

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Medicina Interna



TESIS DOCTORAL

**Prolactina y carcinoma de mama humano : estudio de la
concentración basal y ritmo nictameral y relaciones con los
niveles circulantes de antígeno carcino-embionario**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Álvaro Larrad Jiménez

DIRECTOR:

Amador Schüller Pérez

Madrid, 2015

Alvaro Larrad Jiménez

TP
1981

137



* 5 3 0 9 8 5 6 0 2 2 *
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

X - 53 - 009063 - 1

PROLACTINA Y CARCINOMA DE MAMA HUMANO: ESTUDIO
DE LA CONCENTRACION BASAL Y RITMO NICTAMERAL Y RELACIONES
CON LOS NIVELES CIRCULANTES DE ANTIGENO CARCINO-EMBRIONARIO

Departamento de Medicina Interna
Facultad de Medicina
Universidad Complutense de Madrid
1981



BIBLIOTECA

© Alvaro Larrad Jiménez
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1981
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-15911-1981

DEDICATORIA :

- A mis hijos
- A mi mujer
- A mis padres

I
Indice

	Pág.
I. AGRADECIMIENTOS	I
II. ABREVIATURAS	III
Capítulo primero	
ESTADO ACTUAL DE PROLACTINA	
1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS DE LAS HORMONAS LACTOGENICAS	1
2. AISLAMIENTO Y ESTRUCTURA DE LA PROLACTINA	7
2A. Pruebas en favor de su existencia	7
2B. Purificación y química de la PRLh	11
2B-1. Extractos de procedencia hipofisaria	11
2B-2. Extractos de procedencia no hipofisaria	16
2B-3. Modificaciones por la extracción y purificación.	19
2B-3a. Desaminación	19
2B-3b. Agregación	20
2B-3c. Alteraciones enzimáticas	21
2B-3d. Modificaciones químicas	21
2C. Propiedades fisicoquímicas y estructural	21
2D. Heterogeneidad de la PRLh	23
3. LA CELULA DE PROLACTINA	30
3A. Identificación	30
3A-1. Técnicas de coloración	30
3A-2. Inmunofluorescencia	31
3A-3. Microscopia electrónica	32

	Pág.
3B. Anatomía funcional de la célula de PRL. Mecanismos de secreción.	34
3B-1. Síntesis en el polirribosoma y segregación dentro del R.E. rugoso.	37
3B-2. Transporte desde el R.E. hasta el aparato de Golgi.	38
3B-3. Concentración en el Golgi y agregación de los gránulos pequeños.	40
3B-4. Almacenamiento de los gránulos maduros	41
3B-5. Descarga extracelular por exocitosis	42
3B-6. Descarga de hormona en los lisosomas. Crinofagia.	44
4. TECNICAS DE DETERMINACION	46
4A. Bioensayo	46
4B. Radioinmunoanálisis (RIA)	51
4B-1. PRL animal	53
4B-1a. PRL. Ovina, caprina y bovina	54
4B-1b. RIA para PRL en peces.	55
4B-1c. RIA para PRL de rata y ratón	55
4B-1d. RIA para PRL de perro	57
4B-2. RIA para la PRL humana y de primate	57
4B-2a. Ensayos heterólogos	58
4B-2b. Ensayos "homógenos"	60
4B-2c. Ensayos homólogos	61
5. FISIOPATOLOGIA DE LA SECRECION DE PROLACTINA. CONCENTRACIONES EN DISTINTOS ESTADOS PATOLOGICOS.	63
5A. Concentraciones basales	63
5B. Concentraciones fetales, neonatales y en líquido amniótico.	64

	Pág.
5C. Concentraciones puberales y durante el ciclo menstrual.	67
5D. Concentraciones durante el embarazo, postparto y lactancia.	69
5E. Secreción nocturna. Ritmo nictameral y ritmo estacional.	71
5F. Strees	75
5G. Alteraciones en la secreción de PRL	77
5G-1. Hiperprolactinemias	77
5G-1a. Características clínicas de la hiperprolactinemia.	77
5G-1b. Causas de hiperprolactinemia	78
5G-1c. Formas de presentación de la hiperprolactinemia en la mujer.	87
5G-1d. Hiperprolactinemia en el hombre	94
5G-1e. Secreción ectópica	94
5G-2. Hipoprolactinemia (Deficiencia aislada de la secreción de PRL).	95
6. REGULACION DE LA SECRECION DE PROLACTINA	96
6A. Papel del hipotálamo	96
6A-1. Influencias inhibitoras	97
6A-2. Influencia estimuladora	99
6B. Animas biogénicas como factores inhibidores de PRL (El concepto de PIF).	100
6B-1. Acción directa e indirecta de catecolaminas sobre la secreción de prolactina.	102
6B-1a. Inhibición indirecta	102
6B-1b. Inhibición directa	103
6B-2. Dopamina como PIF fundamental	105
6B-2a. Efecto de L-DOPA	106
6B-2b. Drogas estimuladoras de la secreción de prolactina.	111

IV

	Pág.
6B-2c. Drogas que reproducen el efecto biológico de Dopamina (Drogas inhibidoras de prolactina). Los alcaloides del ergo.	114
6B-2d. Sistema dopaminérgico y vitamina B ₆	120
6B-3. Otras sustancias con efecto PIF	122
6C. Estrógenos y regulación de PRL	124
6D. El factor liberador de PRL (PRF)	130
6D-1. TRH	130
6D-2. Indoleaminas y secreción de PRL	137
6D-2a. Serotonina	137
6D-2b. Melatonina y efectos de la glándula pineal.	142
6E. Tumores secretores de PRL. El mecanismo de retroalimentación para PRL.	143
6F. Otros sistemas implicados en la regulación de PRL	147
6F-1. Acetilcolina	147
6F-2. ACTH y glucocorticoides	148
6F-3. Histamina	149
6F-4. Endorfinas	150
6F-5. Otras sustancias	151
6G. Mecanismo de acción del PIF y PRF. Prostaglandina y AMPc.	152
7. MECANISMO DE ACCION DE PRL. EL RECEPTOR DE PROLACTINA	156
7A. Regulación de los niveles del receptor de PRL	162
7A-1. Receptores de PRL en el testículo y la próstata.	167
7A-2. Receptores de prolactina en el ovario. Sinergismo con la inducción de receptores de LH.	168
7A-3. Receptores de prolactina en la glándula mamaria.	169
7A-4. Receptores de prolactina en el riñón y en la glándula suprarrenal.	171

	Fág.
8. FUNCIONES DE LA PROLACTINA	172
8A. Funciones de reproducción	173
8B. Funciones de nutrición en los hijos y desarrollo mamario.	180
8B-1. Secreción láctea	189
8C. Efectos de medio ambiente materno	194
8D. Función de osmorregulación y acción sobre las supra- renales.	194
8E. Efectos somatotrópicos	197
8F. Accciones sobre estructuras ectodérmicas	200
Capítulo segundo.	
9. PROLACTINA Y CANCER DE MAMA	201
9A. Introducción	201
9B. La idea de promoción e inducción. Diferencias con- ceptuales.	202
9C. Promoción por prolactina de la tumorigénesis mamaria	205
9C-1. Ratón	205
9C-2. Ratas	210
9D. Inhibición de la tumorigénesis mamaria por PRL	213
9E. Relación entre la PRL y las hormonas ováricas en la oncogénesis mamaria.	215
9F. Mecanismos de dependencia a PRL. El receptor de PRL y su regulación.	222
9G. Prolactina y carcinoma de mama humano	236
9G-1. Correlaciones y diferencias entre los modelos experimentales y el tumor humano.	236
9G-2. Pruebas a favor de la repercusión de prolactina sobre la aparición y evolución del carcinoma de mama humano.	240
9G-2a. Efecto de la hipofisectomía	240
9G-2b. Determinaciones plasmáticas	241

VI

	Pág.
9G-2c. Efecto de las drogas supresoras y estimuladoras de la secreción de PRL, y efecto de la cirugía endocrina.	244
9G-2d. Estudios "in vitro"	246
9G-2e. El receptor de PRL en carcinoma humano.	249
Capítulo tercero	
10. HIPOTESIS	251
Capítulo cuarto	
11. PLANTEAMIENTO	253
Capítulo quinto	
12. MATERIAL	256
12A. Muestras basales	256
12A-1. Controles	256
12A-2. Tumorales preoperatorias	257
12A-3. Tumorales postoperatorias	260
12B. Muestras del ritmo nictameral	261
12B.1. Controles	261
12B.2. Serie tumoral	261
12C. Serie del antígeno carcinoembrionario	265
12D. Mastopatía fibroquística	265
Capítulo sexto	
13. METODOS	274
13A. Selección de pacientes y extracción de muestras.	274

VII

	Pág.
13A-1. Determinaciones basales	276
13A-2. Determinaciones nocturnas	277
13B. Técnicas de laboratorio	278
13B-1. Aspectos conceptuales del radioinmunoanálisis	278
13B-1a. Principios generales	278
13B-1b. Problemas técnicos	279
13B-1c. Especificidad del Radioinmunoanálisis	288
13B-2. Material General de Radioinmunoanálisis empleado en este trabajo	290
13B-3. Determinación de Hormona de Crecimiento	291
13B-4. Determinación de Prolactina	302
13B-4a. Método de REUTER y col. (1975)	302
13B-4b. Método de FRIESEN y col. (1972)	306
13B-5. Determinación del Antígeno Carcinoembrionario (ACE)	318
13B-6. Método computarizado de resultados. Transformación Logit-Log	337
13C. Métodos estadísticos	338
13C-1. Test de ajuste a una población normal	338
13C-2. "T test" para datos independientes	341
13C-3. U de Mann-Whitney	345
13C-4. Análisis de correlación (estadística de dos variables)	346
13C-5. Comparación de datos apareados	347
13C-5a. "T test" apareado	347
13C-5b. Estudio de varianza para datos apareados	348
13C-5c. Test de Wilcoxon	348
13C-6. Estudio de población. Test del χ^2 y estudio de proporciones	349

VIII

	Pág.
Capítulo séptimo	
14. Resultados	364
14A. Basales serie control	364
14A-1. Valores globales	364
14A-2. Valores con y sin ciclo menstrual	364
14A-3. Valores según estadio sexual	366
14A-4. Valores respecto al frotis vaginal	369
14A-5. Estudio de correlación PRLh-HCh	369
14B. Serie tumoral. Basales preoperatorias	378
14B-1. Serie global	378
14B-2. Valores con y sin ciclo menstrual	378
14B-3. Valores según estadio sexual	387
14B-4. Valores según frotis vaginal	392
14B-5. Valores según el estadio tumoral	401
14B-6. Estudio de correlación PRLh-HCh	401
14C. Serie tumoral. Basales postoperatorias	410
14C-1. Valores globales	410
14C-2. Valores postoperatorios con y sin ciclo menstrual	410
14C-3. Valores postoperatorios respecto al estadio sexual	417
14C-4. Valores postoperatorios respecto al frotis vaginal	422
14C-5. Correlación postoperatoria entre PRLh y HCh	430
14C-6. Estudio pre y postoperatorio para datos apareados	437
14D. Ritmos nictamerales. Serie control	452
14D-1. Serie global	452
14D-2. Valores con y sin ciclo menstrual	457
14D-3. Valores respecto al estadio sexual	466
14D-4. Valores según frotis vaginal	475
14D-5. Correlación PRLh-HCh para cada hora del ritmo	482

IX

	Pág.
14E. Ritmo nictameral serie tumoral	484
14E-1. Valores globales	484
14E-2. Valores con y sin ciclo menstrual	488
14E-3. Valores según el estadio sexual	512
14E-4. Valores según frotis vaginal	530
14E-5. Valores según estadio tumoral	546
14E-6. Correlación PRLh-HCh.para valores del ritmo nictameral	557
14E-7. Relación basal.-máximo pico nocturno. Diferencias pre-postoperatorias	557
14E-7a. Factor de multiplicación de la basal	561
14E-7b. Porcentaje de incremento nocturno	566
14E-7c. Ordenamiento con dos criterios. Estadio sexual y estadio tumoral	569
14F. PRLh y Antígeno carcinoembrionario (ACE)	586
14G. Mastopatía fibroquística	599
Capítulo octavo	
15. DISCUSION	602
Capítulo noveno	
16. RESUMEN Y CONCLUSIONES	665
Capítulo décimo	
17. BIBLIOGRAFIA	677

X

AGRADECIMIENTOS

- Al Profesor Dr. PEDRO GOMEZ FERNANDEZ, Jefe del Servicio de Cirugía General II de la Ciudad Sanitaria Provincial, mi maestro y tutor, por sus constantes enseñanzas en el amplio quehacer de la Cirugía General, su constante y desinteresado estímulo, su gentileza al poner a mi disposición el Servicio de su dirección para la realización de esta tesis, y por su afecto y cariño paternal.
- Al Profesor Dr. AMADOR SCHULLER PEREZ, Catedrático de Patología y Clínica Médica de la Facultad de Medicina de Madrid, por haber aceptado la dirección de esta tesis, por su generosa ayuda en la elaboración, corrección y crítica del manuscrito, y por sus magistrales enseñanzas a lo largo de mis tres años de permanencia en su Servicio de la Ciudad Sanitaria Provincial.
- Al Dr. PEDRO GARCIA BARRENO, Jefe de la Sección de Medicina y Cirugía Experimental de la Ciudad Sanitaria Provincial, por su amistad personal y su cooperación para la resolución de algunos de los problemas que se plantearon durante la realización de esta tesis y por la honda influencia que han dejado en mí sus enseñanzas en el campo de las Ciencias Básicas.
- Al Profesor Dr. SEVERINO PEREZ MODREGO, Jefe del Hospital Oncológico Provincial, por las facilidades brindadas al poner a mi disposición el Laboratorio de Radio inmunoanálisis para la realización de los estudios de laboratorio y por la inmerecida confianza que me profesó.
- A ANTONIO CABALLERO ASENSI, químico, encargado de la Sección de Radioinmunoanálisis del Hospital Oncológico Provincial, por su amistad y valiosa ayuda en la realización de los estudios hormonales, y al personal auxiliar de su laboratorio, MARIA PEREZ MARTIN, AMPARO TORREJO FRAILE y PILAR PEREZ ALCAZAR por su gentil asistencia técnica.

- A los Drs. ALFONSO CAMACHO LOZANO y AGUSTIN VALERO CASTEJON, Jefes Clínicos del Servicio de Cirugía General II de la Ciudad Sanitaria, CARLOS IGLESIAS DE LA CUEVA y MARIO MINGO ZAPATERO, Médicos Adjuntos del Servicio, y a los distintos Médicos Residentes que han suplido amistosa y generosamente mi cotidiana labor asistencial durante un gran período de tiempo, permitiéndome una plena dedicación para la realización de esta tesis. Asimismo agradezco a las enfermeras del Servicio ANGELINA CANTALEJO, MARIA DE LOS ANGELES PUEYO y MARIA DEL MAR DIEZ su buen quehacer profesional para el riguroso mantenimiento de los protocolos de extracción, y a MARÍA JESUS SANCHEZ GUTIERREZ y MARIA REYES CRESPO el trabajo de mecanografía del manuscrito original.
- A SALVADOR ROVIRA LLORENS, un gran amigo, sus constantes consejos y enseñanzas en el complejo campo de la estadística.
- A I.B.M. Española la inestimable aportación económica y técnica en la realización de los programas y consecución de los estudios estadísticos, y a D. JOSE LUIS LAFUENTE MARTIN, gran amigo, y experto en informática, su trabajo para la obtención de los resultados de esta tesis.
- A los laboratorios ABBOTT, Sección Diagnóstico, y a D. IGNACIO ELU la generosa aportación de material de Radioinmunoanálisis para la cuantificación de PRL y ACE realizada en esta tesis.
- A todo el personal de la Biblioteca Marañón de la Ciudad Sanitaria Provincial, y a la Sección de Reprografía del C.S.I.C. por la ayuda prestada a la recopilación bibliográfica de esta tesis.
- Por último, agradezco a la Ciudad Sanitaria Provincial, y a la Excelentísima Diputación Provincial de Madrid, con la esperanza de que sigan potenciando el espíritu científico e investigador del personal técnico de esta prestigiosa Casa, toda la ayuda económica y técnica prestada para la realización y encuadernación de esta tesis.

ABREVIATURAS

A =	Adrenalina
Ac =	Anticuerpo
ACE =	Antígeno Carcinoembrionario
Ag =	Antígeno
AIRC =	Antígeno Inespecífico de Reacción Cruzada
AMPc =	Adenosin-monofosfato cíclico
ATP =	Adenosin-trifosfato
β -HCG =	Fracción β de la Gonadotropina Coriónica Humana
C =	Campos matriz de programación
C ₁ =	Iniciales
C ₂ =	Edad
C ₃ =	Menarquía
C ₄ =	Menopausia
C ₅ =	Fase Ciclo menstrual
C ₆ =	PRL Basal
C ₇ =	HCh Basal
C ₈ =	Estadio tumoral
C ₉ =	Estadio sexual
C ₁₀ =	Presencia o Ausencia de ciclo menstrual
C ₁₁ =	Series de estudio
C ₁₂ =	Metástasis
C ₁₃ =	Pre o postoperatorio
C ₁₄ =	Frotis vaginal
C ₁₅ =	Ovariectomía
C ₁₆ +C ₂₀ =	Ritmo nictameral de PRL (09,13,01,05,09 horas)
C ₂₁ +C ₂₅ =	Ritmo nictameral de HCh (09,13,01,05,09 horas)
Ca ⁺⁺ =	Calcio
C.P. =	Celula de Prolactina
D =	Dopamina
DHEA =	Dehidroepiandrosterona
DHEA-S =	Dehidroepiandrosterona sulfato
DMBA =	Dimetilbenzantraceno
DOCA =	Desixocorticosterona

E =	Estrógenos
E17 β =	Estradiol 17 β
EDTA =	Acido Etilen-diamino-tetraacetico
GABA =	Acido gamma-amino-butirico
H =	Histamina
H.C. =	Hormona de Crecimiento
HCh =	Humana
HCo =	Ovina
HCm =	Mono
HVA =	Acido Homovanílico
LATS =	Estimulador tiroideo de acción prolongada
LCR =	Líquido Cefalorraquídeo
LPh =	Lactogeno Placentario humano
M =	Melatonina
MCA =	Metilcolantreno
M.E. =	Microscopia Electrónica
Mg ⁺⁺ =	Magnesio
MRO =	Movimientos Rápidos de los Ojos
M-TRH =	Metil-TRH
MTV =	Virus del Tumor de Mama
NAH =	Nódulo Alveolar Hiperplásico
NORA =	Nor-adrenalina
NT =	Neurotensina
P =	Progesterona
P-32 =	Fósforo-32
PDX =	Piridoxina (Vit. B ₆)
P-S-F =	Piridoxal-5-Fosfato
PGs =	Prostaglandinas
PIF =	Factor inhibidor de Prolactina
PRF =	Factor estimulador de Prolactina
PRL =	Prolactina
PRLh =	Humana
PRLo =	Oveja
PRLm =	Mono
PRLb =	Bovina
PRLf =	Pez
PRLp =	Porcina

RE = Reticulo endoplásmico
RE o rE=Receptor Estrogénico
RIA = Radioinmunoanálisis
RN-as y
DN-asa =Ribo y Desoxirribonucleasa
RP o rP=Receptor de Progesterona
R-PRL o
rPRL = Receptor de Prolactina
S = Serotonina
SMC = Somatomamotropina Coriónica
S.P. = Sustancia P
SPh = Somatomamotropina placentaria humana
SPh-C = Somatomamotropina placentaria humana Carbamidometilada
T = Testosterona
TF = Triptófano
TIDA = Neuronas Dopaminérgicas Tubero-infundibulares
5HIA = Acido 5-hidroxi-indol-acético
5HT = 5-hidroxi-triptófano
17K = 17 Cetosteroides

CAPITULO
=====

PRIMERO
=====

CAPITULO PRIMERO

1. ANTECEDENTES HISTORICOS DE LAS HORMONAS LACTOGENICAS

La demostración de la presencia en la hipófisis de un principio lactogénico se inicia en los últimos años de la década de los 20, y a inicios de los 30, cuando TURNER y FRANK, en 1930, comunican que la inyección diaria de la hormona estral, obtenida de la orina de vaca preñada, en animales (conejo y coneja) castrados antes de la pubertad, causaba el crecimiento del sistema ductal de las glándulas mamarias en la misma extensión que durante los períodos de estro continuo de conejas adultas normales. La inyección de la hormona del cuerpo lúteo no producía ningún efecto sobre el desarrollo mamario cuando se administraba sola, pero inyectada simultáneamente con estrógenos inducía el desarrollo lóbulo-alveolar típico del embarazo, aunque no se producía lactación. La respuesta a esta observación podía buscarse en la comunicación de STRICKER y GRUETER quienes, en 1928, propusieron que todo el fenómeno lactogénico estaría involucrado en la hipófisis. Un año más tarde comunicaron que la inyección de extractos hipofisarios anteriores en conejas pseudoembarazadas producía secreción láctea.

