

Influence potentielle des hormones et protéines synthétisées au cours de la gestation sur l'état immunitaire de la mère

SOUSA¹ N.M., FIGUEIREDO¹ J.R., EL AMIRI² B., BANGA-MBOKO² H., BECKERS² J.F.

¹ Université Fédérale de Santa Maria, Centre de Sciences Rurales, Faculté de Médecine Vétérinaire, 97105-900, Santa Maria-RS, Brésil

² Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire, Service de Physiologie de la Reproduction, Bd de Colonster, 20, B41, 4000 Liège, Belgique

* Ce travail a été réalisé grâce au soutien du Fonds National de la Recherche Scientifique (FNRS) et du Ministère de l'Agriculture Belge. N.M. Sousa est boursière de la Fondation Coordination de Perfectionnement du Personnel de Niveau Supérieur (CAPES/Brésil).

Correspondance :

Jean-François BECKERS, tél : 32(0)4/366.41.61; fax : 32(0)4/366.41.65; e-mail: jfbeckers@ulg.ac.be

RESUME : Pendant la gestation, la fonction endocrinienne des gonades et de l'unité fœto-placentaire comprend la production de diverses hormones (progestérone, œstrogènes, cortisol, prostaglandines, prolactine, gonadotropine chorionique, hormone lactogène placentaire, aussi connue sous le nom de « somatomotropine chorionique », etc.), de facteurs de croissance et de protéines diverses. Parmi ces dernières, se retrouvent les protéines et glycoprotéines impliquées dans de nombreux processus biologiques, dont : l'établissement de la gestation, le maintien du corps jaune, le métabolisme intermédiaire maternel, la croissance fœtale et mammaire et l'immuno-tolérance du *conceptus*. Les principales protéines et hormones associées à la gestation et leur relation éventuelle avec la fonction immune seront passées en revue sur base des connaissances actuelles disponibles dans la littérature scientifique.

INTRODUCTION

Chez les mammifères supérieurs, le fœtus se développe dans l'utérus grâce au placenta. Cette structure spécialisée et unique peut se définir comme étant l'apposition intime des tissus maternels et fœtaux en vue d'établir entre eux les échanges physiologiques au cours de la gestation. Le placenta représente une barrière anatomique entre les systèmes circulatoires de la mère et du fœtus; circulation utérine et circulation fœtale ne sont jamais en communication directe mais elles sont suffisamment contiguës pour que les éléments nutritifs passent du sang maternel au sang fœtal et que les déchets passent dans le sens opposé. En dépit de cette proximité entre circulations utérine et fœtale et grâce à des mécanismes immunologiques particuliers, le fœtus et le placenta, bien qu'organes étrangers à la mère, ne sont pas rejetés. Cette protection de l'embryon contre le rejet immunologique par les tissus

maternels fait partie des processus physiologiques de la gestation, dont la régulation doit être particulièrement précise.

L'un des nombreux mécanismes probablement impliqués dans cette activité est la suppression locale non spécifique de certaines sous-populations de lymphocytes, cellules qui interviennent généralement dans le rejet des greffes. Cette inhibition serait le résultat de l'action des facteurs produits par des lymphocytes T suppresseurs (Ts) (Sanyal *et al.*, 1989) et d'un mécanisme d'apoptose (mort cellulaire programmée) des lymphocytes T maternels activés présents au niveau de l'interface materno-fœtal.

Le mécanisme d'apoptose au niveau du placenta a été récemment étudié par Runic et collaborateurs (1996) qui ont montré que les cellules du cytotrophoblaste humain exprimaient une molécule de nature cytotoxique appelée "*Fas ligant*" (FasL), identifiée aussi dans des sites immuno-pri-

vilégiés tels que les testicules et la chambre antérieure de l'œil. Le FasL est un membre de la famille des facteurs nécrosants des tumeurs (TNF) qui induit l'apoptose après son interaction avec le récepteur spécifique, le FasR, présent en grande quantité au niveau des cellules hématopoïétiques telles que les lymphocytes T. Ce mécanisme expliquerait, en partie, le processus complexe de la destruction des lymphocytes maternels activés se dirigeant vers l'interface materno-fœtal.

Dans les premiers stades du développement du trophoblaste, une protection supplémentaire résulte de l'absence d'expression de molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (Murphy et Tomasi, 1998), structures habituellement présentes sur les cellules intervenant dans la réponse immune. En d'autres termes, bien que les tissus embryonnaires soient étrangers à la mère, ils s'organisent pour dissimuler leurs

caractéristiques, au moins pendant un certain temps. Selon Beaconsfield et collaborateurs (1980), l'embryon est aussi protégé par les cellules déciduales, étroitement jointives, qui l'emprisonnent totalement dès l'implantation du blastocyste. Cette barrière protectrice arrête le drainage des lymphocytes vers les tissus maternels. De plus, les vaisseaux sanguins maternels ne pénètrent pas dans le trophoblaste, bloquant ainsi un autre mécanisme habituellement impliqué dans le rejet des greffes.

Toujours parmi les mécanismes de suppression non spécifique au niveau placentaire, il est à remarquer une production préférentielle de cytokines anti-inflammatoires au détriment de la production de cytokines pro-inflammatoires (Lala *et al.*, 1988). On peut également évoquer le fait que certaines cellules du placenta se sont montrées capables de résister à la lyse dépendante du complément (Hsi *et al.*, 1991).

Dans des conditions expérimentales, différents auteurs ont montré ou démontré que l'activité des lymphocytes peut aussi être inhibée par des substances variées normalement synthétisées au cours de la gestation : l'hormone chorionique gonadotrope, l'hormone lactogène placentaire, les hormones stéroïdes comme la progestérone et les œstrogènes et de nombreuses protéines et glycoprotéines associées ou spécifiques à la gestation. La présente revue fait le point des connaissances actuelles sur les interactions entre ces substances et l'activité immunitaire au niveau maternel.

ROLE POTENTIEL DES HORMONES ET PROTEINES ASSOCIEES A LA GESTATION

Zygotine et Early Pregnancy Factor

Dès les années 70, sont apparues plusieurs publications scientifiques rapportant l'existence de signaux très précoces, émis par le *conceptus* juste après la fécondation et amplifiés dans l'organisme maternel de telle sorte qu'ils devenaient détectables dans le sang périphérique. C'est ainsi qu'a été formulée une hypothèse selon laquelle la pénétration du spermatozoïde dans l'ovocyte donnerait lieu à la production d'une substance, la

Tableau I : Techniques les plus couramment utilisées lors des investigations sur les processus immunologiques induits par les principales hormones et protéines associées à la gestation.

Test	Caractéristiques	Hormone/protéine testée
Test d'inhibition de la rosette	<ul style="list-style-type: none"> ↪ Les lymphocytes T forment des rosettes spontanées avec des globules rouges hétérologues. ↪ Si les lymphocytes sont incubés dans un sérum anti-lymphocytaire (SAL) en présence de complément avant l'addition des globules rouges, la formation de rosettes (un lymphocyte entouré d'au moins quatre globules rouges) se trouve inhibée. ↪ L'observation de ce que l'addition de sérum d'une femelle venant d'être fécondée pourrait aussi inhiber la formation de rosettes a servi de base au développement de toute une série d'études supportant l'hypothèse de l'existence d'une ou de plusieurs molécules mieux connues sous l'appellation « EPF ». 	<ul style="list-style-type: none"> • EPF (Morton <i>et al.</i>, 1974, ...) • Chaperonine 10 (Cavanagh et Morton, 1994)
Test d'inhibition de la PHA et de la Con A	<ul style="list-style-type: none"> ↪ La majorité des lymphocytes, notamment les lymphocytes T, réagissent à la phytohémagglutinine (PHA) et à la concanavaine A (Con A) par une transformation blastique et par une multiplication. ↪ L'induction de la réduction du nombre de lymphocytes réagissant à ces mitogènes est signe d'un pouvoir immunodépresseur. 	<ul style="list-style-type: none"> • hCG (Muchmore et Bleise, 1977) • bolFNr (Skopets <i>et al.</i>, 1992) • ovlFNr (Fillion <i>et al.</i>, 1991) • Œstrogènes (Mendelsohn <i>et al.</i>, 1977) • hPL (Schafer <i>et al.</i>, 1992) • PAG/PSPB (Dumbar <i>et al.</i>, 1990)
Culture mixte de lymphocytes (MCL)	<ul style="list-style-type: none"> ↪ Quand deux populations lymphocytaires, en provenance de donneurs différents, sont mises en contact, chacune réagit contre l'autre, d'abord par une stimulation blastogénique des lymphocytes préjudant à leur prolifération (avec une intensité de réaction proportionnelle au degré d'histocompatibilité existant entre les deux lignées) et dans un deuxième temps par l'apparition de lymphocytes cytotoxiques capables de détruire les lymphocytes cibles en provenance d'autres donneurs. ↪ La réduction de l'intensité de cette réaction est signe d'un pouvoir immunodépresseur. 	<ul style="list-style-type: none"> • hCG (Muchmore et Bleise, 1977) • eCG (Lea et Bolton, 1991) • bolFNr (Skopets <i>et al.</i>, 1992) • Progestérone (Siiteri et Stites, 1977) • hPL (Schafer <i>et al.</i>, 1992)

zygotine (Cavanagh *et al.*, 1982), qui, dans les premières heures du développement de l'œuf, stimulerait la production par l'ovaire porteur du corps jaune d'un facteur appelé EPF (*Early Pregnancy Factor*). Selon Cavanagh (1984), l'EPF serait la résultante de l'association de deux éléments: l'EPF A, sécrété par l'oviducte aussi bien pendant l'œstrus que pendant la gestation, mais restant inactif en dehors de cette dernière, et l'EPF B, sécrété par l'ovaire porteur du corps jaune gestatif.

