrétion de prolactine par réflexes neuro-endocriniens. . . . .	56
<b>III- Les hyperprolactinémies. . . . .</b>	<b>58</b>
1- Symptomatologie. . . . .	58
1-1- Chez la femme en âge de concevoir. . . . .	58
a- Troubles du cycle menstruel. . . . .	58
b- Dysfonctionnement sexuel. . . . .	58
c- Galactorrhée. . . . .	59
d- Syndrome aménorrhée-galactorrhée. . . . .	59
e- Signes compressifs. . . . .	59
1-2- Chez la femme ménopausée. . . . .	59
1-3- Chez l'homme. . . . .	59
a- Troubles sexuels. . . . .	59
b- Retentissement mammaire. . . . .	60
c- Signes compressifs. . . . .	60
1-4- Avant et pendant la puberté. . . . .	60
2- Exploration d'une hyperprolactinémie. . . . .	61
2-1- Biologique. . . . .	61
2-2- Radiologique. . . . .	62

3-Principaux types d'hyperprolactinémie. . . . .	64
3-1- Hyperprolactinémies organiques. . . . .	64
3-1-1- Fréquence. . . . .	64
3-1-2- Physiopathologie. . . . .	64
3-1-3- Expression clinique. . . . .	65
3-1-4- Expression hormonale. . . . .	65
3-1-5- Expression morphologique. . . . .	65
3-1-6- Adénomes mixtes. . . . .	66
3-2- Hyperprolactinémies fonctionnelles. . . . .	66
3-2-1- Hyperprolactinémie accompagnant une lésion suprahypophysaire ou hypophysaire non lactotrope. . . . .	67
a- Lésion tumorale. . . . .	67
b- Lésion infiltrative. . . . .	67
c- Séquelles. . . . .	67
d- Arachnoïdocèle. . . . .	67
3-2-2- Hyperprolactinémies iatrogènes. . . . .	67
1°)- Les psychotropes. . . . .	68
a)- Les neuroleptiques. . . . .	68
* Phénothiazines. . . . .	68
* Butyrophénones. . . . .	68
* Benzamides. . . . .	68
b)- Les antidépresseurs. . . . .	69
* Tricycliques. . . . .	69
* IMAO. . . . .	69
c)- Le lithium. . . . .	69
d)- Les anxiolytiques. . . . .	69
* Carbamates. . . . .	69
* Benzodiazépines. . . . .	69
2°)- Les antihistaminiques. . . . .	70
3°)- Les antiémétiques. . . . .	71
4°)- Les hypotenseurs. . . . .	71
5°)- Les amphétamines. . . . .	71
6°)- Les antituberculeux. . . . .	71
7°)- Les estrogènes de synthèse ou naturels à fortes doses. . . . .	71
8°)- Traitements non hormonaux de la ménopause. . . . .	71
9°)- Morphine et autres stupéfiants. . . . .	71
3-2-3- Hyperprolactinémies et autres pathologies endocriniennes et gynécologiques non hypophysaires. . . . .	71
a- Hypothyroïdie. . . . .	71
b- Syndrome des ovaires micropolykystiques. . . . .	72
c- Hyperparathyroïdie et pseudo-hypparathyroïdie. . . . .	72
d- Hyperprolactinémie du post-partum. . . . .	72
e- Hyperprolactinémie et affection générale. . . . .	72
3-2-4- Hyperprolactinémies fluctuantes et hyperprolactinémies "latentes". . . . .	73
a- Hyperprolactinémies fluctuantes. . . . .	73
b- Hyperprolactinémies "latentes". . . . .	73
3-2-5- Hyperprolactinémies idiopathiques, chroniques, de type non adénomateux. . . . .	73
3-3- Hyperprolactinémies avec anomalie moléculaire de la prolactine. . . . .	73