En 1931, GARDNER confirmó y amplió los hallazgos de STRICKER y GRUETER al comunicar que las glándulas mamarias de conejas adultas, previamente castradas, eran estimuladas hacia una actividad secretora por el extracto alcalino del lóbulo anterior a la hipófisis, obtenido de la oveja, de una forma similar a como ocurría tras el parto.

De estos experimentos dedujeron que la sustancia estimuladora era sólo efectiva en la activación de las células secretoras del alvéolo, pero que la iniciación de la secreción láctea era debida, en definitiva, a una hormona secretada por el lóbulo anterior de la hipófisis, a la que dan el nombre de galactina. GARDNER también comprobó que esta sustancia estimuladora de lactación iniciaba el proceso en el conejo, conejillo

de indias, perro y cerda, no respondiendo la rata, el ratón y el mono. Pudieron también comprobar como las mamas involucionadas e inmaduras del conejo hembra no respondían a esta sustancia. La galactina obtenida tanto en el ganado vacuno como ovino era soluble en soluciones diluidas ácidas y alcalinas, pero no en soluciones neutras o claramente ácidas; pudieron desarrollar un método de bioensayo y una unidad de medida conocida como Unidad de Conejo: aquella mínima cantidad de extracto hipofisario que podía inducir más de 3 (glándulas mamarias llenas de leche) o más de 4 (glándulas mamarias plenamente llenas de leche) grados de respuesta.

RIDDLE, BATES y DYKSHORN, en 1933, comunicaron la precipitación isoeléctrica del factor estimulante de lactación tanto de un extracto fresco digerido, ácido o alcalino, como de una mezcla desecada de hipófisis de oveja, vaca y cerdo. Los extractos causaron incremento glandular y secreción en el buche de pichón, dándole el nombre de prolactina (PRL). Dos años más tarde McSHAM y TURNER desarrollaron un método de concentración que les permitió obtener hasta 10 veces la concentración original. Utilizando el ensayo de RIDDLE (ensayo de buche de pichón) pudieron demostrar que la administración de 3 mg de esta sustancia a pichones comunes durante 4 días incrementaba el peso del buche de 1,5 a 2,7 gr; posteriormente, y buscando un mejor ensayo cuantitativo, comprobaron que mejor que la medida del peso del buche era la valoración de la mínima proliferación epitelial, índice más satisfactorio de la actividad de galactina, introduciendo la Unidad de Pichón de Galactina: aquella cantidad de hormona que inyectada durante 4 días causaba una mínima, pero definitiva, proliferación de los buches de al menos 50% de 20 pichones que pesaran, por término medio, 300 ± 40 gr. En 1961 DAMM, PIPES, VON BERSWODT-WALLRABE y TURNER modificarían este clásico bioensayo utilizando como medida la radioactividad del fósforo captado por el buche del pichón.

REECE y TURNER en 1936 descubrieron que el lóbulo anterior de la hipófisis de ratas normales contenía una apreciable cantidad de hormona lactogénica, y que la inyección de hormona estrogénica incrementaba su contenido. La hipófisis de ratas hembra, ya maduras o inmaduras, contenía más cantidad de galactina que las de ratas macho de la misma edad y peso; en ambos sexos según se producía la maduración de los animales se incrementaba la concentración de galactina. Las ratas preñadas hacia los 12 días de embarazo presentaban una clara disminución del contenido hipofisario, comparadas respecto a ratas normales en ciclo, pero a los 21 días el contenido lactogénico de estas hipófisis había vuelto a valores de animales no preñados. A las 48 horas del parto el contenido de galactina se doblaba respecto al valor basal, descendiendo hacia los 10 días del postparto; sin embargo, aquellas ratas que habían lactado, al menos durante 7 días, doblaban el contenido hipofisario de galactina respecto a aquellas a las que se retiraba el recién nacido en el momento del parto. Inmediatamente tras el período de lactancia se producía una disminución del contenido de galactina lo que fue interpretado como una disminución secundaria a su liberación y consumo durante el período de succión.

REECE y TURNER (1937) demostraron que la ligadura del conducto lácteo principal no prevenía el descenso del contenido hipofisario del factor lácteo tras la succión; por tanto, era el estímulo de succión y no la salida de leche quien actuaba para disminuir el contenido de galactina. SELYE, COLLIP y THOMPSON (1934) comunicaron que la succión prevenía la involución de la glándula mamaria en las ratas lactantes a quienes se les había ligado el conducto lácteo; TURNER y REINIKE en 1936 demostraron que la lactancia en un solo lado de la cresta láctea prevenía la involución alveolar del lado no lactado.

HOLST y TURNER en 1939 estudiaron el contenido de lactógeno hipofisario en conejos y conejillos de indias de ambos sexos,

pudiendo apreciar ciertas diferencias interespecie. Así, mientras en el conejo el contenido no se modificaba con el desarrollo, la coneja mostraba un incremento en el momento de la maduración sexual, al contrario que el conejillo quien no mostraba ninguna diferencia. También comunicaron que las modificaciones observadas durante el embarazo no seguían vías similares, pues aunque ambas especies incrementaban dicho contenido durante la fase tardía del período de gestación, las cifras postparto eran mayores en el conejo, especie en la que, por otra parte, se producía un incremento mucho más gradual; HURST y TURNER (1942) realizaron estudios similares en ratones, pudiendo comprobar un comportamiento similar y típico para esta especie. MEITES y TURNER en 1942 corroboraron en el conejo la importancia de la alimentación láctea materna en el mantenimiento de un contenido hipofisario elevado de factor lácteo, así como la importancia de la succión en el mantenimiento de este fenómeno. En años posteriores fueron realizados trabajos relacionados con el grado de producción de lactógeno tras la mamada en varias especies animales, y aunque todos los resultados no fueron similares, comprobándose las peculiaridades interespecie, pudo nuevamente observarse las oscilaciones dinámicas de este contenido y su relación con los periodos de succión (GROSVENOR y TURNER 1958).

A finales de la década de los 30, REECE y TURNER (1937) demostraron en ganado vacuno la existencia de un contenido distinto de lactógeno respecto a la edad del animal, e hicieron la importante observación de que la castración disminuía este contenido, incrementándose cuanto más largo era el periodo postcastración; un fenómeno similar fue comunicado en la rata. Por otra parte, la inyección de estrógenos en los animales ovariectomizados e íntegros producía un incremento del contenido hipofisario de lactógeno, efecto no observado tras la administración de progestágenos. Sin embargo, la inyección diaria de estrógenos en el animal lactante disminuía el grado de secreción láctea sin reducir el lactógeno hipofisario. LEWIS y TURNER (1941) comprobaron que la administración de estilbestrol a ratas maduras ovariectomizadas in-

crementaba no solo el contenido hipofisario de lactógeno, sino que inducía lactación en algunos animales.

MEITES y TURNER aportaron datos muy similares utilizando estrona en conejas adultas, y estudiaron la dinámica de producción de dicho lactógeno frente a la administración de estrógenos. En 1942 comunicaron que el fenómeno de la inhibición de lactación tras la administración prolongada de estas hormonas no era debido a una reducción del contenido hipofisario de lactógeno, sino a la disminución de algún otro factor hipofisario. Sin embargo, en trabajos posteriores demostraron en la cabra que el efecto de los estrógenos se encontraba íntimamente relacionado con la dosis administrada, pues a dosis bajas se producía un ligero incremento en la leche, mientras que a dosis altas y prolongadas el efecto era el de una clara inhibición. Posteriormente, en 1948, publicaron la importancia de progesterona en la inhibición de la lactación durante el embarazo.

GOMEZ y TURNER, en 1936, comunicaron que la hipofisectomía producía, en dos o tres días, una cesación completa de la lactación en el conejillo de indias lactante, al mismo tiempo que la administración exógena de galactina parcialmente purificada, al contrario que la administración de extractos hipofisarios, no reiniciaba la lactación. Cuando la Galactina se inyectaba junto con extractos de corteza suprarrenal y glucosa sí se reiniciaba la lactación. (GOMEZ y TURNER 1936). Ello abrió el camino a una inicial experimentación de las correlaciones entre la mama y las hormonas de la corteza suprarrenal, siendo Van HEUVERWYN, FOLLEY y GADNER, en 1939, los primeros en comunicar el efecto estimulante de DOCA sobre las glándulas mamarias. TURNER y MEITES, en 1941, estudiaron el efecto de DOCA en el contenido de lactógeno en la hipófisis de conejillos de indias de ambos sexos y, aunque se produjo un significativo incremento de su peso, así como una hiperplasia de lobulillos mamarios, no se produjo cambio alguno en el contenido de lactógeno. SPOOR, HARTMAN y BROWNELL (1941) comunicaron que un material obtenido de un extracto de corteza suprarrenal estimuló, e incrementó, el peso del buche del pichón, aunque trabajos posteriores, como los de

HURST, MEITES y TURNER (1942) no corroboraron tales hallazgos.

McQUEEN-WILLIAMS (1935, 1936) comunicaron un incremento de lactógeno hipofisario en ratas macho tiroidectomizadas. REINEKE, BERGMAN y TURNER comunicaron en 1941 que la administración de tiouracilo a ratas hembras producía una disminución del contenido hipofisario de lactógeno. La administración de tiouracilo al mismo tiempo que dietilestibestrol no inhibía la capacidad del estrógeno para incrementar el contenido de lactógeno, aunque el pretratamiento con el antitiroideo durante 14 días antes de la administración del estrógeno producía una caída de los niveles hipofisarios del factor lácteo. Un año después comunicaron que el tiouracilo administrado a ratas lactantes producía una reducción del lactógeno hipofisario y una disminución de la secreción láctea. TURNER, YAMAMOTO, y RUPPERT (1957) examinaron el efecto de los estrógenos, tiroxina y hormona de crecimiento sobre la oferta de leche en un grupo de vacas lecheras a las que se había inducido un incremento en su producción, pero que se encontraban ya en fase de regresión; en este modelo pudieron comprobar como la tiroxina, administrada al final del tratamiento con estrógenos, producía un incremento en la oferta de leche en un número apreciable de animales. Empezaba a deslindarse que el fenómeno de la lactancia no era un proceso simple provocado por una sola hormona, sino que era la resultante de una serie de interacciones que poco a poco fueron haciéndose más complejas.

En esta breve cronología histórica de las hormonas lactogénicas no se puede olvidar una función, aún hoy día mal aclarada, como es la función luteotrópica. BERSWORDT-WALRABE y TURNER examinaron en 1961 el efecto del estradiol y hormona lactogénica en la formación de placentomas en la rata, apreciando que su incidencia se incrementaba, tras mínimos traumatismos, en los animales tratados con factor lactogénico. Dado que la progesterona producía un incremento similar se interpretaron estos resultados como sugestivos de que la hormona lactogénica actua-

ba incrementando la producción de progesterona, siendo por tanto luteotrópica.

Poco parece haberse escrito en estas primeras épocas sobre el sitio de acción en la célula mamaria, y sobre los mecanismos implicados en la regulación de su secreción. Respecto al primer punto pueden citarse los trabajos de WILLIAMS y TURNER (1954) quienes sugirieron que la acción hormonal se encontraba primariamente asociada con las fracciones mitocondriales y microsómicas del citoplasma celular, donde indicaron que parecía correlacionarse con una núcleo-proteína particular.

Respecto al segundo apartado pueden citarse los trabajos de GROSVENOR y TURNER (1958) sobre la posible participación adrenergica y colinérgica en los mecanismos de secreción, concluyendo que si bien ambos sistemas estaban implicados no era posible especificar en que forma, pues tan solo pudieron obtener datos afirmativos al observar como la atropina y dibenamina bloqueaban la capacidad de la succión para disminuir el contenido hipofisario de lactógeno. Un año más tarde MOON y TURNER (1959) comunicaron que la reserpina inhibía la caída de leche durante el tiempo que duraba el período de succión, así como disminuía los niveles de lactógeno previos sin alterar los niveles postsucción.

El aspecto que se ha tratado ha sido recientemente revisado por TURNER (1977).

2. AISLAMIENTO Y ESTRUCTURA DE LA PRLh

2A) Pruebas en favor de su existencia

Hasta el reciente aislamiento de la PRL humana (LEWIS, SINGH y SEAVEY (1971); HWANG, GYDA y FIESEN (1972)) existían considerables dudas sobre si la hipófisis humana secretaba como una molécula separada la hormona que nos ocupa (SHERWOOD 1971). Debi

do a las dificultades encontradas para separar la hormona de crecimiento humana (HCh) de la PRLh, y debido también a que la estructura primaria de la HCh se asemejaba a la de PRL de carnero, se sugirió que en el hombre la lactación y el crecimiento eran controlados por una proteína simple e interrelacionada (BEWLEY y LI 1970). Sin embargo, en casi todas las demás especies, con la excepción de los primates, fue relativamente fácil aislar y purificar la HC y la PRL como hormonas separadas, utilizando para esta identificación sistemas standard de bioensayo.

El ensayo clásico para la HC dependía del incremento del peso corporal de ratas hipofisectomizadas o del ensanchamiento del cartílago del crecimiento epifisario tibial, mientras que la PRL era detectada por su capacidad de estimular el crecimiento de la mucosa del buche de pichón, o por causar cambios lactacionales en la glándula mamaria de la coneja. La PRL y HC de todas las especies estudiadas mostraban un grupo de actividades pero no ambas. En el caso de los extractos hipofisarios de mono y de hombre las preparaciones con PRL o HC invariablemente producían respuestas en ambos tipos de ensayos, aunque la relación de los efectos de una y otra variaba considerablemente entre las diferentes preparaciones estudiadas. Ello permitió sugerir que la HCh contenía actividad de PRL en la especie humana y que, posiblemente, el factor lactogénico o PRL hipofisario no existía como una entidad separada en dicha especie.

Sin embargo, cierto número de observaciones clínicas y experimentales sugirieron que en nuestra especie debía de existir, al igual que en otras, una molécula de PRL perfectamente diferenciada. Pacientes acromegálicos con unas concentraciones elevadas de HC solo ocasionalmente desarrollaban galactorreas, o en período de lactancia natural presentaban concentraciones séricas normales de HC. Realmente cuando se preparaban extractos de plasma de pacientes con galactorrea se observaba que a pesar de las concentraciones bajas o indetectable de HC, medi-

das por RIA, las de PRL, medidas por bioensayo, eran elevadas (ROTH, GORDEN y BATES 1968). Además, algunas pacientes con formas hereditarias de deficiencia aislada de HC podían lactar normalmente (RIMOIN, HOLZMAN, MERIMEE, RABINOWITZ, TYSON y MCKUSICK 1968).

Las secciones del tallo hipofisario, que no provocan incrementos de la concentración plasmática de HC, producen marcadas oscilaciones del factor lactogénico con producción de galactorrea en algunos sujetos. Por otra parte, un extracto de tumor hipofisario de un paciente con galactorrea demostró una importante concentración de PRL y muy baja de HC (PEAKE, McKEEL, JARRET y DAUGHADAY 1969); la preincubación de los extractos tumorales con suero antiHCh no neutralizó la actividad para PRL, demostrándose de ese modo que la PRL y la HC era inmunológicamente diferentes. Una observación similar fue realizada por FRANTZ y KLEINBERG (1970) al apreciar que la actividad prolactínica de postparturientas que lactaban y de pacientes con galactorrea no podía ser neutralizada con suero antiHCh, mientras que se neutralizaba la actividad de HC en el suero de pacientes con acromegalia; ello les permitió sugerir, con una amplia base científica, que la HC y la PRL en el hombre no eran la misma hormona.

Estudios inmunológicos e histopatológicos también afirmaron la idea de la existencia de una molécula separada de PRL. Ya, en 1909, se documentaron los importantes cambios histológicos que se apreciaban en la hipófisis durante el embarazo y lactancia, identificándose un tipo celular que se denominó "célula del embarazo", siendo muchos años más tarde cuando PURVES sugeriría que este tipo celular podía ser el secretor de PRL en la especie humana (PURVES 1961). En las hipófisis obtenidas rutinariamente postmortem este tipo celular no puede ser identificado sin el empleo de técnicas especiales, como las desarrolladas por HERLANT y PASTEELS (1967) y GOLUBOFF y EZRIN (1969). Con ellas las células humanas productoras de PRL podían identificarse en los cultivos de tejidos hipofisarios procedentes de mujeres muer-

tas durante el embarazo, así como en los tumores hipofisarios se cretores de PRL. GOLUBOFF y EZRIN (1969) demostraron que tales células acidofilas adquirían un color rojo brillante con carmoisina, representando durante el embarazo o en el período postparto más de 50% de la población acidofilia hipofisaria.