L'EPF a été mis en évidence dans plusieurs espèces par le test immunologique dit de la rosette (Tableau I). Le premier article décrivant l'existence de l'EPF dans le sang maternel a été écrit par Morton et collaborateurs (1974), lesquels ont observé une accélération de l'inhibition de formation de rosettes après l'addition d'un sérum en provenance de souris, prélevé quelques heures seulement après la fécondation, suggérant ainsi une expression très précoce de ce facteur.

Tableau II : Présentation chronologique des principales publications relatives à l'EPF, dans les différentes espèces.

Espèce	Référence
 <i>Mus musculus</i>	Morton <i>et al.</i> , 1974
 <i>Homo sapiens</i>	Morton <i>et al.</i> , 1977
 <i>Ovis aries</i>	Morton <i>et al.</i> , 1979
 <i>Bos taurus</i>	Nancarrow et Wallace, 1980
 <i>Sus scrofa</i>	Morton <i>et al.</i> , 1983
 <i>Oryctolagus cuniculus</i>	Sucoka <i>et al.</i> , 1989
 <i>Equus caballus</i>	Takagi <i>et al.</i> , 1998
 <i>Sminthopsus macroura</i>	Cruz <i>et al.</i> , 2001

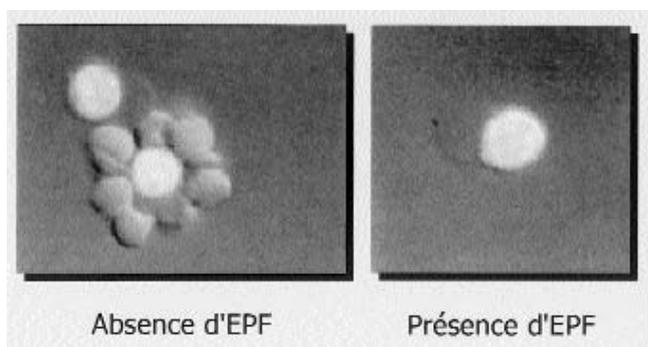


Figure 1 : Test d'inhibition de la rosette (d'après W.J. Murdoch, 2000).

Sur base du test d'inhibition de la rosette (Figure 1), l'EPF a été mis en évidence dans le sang maternel de nombreuses espèces : souris, femme, brebis, vache, truie, lapine, jument et souris marsupiale (Tableau II), 1 à 24 heures après la fécondation selon l'espèce. Cependant, en dépit de nombreuses études expérimentales suscitées par l'intérêt considérable d'une détection aussi précoce, l'utilisation de ce test s'est révélée peu fiable comme méthode de diagnostic de gestation chez les mammifères domestiques (Chaouat et Menu, 1993).

Les investigations menées pour caractériser la structure de l'EPF se sont révélées très peu concluantes à ce jour, même si récemment il a été publié qu'au moins 70% de la séquence en acides aminés d'une molécule de la " famille EPF " est identique à la séquence de la chaperonine 10, un membre de la famille des protéines de choc thermique (Cavanagh et Morton, 1994). Selon

Athanasas-Platsis et collaborateurs (2000), en même temps que témoin de la viabilité de l'embryon, cette molécule serait nécessaire à la survie embryonnaire. Ainsi, interviendrait-elle non seulement en tant que facteur immuno-dépresseur (Cavanagh et Morton, 1994) mais aussi en tant que facteur de croissance. Le mécanisme par lequel l'EPF pourrait exercer un effet immuno-dépresseur reposerait sur une inhibition spécifique des IgG dans les membranes de cellules mononucléaires présentes dans la circulation périphérique maternelle (Cocciara *et al.*, 1986). A ce jour, nous n'avons pas pu repérer de publication confirmant ce mécanisme.

Hormone chorionique gonadotrope

L'activité gonadotrope placentaire est connue depuis longtemps chez la femme et la jument. Dès 1927, Aschheim signalait la présence d'un facteur gonadotrope dans l'urine de

femme enceinte et fondait sur ce fait, l'année suivante, la célèbre méthode de diagnostic précoce de la gestation (Aschheim et Zondek, 1928). La gonadotropine chorionique sera appelée plus tard hCG (*human chorionic gonadotropin*). En 1930, Cole et Hart établissaient la présence de l'hormone " *Pregnant Mare Serum Gonadotropin* " (PMSG) dans le sérum de juments gestantes. Ultérieurement la PMSG sera aussi appelée eCG (*equine chorionic gonadotropin*). Ces deux hormones présentent des analogies d'activité avec les hormones hypophysaires LH pour l'hCG, et plutôt FSH pour l'eCG, d'où leur utilisation, en raison notamment de leur coût moins élevé, dans les cas où se justifie le recours à l'une ou l'autre de ces hormones hypophysaires.

Gonadotropine chorionique humaine

L'hCG, première hormone produite en quantité notable par le *conceptus* humain, est sécrétée au niveau trophoblastique dès le 8^e jour après la fécondation, c'est-à-dire au moment où a lieu l'implantation du blastocyste. En fait, l'hCG apparaît comme la substance responsable de la non-récession de la phase lutéale lors du cycle fertile, étant indispensable au cours des 3 premières semaines de la grossesse. Les concentrations sanguines de l'hCG augmentent pendant le premier trimestre de la gravidité pour atteindre des valeurs maximales, décroître et ensuite se maintenir à de faibles niveaux jusqu'à l'accouchement.

En 1977, les travaux de Wrezlewicz et collaborateurs concernant l'action de l'hCG sur la mobilité électrophorétique des lymphocytes humains, ont plaidé en faveur d'une théorie selon laquelle l'hCG pourrait agir en masquant les sites antigéniques des cellules des couches superficielles du *conceptus*, prévenant ainsi sa reconnaissance par les lymphocytes maternels. Cependant, des études menées à partir de préparations hautement purifiées d'hCG (Muchmore et Blease, 1977) n'ont pas confirmé cette hypothèse : ces préparations n'ont pas été capables d'inhiber la réaction à la phytohématagglutinine (PHA), pas plus qu'elles n'influençaient les cultures mixtes de lymphocytes (Tableau I).

Gonadotropine chorionique équine

L'apparition de l'eCG coïncide avec la formation, au niveau de l'ovaire, des corps jaunes secondaires. Elle représente le facteur lutéotrope principal responsable, chez la jument, de la sécrétion de progestérone par l'ovaire jusqu'à ce que le placenta soit suffisamment développé pour assumer ce rôle de manière autonome. A la différence de l'hCG, l'eCG est sécrétée seulement pendant le premier trimestre de gestation (entre le 45^e et le 130^e jour).

En 1975, Allen a émis l'hypothèse selon laquelle l'eCG interviendrait également sur le plan immunologique: la sensibilisation au cours de l'implantation des cellules chorioniques pouvant entraîner la formation d'anticorps qui, se liant à l'antigène d'histocompatibilité paternel, protégeraient ces cellules pendant toute la durée de leur sécrétion. Selon une autre hypothèse, l'eCG pourrait constituer une barrière immuno-protectrice autour des cellules des cupules endométriales, les soustrayant partiellement de l'attaque par les lymphocytes maternels sensibilisés.

Plus récemment, les travaux réalisés par Lea et Bolton (1991) ont montré une action immuno-dépressive des préparations commerciales d'eCG et des extraits de placenta équin sur la culture mixte de lymphocytes. Dans un premier temps, il apparaissait que cet effet était proportionnel aux doses d'eCG utilisées ou à la dilution de l'extrait placentaire. Et pourtant, dans un test réalisé en vue de confirmer l'implication de l'eCG dans cet effet, les mêmes auteurs ont montré une indépendance entre la concentration réelle d'eCG, mesurée par dosage radioimmunologique, et l'importance de l'effet. En conséquence, l'effet immuno-dépresseur attribué à l'eCG serait plutôt lié à la présence de contaminants dans les préparations utilisées.

Interféron tau

La fécondation, suivie de la gestation, a pour effet de transformer le corps jaune périodique en corps jaune gestatif et dès lors d'interrompre le déroulement du cycle sexuel de la femelle. Dans de nombreuses espèces, et en particulier chez les ruminants, la régularisation du cycle dépend de

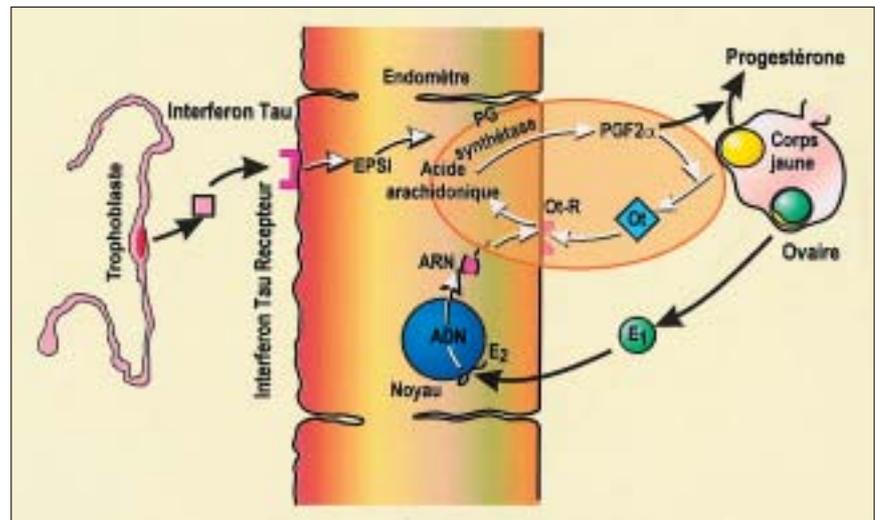


Figure 2: Représentation schématique des interactions entre l'ovaire, l'endomètre et le conceptus en début de gestation (d'après Thatcher et al., 1989).

l'intervention d'une substance lutéolytique d'origine utérine, la prostaglandine F_{2α} (PGF_{2α}); s'il y a conception, cette action lutéolytique de l'utérus est inhibée (Figure 2).