<b>IV- Traitements.</b>	74
1- Le traitement chirurgical.	75
1-1- Le microadénome.	76
1-2- Le macroadénome.	76
2- Le traitement médical.	76
2-1- La bromocriptine.	76
2-2- Le lisuride.	78
2-3- La métergoline.	79
2-4- Le pergolide.	80
2-5- La cabergoline.	80
2-6- La mésulergine.	81
2-7- Le roxindol.	81
2-8- Le quinagolide.	82
<b>Deuxième partie :</b>	84
<b>I- Méthodologie.</b>	85
1- Principe général de la chromatographie liquide haute performance.	85
2- Matériel :	85
2-1- La pompe.	85
2-2- l'injecteur.	86
2-3- La colonne chromatographique.	86
2-4- Le spectrophotomètre.	87
2-5- L'intégrateur.	87
2-6- Le collecteur de fractions.	88
2-7- Le lyophilisateur.	88
3- Etalonnage de la colonne.	89
<b>II- Protocole.</b>	92
1- Fractionnement des sérums sur colonne.	92
1-1- Fabrication du tampon.	92
1-2- Décongélation et filtration du sérum.	92
1-3- Injection.	92
1-4- Collection.	92
1-5- Congélation.	93
1-6- Lyophilisation.	93
1-7- Reprise des lyophilisats.	93
1-8- Remarques.	93
a- Le pH du tampon.	93
b- Détermination du temps de collection.	95
c- Capacité de la colonne.	96
2- Dosage.	97
2-1- Par chimiluminescence.	97
2-1-1- Principe.	97
2-1-2- Protocole.	97
2-2- Par RIA.	100
<b>III- Résultats.</b>	102
1- Comparaison des méthodes.	102
1-1- Premier essai.	102

1-2- Deuxième essai. . . . .	104
2- Fractionnement des différentes formes prolactiniques. . . . .	106
2-1- Patient n°1. . . . .	106
2-2- Patient n°2. . . . .	109
2-2-1- Prélèvement de juillet 1994. . . . .	109
2-2-2- Prélèvement de novembre 1994. . . . .	113
2-3- Patient n°3. . . . .	117
2-4- Patient n°4. . . . .	123
2-5- Patient n°5. . . . .	127
2-6- Patient n°6. . . . .	131
2-7- Patient n°7. . . . .	135
2-8- Patient n°8. . . . .	139
3- Influence de la congélation et de la décongélation d'un sérum, sur les taux des différentes formes de prolactine. . . . .	142

<b>Conclusion.</b> . . . . .	146
1- Comparaison des méthodes. . . . .	147
2- Résultats obtenus chez les patients. . . . .	148
3- Influence de la congélation-décongélation. . . . .	149
4- Réactivité des différentes formes de prolactine. . . . .	150
5- Réactivité, spécificité, sensibilité des méthodes. . . . .	151

<b>Abréviations.</b> . . . . .	154
--------------------------------	-----

<b>Bibliographie.</b> . . . . .	157
---------------------------------	-----

<b>Table des matières.</b> . . . . .	180
--------------------------------------	-----

BON A IMPRIMER N° 39

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

---

ARGY (Emmanuelle). — Prolactinémie : dosage et interprétation. — 185 f. ;  
ill. ; tabl. ; 30 cm (Thèse : Pharm. ; Limoges ; 1996).

---

**RESUME :**

La prolactinémie est actuellement mesurée, selon les laboratoires, avec divers standards conduisant à des normes différentes en fonction de la méthode de dosage.

Dans ce travail, la comparaison de différentes méthodes — radio-immunodosage, chimiluminescence — ainsi que la validité des résultats en fonction de différents standards sont présentées.

De plus, le fractionnement des différentes formes de prolactine circulante a été réalisé par chromatographie liquide haute performance sur plusieurs échantillons plasmatiques. Les formes little, big et big-big ont été quantifiées par immunodosage.

L'interprétation clinique des profils obtenus est discutée en fonction des pathologies.

---

---

**MOTS-CLES :**

- Prolactine.
  - Hyperprolactinémie.
  - Chromatographie liquide haute performance.
  - Chimiluminescence.
  - Radio immunoassay (RIA).
- 

**JURY :** Président : Monsieur le Professeur HABRIOUX.  
Juges : Madame ARCHAMBEAUD, Professeur.  
Monsieur CARDI, Maître de Conférences.  
Monsieur SAMSON, Pharmacien.

---