Los estudios de inmunofluorescencia demostraron que el antisuero contra la HC, o el lactógeno placentario humano, no se localizaba en las células de prolactina (HAUGEN y BECK 1969) por lo que podía pensarse que los tres compuestos deberían de ser inmunológicamente diferentes. HERBERT y HAYASHIDA (1970) comunicaron la importante observación crítica de que el antisuero para la PRL de oveja (PRLo) se localizaba en las teóricas células de prolactina, aportándose la primera evidencia histológica directa de que la PRL de mono, humano y oveja estaban inmunológicamente relacionadas. Posteriormente PASTEELS (1971) confirmó la localización de antisuero anti-PRLo en estas células, y FRANTZ, KLEINBERG y NOEL (1972) comunicaron que en el suero de pacientes con galactorrea la actividad prolactínica, no neutralizada por suero anti-HCh, era completamente inactivada por suero anti-PRLo.

Los estudios de FRIESEN, GUYDA y HARDY (1970) y los de FRIESEN y GUYDA (1971) han aportado evidencia directa de la síntesis de PRLh y PRL de mono (PRLm) incubando fragmentos de hipófisis humana y de primate en presencia de leucina H3; cuando se procedió al fraccionamiento por filtración de las proteínas del medio de incubación pudo comprobarse un pico largo y simple de proteína radioactiva identificado como PRL por su capacidad de presentar reactividad cruzada con suero anti-PRLo, pero no mostrándola con lactógeno o HCh (FRIESEN GUYDA y HWANG 1971). Además, los fragmentos tumorales de una paciente con galactorrea sintetizaban casi exclusivamente PRL, como pudo comprobarse al realizar estudios de inmuno-precipitación con suero anti-PRLo (HWANG, FRIESEN, HARDY y WILANSKY 1971; FRIESEN 1972). Estos ha-

llazgos indicaban que los determinantes antigénicos comunes com partidos por PRLo estaban ausentes en el lactógeno placentario humano y HCh; aprovechando esta diferencia inmunológica pudieron acoplar a sefarosa anticuerpos específicos frente al lactógeno placentario, y utilizaron este inmunoadsorbente para extraer toda la HCh de las fracciones hipofisarias sin pérdida de la actividad prolactínica.

Mediante este último procedimiento, que aportó el primer método reproducible para separar PRLh y PRLm de las respectivas hormonas de crecimiento, pudo utilizarse una preparación rica en PRL, y no contaminada con otras actividades lactogénicas, para inmunizar conejos y obtener un anticuerpo que presentaba reacción cruzada con la PRLo, base para el ulterior desarrollo de una RIA específico para PRLh y PRLo (GUYDA, HWANG y FRIESEN 1971). Este ensayo, posteriormente mejorado, ha probado ser de gran valor en la purificación de la PRLh (HWANG, GUYDA y FRIESEN 1971).

2B) Purificación y química de la PRLh

2B-1) Extractos de procedencia hipofisaria

Del apartado anterior puede plantearse la pregunta de porqué existieron tantas dificultades para obtener pruebas evidentes de que la PRL existía como tal hormona en la especie humana. Una de las principales razones deriva de la HCh constituye 5-10% del peso seco del polvo de hipófisis, mientras que la PRL representa alrededor del 0,1%, es decir, que existe de 50 a 100 veces más cantidad de HCh. La segunda razón deriva del hecho de que la HCh, a diferencia de la HC de otras especies, muestra un 10-20% de la actividad lactogénica de los mejores estandares de PRLo; por consiguiente, cuando se controla la actividad total de PRL, durante el procedimiento cromatográfico para bioensayo, invariablemente se sigue fraccionando una gran parte de HCh. Este supuesto se comprueba fácilmente si se considera que la potencia de la PRLh pura es de 30 UI/mg y la de la HCh 5 UI/mg; enton

ces el 90% de la actividad total de prolactina en homogenados de hipófisis es debida a la HCh, dado que su concentración es 50-100 veces mayor que la de PRLh.

En 1973 LEWIS y SINGH comunican un importante estudio sobre los métodos de extracción y purificación. En él puede apreciarse como, además de la interferencia hasta entonces comunicada con la HCh, existían otras tres posibles causas para comprender el bajo rendimiento de los métodos utilizados. En primer lugar, podía suponerse una alteración y pérdida de hormona por proteolisis durante el almacenamiento de la hipófisis de las que se extraía; en segundo lugar, era posible la existencia de fenómenos de agregación una vez que las células eran destruidas y, en tercer lugar, la PRL podía estar ligada a estructuras celulares de las que era difícil su extracción.

La proteína referida como PRLh fue identificada por LEWIS, SINGH, SINHA y VANDERLAAN (1971) al descubrir, en la hipófisis de una mujer muerta durante el embarazo, una banda electroforética con movilidad de 0.57 a pH 9.5 y 0.63 a pH 4 en un gel de 6,6% de acrilamina y 0,2% de bisacrilamida. La HCh en las mismas condiciones mostraba unos valores de 0.66 y 0.45 respectivamente. Este componente proteico presentaba un pm de casi 21.000 (LEWIS, SINGH y SEAVEY, 1972) y era indistinguible de la sustancia aislada por HWANG y col.(1972).

FRIESEN utilizó en sus estudios de purificación un RIA específico. El material inicial para el aislamiento fue el sobrenadante que quedaba después de la precipitación de HCh con etanol al 50% y pH de 8.5 según el método de RABEN. La preparación purificada de PRLh parecía homogénea e idéntica a la obtenida por LEWIS y col.(1972); un año más tarde desarrollaron un método para purificación de PRLh en gran escala con material congelado procedente de hipófisis de cadáver obtenidas por autopsia (FRIESEN, HWANG y GUYDA 1972). El producto obtenido contenía entre 40-50 µg/hipófisis, concentración 4-5 veces mayor que

la obtenida por el método LEWIS y col. (10 μ g). La potencia biológica de la preparación fue de 30 UI/mg en un ensayo sobre glándula mamaria de ratón, y contenía menos de un 0,5% de HCh medida por RIA. Utilizando un sistema de RIA, LEWIS y SINGH (1973) comunicaron que la cantidad extraíble era de algo más de 0.5 μ g/mg de tejido hipofisario fresco apreciando que, al menos en la rata, la PRL era más estable en los homogenados hipofisarios que en la glándula intacta, no apreciando a corto plazo diferencias significativas entre el almacenamiento con preservadores (diisopropilfluorofato) o sin ellos, pero sí cuando los extractos alcalinos se mantenían durante 17 días a 5° C.

Una segunda alternativa para la extracción de PRLh provenía del fraccionamiento de hipófisis almacenados con acetona. En 1937, LYONS utilizó para la extracción de PRLo una mezcla 1:40 de ClH y acetona (extracción ácida a pH 2-3) tras la que era necesario una precipitación proteica realizada nuevamente con acetona. LEWIS y SINGH (1973) partiendo de este segundo precipitado realizaron un fraccionamiento en Sephadex G-150 obteniendo 2,5 mgr de hormona, equivalente a 15 mgr/1.000 gr.

Sin embargo este método aporta una cantidad mucho más pequeña de hormona que la que puede obtenerse de glándula congelada. Recientemente RATHNAM y SAXENA (1977) han comunicado un método perfeccionado del publicado previamente por FRIESEN y col. (1972). El residuo obtenido tras la extracción de fracciones glicoproteicas es tratado de forma similar que en el método de obtención de HCh; el sobrenadante residual tras la precipitación de la HC con etanol al 50% es tratado con etanol al 85% y el precipitado contiene la fracción de PRL.

Tras purificación por filtración en Sephadex G-100, cromatografía en DEAE celulosa y concentrado isoeléctrico, la cantidad de PRL obtenida es de 25 mgr/1.000 gr de polvo de acetona. En las figuras 1 y 2 se resume, según FRIESEN y col. (1972), las cantidades de PRL obtenidas de los distintos materiales de

FIGURA 1CONTENIDO DE PRL EN HIPOFISIS
O FLUIDOS TISULARES

	<u>PRL μg/"Hipófisis"</u>
1) Polvo de acetona (Hipófisis humana)	50
2) Hipófisis humana congelada (material post-mortem)	250
3) Material "en fresco" tras Hipofisectomía	300-500
4) Líquido amniótico	
1er trimestre	3 mgr/litro
a término	1 mgr/litro
5) Hipófisis de mono congelada	
macho	50
hembra	150
embarazada	200
lactante	150

"NOTA". -

Se considera que una hipófisis humana congelada pesa 500 mgr y una de mono 50 mgr.

Según FRIESEN, HWANG y GUYDA (1972).

FIGURA 2PASOS PRINCIPALES PARA LA
EXTRACCION DE PRLh

HIPOFISIS humana congelada	Polvo de acetona
Preextracción pH 5	Extracción inicial
Extracción en el residuo a pH 10.5	Método de Raben (HGH)
Precipitación en etanol 25% pH 8.5	Precipitación con etanol 50% pH 8.5
Precipitación en etanol 85%	HGH
Disolución precipitada a pH 9.5	Sobrenadante
Sephadex G-100 a buffer TRIS-ClH-0,01 M	Precipitación con etanol 80%
DEAE-C	Disolución del pre- cipitado
CMC-C	(Fracción PRL)
PRLh	

Según FRIESEN, HWANG y GUYDA (1972)

partida, así como los esquemas de extracción tras la congelación o mantenimiento en acetona.

2B-2) Extractos de procedencia no hipofisaria

Dadas las mayores necesidades de PRL para la clínica o investigación se ha fijado la atención en otras dos fuentes naturales de hormona humana de más fácil obtención que el material hipofisario. Se trata del líquido amniótico y de células de tumores de PRL mantenidas en cultivo.

- Líquido amniótico. En 1973 BEND-DAVID, RODBOARD, BATES, BRIDSON y CHRAMBACH describieron en términos físico-químicos la PRLh del líquido amniótico y del suero de mujeres embarazadas. La hormona era indistinguible de la sérica e hipofisaria, describiéndose un año más tarde (HWANG, MURRAY, JACOBS, NIALL y FRIESEN 1974) las propiedades inmunológicas y la secuencia parcial de aminoácidos, demostrándose la gran similitud, sino igualdad, de ésta con la PRL hipofisaria. En 1974, BEND-DAVID y CHRAMBACH describieron las características electroforéticas y el método inicial de preparación desde el líquido amniótico, así como varias de las isohormonas que es posible separar en la PRL de la especie humana (HUMMEL, BROWN, HWANG y FRIESEN 1975). Recientemente, de nuevo BEN-DAVID y CHRAMBACH (1972) han comunicado una técnica mejorada con la que en un solo paso puede obtenerse un 60% de PRL; 5 litros de líquido amniótico proporcionan 10 mgr de hormona de la que un 30% (3 mgr) es una mezcla de isohormonas pequeñas (A y B) y grandes (C y D). La hormona aislada y purificada es activa en su capacidad de ligarse a receptores específicos (mamarios y hepáticos) y exhibe una actividad biológica en ensayo de buche de pichón de 47.3 ± 6.1 UI/mgr.

- Células hipofisarias en cultivo. Es un fenómeno bien conocido que los explantos de hipófisis normales o tumorales pueden mantenerse "in vitro" durante varios meses con secreción continua de HC y PRL. En medios y condiciones apropiadas la pro

ducción de prolactina no sólo se mantiene sino que puede verse incrementada, lo que ha permitido sugerir la posibilidad de que esta técnica puede servir de fuente útil para aislar y obtener PRLh (KNAZEK y SKYLER 1976). Con esta técnica SKYLER, ROGOL, LOVENVERG y KNAZEK han descrito recientemente (1977) como a los 8 días de cultivo pueden obtenerse 2,5 mg/ml de PRL, lo que refleja una capacidad secretora de 8.1 mgr/día concentración de magnitud muy semejante a la concentración de partida desde líquido amniótico.

Se disponía, pues, de una fuente de PRL de la que ya en extractos obtenidos directamente o tras almacenamiento (en acetona), podía obtenerse una cantidad aceptable y cada vez alta de hormona; el paso siguiente era la purificación de este material. Pudo comprobarse que era necesario un cierto grado de pH ácido o alcalino para realizar una extracción efectiva, lo que a su vez se veía facilitado por la remoción previa de una cierta cantidad de proteínas séricas e hipofisarias por una extracción inicial en medio casi neutro.

LEWIS, SINGH y SEAVEY (1971) demostraron que la primera extracción podía ser realizada homogeneizando el tejido hipofisario con solución salina al 0,9% y ELLIS, GRINDELAND, NUENKE y CALLAHAN (1969) y HUANG, ROBERSTON, GUYDA y FRIESEN (1973) comunicaron resultados satisfactorios con distintos "buffer" ácidos. Tras esta extracción inicial la PRLh podía ser recogida tratando aquel homogeneizado con un "buffer" alcalino, a pH de 10 o de 11, ya en solución acuosa o etanólica, y dado que la PRLh se mostró soluble en estas concentraciones de solventes orgánicos podía intentarse la purificación en un solo paso.

Esta técnica de extracción alcalina, aunque permitía la recogida de una buena cantidad de hormona, no conseguía que casi el 70% de la misma, detectada por RIA en homogenados de hipófisis, fuera recogida; la mayor parte permanecía en varias fracciones insolubles (HWANG y col. 1973) no pudiendo ser recogida utili-

zando extracciones con urea, guanidina, dodecil-sulfato de sodio o acetona-ClH. La cantidad de PRLh obtenida era aún más baja si se utilizaba material almacenado en acetona, con un rendimiento de aproximadamente una décima parte del conseguido empleando glándula fresca congelada. Sin embargo, la dificultad se planteaba solo en la extracción inicial ya que una vez en forma soluble se mantenía durante todo el proceso de purificación.

Los pasos de purificación posteriores a la extracción son, realmente, directos. La cromatografía en sephadex elimina las sustancias de alto y bajo peso molecular, y deja una preparación de PRLh contaminada, tan sólo y principalmente, por HCh; ésta, al igual que otros posibles componentes de pm semejantes pero diferente carga, puede ser extraída por cromatografía de intercambio iónico. DEAE y las CM-celulosas ejecutan de forma efectiva esta labor. Sin embargo, dado que los puntos isoeléctricos de la PRLh y HCh se encuentra muy cerca uno de otro la separación total de ambas hormonas se hace dificultosa, por lo que se ha sugerido la separación por cromatografía de afinidad, técnica con la que pueden obtenerse contaminaciones tan pequeñas como del 1%. De todas las técnicas publicadas hasta la actualidad quizás la de LEWIS y SING (1973) sea una de las más utilizadas, como más adelante veremos. Con ella, el contenido de HCh se encuentra entre el 0.4 y 0.7% determinado por RIA: la PRLh aparece como una sustancia homogénea, excepto por la presencia de una fracción sospechosa de haber sido desaminada y siempre a un pH de 9.5. A pH 4 sólo se aprecia una banda con concentraciones de acrilamida desde el 5 al 12%, lo que favorece la idea de que la última banda de separación a pH 9.5 corresponde a formas de desaminación.

La presencia de esta banda de proteólisis tras las extracciones y purificaciones significó lo mismo que con otras sustancias, que el éxito de la técnica de aislamiento dependía de la seguridad con que podían ser controladas las diferentes frac-

ciones extraídas. Las técnicas de bioensayo eran tediosas e imprecisas, y no discriminaban las distintas modificaciones de la hormona en cada extracto. Por otra parte, el RIA, como el bioensayo, detectaba agregados y otras formas de modificación hormonal. Con el fin de no obtener información confusa desde el inicio del ensayo se ha comunicado que la utilización de electroforesis en disco podía ser de gran ayuda pues con ella se puede identificar la forma monomérica inalterada como un componente electroforético del extracto hipofisario, seguida de la comprobación por test inmunológicos o biológicos. Además el método electroforético indica si el paso de purificación para extracción de impurezas puede basarse en diferencias de carga o tamaño, y aporta un método semicuantitativo que expresa la magnitud de la diferencia.

2B-3) Modificaciones por la extracción y purificación

Entre las modificaciones que puede sufrir la molécula de PRLh durante las técnicas de extracción y purificación merece la pena citarse:

2B-3a) Desaminación.- Los residuos de asparagina y/o glutamina pueden sufrir desaminación con la producción de modificaciones ácidas (LEWIS, CHEEVER y HOPKINS 1970). Pueden ser fácilmente detectadas por electroforesis en disco, y se produce en "bufferes" acuosos alcalinos a pH superior a 7.5, incrementándose el grado de pérdida de amonio con el aumento de pH; el proceso también se acelera por la utilización de altos gradientes iónicos (como los utilizados durante el fraccionamiento con el sulfato amónico) y por el incremento de la temperatura. La cromatografía en DEAE-celulosa extrae fácilmente la forma desaminada de la nativa; por otra parte con el mantenimiento de la temperatura cerca de los 5° C y el pH en los límites de 7, la solución de prolactina puede mantenerse libre de formas desaminadas casi durante una semana.

Aunque no se han realizado estudios detallados para evaluar la actividad biológica de las formas desaminadas de PRLh, se ha publicado un cierto grado de actividad aunque no las diferencias cuantitativas respecto a las formas puras. La medida de la pérdida de radical amonio durante el proceso de desaminación ha demostrado que la conversión de la forma de hormona nativa a la primera forma de desaminación se realiza con la liberación de un mol de NH_3 , suprimiéndose la ionización del nuevo grupo carboxilo formado a pH 4. El residuo de asparagina en posición 6 es el que se desamina más fácilmente, suponiendo en total un 70% de la primera desaminación. Del mismo modo que la supresión de la desaminación produce una banda simple de migración en la electroforesis en disco a pH 4, la aplicación de la misma técnica a las formas desaminadas produce una banda heterogénea que es el resultado de una mezcla de isómeros (LEWIS y col. 1970).

No se conoce el mecanismo íntimo del proceso que nos ocupa, aunque se ha propuesto un mecanismo basado en la hidrólisis del grupo amida con las pérdidas subsiguientes de un radical amonio a través de la formación de un anillo succinamida; este anillo al ser cerrado por el álcali conduce a la formación de un grupo α o β asparagil.

2B-3b) Agregación.- Las formas de agregación son también muy frecuentes en la preparación de formas puras de PRLh, siendo fácilmente detectadas por la electroforesis en gel (CHEEVER y LEWIS 1969). SQUIRE, STARMAN y LI (1963) estudiaron las condiciones que promueven esta agregación indicando que la preevaporación, congelación y liofilización causan la aparición de formas de alto pm en forma de polímeros irreversibles. Ello significa que hay que tener un extremo cuidado en la preparación de PRL libre de estos agregados, a los que es necesario tener presentes cuando se interpreten datos obtenidos con muestras incompletamente purificadas. La forma más rápida y simple para su extracción es la cromatografía en sephadex, paso necesario siempre que se con-

serven muestras purificadas bajo congelación o liofilización. No se han realizado estudios detallados de la actividad biológica de estos polímeros de PRL.