Les premières études qui ont plaidé pour l'existence d'un facteur anti-lutéolytique produit par le *conceptus* de ruminants ont été réalisées par Moor et Rowson (1966), qui ont transféré des embryons ovins âgés de 14 à 16 jours chez des brebis cyclées avant le 12^e jour du cycle œstral, observant le maintien du corps jaune et l'interruption du cycle œstral. Ce résultat a été obtenu que l'embryon soit déposé dans la corne ipsilatérale à l'ovaire porteur du corps jaune ou dans la corne opposée, à la condition que la continuité soit maintenue entre les deux cornes. L'année suivante, les mêmes auteurs (Rowson et Moor, 1967) ont injecté des homogénats d'embryons ovins (âgés aussi de 14 à 16 jours) avant le 12^e jour du cycle œstral de brebis, obtenant le même résultat. Le phénomène de prolongation de la phase lutéale suite au transfert embryonnaire ou à l'injection d'homogénats d'embryons n'a pas été observé lorsque les embryons étaient plus âgés (par exemple, s'ils étaient prélevés entre le 21^e et le 23^e jours). Il apparaissait donc que chez la brebis, le trophoblaste d'un certain âge, avait la capacité de prévenir la lutéolyse.

Le "signal embryonnaire" émis par le trophoblaste exerçait-il un effet lutéotrope ou un effet anti-lutéolytique? Plusieurs équipes de chercheurs ont abordé cette question. Martal et collaborateurs (1979) estimaient qu'il

s'agissait d'un effet anti-lutéolytique dû à une protéine qu'ils ont mise en évidence au 12^e jour de gestation chez la brebis et qu'ils ont appelée trophoblastine. Ils ont observé que cette protéine était sécrétée par les cellules trophoblastiques et que le filtrat obtenu après le passage sur colonne de gel d'acrylamide-agarose conservait son activité, indiquant ainsi qu'il s'agissait d'une protéine de nature soluble.

Northey et French (1980) ont reproduit chez la vache, des expériences similaires à celles que Moor et Rowson avaient réalisées chez la brebis. Ils ont transféré des embryons ou des homogénats d'embryons âgés de 15 à 17 jours, à des receveuses pendant les 16 premiers jours du cycle œstral, obtenant le maintien du corps jaune. Betteridge et collaborateurs (1980) n'ont obtenu aucune réussite lors de transfert d'embryons bovins âgés de 16 jours à des receveuses qui avaient atteint le 17^e jour de leur cycle. Ils en ont conclu que l'utérus bovin ne serait réceptif au signal embryonnaire que jusqu'au 16^e jour du cycle.

Plus récemment, Charpigny et collaborateurs (1988) ont montré que les "signaux embryonnaires" émis par le *conceptus* des ruminants, appelés initialement trophoblastine ou protéine trophoblastique, constituent en réalité une même sous-classe d'interféron, l'interféron tau (IFNτ), appartenant à la famille des interférons alpha. En plus de sa fonction anti-lutéolytique cet interféron exercerait aussi un rôle important dans l'immuno-tolérance de la mère vis-à-vis du *conceptus*

pendant les premières étapes de la gestation chez les ruminants (Fillion *et al.*, 1991).

Interféron tau bovin

L'interféron tau bovin (boIFN τ) est une des principales protéines sécrétées par le *conceptus* bovin âgé de 16 à 25 jours (Helmer *et al.*, 1988). Le mécanisme d'action de l'IFN τ inclut l'inhibition des récepteurs à l'œstradiol, la réduction conséquente des récepteurs d'ocytocine, l'activation d'un inhibiteur de la cyclooxygénase et la synthèse préférentielle de PGE2 comparativement à la PGF $_{2\alpha}$. Cette dernière résulte en une modification du milieu utérin, laquelle se traduit notamment par une synthèse de plusieurs protéines endométriales essentielles à la survie et au développement de l'embryon (Hansen *et al.*, 1999).

En 1992, les travaux de Skopets et collaborateurs ont démontré que le boIFN τ était capable d'inhiber la prolifération lymphocytaire résultant de la culture mixte de lymphocytes ou induite par des agents mitogènes et par l'interleukine-2 (IL-2) de manière assez similaire à l'inhibition induite par l'interféron bovin alpha II (boIFN-alphaII). Cependant, les différences entre les degrés d'inhibition obtenus lors de l'utilisation de ces différents interférons semblent indiquer une réaction en sens varié selon les sous-populations lymphocytaires présentes.

Interféron tau ovin

Chez la brebis, l'interféron tau (ovIFN τ) est produit d'une façon temporaire entre le 13^e et 21^e jour de gestation. La similitude structurelle entre l'IFN τ ovin et bovin (90%) est plus importante que celle existant entre cette protéine et son homologue appartenant à la classe des interférons l'IFN II-alpha (70%) (Charlier *et al.*, 1991). Comme le boIFN τ , l'ovIFN τ se lie à des récepteurs situés dans l'endomètre utérin et inhibe la transcription des récepteurs aux œstrogènes et à l'ocytocine; freinant ainsi la synthèse et la libération pulsatile de PGF2a (Godkin *et al.*, 1997).

En 1991, les travaux de Fillion et collaborateurs ont démontré l'effet immuno-dépresseur de l'ovIFN τ en utilisant le test d'inhibition de la phytohématagglutinine. Les formes recombinantes de cette protéine ont aussi

été capables d'inhiber la prolifération lymphocytaire induite par ce mitogène (Assal-Meliani *et al.*, 1993). Chez les ovins, une activité immuno-dépressive similaire à l'activité de l'IFN alpha I a aussi été démontrée. Dans cette espèce, les deux IFNs ont été comparés dans l'activation des cellules tueuses naturelles (NK) *in vitro* et se sont montrés équivalents (Tuo *et al.*, 1993).

Par sa nature non-toxique (Soos *et al.*, 1995), par sa capacité de traverser les barrières inter-espèces (Mujtaba *et al.*, 1999) et par ses propriétés immuno-modulatrices (Mujtaba *et al.*, 1998), l'ovIFN τ s'est avéré comme étant une molécule théoriquement "idéale" dans le traitement de la sclérose multiple ainsi que d'autres maladies auto-immunes (Khan *et al.*, 1998).

Interféron tau caprin

Des molécules appartenant à la sous-classe d'IFN τ ont aussi été identifiées au niveau des cellules trophoblastiques du *conceptus* caprin âgé de 14 à 17 jours. Cependant, à partir du 18^e jour, lorsque l'implantation s'amorce, l'IFN τ caprin n'est plus détecté, suggérant que dans cette espèce, d'autres facteurs sont nécessaires à partir du 18^e jour de gestation pour assurer la fonction lutéale (Guillomot *et al.*, 1998). A notre connaissance, le rôle immuno-dépresseur du caIFN τ n'a pas encore été mis en évidence.

Progestérone

Chez tous les mammifères, la progestérone est nécessaire à l'établissement de la gravidité. En début de gestation, le corps jaune en représente la source principale; l'ovariectomie pratiquée à cette époque entraîne l'avortement. Au fur et à mesure que progresse la gestation, la sécrétion progestéronique ovarienne est suppléée, à des degrés divers suivant les espèces, par le placenta.

Plusieurs équipes ont tenté de mettre en évidence l'effet immuno-dépresseur exercé par la progestérone. Siiteri et Stites (1977) ont observé que les implants progestéroniques pouvaient prolonger la durée de survie d'une allogreffe cutanée chez le hamster et qu'ils exerçaient une action inhibitrice à l'égard d'une culture mixte de lymphocytes. Ces observations ont été confirmées par

Beer et Billingham (1979), qui ont constaté qu'à une concentration de 20ng/ml, la progestérone empêchait le développement de la culture mixte des lymphocytes.

Plus tard, les travaux de Yagel et collaborateurs (1987) n'ont pas pu démontrer un effet dépresseur de la progestérone sur la prolifération lymphocytaire à des concentrations supérieures à 20 μ g/ml. Cependant, ces auteurs ont montré que les concentrations physiologiques de progestérone étaient responsables d'une augmentation significative de la sécrétion de PGE2, substance aujourd'hui bien connue pour l'action immuno-dépressive qu'elle exerce pendant le premier trimestre de la gestation chez la femme (Parhar *et al.*, 1989).