2B-3c) Alteraciones Enzimáticas.- Al contrario que la HCh, que frecuentemente se haya contaminada con proteinasas (SINGH, SEAVEY, RICE, LINDSEY y LEWIS 1974), los homogenados de PRL purificados se encuentran mucho menos contaminados ya que la PRL es, habitualmente, la última hormona extraída con lo que los contaminantes enzimáticos son eliminados antes que aquella. De todos modos existen datos a favor de modificaciones en la molécula prolactínica por proteinasas (KWA, VERSTRAETEN y SCHEIJDE BAKKER 1972). La adición de inhibidores de tripsina mejora las preparaciones de prolactina de rata. La plasmina produce, asimismo, una forma activa alterada de PRL con rotura del puente disulfuro existente en la curva larga (WATTERSON y MILLS 1974).

2B-3d) Modificaciones Químicas.- La PRLh pierde la capacidad estimulante del epitelio del buche de pichón cuando es reducida y carbamidometilada; dado que no ocurre lo mismo con la HCh pudo investigarse como la actividad prolactínica de aquella no depende de la integridad estructural de los puentes disulfuro de su estructura terciaria, mientras que la actividad biológica de la PRLh es destruída por las sustancias que rompen estos puentes.

2C) Propiedades fisicoquímicas y estructural

Estudios preliminares demostraron que la HCh y la PRLh mostraban una alta dispersión rotatoria óptica y un importante grado de similitud configuracional (ALQJ y EDELHOCH 1970; BEWLEI y LI 1971) en estudios de fluorescencia, polarización, absorción, rotación óptica y dicronismo circular. Sin embargo, puede apreciarse que los pH extremos y los agentes perturbadores, como la urea y los solventes orgánicos, causaban una inusual estabilidad, hechos que permitieron establecer una base distintiva entre ambas hormonas; al mismo tiempo se comprobó que estos cambios de

conformación eran reversibles una vez suprimido el agente productor mediante diálisis.

Los estudios iniciales sobre la secuencia de aminoácidos de la PRL permitió comprobar que el terminal era leucina, al contrario que en la HC cuyo residuo correspondía a fenilalanina. En 1972, NIALL publicó la secuencia de los 24 aminoácidos que siguen al N-terminal de la PRLh, PRLo, HCh, y LPh, observándose una gran similitud entre PRLh y PRLo, así como entre HCh y LPh, pero no entre HCh y PRLh. LEWIS, SINGH y SEAVEY (1972) comunicaron resultados similares e indicaron que el grado de similitud era de casi un 75%.

Se ha comunicado la secuencia completa para la PRLo (LI, DIXON, LO, SCHIMDT y PANKOV, 1970), PRL porcina (LI, 1973) y PRL bovina (WALLIS 1974). La estructura de la forma bovina se conoce completamente, existiendo gran número de residuos comunes con los de las otras especies. La forma ovina y bovina difieren en tres lugares, residuos 107 y 165 y una leucina adicional en la posición 88 de la hormona bovina. Al igual que entre la PRLh y la PRLo entre la forma ovina y porcina se estableció cerca de un 82% de homología, pues de un total de 198 residuos 172 eran idénticos. La forma porcina y de ballena mostraron una similitud aún mayor, con cerca del 95% de posiciones idénticas.

Se comunicaron porciones de la estructura de la PRLh (NIALL, HOGAN, TREGGAR, SEGRE, HWANG y FRIESEN 1973) incluyéndose en la estructura de la especie humana secuencias determinadas por la similitud entre los péptidos obtenidos por digestión trípica de la forma ovina. Del estudio de la secuencia de aminoácidos de la PRLh puede apreciarse que la hormona se encuentra más íntimamente relacionada con la PRL de otras especies que con la HC, incluyendo la humana. Sin embargo, se han descrito similitudes entre ambas, así como con el LPh (SHERWOOD 1967; BEWLEY y LI 1971; NIAL, HOGAN, SAUER, ROSEMBLUN y GREENWOD 1971).

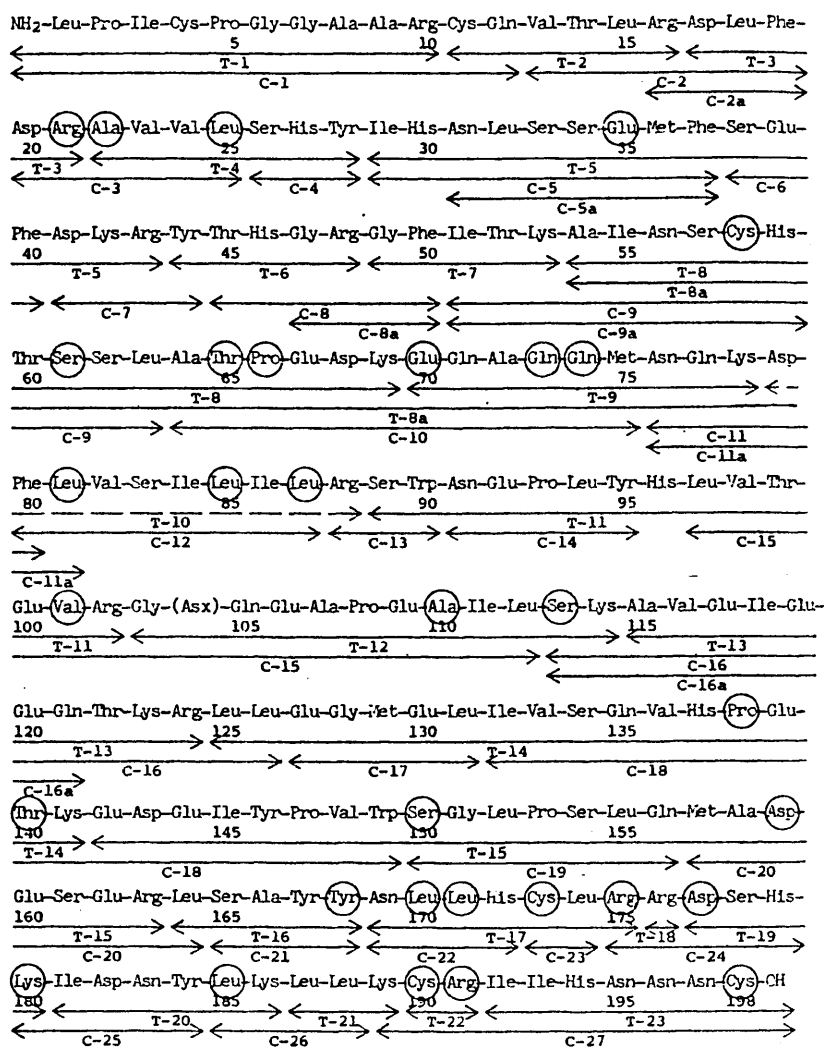
La PRLo y la HCo mostraban un 60% de homología estructural sugiriéndose que ambas hormonas estaban compuestas por subunidades de actividad biológica cruzada, similares a las demostradas para las ganadotrofinas y tirotrofinas. En adición a las similares externas NIALL y col. (1971) hicieron la interesante observación de una serie de similitudes internas entre HC, PRL y LP; al menos 4 regiones dentro de cada molécula eran homólogas, sugiriendo que todas ellas se originaban de un péptido primordial, sumamente corto (25-50 residuos), a través de dos tandem sucesivos de duplicación del cistron estructural original. LEWIS, SINGH, SEAVEY y LAMBERT (1974) indicaron que este péptido probablemente no se encontraba en los vertebrados ya que la HC de un elasmobranquio presentaba una estructura similar a la HC de un mamífero. Curiosamente esta proteína muestra propiedades funcionales de prolactina. En 1973 HAYSHIDA, LICHT y NICOLL, presentaron evidencia de que tanto la PRL como la HC debían provenir de una proteína ancestralmente relacionada, ya que las dos hormonas identificadas en la hipófisis de anfibios muestran reactividad inmunológica con antisuero contra HC de rata.

Muy recientemente, SHOME y PARLOW (1977) han descrito la secuencia final y completa de aminoácidos de la PRLh. Claramente parece demostrado que se trata de una proteína de 198 aminoácidos con leucina en la posición N-terminal. Su similaridad con la forma porcina, ovina y de rata parece establecerse en un 77,75 y 60% respectivamente, mientras que con la HC tan solo el 16% de los residuos de los aminoácidos estructurales son iguales y el 13% respecto al LPh. En la Figura 3 se representa la secuencia lineal de aminoácidos de la PRLh, y en la Figura 4 las secuencias comparativas de las formas humana, ovina, porcina y de ratón.

2D) Heterogeneidad de la PRLh

En 1973 BEN-DAVID y col. al mismo tiempo que describían la PRLh del líquido amniótico estudiaban, utilizando el criterio aportado por la electroforesis en gel de poliacrilamida, la idén

SECUENCIA LINEAL DE AMINOACIDOS DE LA PRL HUMANA.



Los residuos enmarcados son idénticos a los de HC humana.

Según SHOME y PARLOW (1977)

SECUENCIA DE AMINOACIDOS DE LA PRL HUMANA, OVINA, PORCINA Y DE RATA

```

hPRL  L P I C P G G A A R C Q V T L R D L F D R A V V L S H Y I H N L S S E M
oPRL  T V N P G D S M V
pPRL  T V N P G D S M V
rPRL  V S D E T P P E V M L T Y T D
      N Q Q

hPRL  F S E F D K R Y T H G R G F I T K A I N S C H T S S L A T P E D K E Q A
oPRL  N A Q K M L P
pPRL  N A Q K M L P
rPRL  I Q V Q D E A N P P
      D

hPRL  Q Q E N Q K D F L V S I L I L R S W N E P L Y H L V T E V R G (D) Q E A
oPRL  T H H E V L M S L G D M K G V
pPRL  I H H E V L I L L L R V D M
rPRL  V L A N V P P E V L L I L N F S H T K G I
      D

hPRL  P E A I L S K A V E I E E Q T K R L L E G M E L I V S Q V H P E T K E D
oPRL  D R I E N M F G I G A T
pPRL  D R I E N K G G I N
rPRL  D H I R K N R K I K I A Y A G N

hPRL  E I Y P V W S G L P S L Q M A D E S E R L S A Y Y N L L H C L R R D S H
oPRL  P T K D A H F S
pPRL  V S E D A F F
rPRL  L E G V Q K D L F N I R
      Q

hPRL  K I D N Y L K L L K C R I I H N N N C
oPRL  T N Y
pPRL  T N Y
rPRL  V F R Q V K

```

Según SHOME y PAPLOW (1977)

tividad física respecto a la hormona extraída de extractos hipofisarios, comunicando que la PRLh se encontraba como una especie molecular simple. Dos años más tarde ROGOL y CHRAMBACH (1975), estudiando los métodos de iodación de PRLh para RIA, comprueban que las distintas fracciones obtenidas en electroforesis de gel de poli-acrilamida presenta una heterogeneidad inmunológica cuando se realizan estudios de unión a anticuerpo, por lo que revisan la evidencia existente respecto a la presencia de isohormonas de PRLh en base a esta multiplicidad de especies inmunoactivas, iodadas y no iodadas, y respecto a la posibilidad de que algunas de estas formas pudieran ser producto de modificaciones durante el curso de aislamiento y fraccionamiento hormonal. De esta forma revisan al menos 5 isohormonas para la PRLh.

- PRLh E. Corresponde a fracciones ya observadas previamente en las preparaciones de PRLh hipofisaria de LEWIS y col. (1971) y HWANG y col. (1972), quienes descubrieron un componente mayor y uno o dos pequeños. HUMMEL y col. (1975), en concentración isoeléctrica, refirieron la presencia de una especie de PRLh hipofisaria mayor (punto isoeléctrico aparente 5.93 - 6.04) así como, al menos, 3 componentes menores, y BEN-DAVID y CHRAMBACH (1974) también encontraron una forma isoeléctricamente mayor que presentaba un punto isoeléctrico aparente de 6.5, a pesar de que previamente habían adelantado el concepto de una forma única de PRLh. Esta isohormona E correspondía a la isohormona C de BEN-DAVID y CHRAMBACH.

PRLh A' y B'. Las isohormonas A' y B' derivan de la concentración isoeléctrica de la fracción de pH 6.2 - 6.5 del líquido amniótico. Junto a las formas E y F se encuentran aproximadamente en igual concentración en el líquido amniótico, y probablemente corresponden a las 4 proteínas encontradas por HWANG y col. (1972) en el perfil de inmunoreactividad de la elución del líquido amniótico en cromatografía de afinidad.

- PRLh F. Esta forma, denominada también PRLh pequeña, tiene aproximadamente la mitad del tamaño molecular de la forma E y se

encuentra como un componente de la PRLh no iodada del líquido amniótico (forma D) y como un componente de la PRLh del líquido amniótico e hipófisis, iodadas con lactoperoxidada.

- PRLh G. Fue encontrada en una preparación de PRLh hipofisaria. Puede ser considerada como isohormona tan solo por referencia a su presencia en el plasma de una paciente con un tumor hipofisario, hiperprolactinemia y acromegalia descrito por ROGOL y ROSEN (1974).

- PRLh H y J. También conocida por PRLh grande, ha sido hallada en dos formas diferentes, ambas, aproximadamente, dos o tres veces mayores que la forma monomérica de PRLh. La forma J de riva de la rama ascendente del pico de PRLh del líquido amniótico en filtración en gel, y la forma H es un producto de la iodación con cloramina T.

De esta recopilación queda, pues, claro que la distribución de especies inactivoactivas de PRLh se compone de un conjunto de isohormonas encuadrables respecto a su tamaño en 3 categorías:

- a) Las formas A' B' y E (C de BEN-DAVID y CHRAMBACH), las especies mayores, a las que puede unirse la forma G, de un tamaño similar.
- b) La forma F o pequeña (la D de BEN-DAVID y CHRAMBACH) y
- c) Las formas J y H, di ó triméricas y, por tanto, formas grandes.

A	A'

B	B'

C	E

D	F'

BEN-DAVID y CHRAMBACH	ROGOL CHRAMBACH

Recientemente BEN-DAVID y CHRAMBACH (1977) han confirmado la presencia de los componentes C y D (o E y F) constituyentes fundamentales de la PRLh hipofisaria, indicando que las fracciones A y B son probablemente artefactos de pasos particulares de fraccionamiento. Todas ellas son indistinguibles en tamaño molecular, pero se incrementa su carga neta según un orden establecido desde la A y D. El tamaño molecular a pH 8.1 corresponde a un pm de 30.000, lo que difiere del valor 20.000 comunicado tras almacenamiento -20° C durante 9 meses (ROGOL y CHRAMBACH, 1975) y del valor también de 20.000 sospechado por su masa, no habiéndose aún aclarado la razón de tal discrepancia. La estabilidad es buena al cabo de un año de congelación a -70° C, especialmente respecto a su inmunoreactividad y facilidad de iodación.

En 1974, SUH y FRANTZ y ROGOL y ROSEN (1974) documentaron la existencia de varias formas de PRLh inmunoreactiva no sólo en la hipófisis sino también en el suero humano. Dos años más tarde KAPLAN, GRUMBACH y AUBERT (1976) comunicaron las proporciones de isohormonas en plasma fetal de sangre venosa umbilical; entre el 85-95% correspondía, como forma predominante, a isohormonas pequeñas (PRLh "little") hallando tan solo una pequeña proporción de PRLh grande (PRLh "big"). Las muestras de sangre de 13 adultos normales revelaron una distribución muy semejante a la anterior: PRLh pequeña 81,8-95,4%, PRLh grande 1-15,4% y PRLh muy grande (PRLh "big-big") 0,8-7,5%. Por otra parte, pudieron comparar el grado de inmunoreactividad que fue comparable para las formas pequeñas y grandes, mientras que la actividad de radioreceptor es nula para la "big-big" PRLh (AUBERT, GADNIER, KAPLAN y GRUMBACH 1975) y mayor, pero considerablemente menor, para la "big" PRLh respecto a la actividad de la PRLh pequeña. Recientemente FRANTZ (1977) ha indicado que la "big" PRLh comprende del 8 al 31% de la PRL inmunoreactiva total, tanto en muestras normales como patológicas; la PRL "pequeña" supone la mayor parte de la inmunoreactividad remanente, correspondiendo sus características a la de PRL de estándares purificados; por último, ocasionalmente podía apreciarse un

tercer pico, pico de PRL "muy grande", que se eluía cerca del volumen de vacío. Durante el embarazo parece que aumenta principalmente la forma "grande" que puede ser convertida, al menos parcialmente, a PRL "pequeña" por congelación y descongelación repetida, o por el largo almacenamiento de muestras congeladas. No se comprobó la transformación de la forma "pequeña" a la "grande", lo que unido al hallazgo de la escasa concentración de esta última en extractos hipofisarios y en medio de cultivo hipofisario les ha permitido suponer que esta forma no es un agregado de forma "pequeña" unida a algún constituyente plasmático, sino que representa un producto directo de secreción, lo que supone una opinión contraria a los más recientes hallazgos de JORDAN y KENDALL (1978) y BENVENISTE, HELMAN, ORTH, MCKENNA, NICHOLSON y RABINOWITZ (1979) quienes consideran estas formas como agregados por formación de puentes disulfuro y no precursores de biosíntesis.

Se ha descrito también la heterogeneidad de la PRLh de cultivo donde se obtienen, como formas predominantes, la B y E. Por tanto, las hormonas extraídas de la hipófisis y de cultivo tisular no son distinguibles por este criterio de heterogeneidad; sin embargo, utilizando los 3 antisueros anti-PRLh de que se dispone actualmente se ha podido comprobar un desplazamiento paralelo tan sólo con uno de ellos, por lo que este fallo para obtener curvas paralelas pueden indicar que hay diferencias, al menos de las porciones inmunológicamente activas, entre las prolactinas derivadas de hipófisis y cultivo.

JORDAN y KENDALL (1978) han comunicado una disociación entre las distintas concentraciones de las formas de heterogeneidad en el plasma y el líquido cefalorraquídeo de 3 enfermos con extensión supraselar de tumores hipofisarios. La PRL "grande" y "pequeña" fue encontrada en plasma, mientras que sólo la forma "pequeña" fue hallada en el LCR. KIEFFER y MALARKEY (1978), por el contrario, han publicado el aislamiento en LCR de tres pico semejantes a los plasmáticos e inmunológicamente similares al estándar de PRL hipofisario. NIV-V-L-S-2; sin embargo, las con

centraciones relativas de cada uno de los picos en plasma y LCR era distinta, sugiriendo que las distintas condiciones experimentales utilizadas para la extracción pueden influenciar los perfiles de elución tanto en suero como en otros líquidos orgánicos.

3. LA CELULA DE PROLACTINA

3A) Identificación

He comentado como la PRL ha sido identificada como una hormona específica secretada por un tipo especial de célula hipofisaria, la célula de prolactina. Esta célula fue ya reconocida durante la década de los 50 al apreciarse sus características tintoriales y sus peculiaridades estructurales. En el momento actual cabe distinguir tres tipos de métodos que permiten reconocerla, y que desde el punto de vista histórico han marcado las distintas etapas no solo de su reconocimiento sino de su moderna anatomía funcional. Ha quedado también establecido que la hipófisis anterior contiene al menos 5 tipos distintos de células secretoras: somatotropas, gonadotropas, tirotropas, corticotropas y mamotropas o células de prolactina. Todas ellas pueden ser identificadas mediante criterios de coloración, inmunofluorescencia específica y, quizás el método más operativo, con microscopía electrónica.

3A-1) Técnicas de Coloración.

Las diferencias de coloración entre las células acidófilas hipofisarias ya fueron reconocidas hace 50 años, en base a las coloraciones obtenidas con el azocarmín, y en 1946 DAWSON asoció la presencia de células así coloreadas con altos niveles de secreción de hormona lactogénica.

Estas células pueden ser reconocidas por distintos colorantes como la combinación de Kresofuchina, azán de Heidenhain y

orange G, la hematoxilina-eosina de Harris, el tetracromo (que colorea los gránulos de los dos tipos fundamentales de células acidófilas, de tal forma que se deslinda las células teñidas de este modo -eritrosinofílicas- de aquellas que lo hacen con el orange G), o la tinción diferencial con carmoisina L y orange G.

PEAKE, MCKEEL, JARETT y DAUGHADAY (1969) han comunicado un detallado estudio, en un tumor secretor de PRLh, sobre las características tintoriales de estas células lactotropas con los principales métodos de tinción al uso, siendo también clásicos a este respecto los trabajos de GOLUBOFF y EZRIN (1969) y HERLANT y PASTEELS (1976).

3A-2) Inmunofluorescencia.

Se ha comentado previamente como las técnicas de inmunofluorescencia se habían utilizado para demostrar que la PRLh era una molécula independiente. Pero estas mismas técnicas permiten la realización de estudios de inmunocitoquímica que caracterizan específicamente la célula secretora (NAKANE, 1975; PELLETIER, ROBERT y HARDY 1978)

De manera resumida, siguiendo a PASTEELS, GAUSSET, DANGUY, ECTORS, NICOLL y VARAVUDHI (1972) y PASTEELS, GAUSSET, DANGUY y ECTORS (1972), la técnica consiste en la obtención de Ac-anti-PRL que se utiliza para la fijación inmunológica en cortes procedentes de bloques de parafina; junto a ello se realizan coloraciones histológicas diferenciales de tal modo que sobre las fotografías de las preparaciones de inmunofluorescencia se pueden realizar estudios comparativos de superposición. Esta técnica combina la gran sensibilidad y especificidad inmunológica con el mejor reconocimiento de los artefactos de cortes histológicos, permitiendo la comparación de células lactotropas maduras con células inmaduras merced a la diferencia de coloración. De gran especificidad es, asimismo, la técnica de NAKANE (1968) que permite la diferenciación simultánea de varios antígenos tisulares. Mediante el empleo de Ac marcados con peroxidasa puede compararse en la misma sección histológica el marcaje de células diferentes por diferentes

anticuerpos, confirmando la especificidad de las técnicas inmunológicas en la demostración de las células de prolactina.

Mediante las dos técnicas hasta ahora comentadas se ha podido describir morfológicamente a la célula que nos ocupa como una estructura de forma ovoide o poligonal, en ocasiones acuminada, que muestran íntima asociación con las células ganadotropas.

3A-3) Microscopia Electrónica.

La M.F. ha permitido realizar una más fácil identificación de las células mamotropas, en la rata y otras especies, en base a las características distintivas de sus gránulos secretores, que son grandes (500-900 nm) y muy densos.

La identificación de estas células a nivel ultramicroscópico se basó originalmente en el examen de hipófisis de ratas lactantes (FARQUHAR y RINEHART 1974) tratadas con estrógenos (HYMER, McSHAN y CHRISTIANSEN 1961), datos comprobados mediante inmunohistoquímica y por el aislamiento de los gránulos en los que pudo comprobarse la presencia de actividad prolactínica, al menos en la rata y en la especie bovina (LA BELLA, KRASS, FRITZ, VIVIAN, SHIN y QUEEN 1971). En la rata, la especie más estudiada, los gránulos maduros son uniformemente grandes, de forma ovoide o elíptica, y homogéneamente densos; los gránulos inmaduros, que se presentan comúnmente pero no exclusivamente en la región de Golgi, son más pequeños y de forma y tamaño más variable, sugiriendo que son ensamblados por el apretamiento de gránulos mucho más pequeños de la parte más profunda del apilamiento de cisterna de Golgi, tras la que sigue una agregación progresiva de varios gránulos pequeños en uno mucho más grande, multilobulado. En los machos, y en las hembras en fase de ciclo, el desarrollo del aparato sintetizador de proteínas celulares es escaso, y formado por varias cisternas elongadas y aplastadas de retículo endoplasmático rugoso, y de un aparato de Golgi reducido a 4-5 apilamientos de cisternas en una pequeña área citoplasmática circunscrita cerca del núcleo. Sin embargo, en animales en fase de lacta

ción (SHINO, WILLIAMS y RENNELS, 1972), y especialmente en animales tratados con estrógenos (SMITH y FARQUAR 1970; ZAMBRANO y DEIS 1970), estas estructuras se encuentran mucho más desarrolladas, consistiendo en numerosas filas paralelas de cisternas muy elongadas de retículo endoplasmático rugoso que se extienden hasta las cercanías de la membrana en toda su superficie; de forma similar el aparato de Golgi es enorme, consistiendo en 5-8 pilas de cisternas circunscritas a un área comparable, o mayor, que la que ocupa el propio núcleo y conteniendo algunas imágenes de gránulos inmaduros o en formación.

En la especie humana la identificación de estas células se realiza más fácilmente que en los animales mencionados, especialmente cuando se trabaja con material homogéneo como el obtenido de cultivos hipofisarios (PASTEELS 1971) o adenomas productores de prolactina (RACADOT, VILA, PORCILE, PEILLON y OLIVER 1971), apreciándose una amplia identidad celular con ambos materiales (PASTEELS, GAUSSET, ECTORS, DANGUY, ROBYN, L'HERMIT y DUJARDIN 1972). De forma semejante a las células animales, las humanas se distinguen fácilmente por el tamaño irregular de su gránulo secretor, aunque estos se aprecien fundamentalmente en aquellas células altamente activas que almacenan gran cantidad de hormona; del mismo modo, el retículo endoplasmático rugoso se ordena de forma laminar concéntrica y se encuentra cubierto de numerosos políomas. El Golgi presenta imágenes de segregación de gránulos secretores, evidencia de una secreción hormonal activa, y no es infrecuente observar figuras de exocitosis.

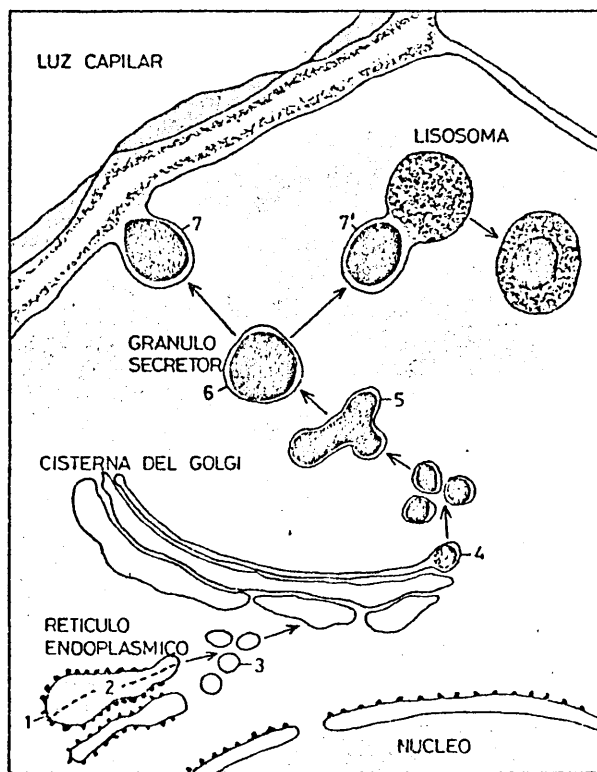
Los primeros resultados de los estudios morfológicos de las células de prolactina han demostrado algunos datos dignos de mención. Ha podido comprobarse que la característica aparición diseminada observada en algunos casos se pierde al estudiar material procedente de fetos jóvenes de 16 semanas, habiéndose apreciado, además, en dos adenomas cromofobos. Las células incrementan su número desde la semana 16 de vida fetal hasta el na-

cimiento, se observan muy bien en niños recién nacidos, muestran una regresión parcial durante la infancia y se hacen más conspicuas en la pubertad, mostrándose posteriormente más desarrolladas en el adulto joven que en el viejo, sin claras diferencias entre el hombre y la mujer. Se localizan preferentemente en la parte periférica del lóbulo anterior, en relación con su cápsula conjuntiva pero, como se ha mencionado, se esparcen por toda la superficie de la hipófisis anterior. Durante el embarazo comienza una hipertrofia hacia el 3^{er} mes para alcanzar su máximo tamaño hacia el 7° y hacia el final del mismo, momento en el que pueden apreciarse cordones celulares que desde la periferia invaden progresivamente la hipófisis anterior.

Por otra parte, la célula mamotropa se encuentra íntimamente relacionada en su organización estructural, y en sus propiedades de coloración (acidofilia), con las células somatotropas. Ello no es excesivamente sorprendente en vista de las similitudes químicas entre ambas hormonas en algunas especies, con áreas de homología en su estructura primaria (LI 1972), sugiriéndose nuevamente la posible existencia de un ancestro común para ambos tipos celulares. Datos recientes publicados por STRATMAN, EZRIN y SELLERS (1974) han puesto de manifiesto que, al menos en ciertas condiciones, las células somatotropas pueden cambiar su patrón de síntesis y secreción hacia prolactina.

3B) Anatomía funcional de la célula de PRL. Mecanismos de secreción

La célula de prolactina (C.P.) ha supuesto un modelo muy popular en el estudio de la secreción y control en las células de la hipófisis anterior, razón por la que la información acumulada es mucho mayor que con cualquier otra línea celular hipofisaria, a pesar de una serie de causas que, en conjunto, dificultan estos estudios funcionales (FARQUAR 1977).



Explicación en el texto.

Según FARQUAR (1977).

FIG.5

Mucho ha sido publicado sobre trabajos realizados "in vivo", en animales intactos, valorándose las propiedades tintoriales y la fina estructura celular en distintas condiciones fisiológicas que afectan la secreción de PRL. Sin embargo, como ya se ha apuntado, las células mamotropas pueden mantenerse bastante bien "in vitro" presentando una mayor actividad funcional al quedar liberadas de influencias superiores (MEITES 1973). Ello ha permitido el establecimiento de varios modelos entre los que se incluyen cultivos de órgano, cultivo de hemihipófisis (PELLETIER, LEMAY, BERAUD y LABRIE 1972) rodajas o porciones de hipófisis (RAO, ROBERTSON, WINNICK y WINNICK 1967; ZANINI, GIANNATTASIO y MELDOLESI 1974) y células disociadas (VALE, GRANT, AMOSS, BLACKWELL y GUILLEMIN 1972; LEAVITT, KIMMEL y FRIEND 1973; HYMER, SNYBER, WILFINGER, SWANSON y DAVID 1974). De todos ellos los sistemas de células disociadas presentan mayores ventajas para el estudio funcional que los demás ya que presentan una geometría simplificada que facilita la cuantificación de experimentos autorradiográficos, y proporcionan un magnífico material inicial para separar unos tipos celulares de otros con el enriquecimiento de líneas mamotropas puras.

En 1966 FARQUAR propuso el esquema ilustrado en la figura 5 para explicar los pasos implicados en la secreción de PRL desde el momento de sus síntesis hasta su descarga fuera de la célula, siendo una réplica específicamente aplicada a la célula mamotropa de los clásicos esquemas de PALADE sobre la producción y liberación en las células pancreáticas (PALADE 1966 y 1975) y que hoy día se acepta como esquema universal para todos los tipos de células que realizan funciones secretorias, tanto endocrinas como exocrinas enzimáticas.

De acuerdo con este esquema la PRL se cree que es sintetizada exclusivamente en los polirribosomas unidos a la membrana del retículo endoplásmico rugoso, desde donde es inmediatamente segregada y transportada, vía de pequeñas vesículas, a las cisternas internas del sistema de Golgi donde el producto secretor es

concentrado. Esta concentración ocurre exclusivamente en la parte más interna de la cisterna, a lo largo de la superficie cóncava del apilamiento del Golgi, formándose pequeños gránulos de secreción (100-150 nm). En este apretamiento de las cisternas del Golgi varias de ellas se funden y la mezcla de su contenido sufre una posterior condensación para formar los gránulos maduros de secreción, mucho más grandes (600-900 nm) y que representan la forma de almacenamiento de la PRL. Bajo condiciones apropiadas estos gránulos son descargados en el espacio perivascular por fusión de la membrana del gránulo con la citoplásmica (exocitosis), pero una vez suprimido el estímulo secretor, y si la célula dispone de gran material almacenado, los gránulos pueden fusionarse con la membrana de los gránulos lisosómicos donde el contenido es degradado (crinofagia).

Como se ha mencionado, la secuencia indicada es similar a la referida por PALADE para los gránulos de zimógeno de la célula exocrina pancreática, aunque se han encontrado ciertas diferencias en el paso de concentración y en el de descarga. En la célula mamotropa la concentración tiene lugar en el complejo cisternal del Golgi en vez de en vacuolas de condensación especializadas, y continúa en el citoplasma en los gránulos inmaduros polimorfos que pueden equipararse a las vacuolas de condensación. Durante el paso de descarga es un problema muy discutible el que esta operación pueda ser opcional, hacia la exocitosis o la crinofagia, según el estado de estímulo o inhibición funcional a que se vea sometida la célula.

Existe importante evidencia que corrobora la secuencia mencionada, destacándose entre ellas la que a continuación se menciona.

3B-1) Síntesis en el Polirribosoma y Segregación dentro del R.E. rugoso.

Hasta 1966 no se pudo disponer de ningún tipo de evidencia directa, suponiéndose que podría ser así al igual que ocurría

en otras células glandulares y parenquimatosas (REDMAN y SABATTINI 1966). En estos sistemas pudo apreciarse que las células poseían un R.E. rugoso importantemente desarrollado, con abundantes polisomas, demostrándose una gran cantidad de síntesis proteicas, casi exclusiva, que era segregada al interior del R.E. por un transporte vectorial del polipéptido sintetizado desde la unidad grande del ribosoma, a través de la membrana del R.E., hasta el espacio cisternal.

El hecho de que las células mamotropas poseyeran un abundante R.E., mucho más desarrollado durante la lactación, establecía un punto de correlación entre esta estructura y la síntesis de PRL. Recientes trabajos de BISWAS y TASHJIAN (1974) lo han demostrado, al aislar polisomas libres y unidos de una línea de células mamotropas en cultivo. Se poseen escasos datos de la dinámica o cinética de síntesis, pero existen algunos que hacen pensar en la veracidad de estos dos pasos. ADIGA, HUSSA y WINNICK (1968) comprobaron que los polirribosomas unidos, liberados por tratamiento con detergentes, eran activos en la biosíntesis de PRL, siendo más activos los polisomas que contenían 6 ó 7 unidades ribosómicas (ADIGA, HUSSA, ROBERTSON, HOLL y WINNICK 1968), lo que se correlaciona bien con los requerimientos previstos de polisomas para la síntesis de proteínas de pm alrededor de 20.000. ZANNINI y col. (1974) demostraron que la PRL se concentraba en las fracciones totales de microsomas rugosos preparados de homogenados hipofisarios, indicando que la hormona se contiene dentro de estos comportamientos, así como en fracciones granulares crudas.

3B-2) Transporte desde el R.E. Rugoso hasta el Aparato de Golgi.

Al igual que en el caso anterior, hasta 1966 no se dispuso de evidencia directa, extrapolándose a la célula mamotropa los fenómenos acaecidos en la célula pancreática. En éstas células estaba bien comprobado que el producto secretor del R.E. se movía hacia las vacuolas de condensación del Golgi, siendo transportadas vía de un emjambre de pequeñas vesículas localizadas en la

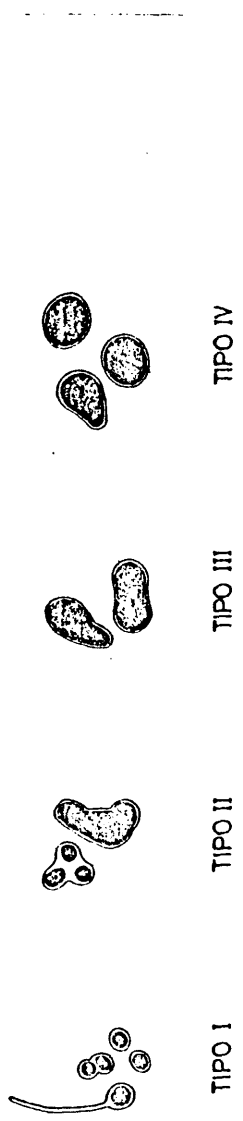


Diagrama de representación de los distintos granulos secretorios encontrados en las células mamotropas.

Tipo I.- granulos pequeños (100-200 nm.) redondos, encontrados dentro de las cisternas del Golgi ó íntimamente asociados con ellas.

Tipo II.- granulos grandes de agregación, variables en forma, tamaño y típicamente polimorfos.

Tipo III.- granulos de tamaño intermedio, menos variables que el tipo II, pero menos regulares que el tipo IV.

Tipo IV.- granulos redondos ú ovoides, mas o menos regulares, de 600 a 900 nm. de diámetro.

Según FARQUHARD, REID y DANIELL (1978).

FIG. 6

periferia del aparato de Golgi. Dado que en las células mamotropas pudieron encontrarse grupos similares de microvesículas, situadas en la periferia de Golgi, se supuso la existencia de una secuencia de transporte similar.

Resultados actuales han puesto claramente en evidencia que la dirección del movimiento del producto de secreción es del R.E. rugoso hasta las cisternas del Golgi y a los gránulos. TIXIER-VIDAL y PICART realizaron en 1967, mediante técnica de autorradiografía con la radiación emitida por leucina H3, la medición del tiempo del proceso que nos ocupa; a los 30-60 minutos pudo apreciarse la existencia del material radioactivo en las cisternas del Golgi, y a las 2-4 horas en los gránulos de secreción. FARQUAR, REIZ y DANIELL (1978) han corroborado tales hallazgos en células hipofisarias disociadas procedentes de ratas tratadas con estrógenos, especificando según el tamaño, morfología y densidad del contenido granular el momento funcional de síntesis en que se encuentra la célula (Figura 6), y LABRIE, GAUTHIER, PELLETIER, BERGEAT, LEMAY y GOUGE (1973) han comprobado, además, que todo el proceso de transporte y localización en espacios funcionales independientes es secundario a un mecanismo de fisión y fusión de membranas, que requiere energía metabólica pues es inhibido por los bloqueantes de la fosforilización oxidativa pero no por los inhibidores de la síntesis proteica.

3B-3) Concentración en el Golgi y Agregación de los gránulos pequeños.