Durant les 15 dernières années, un effet immuno-dépresseur spécifique induit par la progestérone a été démontré par l'équipe de Chaouat et de nombreuses publications en attestent. Les travaux réalisés par cette équipe ont montré notamment qu'à des concentrations physiologiques de progestérone, les lymphocytes alloactifs sécrètent un facteur immuno-dépresseur appelé PIBF (*Progestosterone Induced Blocking Factor*), qui agit en bloquant la lyse médiée par les cellules NK (Szekeres-Bartho *et al.*, 1990b). Selon ces auteurs, l'utilisation d'un agent bloquant des récepteurs de progestérone a pour conséquence une incapacité de produire le PIBF, résultant en un avortement d'origine immunitaire (Szekeres-Bartho *et al.*, 1990a).

Œstrogènes

Le placenta est un lieu de synthèse d'œstrogènes. Cette synthèse peut commencer dès le stade blastocyttaire, mais son importance varie avec les espèces. Elle est appréciable chez la femme, la truie et la jument, tandis que chez les ruminants, elle est apparemment faible pendant la première moitié de la gravidité. Pendant la deuxième moitié de la gestation, les taux plasmatiques augmentent régulièrement pour atteindre un pic peu avant la mise-bas.

La voie de biosynthèse des œstrogènes dans le placenta est *grossomodo* la même que celle qui a lieu au niveau des ovaires. Cependant, alors que dans l'espèce humaine le placenta semble manquer de certaines

enzymes nécessaires à la stéroïdogénèse et doit, de ce fait, faire appel à des précurseurs maternels et fœtaux, chez les ruminants les mécanismes enzymatiques sont suffisants pour réaliser, *in vitro*, la synthèse des œstrogènes à partir de la prégnénone et de l'androsténone.

Les œstrogènes d'origine trophoblastique favoriseraient la vascularisation locale au moment de l'implantation ainsi que la synthèse des protéines œstrogène-dépendantes. En plus, les concentrations élevées d'œstrogènes, en particulier celles du beta-oestradiol, semblent être impliquées dans le processus de suppression de l'activité des cellules NK observé pendant la gestation (Gabrilovac *et al.*, 1988). Par ailleurs, les docteurs en médecine vétérinaire sont bien placés pour se souvenir de l'action négative des œstrogènes sur les cellules de la moelle osseuse précurseurs de la lignée blanche, et sur les cellules du thymus, en particulier chez la chienne. Cet effet négatif des œstrogènes est susceptible de s'exercer également pendant la gestation dans la plupart des espèces animales.

Récemment, une publication de Medina et collaborateurs (1993) décrit en détail comment les œstrogènes induisent une diminution de la formation des lymphocytes B chez la souris gestante. Cet effet des stéroïdes, et plus spécifiquement des progestagènes associés aux œstrogènes, a été vérifié par la même équipe au moyen d'implants placés chez la souris. Ils relatent, en particulier, que le traitement à la progestérone a peu d'effet à lui seul ; mais s'il est suivi d'une administration d'œstrogènes, les souris y réagissent de façon beaucoup plus nette. L'effet concerne la lignée des cellules précurseurs des lymphocytes B.

Hormone lactogène placentaire ou hormone chorionique somatomammotrope

Plus tard au cours de la gestation, le placenta produit une hormone lactogène placentaire (PL), connue aussi sous le nom d'hormone chorionique somatomammotrope (CS). Cette hormone présente une homologie structurelle et fonctionnelle avec l'hormone de croissance (GH) et la prolactine (PRL).

La première mise en évidence de

l'existence d'une hormone placentaire à activité endocrine multiple remonte aux travaux de Selye et collaborateurs, qui dès 1933 ont montré que l'hypophyse n'était pas indispensable pour le maintien de la gestation et le déclenchement de la lactation chez la ratte. La présence d'une hormone lactogène placentaire a été mise en évidence chez plusieurs espèces telles que la souris, la ratte, la femme, la chèvre, la brebis et la vache, mais elle n'a pas été retrouvée chez la jument, ni chez la truie ni chez les carnivores (chienne, chatte).

Hormone lactogène placentaire humaine

Quantitativement, l'hPL est une des protéines solubles les plus importantes du placenta humain, représentant environ 10% du total des protéines produites. Le taux de production d'hPL est très élevé, variant entre 0,3 et 1 g/jour à la fin de la gestation. L'hPL présente une séquence (acides aminés) plus proche de celle de l'hormone de croissance (84% d'homologie) que de celle de la prolactine hypophysaire (13% d'homologie). L'activité somatogénique de l'hPL équivaut à seulement 1% de l'activité de l'hormone hypophysaire, mais comme sa production par le placenta est considérable, elle peut jouer un rôle important pendant la grossesse.

Chez les humains, la concentration de l'hPL dans le sang maternel s'élève dès le début de la grossesse tandis que chez le fœtus, la concentration est toujours faible, inférieure à celle retrouvée chez la mère et ce quel que soit le stade de développement. L'hPL est détectée dans le placenta entre 5 à 10 jours après l'implantation de l'œuf fertilisé et dans la circulation périphérique maternelle 3 à 4 semaines plus tard. Ses concentrations augmentent au fur et à mesure qu'avance la gestation jusqu'à la 36^e semaine, puis elles décroissent lentement et régulièrement jusqu'au moment de l'accouchement.

L'hPL est douée d'une activité métabolique lipidique, glucidique et azotée. Elle accroît le métabolisme général du tissu adipeux provoquant, selon les circonstances, soit la lipolyse, soit la lipogénèse. Chez la femme enceinte, elle se comporte comme antagoniste de l'insuline ; elle peut être rendue responsable de l'acidose diabétique

observée en cours de grossesse et qui ne requiert pas de traitement à l'insuline après l'accouchement.

L'effet dépresseur de l'hPL sur la culture mixte de lymphocytes et sur la réaction lymphocytaire à la phytohémagglutinine a été démontré par Schafer et collaborateurs (1992). Selon ces auteurs, cet effet pourrait être dû, parmi d'autres possibilités, à la stimulation de la sécrétion de lymphokines telles que l'IL-1, IL-6 et TNF-alpha.

Hormone lactogène placentaire bovine

En 1976, Buttle et Forsyth, utilisant la co-culture de tissu mammaire de souris et de tissu cotylédonaire de vaches à des stades gestatifs divers, ont mis en évidence une réponse lactogénique au niveau des cotylédons. Après 5 jours de culture, ces auteurs ont obtenu une réponse lactogénique correspondant à environ 300 ng de prolactine bovine par millilitre de milieu. Durant les années qui suivirent, plusieurs équipes se sont attachées à l'étude de cette hormone, deux d'entre elles ont identifié et purifié, à partir du placenta bovin, une protéine possédant des activités somatotropique et mammatropique (Beckers *et al.*, 1980; Arima et Bremel, 1983). Cependant, l'utilisation de dosages radio-immunologiques développés par Beckers (1983) a montré une absence de réaction croisée entre le bPL, la prolactine et l'hormone de croissance bovine.

Le bPL n'est détectable dans le sérum maternel qu'à partir du 26^e jour après la fécondation ; son taux augmente progressivement pour atteindre les valeurs de 1 à 2 ng/ml aux environs de la parturition. En cette période, les concentrations plasmatiques de bPL sont probablement en partie fonction de la race et du type de croisement des produits ; en effet, lorsque ces derniers sont portés, après transfert embryonnaire, par des mères de races différentes, les concentrations observées se montrent significativement altérées (Guilbault *et al.*, 1988).

Le bPL exerce probablement une influence sur le développement du tissu mammaire lobulo-alvéolaire. Sa capacité lactogène a déjà été démontrée *in vitro* (Forsyth, 1986). Par ailleurs, nous n'avons trouvé aucune publication sur une éventuelle fonction immune de cette hormone.

Hormone lactogène placentaire ovine

L'hormone lactogène placentaire ovine (oPL) ou l'hormone chorionique somatomammotrope ovine (oCS) a été purifiée par Martal et Djiane en 1975. Le degré d'identité en acides aminés entre l'oPL et la prolactine est plus élevé comparativement à celui entre cette protéine et l'hormone de croissance (49% et 28%, respectivement). En conséquence, il n'est pas vraiment surprenant que l'activité lactogénique soit prépondérante.

Mise en évidence au 16^e-17^e jour de la gestation au niveau des membranes chorioniques (Reddy et Watkins, 1978), l'oPL devient détectable dans le sang maternel entre le 40^e et 50^e jours de gestation. Par la suite, les taux sériques augmentent régulièrement pour atteindre un pic entre le 95^e et le 114^e jours. Ensuite, le taux diminue et l'hormone disparaît de la circulation au voisinage de la parturition (Chan *et al.*, 1978).

L'oPL possède des propriétés lutéotropes qui se justifient surtout en début de gestation; elle maintient les récepteurs à LH au niveau des corps jaunes des rattes pseudogestantes et inhibe la lutéolyse au niveau des corps jaunes de rattes en phase lutéale (De la Llosa-Hermier *et al.*, 1983). L'oPL favoriserait aussi la croissance fœtale par l'intermédiaire des IGFs (Insuline Growth Factors) (Anthony *et al.*, 1995). Tout comme dans le cas du bPL, aucune publication scientifique ne traite d'une éventuelle activité immuno-dépressive.