La microscopía electrónica ha permitido visualizar este proceso. Dentro del R.E. rugoso, y de las cisternas de Golgi, el productor secretor existe, aparentemente, en solución diluida con una baja densidad electrónica. Densos nódulos de un producto de secreción, de alta densidad, equivalente a aquel que se aprecia en los gránulos maduros, se ve primeramente en la parte más interna de la superficie cóncava del apilamiento del Golgi. La hormona, aparentemente, permanece en esta porción densa, en forma insoluble, hasta que es descargada al exterior de la célula o al interior de los lisosomas. La presencia de gránulos con

producto de secreción denso en la parte más interna de Golgi sugiere que la concentración debe realizarse allí, como lo indica, además, el incremento del número de gránulos de autorradiografía que se asocian con los gránulos de agregación. El hecho de que esta concentración pueda tener lugar en un compartimento continuo sugiere que debe existir algún mecanismo para la insolubilización del material hormonal inicialmente sintetizado. La naturaleza insoluble del producto de secreción queda también expresada por la forma polimorfa de los gránulos de agregación, así como por el hecho de que el contenido retiene su forma característica tras la descarga.

Respecto al mecanismo de la concentración no existe hasta el presente un conocimiento exacto ni de la intimidad del proceso, ni de las alteraciones que sufre a este nivel el material inicial de secreción. Estudios de citología indican que algunas enzimas (nucleosido-difosfatasa, fosfatasa ácida) se concentran más en la porción interna de las cisternas del Golgi y alrededor de los gránulos en formación que en el resto del complejo cisternal, sugiriendo que el proceso activo que se produce tiene alguna conexión con el proceso de concentración y almacenamiento.

3B-4) Almacenamiento en los Gránulos Maduros.

La PRL es almacenada, hasta que se necesita su secreción, en gránulos de tamaño variable (500-900) de acuerdo con la forma en que los pequeños paquetes derivados del Golgi emergen y mezclan su contenido. Así, en el animal lactante, bajo estimulación continua de descarga del material sintetizado, se aprecia la acumulación de pocos gránulos grandes, y aparentemente el paso de agregación y almacenamiento es precipitado, no llegándose a alcanzar gránulos con el máximo tamaño. Suprimido el evento estimulador desaparece el apresuramiento del proceso de tal forma que reaparecen gránulos mucho mayores.

Como se ha mencionado, el almacenamiento de la hormona ha sido inequívocamente demostrado, tanto por el aislamiento y análisis del contenido de los gránulos, como por inmunohistoquímica

a nivel de microscopia electrónica. Sin embargo, existen algunas dudas respecto a ciertos tópicos como la forma de hormona almacenada, la presencia de otras sustancias además de PRL, y el grado de estabilidad de la membrana del gránulo y su contenido. La información sobre los puntos enunciados difiere según las especies estudiadas, especialmente en la rata y vaca; puede decirse que los gránulos de PRL y HC son más estables que los gránulos de secreción de células productoras de glicoproteínas. GIANNATTASIO, ZANINI y MELDOLESI (1975) han demostrado que el contenido de los gránulos de PRL de la rata presentan una estabilidad poco frecuente, y que la membrana puede ser selectivamente disgregada utilizando gran concentración de detergentes; poco se ha discernido sobre el mecanismo de esta gran estabilidad aunque se sabe que tanto el EDTA como los cationes divalentes no tienen ningún efecto, lo que sugiere que en el mecanismo de estabilización las alteraciones iónicas, especialmente los puentes de calcio, ejercen un papel escaso o nulo.

Respecto al contenido se sabe que está formado principalmente por PRL y alguna otra proteína aún no caracterizada. LA BELLA y col. (1971) han sugerido que la hormona es almacenada en forma de agregados, sin precursores ni proteínas transportadoras evidentes. En contraste a los datos obtenidos con gránulos de bovinos, estos se encuentran estabilizados por Ca^{++} , Mg^{++} , y ATP. POIRIER, DeLEAN, PELLETIER, LEMAY y LABRIE (1974) han publicado la presencia de ATP-asa - Ca^{++} y Mg^{++} dependiente en fracciones de gránulos de hipófisis bovina que contenían tanto PRL como HC, y han sugerido que estas actividades enzimáticas pueden jugar algún papel en la formación y estabilización de los gránulos de almacenamiento.

3B-5) Descarga Extracelular por Exocitosis.

Los datos que afirman la descarga de los gránulos de PRL por un mecanismo de fusión de membrana, o exocitosis, son morfológicos. FARQUAR describió en 1961 imágenes de exocitosis en varios tipos de células hipofisarias describiéndose posteriormente en células mamotropas de ratón

y rata, siendo PASTEEELS (1972) quien asoció el incremento en la liberación de PRL con el aumento de las imágenes de exocitosis y con el incremento de gránulos de fusión. PELLETIER y col. (1972) han demostrado, de forma similar, un incremento en las imágenes de descarga granular en células de PRL procedentes de muestras hipofisarias incubadas con dibutiril-AMPC, que estimula la secreción de PRL.

Durante el proceso de exocitosis la membrana del gránulo se funde, al menos aparentemente, con aquella porción de la membrana celular que limita con la membrana basal del capilar. El contenido del gránulo mantiene su densidad, y su cubierta permanece visible en íntima proximidad con la membrana plasmática durante algún tiempo, generalmente tan largo como el tiempo que dura el hoyo formado por la fusión de ambas membranas. Probablemente el contenido es rápidamente solubilizado en el medio ambiente del conectivo, desapareciendo de la vista; la membrana del gránulo no es visible, flotando en el espacio conectivo perivascular. En esta forma soluble la hormona queda libre para difundir a través de las barreras adyacentes (membrana basal de células parenquimatosas, espacios conectivos, basales endoteliales y membrana fenestrada del endotelio) para alcanzar la circulación sanguínea.

Lo que no está claro es el mecanismo bioquímico de la exocitosis. Parece que el sistema de adenilato-ciclasa, y algunos cationes divalentes como el calcio, juegan un papel importante en el control de la liberación hormonal en las células mamotropas (NAGASAWA y YANAI 1972) ya que tanto el AMPc (LEMAIRE, PELLETIER y LABRIE 1971) como el Ca^{++} (PARSONS 1970) y potasio (OSTLUND, LEUNG, HAJEK, WINOKUR y MELMAN 1978) estimulan la liberación de PRL. LABRIE, LEMAIRE y COURTE (1971) y LEMAIRE y col. (1971) han comunicado la existencia de proteín-Kinasa AMPc-dependiente en tejido hipofisario bovino, demostrándose posteriormente que tanto las proteínas del gránulo secretor, como las de la membrana plasmática, podían ser fosforiladas "in vitro" por una proteín-Kinasa endógena, proponiéndose que el mecanismo es el mismo que

el de otros tejidos; activación del sistema de actividad adenilato-ciclasa con incremento del nivel intracelular de AMPc que se une a la mitad reguladora del complejo inactivo del citosol de protein-Kinasa; ello da lugar a la liberación de la subunidad catalítica y su siguiente unión, en forma de protein-Kinasa activa, a la fosforilasa-Kinasa inactiva, que activada de esta forma da lugar a los mecanismos de fosforilización de una gran serie de sustratos (STEER 1976).

Los microtúbulos han sido también implicados en el proceso de exocitosis en la célula mamotropa (GAUTVIK y TASHJIAN 1973). Como en otras células esta afirmación se ha basado en el hecho de que agentes como la colchicina y el óxido de deuterio, que interfieren las acciones de las proteínas de los microtúbulos, inhiben la liberación de PRL. Sin embargo, la situación es confusa, ya que no se ha apreciado una asociación especial de los microtúbulos con los gránulos secretores o con la membrana plasmática de las células mamotropas, y porque la colchicina, además de esta acción sobre los túbulos, se sabe que puede unirse a membranas (STADLER y FRANKE 1974) y que inhibe varios sistemas de transportes a este nivel (WILSON, BAMBURG, MIZER, GRISHAM, y CRESWELL 1973).

3B-6) Descarga de Hormona en los Lisosomas. Crinofagia

Existen evidencias morfológicas y citoquímicas de la fusión y secreción granular dentro de los lisosomas (DE DUVE 1969), basadas en el examen de células mamotropas de ratas lactantes tras varios intervalos de supresión de alimentación del hijo (VILA-PORCILE, OLIVIERI y RACADOT 1973), fenómeno que conduce a una dramática supresión de la secreción de PRL. En estas circunstancias el contenido dentro de los gránulos de secreción era visto con cierta frecuencia dentro de los lisosomas, advirtiéndose ocasionalmente imágenes de fusión entre los gránulos y partículas lisosómicas. Observaciones a las 24-48 horas tras la separación del hijo demostraron la presencia en ciertas zonas de uno o más lisosomas con un grá-

nulo secretor en su interior. La identificación de que tales gránulos eran lisosomas fue verificada por medio del test citoquímico para las enzimas lisosómicas. La identificación del fenómeno de crinofagia fué facilitada por la gran estabilidad del gránulo secretor y su contenido, que queda insoluble, y por tanto visible, durante un cierto lapso de tiempo tras la incorporación al lisosoma.

Una vez que el contenido del gránulo queda incorporado en el lisosoma es probable que sufra un proceso de digestión hasta un estadio, probablemente de aminoácidos, que pueden ser utilizados. Trabajos de ELLIS y su grupo (McDONALD, CALLAHAN, ELLIS y SMITH 1971) han demostrado que los lisosomas de la hipófisis anterior, al igual que otros lisosomas, contienen aminopetidasa y dipeptidil-aminopeptidasas capaces de degradar la PRL y otras hormonas hasta el nivel de dipéptidos y aminoácidos, quienes pueden difundir a través de la membrana lisosómica hasta alcanzar la matriz citoplasmática.

El significado fisiológico de tal fenómeno no está aún aclarado. Dado que la crinofagia parece incrementarse en condiciones que tienden a suprimir la secreción de PRL se postuló que representaba un mecanismo de oposición a la sobreproducción hormonal. Sin embargo, se ha comunicado que este fenómeno también ocurre, aunque a un bajo nivel, en células de animales normales, incluyen do células mamotropas. Por otra parte, los lisosomas de las células de PRL podrían vaciar al exterior, por exocitosis, detritus de digestión, posteriormente aclarados por macrófagos, en ciertas ocasiones de exceso de almacenamiento, lo que sugiere un intrincado mecanismo de ajuste para las fluctuaciones en la actividad secretora evitando la sobreproducción y favoreciendo, en ocasiones, la reutilización del propio material de síntesis.

4. TECNICAS DE DETERMINACION

4A) Bioensayo

Dado que la PRL, como más adelante veremos, ejerce un amplio espectro de acciones biológicas entre los vertebrados, no es extraño que hayan sido varios los sistemas utilizados para su cuantificación o valoración cuali o cuantitativa como los ya históricos de GARDNER y TURNER o el, aún actual, bioensayo del buche de pichón de RIDDEL; todos ellos han sido recogidos en una revisión histórica por MEITES y TURNER (1960), mereciendo la pena de ser comentados los que, siguiendo a NICOLL (1973), a continuación se refieren:

a) Test de Pigmentación Cutánea (Skin yellowing test). SAGE descubrió que el pigmento amarillo de las células de la piel de los teleosteos respondían a la inyección local de PRL dispersándose en las células y causando una reacción amarillenta en el lugar de la inyección. Tal reacción, comparable a la respuesta melanófora para la MSH, se producía en unos pocos minutos y persistía por períodos variables de tiempo, dependiendo de la dosis inyectada. La mínima dosis efectiva para prolactina de mamíferos fue calculada alrededor de 0.15-0.30 UI. Aunque el ensayo no ha sido desarrollado en base a resultados altamente cuantitativos se ha demostrado de considerable utilidad para la rápida testificación de fracciones hipofisarias, especialmente para aquellas de las especies poikilotérmicas.

b) Test de la Retención de Sodio. El ensayo se basaba en el fenómeno de que ciertos peces de esqueleto óseo no pueden sobrevivir en agua dulce tras la hipofisectomía debido a una pérdida de sodio, lo que es corregido por PRL merced a su capacidad de retenerlo. El ensayo proporciona una relación altamente satisfactoria de dosis-respuesta (relación logarítmica) siendo, por otra parte, de gran especificidad. La dosis mínima de PRL, aunque no ha sido

comunicada con exactitud, parece encontrarse por debajo de las 0:1 UI de PRL.

c) Test de Migración de la Salamandra. Se trata del único ensayo de PRL en anfibios. Fue descrito en la salamandra roja (triton) al observar como la PRL incitaba al animal a buscar, y habitar, el medio ambiente acuático, induciendo además los cambios fisiológicos, bioquímicos y morfológicos necesarios. La dosis mínima efectiva que hacía emigrar al 50% de los animales hacia el agua fue calculada en 50 mU, y aunque el ensayo no es muy sensible puede ser útil para testificar la PRL de peces que no son activas en aves o mamíferos, así como para los estudios comparativos.

d) Ensayo del Bucle de Pichón. Se trata del bioensayo clásico más utilizado y mejor conocido. Dos son, en general, los procedimientos básicos de actuación, siendo varias las modificaciones en la respuesta de cuantificación. Ambos procedimientos comprenden la administración de la hormona intramuscular o subcutáneamente en los ensayos sistémicos, o por vía intracutánea directamente en la región lateral de cada lóbulo del buche en el "micro-ensayo" local, forma entre 100 y 500 veces más sensible que el ensayo sistémico. A pesar de los refinamientos técnicos publicados por BATES, GARRISON, y CONRNFIELD (1963) y NICOLL (1969) su utilidad es muy limitada y su especificidad muy criticable (RAUD y O'DELL 1971).

La variante del micrométodo de LYONS (1957) es la técnica más utilizada pues presenta ventajas como la no necesidad de hipofisectomía previa, alta especificidad y precisión, y la posibilidad de disponer de los resultados en un corto espacio de tiempo. Al margen de los detalles de técnica, bien recogidos en la publicación de NICOLL (1969), interesa comentar los distintos métodos de cuantificación utilizados, y que se resumen en la tabla I tomada del artículo de este mismo autor. En general, todos ellos muestran una precisión muy similar, con índices que oscilan entre 0.1 y 0.3. La dosis mínima efectiva oscila entre 3 y 30 mU obteniéndose relaciones log-dosis satisfactorias con concretaciones del orden de 1.5 mU. La especificidad del proce-

Tabla I

METODOS DE CUANTIFICACION DE LA RESPUESTA DEL ENSAYO DEL BUCHE DE PICHON

- LYONS 1937	Valoración subjetiva según diámetro y espesor
- REECE y TURNER 1937	Valoración subjetiva según diámetro y espesor
- TANABE y col. 1937	Respuesta según el área
- GROSVENOR y TURNER 1958	Respuesta según diámetro
- KANEMATSU y SAWYER 1963	Peso seco del area estimulada de mucosa
- NICOLL 1967	Peso seco de discos de mucosa de 4 cm de diámetro
- BEN-DAVID 1967	Incorporación de Timidina H ₃ en el DNA de discos de mucosa de 4 cm de diámetro

SEGUN NICOLL (1969)

dimiento es muy buena, aunque la presencia de material irritante o inflamatorio puede producir falsos positivos. BERSWORDT-WALRABE, HERLYN y JENTZEN (1965) han comunicado que la adición de corticoesteroides al material de inyección reduce, sin modificaciones, la respuesta inflamatoria.

e) Ensayos mamotrópicos. Basados en la acción mamotrópica o lactogénica de PRL se han desarrollado varios ensayos "in vivo", ninguno de los cuales es cuantitativamente adecuado, sensible, o de fácil reproductividad, para un uso rutinario.

Muchos más utilizados son los ensayos "in vitro" basados en el efecto estimulador de PRL sobre el tejido lóbulo-alveolar mamario manteniendo en cultivo (RIVERA y BERN 1961). Además de PRL sólo las hormonas con actividad lactogénica, como la HCh y el LPh, producen respuestas positivas en el ensayo, con potencias relativas respecto a PRL que varían desde el 50% al 100% (LOWENSTEIN, MARIZ, PEAKE y DAUGHADAY 1971; TURKINGTON 1971^a; FRANTZ, KLEINBERG y NOEL 1972). Dos han sido las fuentes de tejido mamario más frecuentemente utilizadas, la mama de rata preñada (KLEINBERG y FRANTZ 1971) y la de coneja pseudoembarazada. Ambas aportan la ventaja de una mayor sobrevivencia, al mismo tiempo que una buena relación dosis respuesta frente a dosis de ensayo muy variables (FORSITH, BESSER, EDWARDS, FRANCIS y MYRES 1971). La concentración más baja detectada ha sido de 2-5 ng/ml sobre mama de rata swiss albina y con medio enriquecido con 30% de una mezcla de plasmas humanos, y 10 ng/ml sobre mama de coneja y medio 199 solo, lo que representa una mayor perfección respecto al anterior modelo de ensayo de 20 a 100 veces, aunque la efectividad final del método parece que depende de la cantidad de suero o plasma añadido al medio cultivo.

Los ensayos realizados con mama de rata presentan un coeficiente de variación entre el 25 y el 35% (FRANTZ y col. 1972) siendo menos sensible los que utilizan el material procedente de conejas. En una extensa serie se ha comprobado una buena corre-

lación entre el ensayo que nos ocupa y los resultados obtenidos con inmunoensayo, con un rango aceptable entre los 50 y 400 ng/ml (BESSER, PARKE, EDWARDS, FORYSTH y McNEILL 1972). RAUD y O'DELL (1971) compararon algunos métodos de bioensayo, especialmente el ensayo del buche de pichón, con los métodos de RIA hasta entonces descubiertos, demostrando una buena correlación entre ambas técnicas cuando utilizaban fracciones purificadas de PRL, pero al manejar fracciones impuras el bioensayo se mostró con mayor potencia. Del mismo modo que la HCh y el LPh producían respuestas positivas pudo apreciarse la posible existencia de otro factor de interferencia que resultó ser el HCTH.