Hormone lactogène placentaire caprine

L'hormone lactogène placentaire caprine (cPL), aussi connue sous l'appellation d'hormone chorionique somatomammotrope caprine (cCS), a été la première hormone lactogène placentaire décrite chez les ruminants. Le cPL est détecté dans la circulation périphérique maternelle à partir du 44^e jour de gestation (Currie *et al.*, 1990) et peut être utilisé pour le diagnostic de gestation tardif à partir du 60^e jour avec 85% de précision (Sardajana *et al.*, 1988). Les concentrations sériques de cPL sont significativement plus élevées en cas de gestations multiples que de gestations simples. Le taux de l'hormone lacto-

gène placentaire augmente progressivement durant la gestation, atteint son maximum pendant la deuxième moitié de celle-ci, puis décroît environ 36 heures avant la mise-bas. L'hormone n'est plus détectable à partir de 18 heures après la parturition (Currie *et al.*, 1990).

Comme chez les ovins, le cPL a un rôle important dans le développement de l'activité des glandes mammaires chez les caprins. L'augmentation de sa sécrétion entre les 10^e et 16^e semaines de gestation coïncide avec le développement lobulo-alvéolaire rapide de la glande mammaire. Dans cette espèce, il a été également observé une corrélation positive entre la production laitière et la sécrétion de cPL entre la 11^e semaine et la mise bas (Hayden *et al.*, 1979). Jusqu'à présent, chez les ruminants, aucune activité immuno-dépressive des hormones lactogènes placentaires n'a pu être établie.

Protéines associées à la gestation

Recherche de glycoprotéines apparentées aux gonadotropines hypophysaires dans le placenta de ruminants

Suite aux travaux d'Aschheim et Zondek en 1927-1928 et de Cole et Hart en 1930, plusieurs équipes se sont intéressées à l'identification de l'hormone gonadotrope placentaire chez les ruminants: en France, l'équipe de Martal (Lacroix et Martal, 1979), en Israël, l'équipe de Shemesh (Ailenberg et Shemesh, 1983) et en Belgique, notre équipe (Beckers *et al.*, 1988). Les préparations obtenues par les différents auteurs possédaient comme caractéristique commune une activité biologique gonadotropique surtout de type lutéotrope (LH). Suivant les groupes qui ont étudié la question, cette activité a été mesurée par la méthode biologique de Parlow (Lunen et Foote, 1967), par dosage radio-récepteur (Ailenberg et Shemesh, 1983; Beckers *et al.*, 1988) ou par le dosage biologique *in vitro* (effet sur la synthèse de progestérone) (Ailenberg et Shemesh, 1983).

En 1994, le groupe de Michael Roberts de l'Université du Missouri à Columbia (Xie *et al.*, 1994), a montré que la préparation de l'hormone gonadotrope placentaire bovine purifiée par Beckers et collaborateurs en 1988 correspondait, en réalité, à une

glycoprotéine appartenant à la famille des protéases aspartiques (Beckers *et al.*, 1994), retrouvées dans le placenta des ruminants et décrites sous diverses appellations indiquant leur caractérisation en tant que protéine spécifique ou associée à la gestation (PSPB, PSP-60, SBU-3, PAG). Jusqu'à présent, aucune équipe n'a encore pu purifier cette protéine jusqu'à l'homogénéité; par conséquent, il n'existe aucune étude sur son éventuelle relation avec le système immunitaire.

Découverte de protéines spécifiques (PSP) ou associées à la gestation (PAG) détectables dans la circulation périphérique maternelle

En 1982, Butler et collaborateurs ont isolé à partir du placenta bovin, deux protéines spécifiques de la gestation: les *pregnancy-specific proteins* A et B (PSPA et PSPB). La PSPA s'est révélée ultérieurement identique à l'alphafœtoprotéine, une protéine synthétisée par le foie du fœtus. Des concentrations non négligeables de cette protéine sont retrouvées en dehors de la gestation. La PSPB n'a pas été caractérisée à l'époque de sa découverte mais il a été montré rapidement que cette glycoprotéine est présente dans le sang maternel et que son dosage pourrait permettre un diagnostic de gestation chez les femelles de nombreuses espèces de ruminants.

A la même époque, d'autres équipes se sont intéressées aux protéines placentaires; les unes en attachant une importance particulière aux chaînes glycosylées, telles qu'elles ont été révélées dans la SBU-3 (Gogolin-Ewens *et al.*, 1986), les autres insistant plus sur l'aspect de la sécrétion dans le sang maternel (Figure 3) et le développement de dosages, comme dans le cas de la PAG (Zoli *et al.*, 1991) et de la PSP-60 (Mialon *et al.*, 1993).

Dès 1991, Xie et collaborateurs ont révélé qu'en réalité, les PAGs bovines et ovines appartiennent à la famille des protéases aspartiques, dans laquelle elles coexistent avec le pepsinogène, la pepsine, la chymosine, les cathépsines D et E, la rénine, la mémapsine et la beta-sécrétase. En 1992, Lynch et collaborateurs ont résumé un abstract dans lequel ils rapportaient avoir déterminé la séquence nucléotidique de l'ADN complémentaire de la PSPB; ils en

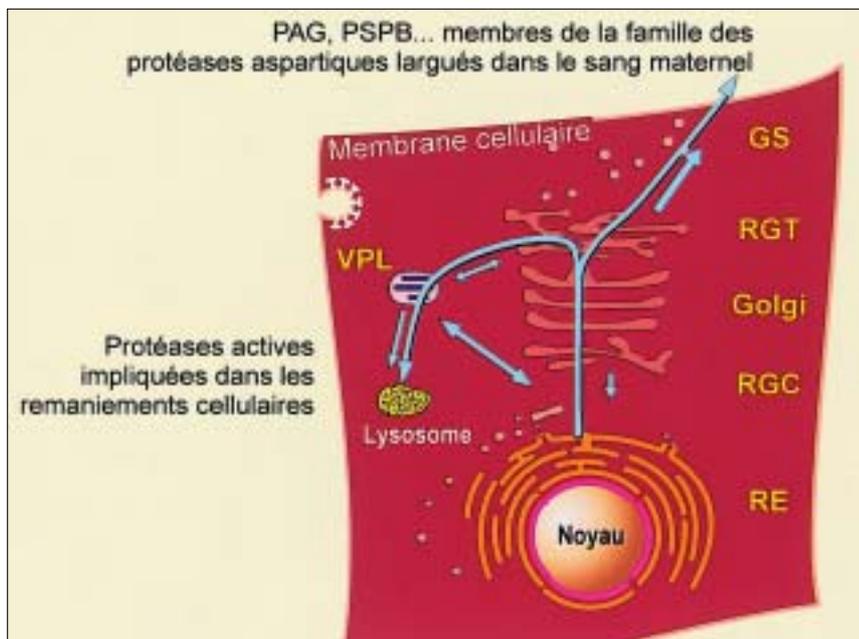


Figure 3: Schéma hypothétique de maturation, stockage et largage des protéases aspartiques (d'après Metcalf et Fusek, 1995). VS = vésicule de stockage ; RGT = réseau Golgi trans ; RGC = réseau Golgi cis ; RE = réticule endoplasmique ; VPL = vésicule pro-lysosomiale.

concluait une grande similarité entre PSPB et PAG-1 et leur appartenance à la même famille. Il en est probablement de même pour la PSP-60 et le SBU-3.

Aujourd'hui, les connaissances relatives à cette famille de protéines ont fortement évolué. Il existe, cependant, une grande différence entre les résultats obtenus par la biologie moléculaire et les approches biochimiques. La première approche a permis d'identifier des dizaines d'ADN complémentaires codant pour des PAGs différents (différant d'au moins 5% dans leur séquence en acides aminés) (Green *et al.*, 2000). La deuxième a permis de séquencer la partie N-terminal d'onze molécules : une chez la vache (boPAG-1) (Zoli *et al.*, 1991), trois chez la chèvre (caPAG₅₅, caPAG₅₉ et caPAG₆₂) (Garbayo *et al.*, 1998) et sept chez la brebis (Atkinson *et al.*, 1993; Xie *et al.*, 1997). Ces molécules isolées à partir du placenta ont été utilisées pour le développement de différents systèmes radio-immunologiques (homologues et hétérologues), permettant le dosage des PAGs dans le sérum, le plasma et le lait.

Dès l'époque où les PAGs (ou PSPB) ont été découvertes, plusieurs auteurs ont recherché des relations entre ces molécules (ou le profil de leur concentration) et une fonction immunitaire locale ou systémique.

Ainsi, Dunbar et collaborateurs (1990) étudièrent l'influence de la PSPB sur l'état de neutrophiles stimulés par la concanavaleine A.

Se basant sur les caractéristiques du profil des concentrations hormonales (progestérone, œstrogènes, cortisol et PAG) chez la vache, et en particulier sur l'observation de concentrations élevées durant les dernières semaines précédant la parturition, Burvenich et son équipe (Dosogne *et al.*, 2000) ont incriminé ces hormones, et notamment la PAG, comme responsables d'une chute de résistance chez la vache parturiente ou dans les jours qui suivent et de la sensibilité au syndrome métrite-mammite fréquemment observé à cette époque. Différentes publications ont porté sur le sujet, décrivant notamment la succession des concentrations élevées de PAG et la décroissance de l'activité d'oxydation des polymorphonucléaires neutrophiles (Moreira da Silva *et al.*, 1997; Dosogne *et al.*, 2000).