Uno de los aspectos más debatidos ha sido el de los métodos utilizados para la cuantificación de la respuesta que, en general, se ha basado en la valoración de alguno de los constituyentes únicos de la leche (lactosa, caseína, grasa láctea y enzimas involucrados en la síntesis de estos constituyentes, especialmente con la actividad de la vía pentosa fosfato). La estimulación de la actividad de la N-acetil-lactomina sintetasa (LCEWINS TEIN y col. 1971) y la síntesis de caseína se han utilizado como puntos finales en el ensayo de PRLh, con resultados que pueden considerarse satisfactorios aunque ambos se han demostrado muy complejos para su utilización rutinaria. WANG (1972) ha descrito dos métodos muy simples basados en la incorporación de P32 y acetato-C14, y aunque pudo demostrar una buena correlación dosis-dependiente su reproductibilidad ha sido muy difícil. Otros métodos utilizados han sido los puramente morfológicos de valoración del desarrollo lóbulo-alveolar, o la incorporación de aminoácido C14 en la molécula de caseína (HANDWERGER, PANG, ALOJ y SHERWOOD 1972). FORSYTH y PARKE (1973) han recogido, en un detallado estudio, la correlación de los efectos dosis-dependientes, y las principales técnicas de valoración de los bioensayos que utilizan valoraciones bioquímicas en glándulas mamarias en cultivo.

f) Ensayos Luteotrópicos. La acción trófica de la PRL sobre el cuerpo lúteo de las especies murinas ha sido utilizado para desarrollar varios métodos de ensayo. El más sensible es la respuesta de hipertrofia luteal en ratas PMS-HCG inmaduras hipofisectomizadas, ensayo con el que puede detectarse actividad prolactínica en suero de rata, y más práctico es el ensayo de la hiperemia luteal, más simple que el anterior. En general, estos ensayos muestran una buena especificidad aunque su sensibilidad y precisión es escasa. Más práctico y útil parece ser el ensayo de estimulación "in vitro" de ovarios luteinizados de rata.

g) Métodos físico-químicos. El hecho de que la PRL de rata y ratón emigre como una proteína distinta y predominante en la electroforesis en disco de poliacrilamida ha sido utilizado para desarrollar procedimientos altamente satisfactorios que permiten estimar la cantidad de PRL de tejido hipofisario, como se ha comentado al estudiar las técnicas de aislamiento. La hormona es separada de otras proteínas en gel de acrilamida y teñida con algún colorante para proteínas. Tras la extracción del colorante no ligado del gel, la cantidad de hormona puede ser estimada por densitometría, o por elución del colorante de la banda de PRL y medida de su absorción, en una longitud de onda apropiada, en un espectrofotómetro.

Estos métodos son altamente específicos, ya que trabajan con hormona aislada y en forma pura, son tan exactos como los métodos de inmunoensayo, y permiten el procesado de un número importante de muestras.

4B) Radioinmunoanálisis (RIA)

A pesar de que en 1961 se planteó el problema de la existencia de una PRL humana, con una respuesta inicial satisfacto-

ría aportada por PASTEELS, BRAUMAN, y BRAUMAN en 1963, la aceptación inequívoca de tal existencia, y la dificultad de obtención o identificación físico-química retraso, hasta los primeros años de nuestra década, la aportación de un sistema de RIA eficaz.

La pequeña cronología histórica del RIA para PRLh puede iniciarse en enero de 1971 cuando en una reunión de dos secciones de estudio del Instituto Nacional de Salud, Endocrinología y Biología Reproductiva se comunicó que la PRLh existía y podía ser medida en plasma. Poco después, en mayo de ese mismo año, durante un simposium sobre hormona de crecimiento, GREENWOOD (1972) y FRIESEN, SHOME, BELANGER, HWANG, GUYDA y MYERS (1972) mostraban claramente su existencia y medida mediante técnicas de RIA. En ese mismo mes y año, durante un simposium sobre hormonas lactogénicas (Fundación CIBA, WOLSTEHONLME y KNIGHT 1972) la PRLh quedaba fundamentada gracias a los trabajos de FRIESEN, BELANGER, GUYDA y HWANG (1972), TURKINGTON (1972)^c, FRANTZ, KLEINBERG y NOELL (1972)^a, FORSYTH (1972), BRYANT y GREENWOOD (1972), SILER, MORGENSTERN y GREENWOOD (1972) y APOSTOLAKIS, KAPETANAKIS, LAZOS y MADERA - PYRGAKY (1972). En Septiembre de 1971 FRANTZ, KLEINBERG y NOELL (1972)^b demostraron una clara correlación entre bioensayos "in vitro" y RIA, basados en el material inicial proporcionado por el laboratorio de FRIESEN, poco después de que BRYANT, SILER, GREENWOOD, PASTEELS, ROBUYN y HUBINOT (1971) publicaran el primer método de RIA con material extraído de hipófisis humana. En marzo de 1972, durante la mesa de trabajo sobre Prolactina y Carciogénesis (BOYNS y GRIFFITHS 1972), junto a las comunicaciones sobre métodos de aislamiento y caracterización físico-química se publicaron, en forma de revisión, los primeros resultados obtenidos hasta entonces con métodos de RIA (FRIESEN, HWANG, GUYDA, TOLIS, TYSON y MYERS 1972; L'HERMITE, DELVOYE, NOKIN, VEKEMANS y ROBYN, 1972; GREENWOOD, SILER, BRYANT y MORGENSTERN, 1972).

En 1972, como resumía COTES en la discusión publicada en el simposium de Cardiff sobre estandarización de PRL, quedaba claro que cualquier intento de comparación entre los distintos laboratorios preocupados por el problema caía en un desastroso estado de confusión, derivado de la heterogeneidad de los materiales iniciales para el desarrollo de las técnicas personales. Para obviar tal problema se concluyó en la creación (por la Agencia Nacional de Hipófisis integrada en la NIAMDD) de "Kits" de RIA con material homogéneo que permitiera la realización de comparaciones respecto a un estándar común; en enero de 1973 este material se encontraba dispuesto para su utilización. Por otra parte COTES (1973) preparó un estándar común ("standar A"; código 71/222) dedicado a su utilización como material de comparación interlaboratorio. Del mismo modo, siguiendo las directrices de BANGHAM y BORTH (1972), se marcaron una serie de criterios que debían de ser cubiertos por cualquier método de inmunoensayo que midiera la hormona; de ellos destacaba la necesidad de presentar un mismo grado de bio e inmunopotencia de los extractos, paralelismo entre las curvas dosis-respuesta, ausencia de efecto para las hormonas con acción o estructura relacionada que pudieran estar presente en los extractos, y apreciación de cambios en las concentraciones plasmáticas que reflejaran "a priori" especulaciones supuestas. Como consecuencia de esta selectividad de criterios quedó comprobado que de los diferentes RIAs, homólogos y heterólogos, basados en material hipofisario o de cultivo tisular, al ser comparados respecto a un estándar común tan solo dos ensayos homólogos presentaron criterios que les permitiese perdurar (GREENWOOD, LIND y BRYANT 1973).

Sin entrar en grandes detalles técnicos de los distintos métodos publicados, pasaremos revista a las diferentes técnicas utilizadas en la especie animal y en el humano.

4B-1) PRL animal.

No cabe duda de que la importancia de la PRL en el reino animal ha hecho que se disponga de un buen número de

métodos de RIA, por lo menos para aquellas especies más importantes desde el punto de vista económico, de laboratorio o de estudio de endocrinología comparada. Por otra parte, y afortunadamente dada la cantidad de especies existentes, la especificidad de especie de las hormonas peptídicas es mucho menos que absoluta por lo que en circunstancias favorables una PRL purificada en una cierta especie animal puede ser utilizada para la medida en otra especie distinta.

4B-1 a) PRL. Ovina, Caprina y Bovina. Su técnica se ha visto facilitada por la escasa dificultad observada en la producción de anticuerpos (en conejillos de indias y conejo) y método de radiiodación, aunque la forma ovina es susceptible de dañarse durante el marcaje.

La primera comunicación de un método de RIA para las formas ovina nace directamente con la técnica de purificación (ARAI y LEE 1967). El ensayo fue desarrollado utilizando PRLo (NIH-P-S6), antisuero de conejillo de indias y antisuero anticonejo de india obtenido en el conejo, en un sistema metodológico que utilizaba una técnica de doble anticuerpo para la separación. Se utilizó albúmina sérica humana como proteína transportadora, tras la iodación, para realizar la purificación de la hormona marcada en gel de almidón. Se observó una amplia reacción cruzada entre PRLo y suero anti PRLo.

BRYANT y GREENWOOD (1968) comunicaron un RIA basado en la utilización del anterior material inicial (PRLo NIH-P-S6) y antisuero producido en el conejillo y conejo, realizando la separación entre las fracciones ligadas y libre mediante cromatografía electroforesis, posteriormente modificada en un ensayo con carbón dextrano. El ensayo pudo ser aplicado para la determinación de la hormona en plasma en la cabra, oveja y vaca. Posteriormente se comunicaron, con técnicas independientes, RIAS para PRL caprina, ovina y bovina; los antisueros para la PRLb (NIH-P-B2) y la PRLo

(NIH-P-S7) fueron preparados en el conejillo de indias utilizando una dose estandar NIH, purificado por cromatografía, para la curva de calibración. La técnica de separación escogida fue la de doble anticuerpo, empleándose el ensayo para la determinación de hormona en la vaca y en la cabra.

SCHAMS y KARG desarrollaron en 1969 y 1970 un método utilizando PRL bovina, lo que les permitió negar afirmaciones previas sobre ciertas determinaciones plasmáticas en animales tan distintos como la cabra y la vaca.

4B-1b) RIA para PRL en Peces. Se ha demostrado que la PRL de pez (PRLf) precipitaba con antisuero anti-PRLo y que el anticuerpo para aquella, obtenido en el conejo, precipita con PRLo. La disociación del complejo de precipitación de sistemas homólogos se ha usado para recuperar PRLo y PRLf purificadas. Parece ser que bajo esta base se ha podido desarrollar un RIA para PRLf, y para otras especies con reacción cruzada. Se han comunicado una serie de ensayos que han permitido detectar inmunoreactividad en extractos hipofisarios y en plasma de varias especies de teleosteos, con dos sistemas compuestos de PRL porcina marcada, antisuero de conejo de una PRLh químicamente alterada, y PRL porcina marcada y suero anti-PRLo.

4B-1c) RIA para PRL de Rata y Patón. La primera comunicación fue realizada por KWA en 1965, quien aisló PRL de una fracción granular de un tumor hipofisario de rata inducido por estrógenos. En colaboración con VERHOFSTAD (1968) prepararon un anti-suero específico desarrollando un método isotópico de RIA. En 1970 Van Der GUGTEN, SALA y KWA desarrollaron un método mucho más sensible que utiliza una técnica de doble anticuerpo para la separación de fracciones. El método desarrollado por la escuela de KWA se mostró altamente específico, realizándose varias comunicaciones sobre las modificaciones de secreción en distintos estados fisiológicos (KWA y VERHOFSTAD 1968).

ELLIS, GRINDELAND y NUENKE (1968) y ELLIS, GRINDELAND, NUENKE y CALLAHAN (1969) han descrito la preparación y potencia biológica de PRL hipofisaria de rata normal, y la producción de un antisuero específico que es inmunológicamente indistinguible del obtenido por el grupo de KWA. En base a estos hallazgos, GRINDELAND, McCULLOCH y ELLIS (1969) describen un RIA con técnica de doble anticuerpo utilizando un estandar de PRL hipofisaria normal, comprobando la identidad de resultados con los trabajos previamente comunicado por el grupo de KWA.

NISWINDER, CHEN, MIGDLEY, MEITES y ELLIS (1969) han desarrollado una RIA de doble anticuerpo utilizando la preparación de ELLIS (NIV-8-C) tanto para la radio-iodinación como para la obtención del antisuero; los resultados eran expresados en términos de unidades de peso de PRL bovina NIH-P, de tal modo que 1 mg equivalía a 1,24 mg del estandar NIH-P-BP1. AMENORI, CHEN y MEITES (1970) utilizaron este RIA en un estudio con muestras plasmáticas e hipofisarias comunicando ciertos detalles metodológicos, así como cierta interferencia inespecífica con proteínas séricas.

HAUG y GAUTVIK (1976) han publicado recientemente un método homólogo con material de rata proporcionado por el NIAMDD, en el que la separación de las fracciones B/F se realiza mediante fase sólida con anti γ G de oveja contra conejo conjugado a celulosa.

El primer RIA de PRL de ratón fue comunicado por KWA, VERHOFSTAD y Van Der BENT en 1967 al disponer de material suficiente derivado de un prolactinoma inducido por estrógenos. La PRL marcada presentaba una capacidad de ligazón del 63% con un antisuero homólogo, aunque también lo hacía a un antisuero anti-PRLo y un antisuero anti-PRL de rata. Ello permitió comprobar la suposición sobre la posible existencia de una reacción cruzada entre suero anti-PRLo y PRL de ratón. Aunque el sistema homó

logo PRL de ratón/antisuero PRL de ratón fue utilizado en ensayos fisiológicos se demostró más adelante que la ausencia de inhibición en algunas muestras de plasma, y un bajo grado máximo de unión de la hormona marcada, sugería la necesidad de un mayor grado de purificación del material inicial utilizado para la iodación y la inmunización y, por tanto, un mayor grado de sensibilidad.

4B-1d) RIA para PRL de Perro. En 1971 BRIANT, SILER, GREENWOOD, PASTEELS, ROBUYN y HUBINOT comunicaban la detección, en extractos salinos de hipófisis de perro, de inmunoactividad trabajando con un RIA humano homólogo, así como en varios sistemas heterólogos (PRLo marcada/anti-PRLh de conejo, PRL porcina marcada/anti-PRLo de conejo y PRL porcina marcada/suero anti-PRLo en humano). Posteriormente JONES y BOYNS (1976) y JONES, BROWNSTONE y BOYNS (1976) comunican un método heterólogo con anticuerpo anti-PRL de perro y PRL en rata marcada, y KNIGHT, HAMILTON y SCANES (1977) utilizan, partiendo como JONES y col. de extractos hipofisarios de perro, el primer método homólogo con técnica de doble anticuerpo. Se han comunicado también sistemas de RIA para cerdo, mediante un sistema heterólogo con anticuerpo anti-PRLo (Van LANDEGHEM y Van De WEIL 1978), para conejo, también heterólogo y utilizando anticuerpo humano obtenido del conejillo de indias (MCNEILLY y FRIESEN 1978)^a, y para el pavo (MCNEILLY, ETCHES y FRIESEN 1978).

4B-2) RIA para la PRL Humana y de Primate.

Como se ha comentado en la introducción de este apartado, el retraso para obtener un RIA específico para humanos, al igual que en primates, fue la gran dificultad inicial en obtener la hormona de forma aislada y separada de la HC. Ello se conseguía en 1971 al publicar HWANG, GUYDA y FRIESEN un artículo en el que estudian la capacidad de inmunoprecipitación, frente a un antisuero anti-PRLo, de las proteínas sintetizadas con leucina H3 en un sistema "in vitro" de hipófisis de mono. De la misma manera, el material obtenido de una adenoma hipofisario humano precipitaba 31 veces más radioacti

vidad frente al mismo antisuero anti-PRLo que frente a un antisuero anti-HCh. Mediante una técnica de cromatografía de afinidad utilizando anticuerpo anti-LPh unido a sefarosa GUYDA y FRIESEN (1971) obtienen una fracción purificada de PRL de mono que fue utilizada para realizar inmunizaciones específicas, publicando ese mismo año el primer ensayo de PRL en mamíferos superiores (GUYDA, HWANG y FRIESEN 1971). Sin embargo, la especificidad del ensayo dependía de la utilización de una cantidad trazadora de PRLo, y aunque permitía determinar PRLh de hipófisis no detectaba concentraciones plasmáticas ni aún en muestras de pacientes con galactorrea. Aunque ello obligaba a la obtención de hormona altamente purificada para obtener un sistema homólogo de RIA, el grupo de trabajos iniciales a los que me he referido dejaba abierto el camino para la producción de los distintos sistemas de RIA para PRLh, que a continuación se resumen (Tabla II) y que han sido revisados recientemente por JACOBS (1974).

4B-2a) Ensayos Heterólogos. En 1971 GUYDA y FRIESEN describen el primer RIA capaz de detectar PRL en humanos. Utilizan como antígeno LPh, HCh y PRLo combinados con adyuvante de Freund, que eran inyectados a conejos durante cuatro semanas (1 mg/semana). Realizan también inmunizaciones con una preparación cruda de PRLm tras separar la actividad correspondiente a HCM. Tras la obtención de PRLh y PRLm de extractos secos de hipófisis humana y de mono, y utilizando PRLo marcada con Iodo-131 observan, en base al método de doble anticuerpo de BEC y col., que los anticuerpos obtenidos no sólo mostraban actividad cruzada con PRLo sino que permitían la distinción de PRLh y PRLm de HCh y HCM; sin embargo la sensibilidad del ensayo era escasa, no permitiendo la medida de hormona circulante. Ese mismo año HWANG, GUYDA y FRIESEN (1971) describen un método, basado en los hallazgos antes mencionados, que utiliza PRLm marcada y purificada, mediante cromatografía de afinidad, con anticuerpo anti-PRLo; como estandar, al no disponer de PRLh purificada, utilizan una muestra de suero de mujer embarazada que contenía 161 ng/ml de equivalentes de PRLo medidas

Tabla II

DISTINTOS TIPOS DE RIA UTILIZADOS PARA LA MEDIDA DE PRLh.

<u>Tipo de Ensayo</u>	<u>Material empleado para la obtención del antisuero</u>	<u>Material de marcaje</u>
HETEROLOGOS		
GUYDA, HWANG y FRIESEN 1971	PRL de mono	PRL ovina
HWANG, GUYDA y FRIESEN 1971	HC humana	PRL de mono
JACOBS, MARIZ y DAUGHADAY 1972	PRL ovina	PRL porcina
DAUGHADAY, MIDGLEY y JAFFE 1972	PRL ovina	PRL humana
HOMOGENEOS		
L'HERMITE y col. 1972	PRL ovina	PRL ovina
HWANG, GUYDA y FRIESEN 1971	PRL de mono	PRL de mono
HOSIMOVICH, BOCCELLA y LEVITT 1971	Somatomamotropina corionica humana carbamidometilada	Somatomamotropina corionica humana
HOMOLOGOS		
BRYANT y col. 1971	Extractos tisulares de hipófisis humana fetal en cultivo	El mismo
FRIESEN y col. 1972	PRL humana	PRL humana
SINHA y col. 1973	PRL humana	PRL humana
COLE y BOYNS 1973	Extractos de líquido amniótico humano	PRL humana

Según L'HERMITE (1973)

por bioensayo, y menos de 5 ng/ml de HCh; como anticuerpo utilizan el obtenido por GUYDA y col. y como segundo anticuerpo anti suero de conejo obtenido de la oveja. Con él comprueban que el estandar utilizado y los extractos hipofisarios humanos son inmunológicamente indistinguibles.

En 1972 JACOBS, MARIZ y DAUGHADAY publican un nuevo método que utiliza para inmunización PRLo, y PRLp para la iodinación con I-125. El estandar usado fue obtenido de plasma de una paciente acromegalica que presentaba un gran tumor hipofisario y lactación, y que contenía una actividad de 60 mUI/ml de PRLo medida por bioensayo; la separación de las fracciones ligada y libre se realizó mediante técnica de doble anticuerpo, modificada mediante la adición de 3 ml de agua destilada fría.

Nuevamente, en 1972, MIDGLEY y JAFFE, basándose en la observación de L'HERMITE de que el suero de mujeres tras el parto inhibe la unión de PRLo a su anticuerpo, desarrollan un sistema de RIA que no es otro que la modificación de un ensayo previamente utilizado por DAVIS y col. para la cuantificación de PRLo. En él utilizan como material inmunizante PRLo, como material radiactivo PRLh, y como estandar dos "pools" de sueros procedentes de mujeres en período postparto.