Récemment, Hoeben et collaborateurs (2000) ont montré que des concentrations de PAG supérieures à 1800 ng/ml modifient la capacité des granulocytes à former des colonies, la formation de colonies myéloïdes et le taux global de clonage des cellules myéloïdes. Rappelons que de telles concentrations peuvent se rencontrer chez la vache durant la semaine qui

précède le vêlage. A partir de ces expériences, il reste difficile de conclure aujourd'hui sur une intervention déterminante des PAGs sur l'état immunitaire de la mère, même au moment où les niveaux sont les plus élevés, c'est à dire, peu avant la parturition, car n'oublions pas qu'en cette période, les concentrations d'œstrogènes sont élevées également.

Par ailleurs, l'équipe de Michael Roberts a formulé plusieurs hypothèses, dont celle selon laquelle les PAGs ou des molécules apparentées pourraient lier et séquestrer des peptides susceptibles d'être reconnus pour le MHC et ainsi exercer un rôle immuno-modulateur au niveau de l'interface fœto-maternel (Roberts *et al.*, 1996). A ce jour, cette hypothèse n'a pas pu être confirmée expérimentalement.

A l'heure actuelle, la constitution de sérothèques ainsi que la documentation plus précise de l'apparition de problèmes reproductifs et des cas d'avortement dans les fermes pourrait constituer un nouvel effort en vue de réaliser une étude plus complète et collaborative des différentes disciplines de la biologie et de la médecine vétérinaire telles que l'immunologie, l'endocrinologie, la physiologie, la parasitologie, la virologie et la bactériologie. Lors d'antécédents d'infertilité de troupeaux ou d'avortement, lors d'images échographiques altérées ou enfin lorsque les concentrations en protéines ou hormones de la gestation paraissent modifiées ou ne pas correspondre au stade de gestation calculé, il serait intéressant de proposer des études complémentaires, des recherches d'antigènes ou d'anticorps, afin d'accroître la vigilance en vue de ne pas laisser passer inaperçus (ou mal documentés) des problèmes reproductifs ou des avortements d'origine immunitaire ou infectieuse.

CONCLUSIONS GENERALES

Au terme de cette synthèse, il faut insister sur quelques points particuliers qui reflètent la complexité des études portant sur l'influence potentielle des hormones et protéines associées à la gestation sur l'état immunitaire de la mère.

Premièrement, on a souvent comparé le fœtus et le placenta à une allogreffe

ou à une semi allogreffe... or, il faut se souvenir que durant la gestation, le sang de la mère et celui du fœtus ne se mélangent pas. A l'inverse de la greffe, à toutes les périodes de gestation, le trophoblaste ou le placenta ne sont jamais vascularisés (ou revascularisés) par des vaisseaux d'origine maternelle; leur vascularisation qui est nulle au départ, est progressivement assurée par la mise en place du système cardio-vasculaire fœtal. Dans ce contexte, il faut rappeler que le cœur du fœtus bovin commence à battre à partir de la 3^e semaine après la fécondation.

Deuxièmement, la plupart des expériences qui relèvent d'une collaboration entre les endocrinologistes et les immunologistes ont été basées sur :

- l'utilisation de préparations hormonales, certes hautement purifiées, mais susceptibles de contenir des contaminants d'activité inconnue ;
- l'utilisation de modèles in vitro qui, même s'ils étaient très bien contrôlés et développés avec rigueur, ne pouvaient pas tenir en compte la complexité d'interactions cellulaires et hormonales qui évoluent spatialement et temporellement entre la mère et le *conceptus* : œuf fécondé, embryon entouré de la membrane pellucide, œuf éclos, blastocyste, unité fœto-placentaire... ;

- des modèles animaux de laboratoire ou sur des périodes relativement courtes. Or, il apparaît clairement que l'environnement hormonal évolue tout au long de la gestation : la présence de l'interféron tau au début, ensuite la progestérone, les PAGs et les œstrogènes, puis les PLs... en sont des exemples.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier les Pr. J. Derivaux et F. Ectors, initiateurs des recherches sur les hormones placentaires à l'Université de Liège, pour leur lecture critique du manuscrit et pour leurs nombreux conseils. Nous remercions aussi Mme R. Fares et Docteur H.H. Tamboura pour ses remarques dans la rédaction de cette revue, ainsi que les Docteurs W.W. Thatcher, W.J. Murdoch, P. Metcalf et M. Fusek qui nous ont aimablement autorisés à reproduire les figures qu'ils ont conceptualisées. Enfin, nous remercions chaleureusement les relecteurs du manuscrit. Leurs nombreuses suggestions ont été intégrées dans le texte ou le seront dans la rédaction d'une synthèse portant plus précisément sur l'angiogenèse placentaire.

SUMMARY

Potential influence of pregnancy hormones and proteins synthesized during pregnancy on the maternal immunological status

During pregnancy, the endocrine function of the gonads and the foeto-placental unit involves the synthesis of several hormones (progesterone, oestrogens, cortisol, prostaglandins, prolactin, chorionic gonadotropin, placental lactogen, also designed "chorionic somatomammotropin", etc.), and a series of growth factors and proteins. Some proteins and glycoproteins synthesized during gestation interfere with the establishment of pregnancy, corpus luteum maintenance, intermediate maternal metabolism, fetal growth, mammary growth and immunotolerance of the conceptus by the mother. This review includes a presentation of the main pregnancy-related hormones and proteins and their hypothetical role on the immunological status of the mother.

BIBLIOGRAPHIE

- AILENBERG M., SHEMESH M. Partial purification of a chorionic gonadotropin-like protein from bovine cotyledons. *Biol. Reprod.*, 1983, **28**, 517-522.
- ALLEN W.R. The influence of fetal genotype upon endometrial cup development and PMSG and progesterone production in equids. *J. Reprod. Fert.*, 1975, **23** (Suppl), 405-413.
- ANTHONY R.V., PRATT S.L., LIANG R., HOLLAND, M.D. Placental-fetal hormonal interactions : impact on fetal growth. *J. Anim. Sci.*, 1995, **73**, 1861-1871.
- ARIMA Y., BREMEL R.D. Purification and characterization of bovine placental lactogen. *Endocrinology*, 1983, **113**, 2186-2194.
- ASCHHEIM S. Weitere Untersuchungen ueber Hormone and Schwangerschaft. Das Vorkommen der Hormone in Harn der Schwangeren. *Arch. Gynaekol.*, 1927, **132**, 179-183.
- ASCHHEIM S., ZONDEK B. Schangerschaftsdiagnose aus dem Harn (durch Hormonnachweis). *Klin. Wschr.*, 1928, **7**, 8-9.
- ASSAL-MELIANI A., CHARPIGNY G., REINAUD P., MARTAL J., CHAOUAT G. Recombinant ovine trophoblastin (roTP) inhibits ovine, murine and human lymphocyte proliferation. *J. Reprod. Immunol.*, 1993, **25**, 149-165.
- ATHANASAS-PLATIS S., CORCORAN C.M., KAYE P.L., CAVANAGH A.C., MORTON H. Early pregnancy factor is required at two important stages of embryonic development in the mouse. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2000, **43**, 223-233.
- ATKINSON Y.H., GOGOLIN-EWENS K.J., HOUNSELL E.F., DAVIES M.J., BRANDON M.R., SEAMARK R.F. Characterization of placentation-specific binucleate cell glycoproteins possessing a novel carbohydrate. Evidence for a new family of pregnancy-associated molecules. *J. Biol. Chem.*, 1993, **268**(35), 26679-85.
- BEACONSFIELD P., BIRDWOOD G., BEACONSFIELD R. Le placenta. *Pour la science*, 1980, **1**, 29-37.
- BECKERS J.F. L'hormone placentaire somatomammotrope bovine. (Thèse d'Agrégation), Université de Liège. Liège, 1983, 207 p.
- BECKERS J.F., FROMONT-LIENARD Ch., VAN DER

- ZWALMEN P., WOUTERS-BALLMAN P., ECTORS F. Isolement d'une hormone placentaire bovine présentant une activité analogue à la prolactine et à l'hormone de croissance. *Ann. Méd. Vét.*, 1980, **124**, 584-601.
- BECKERS J.F., DEWULF M., VERSTEGEN J., WOUTERS-BALLMAN P., ECTORS F. Isolation of a bovine chorionic gonadotrophin (bCG). *Theriogenology*, 1988, **29**, 218.
- BECKERS J.F., ROBERTS R.M., ZOLI A.P., ECTORS F., DERIVAUX J. Molecules of the family of aspartic proteinases in the placenta of ruminants : hormones or proteins? *Bull. Mem. Acad. R. Med. Belg.*, 1994, **149**, 355-367.
- BEER A.E., BILLINGHAM R.E. Maternal immunological recognition mechanisms during pregnancy. In: Maternal recognition of pregnancy (CIBA Fndn Symp. N°64 (New Series)). Elsevier: North-Holland, Amsterdam, 1979, 293-309.
- BETTERIDGE K.J., EAGLESOME M.D., RANDALL G.C.B., MITCHELL D. Collection, description and transfer of embryos from cattle 10-16 days after oestrus. *J. Reprod. Fert.*, 1980, **59**, 205-216.
- BUTLER J.E., HAMILTON W.C., SASSER R.G., RUDER C.A., HASS G.M., WILLIAMS R.J. Detection and partial characterization of two bovine pregnancy-specific proteins. *Biol. Reprod.*, 1982, **26**, 925-933.
- BUTTLE H.L., FORSYTH I.A. Placental lactogen in the cow. *J. Endocrinol.*, 1976, **68**, 141-146.
- CAVANAGH A.C. Production in vitro of mouse early pregnancy factor and purification to homogeneity. *J. Reprod. Fertil.*, 1984, **71**, 581-592.
- CAVANAGH A.C., MORTON H. The purification of early-pregnancy factor to homogeneity from human platelets and identification as chaperonin 10. *Eur. J. Biochem.*, 1994, **222**, 551-560.
- CAVANAGH A.C., MORTON H., ROLFE B.E., GIDLEY-BAIRD A.A. Ovum factor : a first signal of pregnancy ? *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1982, **2**, 97-101.
- CHAN J.S.D., ROBERTSON H., FRIESEN H.G. Maternal and fetal concentrations of ovine placental lactogen measured by radioimmunoassay. *Endocrinology*, 1978, **102**, 1606-1613.
- CHAOUAT G., MENU E. Immunology of pregnancy. In : Thibault C., Levasseur M.C., Hunter R.H.F. (Editors), Reproduction in mammals and man. Ed. Ellipses: Paris, 1993, 435-459.
- CHARLIER M., HUE D., BOISNARD M., MARTAL J., GAYE P. Cloning and structural analysis of two distinct families of ovine interferon-alpha genes encoding functional class II and trophoblast (oTP) alpha-interferons. *Mol. Cell Endocrinol.*, 1991, **76**, 161-171.
- CHARPIGNY G., REINAUD P., HUET J.C., GUILLOMOT M., CHARLIER M., PERNOLLET J.C., MARTAL, J. High homology between a trophoblastic protein (trophoblastin) isolated from ovine embryo and alpha-interferons. *FEBS Lett.*, 1988, **228**, 12-16.
- COCCHIARA R., DI TRAPANI G., AZZOLINA A., GERACI D. Immunosuppressive effect of early pregnancy factor on early expression of cell surface membrane IgG. *J. Reprod. Immunol.*, 1986, **9**, 23-32.
- COLE H.H., HART G.H. The potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in effecting the sexual maturity of the immature rat. *Am. J. Physiol.*, 1930, **93**, 57-68.
- CRUZ Y.P., SELWOOD L., MORTON H., CAVANAGH A.C. Significance of serum early pregnancy factor concentrations during pregnancy and embryonic development in *Sminthopsis macroura* (Spencer) (Marsupialia : Dasyuridae). *Reproduction*, 2001, **121**, 933-939.
- CURRIE W.B., CARD C.E., MICHEL F.J., IGNOTZ G. Purification, partial characterization, and development of a specific radioimmunoassay for goat placental lactogen. *J. Reprod. Fert.*, 1990, **90**, 25-36.
- DE LA LLOSA-HERMIER M.P., LÉBOULLEUX P., CHENE N., MARTAL J. Inhibitory effect of ovine and human placental lactogens on progesterone catabolism in luteinized rat ovaries in vitro. *Placenta*, 1983, **4**, 479-487.
- DOSOGNE H., MASSART-LEEN A.M., BURVENICH C. Immunological aspects of pregnancy-associated glycoproteins. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2000, **480**, 295-305.
- DUNBAR M.M., WONG T.S., RUDER-MONTGOMERY C.A., CHEW B.P., SASSER R.G. Partial characterization of the immunosuppressive properties of pregnancy-specific protein B (PSPB). *Theriogenology*, 1990, **33**, 220.
- FILLION C., CHAOUAT G., REINAUD P., CHARPIGNY J.C., MARTAL J. Immunoregulatory effects of ovine trophoblastin protein (oTP) : all five isoforms suppress PHA-induced lymphocyte proliferation. *J. Reprod. Immunol.*, 1991, **19**, 237-249.
- FORSYTH I.A. Variation among species in the endocrine control of mammary growth and function : the roles of prolactin, growth hormone, and placental lactogen. *J. Dairy Sci.*, 1986, **69**, 886-903.
- GABRILOVAC J., ZADJELOVIC J., OSMAK M., SUCHANEK E., ZUPANOVIC Z., BORANIC M. NK cell activity and estrogen hormone levels during normal human pregnancy. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 1988, **25**, 165-172.
- GARBAYO J.M., REMY B., ALABART J.L., FOLCH J., WATTIEZ R., FALMAGNE P., BECKERS J.F. Isolation and partial characterization of a pregnancy-associated glycoprotein family from the goat placenta. *Biol. Reprod.*, 1998, **58**, 109-115.
- GODKIN J.D., SMITH S.E., JOHNSON R.D., DORE J.J. The role of trophoblast interferons in the maintenance of early pregnancy in ruminants. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1997, **37**, 137-143.
- GOGOLIN-EWENS K.J., LEE C.S., MERCER W.R., MOSEBY A.M., BRANDON M.R. Characterization of a sheep trophoblast-derived antigen first appearing at implantation. *Placenta*, 1986, **7**, 243-255.
- GREEN J.A., XIE S., QUAN X., BAO B., GAN X., MATHIALAGAN N., BECKERS J.F., ROBERTS R.M. Pregnancy-associated glycoproteins exhibit spatially and temporally distinct expression patterns during pregnancy. *Biol. Reprod.*, 2000, **62**, 1624-1631.
- GUILBAULT L.A., BECKERS J.F., ROY G.L., GRASSO F. Plasma concentrations of bovine placental lactogen,

- prolactin and prostaglandins during the periparturient period in Ayrshire heifers bearing different breeds of fetus. *Theriogenology*, 1988, **29**, 255.
- GUILLOMOT M., REINAUD P., La BONNARDIERE C., CHARPIGNY G. Characterization of conceptus-produced goat interferon tau and analysis of its temporal and cellular distribution during early pregnancy. *J. Reprod. Fertil.*, 1998, **112**, 149-156.
- HANSEN T.R., AUSTIN K.J., PERRY D.J., PRU J.K., TEIXEIRA M.G., JOHNSON G.A. Mechanism of action of interferon-tau in the uterus during early pregnancy. *J. Reprod. Fertil.*, 1999, **54**, 329-339.
- HAYDEN T.J., THOMAS C.R., FOSYTH I.A. Effect of number of young born (litter size) on milk yield of goats: role for placental lactogen. *J. Dairy Sci.*, 1979, **62**, 53-57.
- HELMER S.D., HANSEN P.J., ANTHONY R.V., THATCHER W.W., BAZER F.W., ROBERTS R.M. Identification of bovine trophoblast protein-1, a secretory protein immunologically related to ovine trophoblast protein-1. *J. Reprod. Fertil.*, 1987, **79**, 83-91.
- HOEBEN D., MONFARDINI E., OPSOMER G., BURVENICH C., DOSOGNE H., DE KRUIF A., BECKERS J.F. Chemiluminescence of bovine polymorphonuclear leukocytes during the periparturient period and relation with metabolic markers and bovine pregnancy-associated glycoprotein. *J. Dairy Res.*, 2000, **67**, 249-259.
- HSI B.L., HUNT J.S., ATKINSON J.P. Differential expression of complement regulatory proteins on subpopulations of human trophoblast cells. *J. Reprod. Immunol.*, 1991, **19**, 209-223.
- KHAN O.A., JIANG H., SUBRAMANIAM P.S., JOHNSON H.M., DHIB-JALBUT S.S. Immunomodulating functions of recombinant ovine interferon tau: potential for therapy in multiple sclerosis and autoimmune disorders. *Mult. Scler.*, 1998, **4**, 63-69.
- LACROIX M.C., MARTAL J. Demonstration and evolution of chorionic gonadotropin in ewes. *C. R. Seances Acad. Sci. D.*, 1979, **288**, 771-774.
- LALA P.K., KENNEDY T.G., PARHAR R.S. Suppression of lymphocyte alloreactivity by early gestational human decida. II. Characterization of the suppressor mechanisms. *Cell Immunol.*, 1988, **116**, 411-422.
- LEA R.G., BOLTON A.E. The effect of horse placental tissue extracts and equine chorionic gonadotrophin on the proliferation of horse lymphocytes stimulated in vitro. *J. Reprod. Immunol.*, 1991, **19**, 13-23.
- LUNEN J.E., FOOTE W.C. Gonadotropic activity in bovine serum and placental tissue. *Endocrinology*, 1967, **81**, 61-66.
- LYNCH K.A., ALEXANDER R.M., SASSER R.G. The cloning and expression of the bovine pregnancy specific protein B (bPSPB) gene. *Biol. Reprod.*, 1992, **46** (Suppl. 1), 73.
- MARTAL J., DJIANE J. Purification of a lactogenic hormone in sheep placenta. *Bioch. Biophys. Res. Commun.*, 1975, **65**, 770-778.
- MARTAL J., LACROIX M.C., LOURDES C., SAUNIER M., WINTENBERGER-TORRES S. Trophoblastin, an antiluteolytic protein present in early pregnancy in sheep. *J. Reprod. Fert.*, 1979, **56**, 63-73.
- MEDINA K.L., SMITHSON G., KINCADE P.W. Suppression of B lymphopoiesis during normal pregnancy. *J. Exp. Med.*, 1993, **178**, 1507-1515.
- MENDELSON J., MULTER M.M., BERNHEIM J.L. Inhibition of human lymphocyte stimulation by steroid hormones: cytokinetic mechanisms. *Clin. Exp. Immunol.*, 1977, **27**, 127-134.
- METCALF P., FUSEK M. Cathepsin D crystal structures and lysosomal sorting. In: Takahashi, K. (Ed.), *Aspartic Proteinases: Structure, Function, Biology and Biomedical Implications*. Kluwer Academic Publishers: New York, 1995, **362**, 193-200.
- MIALON M.M., CAMOUS S., RENAND G., MARTAL J., MENISSIER F. Peripheral concentrations of a 60-kDa pregnancy serum protein during gestation and after calving and in relationship to embryonic mortality in cattle. *Reprod. Nutr. Dev.*, 1993, **33**, 269-282.
- MOOR R.M., ROWSON L.E. Local uterine mechanisms affecting luteal function in the sheep. *J. Reprod. Fertil.*, 1966, **11**, 307-310.
- MOREIRA DA SILVA F., BURVENICH C., PAAPE M.J., BECKERS J.F., LEEN A.M. Effect of cortisol, estradiol, progesterone and pregnancy-associated glycoprotein on oxidative burst (OB) activity of bovine neutrophils (PMN). *32th National Meeting Hyatt Regence Baltimore USA*, 1997, p. 214.
- MORTON H., HEGH V., CLUMIE G.J.A. Immunosuppression detected in pregnant mice by rosette inhibition test. *Nature*, 1974, **249**, 459-460.
- MORTON H., ROLFE B.E., CLUMIE G.J.A., ANDRESON M.J., MORRISON J. An early pregnancy factor detected in human serum by the rosette inhibition test. *Lancet*, 1977, **1**, 394-397.
- MORTON H., CLUMIE G.J., SHAW F.D. A test for early pregnancy in sheep. *Res. Vet. Sci.*, 1979, **26**, 261-262.
- MORTON H., MORTON D.Y., ELLENDORF F. The appearance and characteristics of early pregnancy factor in the pig. *J. Reprod. Fert.*, 1983, **68**, 437-446.
- MURPHY S.P., TOMASI, T.B. Absence of MHC class II antigen expression in trophoblast cells results from a lack of class II transactivator (CIITA) gene expression. *Mol. Reprod. Dev.*, 1998, **51**, 1-12.
- MUCHMORE A.V., BLAESE R.M. Immunoregulatory properties of fractions from human pregnancy urine: evidence that human chorionic gonadotropin is not responsible. *J. Immunol.*, 1977, **118**, 881-886.
- MUJTABA M.G., STREIT W.J., JOHNSON H.M. IFN-tau suppresses both the autoreactive humoral and cellular immune responses and induces stable remission in mice with chronic experimental allergic encephalomyelitis. *Cell. Immunol.*, 1998, **186**, 94-102.
- MUJTABA M.G., VILLARETE L., JOHNSON H.M. IFN-tau inhibits IgE production in a murine model of allergy and in an IgE-producing human myeloma cell line. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1999, **104**, 1037-1044.
- MURDOCH W.J. Pregnancy diagnosis. (sans date) [en ligne] Adresse URL : <http://www.uwyo.edu/ag/anisci/wjm/repro/pregdiag.htm> Consulté le 7 août 2001.
- NANCARROW C.D., WALLACE A.L.C. Detection of fer-

- tilization in sheep and cattle : serological estimation and description of properties of an early pregnancy factor. *Proc. 9th Int. Congr. Anim. Reprod. & Art.Insem.*, 1980, **3**, 85.
- NORTHEY D.L., FRENCH L.R. Effect of embryo removal and intrauterine infusion of embryonic homogenates on the lifespan of the bovine corpus luteum. *J. Anim. Sci.*, 1980, **50**, 298-302.
- PARHAR R.S., YAGEL S., LALA P.K. PGE2-mediated immunosuppression by first trimester human decidual cells blocks activation of maternal leukocytes in the decida with potential anti-trophoblast activity. *Cell. Immunol.*, 1989, **120**, 61-74.
- REDDY S., WATKINS W.B. Immunofluorescent localization of ovine placental lactogen. *J. Reprod. Fert.*, 1978, **52**, 173-174.
- ROBERTS R.M., XIE S., MATHIALAGAN N. Maternal recognition of pregnancy. *Biol. Reprod.*, 1996, **54**, 294-302.
- ROWSON L.E., MOOR R.M. The influence of embryonic tissue homogenate infused into the uterus, on the lifespan of the corpus luteum in the sheep. *J. Reprod. Fert.*, 1967, **13**, 511-516.
- RUNIC C., LOCKWOOD C.J., MA Y., DIPASQUALE B., GULLER S. Expression of Fas ligand by human cytotrophoblasts : implications in placentation and fetal survival. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996, **81**, 3119-3122.
- SANYAL M.K., BRAMI C.J., BISCHOF P., SIMMONS E., BARNEA E.R., DWYER J.M., NAFTOLIN F. Immunoregulatory activity in supernatants from cultures of normal human trophoblast cells of the first trimester. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1989, **161**, 446-453.
- SARDAJANA I.K.W., TAINTURIER D., DJIANE J. Etude de l'hormone chorionique somatomammotrophique dans le plasma et le lactoserum au cours de la gestation et du postpartum chez la chèvre (application au diagnostic tardif de gestation). *Rev. Méd. Vét.*, 1988, **139**, 1045-1052.
- SCHAFFER A., PAULI G., FRIEDMANN W., DUDENHAUSEN J.W. Human choriogonadotropin (hCG) and placental lactogen (hPL) inhibit interleukin-2 (IL-2) and increase interleukin-1 beta (IL-1 beta), -6 (IL-6) and tumor necrosis factor (TNF-alpha) expression in monocyte cell cultures. *J. Perinat. Med.*, 1992, **20**, 233-240.
- SELYE H., COLLIP J.B., THOMSON D.L. The effect of hypophysectomy upon pregnancy and lactation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med. N.Y.*, 1933, **30**, 589-592.
- SIITERI P.K., STITES D.P. Immunologic and endocrine interrelationship in pregnancy. *Biol. Reprod.*, 1977, **26**, 1-14.
- SKOPETS B., LI J., THATCHER W.W., ROBERTS R.M., HANSEN P.J. Inhibition of lymphocyte proliferation by bovine trophoblast protein-1 (type I trophoblast interferon) and bovine interferon-alpha II. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1992, **34**, 81-96.
- SOOS J.M., SUBRAMANIAM P.S., HOBEIKA A.C., SCHIFFENBAUER J., JOHNSON H.M. The IFN pregnancy recognition hormone IFN-tau blocks both development and superantigen reactivation of experimental allergic encephalomyelitis without associated toxicity. *J. Immunol.*, 1995, **155**, 2747-2753.
- SUEOKA K., DHARMARAJAN A.M., MIYAZAKI T., ATLAS S.J., WALLACH E.E. In-vivo and in-vitro determination of components of rabbit early pregnancy factors. *J. Reprod. Fert.*, 1989, **87**, 47-53.
- SZEKERES-BARTHO J., CHAOUAT G., KINSKY R. A progesterone-induced blocking factor corrects high resorption rates in mice treated with antiprogestosterone. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1990a, **163**, 1320-1322.
- SZEKERES-BARTHO J., KINSKY R., CHAOUAT G. The effect of a progesterone-induced immunologic blocking factor on NK-mediated resorption. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1990b **24**, 105-107.
- TAKAGI M., NISHIMURA K., OGURI N., OHNUMA K., ITO K., TAKAHASHI J., YASUDA Y., MIYAZAWA K., SATO K. Measurement of early pregnancy factor activity for monitoring the viability of the equine embryo. *Theriogenology*, 1998, **50**, 255-262.
- THATCHER W.W., MACMILLAN K.L., HANSEN P.J., DROST M. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology*, **31**, 149-164.
- TUO W., OTT T.L., BAZER F.W. Natural killer cell activity of lymphocytes exposed to ovine, type I, trophoblast interferon. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1993, **29**, 26-34.
- WREZLEWICZ W., RASHKOFF E., LUCAS T., RAMASAMY N., SAWYER P.N. Effects of human chorionic gonadotropin and antithymocyte-globulin on the electrophoretic mobility of human lymphocytes. *Transplant Proc.*, 1977, **9**, 1441-1445.
- XIE S., LOW R.C., NAGEL R.J., KRAMER K.K., ANTHONY R.V., ZOLI A.P., BECKERS J.F., ROBERTS R.M. Identification of the major pregnancy-specific antigens of cattle and sheep as inactive members of the aspartic proteinase family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, **88**, 10247-10251.
- XIE S., LOW B.G., NAGEL R.J., BECKERS J.F., ROBERTS R.M. A novel glycoprotein of the aspartic proteinase gene family expressed in bovine placental trophoblast. *Biol. Reprod.*, 1994, **51**, 1145-1153.
- XIE S., GREEN J.A., BAO B., BECKERS J.F., VALDEZ K.E., HAKAMI L., ROBERTS R.M. Multiple pregnancy-associated glycoproteins are secreted by day 100 ovine placental tissue. *Biol. Reprod.*, 1997, **57**, 1384-1393.
- YAGEL S., HURWITZ A., ROSENN B., KEIZER N. Progesterone enhancement of prostaglandin E2 production by fetal placental macrophages. *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.*, 1987, **14**, 45-48.
- ZOLI A.P., BECKERS J.F., WOUTERS-BALLMAN P., CLOSSET J., FALMAGNE P., ECTORS F. Purification and characterization of a bovine pregnancy-associated glycoprotein. *Biol. Reprod.*, 1991, **45**, 1-10.