En 1973, BUCKMAN y PEAKE describen un nuevo sistema que utiliza el método clásico de inmunización con PRLo, PRLp marcada y estandar de PRLh; el sistema es muy semejante al de JACOBS y col. (1972). GAUTVIK, TASHJIAN, KOURIDES, WEINTRAUB, GRAEBER, MALOOF, SUZUKI y ZUCKERMAN describen en 1974 una nueva modificación al método de JACOBS y col. (1972) utilizando anticuerpo anti-PRLo, PRL bovina marcada mediante una modificación del método clásico de la cloramina T, y estandar de PRLh.

4B-2b) Ensayos "Homogéneos". HWANG, GUYDA y FRIESEN comunican en 1971, una vez purificada la PRL de mono, un ensayo en líneas generales similar al descrito en el apartado anterior pero en el

que utilizan el mismo material de mono para la obtención del anticuerpo y la hormona marcada. JOSIMOVICH, BOCELLA y LEVITT (1971) publican un nuevo método basado en la utilización de somatomamotropina placentaria humana (SPh). La SPh era reducida con beta-mercaptoetanol y hecha reaccionar con yodoacetamida tras lo que se utilizó para la inmunización de conejos albinos. Fue marcada con Iodo-131, y la separación entre las fracciones ligada y libre se realizó mediante carbón-dextrano; la curva estandar fue construída mediante diluciones simples de una concentración conocida de SPh-carbamidometilada (SPh-C). El anticuerpo anti-SPh-C se ligaba a un antígeno plasmático (PRL) del suero de mujeres embarazadas neutralizando su actividad lactogénica medida por bioensayo, y aunque permitió la detección de PRL en suero de mujeres postparto no cuantificó el de otras 6 mujeres no embarazadas.

L'HERMITE, DELVOYE, NOKIN, VEKEMANS y ROBYN describen en 1972 un método homogéneo, nuevamente modificado del de DAVIS y col. para la oveja. El material inmunizante es PRL que, altamente purificada, era marcada con Iodo-125, sirviendo, asimismo, para la construcción de la curva estandar; las fracciones libre y ligada se separaron mediante doble anticuerpo. La comprobación de su actividad para PRLh fue controlada con material hipofisario procedente del cultivo de hipófisis fetales, mostrándose altamente específico con un límite de detección de 2-3 mU.

4B-2c) Ensayos Homólogos. Como se ha comentado en la primera parte de este apartado, el mayor problema de la obtención de una RIA homólogo quedaba solucionado, al menos teóricamente, al identificarse y aislarse la PRLh sin otras actividades hormonales. BRYANT, SHILER, GREENWOOD, PASTEELS, ROBYN y HUBINOT (1971) comunican un RIA homólogo en el que utilizan PRLh obtenida de un cultivo a largo plazo de hipófisis fetales humanas, anticuerpo de conejo, material purificado como estandar, y carbón-dextrano para la separación de las fracciones B y F.

En 1972 FRIESEN, WERSTER, HWANG, GUYDA, MUNRO y READ, y FRIESEN, HWANG, GUYDA, TOLIS, TYSON y MIERS publican un RIA homólogo basado en la misma técnica utilizada previamente en el ensayo homogéneo. Las fuentes de obtención de PRL fueron el material procedente de un adenoma hipofisario productor de PRL mantenido en cultivo, y el polvo seco de hipófisis procedente de hipófisectomías no tumorales. El líquido de cultivo, que contenía leucina H^3 , era recogido y tras filtración en Sephadex G100 pudieron obtener un pico simple de proteína H^3 que coincidía con el de distribución de HCh, siendo precipitado en su mayor parte por un suero anti-PRLo. El método final de extracción y purificación, separándola de HCh, pudo conseguirse tras electroforesis en gel de acrilamida a pH alcalino y a pH ácido, momento en el que pudieron separarse claramente ambas hormonas. Tras cromatografía de afinidad usando anti-PRLh-sefarosa o anti-PRLo-sefarosa pudieron conseguir la purificación total, disponiéndose de hormona pura para inmunización, marcaje y construcción del estandar; las fracciones obtenidas por ambos métodos mostraban clara reactividad cruzada, y la potencia de la preparación era la misma que la mostrada por otros ensayos. La técnica se completaba mediante extracción de las fracciones B y F con doble anticuerpo, obteniéndose una resolución entre 0,5 y 2 ng/ml.

SINHA, SELBY, LEWIS y VANDERLAN (1973) publican un método que en general sigue las líneas trazadas por BRYANT y FRIESEN. Obtienen PRL del material hipofisario previamente utilizado en la separación de PRLh-HCh (LEWIS, SINGH y SEAVEY 1972), y la obtención del anticuerpo anti-PRLh se realiza por una modificación de la inmunización a conejo mediante inyección inicial en los linfáticos popliteos seguida de varias inyecciones subcutáneas. Para el marcaje se utilizaba este estandar y la técnica de cloramina T, presentando como única peculiaridad el largo tiempo de incubación de la fracción PRLh problema-anticuerpo anti-PRLh, que duraba 3 días a cuatro grados frente a las 24 horas de los otros procedimientos. La separación se realizaba mediante doble anticuerpo estimándose la potencia y resolución del método en 1ng/ml.

Por último, SCHMIDT-GOLLWITZER y SAXENA (1975) describen un método en el que utilizan PRLh y anticuerpo de LEWIS y FRIESEN, comprobado con anticuerpo propio obtenido del conejo. El método presenta como única modificación la separación de las fracciones B y F mediante una solución de etanol al 66% y acetato amónico. WOOD, SHAHWAN y MARKS (1975) comunican una modificación a la técnica estandarizada por el NIAMDD y basada en la crítica del método de yodación con cloramina T proponiendo una técnica con lactoperoxidasa; en el resto de la técnica se utiliza anticuerpo de conejo e incubación durante 3 días a 4° C. La sensibilidad del método fue cifrada en 0,5 ng/ml.

5. FISIOPATOLOGIA DE LA SECRECION DE PROLACTINA. CONCENTRACIONES EN DISTINTOS ESTADOS PATOLOGICOS.

Aunque los valores de PRL en diversas condiciones fisiopatológicas es posible que tengan que ser revisados, puesto que no han sido realizados en las mismas condiciones estandar, no es menos cierto que la simple determinación en un momento dado ha aportado una gran cantidad de conocimientos sobre las modificaciones fisiopatológicas de la hormona que nos ocupa. Tras estudiar las concentraciones normales pasaré revista a los valores a lo largo de la vida, especialmente femenina, con especial énfasis en las modificaciones que pueden aparecer durante los distintos períodos de la vida sexual, para terminar con el estudio de todos aquellos procesos que pueden condicionar una elevación o disminución patológica.

5A) Concentraciones Basales.

La introducción de las técnicas de RIA permitió la determinación de la concentración de PRL en la especie humana, dado que los métodos de bioensayo no detectaban estos niveles, no sólo en mujeres normales, sino que tampoco lo hacían durante el embarazo

(KLEIMBER y FRANTZ 1971; TURKINGTON 1971^a; FORSYTH 1972). Aunque en general los valores medios se mueven dentro de límites más o menos estrechos no son idénticos para todos los autores. En el varón la cifra media se encuentra entre 6-13 ng/ml, y en la mujer puede llegar a 15 ng/ml. FRANTZ (1977) cita cifras más significativas entre ambos sexos, con diferencias estadísticamente significativas: $4,72 \pm 2,82$ ng/ml en el varón frente a $8 \pm 4,96$ ng/ml en la mujer, con rangos mucho más amplios en éstas (entre 1 y 25 ng/ml). Todos los resultados basales se cifran tras extracción a la misma hora y en las mismas condiciones experimentales, y son distintas dentro del mismo sexo respecto al grado de desarrollo y madurez corporal.

5B) Concentraciones Fetales, Neonatales y en Líquido Amniótico.

La PRL fue demostrada por primera vez en la hipófisis de fetos humanos por PASTEELS, BRAUMAN y BRAUMAN en 1963, aunque sus resultados fueron criticados debido a que en aquella época no se podía diferenciar la actividad lactogénica entre HC y PRL. LEVINA, en 1968, (citado por KAPLAN y col. 1976), confirmó la presencia de bioactividad hipofisaria para PRL en fetos de 18 semanas, y en 1974 SILER-KHODR, MORGENSTERS y GREENWOOD demostraron la presencia de bioactividad sintética para PRL en cultivo de hipófisis fetales.

Recientemente KAPLAN, GRUMBACH y AUBERT (1976) han publicado un amplio estudio sobre las modificaciones de PRL en hipófisis fetales. Entre los 68-110 días de gestación las concentraciones hipofisarias totales eran sumamente bajas, inferiores a 2 ng/ml, momento a partir del cual aumenta rápidamente para alcanzar los máximos niveles en las últimas semanas del embarazo, cuando se registran valores tan elevados como 2039 ± 159 ng/ml. Tal incremento se correlacionó bien en todos los grupos estudiados respecto a la edad de gestación, no existiendo correlación respecto al sexo del feto y al contenido total de PRL hipofisaria (AUBERT, GRUMBACH y KAPLAN 1975). Las concentraciones sé -

ricas en los fetos más jóvenes oscilaron alrededor de 6 ng/ml a los 88 días de edad, apareciendo un patrón bifásico de secreción durante todo el período de gestación. Entre las semanas 11 y 29 se apreció un nivel estable (20 ng/ml), y a las 30-40 semanas se detectaba un rápido incremento (368 ng/ml) que se mantenía hasta el final de la gestación.

De gran interés en la amplia revisión de KAPLAN y col. (1976) fue el estudio de la concentración sérica de PRL en cinco fetos anencéfalos durante los dos primeros días de vida. Pudieron comprobar que los valores circulantes eran semejantes a los de los niños normales, y la administración de TRF producía un incremento de cuatro veces los valores basales, lo que les permitió sugerir la idea de que durante la gestación no era necesaria la presencia de un factor estimulador hipotálamico específico para la síntesis y liberación de la hormona fetal, apoyando la hipótesis anteriormente sugerida por HAYEK, DRISCOLL y WARSHAW (1973).

La concentración de PRL en fetos recién nacidos es similar a los valores maternos, declinando progresivamente para alcanzar los niveles del adulto hacia las 6 semanas de vida (HWANG, FRIESEN, HARDY y WILANSKI 1971). El patrón de secreción de PRL fetal y materna durante la gestación es similar (TYSON, HWANG, GUYDA y FRIESEN 1972) pero la existencia de un paso transplacentario limitado, y la persistencia de PRL elevada en el neonato, facilita el concepto de que la secreción materna y fetal son independientes. Es interesante señalar que el rápido incremento observado durante la última parte de la gestación puede estar directamente relacionado con el incremento de estrógenos circulantes de este período; potencia tal asociación el hecho de que durante la gestación del Macaco Rhesus este incremento es escaso, al igual que el de los estrógenos maternos. Sin embargo, trabajos recientes de WALSH, WOLF, MEYER, AUBERT y FRIESEN (1977) refieren un incremento sustancial de las concentraciones de PRL hacia las dos últimas semanas antes del parto.

La PRL ha sido también determinada en la sangre venosa umbilical de fetos a término, con concentraciones medias de 167 ng/ml (KAPLAN y col. 1976). Recientemente BADAWI, Van EXTER, DELOGNE-DESNOECK, Van MEENEN y ROBUYIN (1978) en un amplio estudio sobre 581 determinaciones, demuestran y confirman las altas concentraciones en la sangre umbilical (cinco veces más altas que en adultos) sin diferencia respecto al sexo del neonato, e incrementándose respecto al peso fetal; tan solo en gemelos las concentraciones son menores que en recién nacido únicos.

He comentado previamente que el líquido amniótico es una importante fuente de PRL, debido a la alta concentración que contiene (TYSON y col. 1972). En las primeras 20 semanas de gestación los valores oscilan entre 1,2-7 $\mu\text{g/ml}$ declinando paulatinamente hasta el término del embarazo, momento en el que alcanzan cifras de 300-150 ng/ml. Estas cifras se correlacionan directamente con las cifras sanguíneas maternas, excepto durante el primer trimestre en el que se encuentran cifras mucho más altas en el líquido amniótico que en la sangre circulante. CLEMENTS, REYES, WIINTER y FAIMAN (1977) han confirmado estas modificaciones, llamando la atención sobre la disparidad observada respecto a las cifras plasmáticas maternas y fetales especialmente en la segunda mitad del embarazo (FANG y KIM 1975; SCHENKER, BEN-DAVID y POLISCHUK 1975; FREEMAN, LEV-CUR, BOYAR y SCHULMAN 1976).

Sobre lo que no existe evidencia definitiva es respecto a la naturaleza y origen de esta PRL amniótica. La inyección de PRLh marcada en el saco amniótico permite apreciar que la transferencia de la madre al feto es pequeña (FRIESEN, HWANG, GUYDA, TOLIS, y MYERS 1972); experimentos de incubación han aportado la idea de que parte de ella puede ser liberada al medio desde el amnio y el corion. Basados en el hecho de que gran parte del líquido amniótico procede de la orina fetal se ha sugerido que es el feto quien contribuye a esta hiperprolactinemia amniótica. JOSIMOVICH, WEISS y HUTCHINSON (1974) han comunicado la ligera transferencia de PRL-IBI desde la sangre fetal, aunque CLEMENTS y col. (1977)

no han encontrado una relación directa entre el contenido hipofisario de PRL y las concentraciones plasmáticas respecto a las concentraciones amnióticas, aunque la existencia de un patrón de secreción, especialmente hacia la 15-20 semana, que justifique tal procedencia es posible. CHOCHINOW, KETAPUNYA, MARIZ, UNDERWOOD y DAUGHADAY (1976) han sugerido, por último, que el riñón fetal puede en las primeras semanas del embarazo, debido a su inmadurez, excretar PRL rápidamente, mientras que en las últimas etapas la madurez renal condiciona una disminución de esta secreción, y justifica una disminución en el contenido amniótico frente a una mayor concentración plasmática. Recientemente FRAME, WILEY y ROGOL (1979) han demostrado mediante inmunofluorescencia que la capa de células deciduales del trofoblasto en la placenta a término es el lugar de localización, y posible síntesis, de la PRL del líquido amniótico.

5C) Concentraciones Puberales y Durante el Ciclo Menstrual.

Parece claro que las diferencias observadas entre los machos y las hembras se establece al iniciarse la pubertad de estas (EHARA, YEN y SILER 1975). Sin embargo, el incremento en la concentración de PRL durante esta época es modesto, especialmente si se compara con las cifras de LH y FSH. Estas modificaciones, como más adelante comentaré, se han implicado en una acción directa de PRL en la inducción de la pubertad, no solo en la hembra sino también en el macho.

La tasa plasmática de PRL durante el ciclo menstrual es uno de los problemas aún no resueltos. Las comunicaciones iniciales sugerían un incremento del 50% hacia la mitad del ciclo respecto a los valores en la fase folicular, así como un incremento en la fase luteal (COPPEDGE y SEGALOFF 1951; VEKEMANS, DELVOYE, L'HERMITE y ROBUYN 1972), tanto trabajando con muestras urinarias y bioensayo como con las técnicas primitivas de RIA. También pueden apreciarse trabajos contradictorios como los iniciales de

de HWANG, GUYDA Y FRIESEN (1971) y FRIESEN Y HWANG (1973); sin embargo, en una comunicación posterior indicaban que las concentraciones medias en sangre eran claramente más altas durante la fase luteal, momento en el que las fluctuaciones diarias de secreción eran mucho más acusadas. En 1973 ROBYN, DELVOYE, NOKIN, VEKEMANS, BADAWI, PEREZ-LOPEZ y L'HERMITE comunican, en un estudio prospectivo sobre 28 mujeres con períodos regulares, que el incremento en la fase folicular alcanza un pico casi semejante al de LH en la mitad del ciclo, al mismo tiempo que comprueban amplias fluctuaciones durante la fase luteal pero a un nivel más elevado que durante la primera mitad del ciclo. En las mismas fechas DELVOYE, HASAN, L'HERMITE, NEUMANN y ROBYN (1973) con una estandarización más precisa, comunican resultados similares y observan como los estrógenos siguen un patron similar; la PRL precedía en un día al pico de LH y disminuía discretamente tres días después del pico ovular, para caer a los niveles más bajos al inicio de la hemorragia menstrual. El patrón bifásico apreciado durante la segunda fase del ciclo era similar al de progesterona.

McNEILLY y CHARD (1974) comunican que las modificaciones de la tasa de PRL durante el ciclo menstrual son irregulares e inconstantes, si bien algunas mujeres presentan valores algo mayores en el momento de la descarga ovulatoria de LH, y valores algo superiores a los de la fase folicular durante la fase luteal. FRANCHIMONT, REUTER, VRINDST-GEVAERT, Van CAUWENBERGE, DOURCY, REMACLE, LEGROS, COLIN y GASPARD (1976), en una comunicación personal, han corroborado los resultados anteriores e indican que durante el ciclo puede apreciarse la existencia de variaciones no sistemáticas en la tasa de secreción, con los valores más elevados durante la fase ovulatoria y luteal. En cada una de las mujeres estudiadas, durante tres ciclos consecutivos, se aprecia claramente una tasa media superior a la obtenida en fase folicular durante los días del período ovular, y valores superiores a los foliculares, pero menores que los ovulatorios, durante la fase luteal. En un trabajo reciente VEKEMANS,

DELVOYE, L'HERMITE y ROBYN (1977) comunican resultados similares a los comentados pero con modificaciones moderadas si se comparan con las apreciadas para LH; reconocen, además, que estas modificaciones pueden ser difíciles de identificar al estudiar ciclos individuales, dada la labilidad de la secreción de PRL y que pueden verse modificadas según el tipo de RIA utilizado.

Frente al gran número de trabajos publicados a favor de las modificaciones comentadas existen otros que no aprecian ninguna diferencia a lo largo del ciclo (HWANG, GUYDA y FRIESEN 1971; McNEYLLY, EVANS y CHARD 1973; MIDGLEY y JAFFE 1973; EHARA, SILER, VANDERBERG, SINHA y YEN 1973; EPSTEIN, McNEILLY, MURRAY y HOCKADAY 1975). Sin embargo, es de destacar que alguno de ellos como el grupo de HWANG, GUYDA y FRIESEN, comunicaron posteriormente correcciones a sus resultados iniciales con apreciaciones de niveles más elevados durante la fase luteal, momento en el que las fluctuaciones diarias de secreción eran mucho más acusadas. McNEILLY y col. (1973) han sugerido, al igual que posteriormente VEKEMANS y col. (1977), que estas discrepancias pueden ser consecuencia de variaciones secretorias en pequeños intervalos de tiempo, dado que la liberación de PRL no es continua.

5D) Concentraciones durante el Embarazo, Postparto y Lactancia.

Una de las diferencias más importantes a nivel de fisiología humana y animal reside en el hecho de que los niveles de PRL aumentan gradualmente hasta el final del embarazo humano (L'HERMITE y ROBYN 1972; de HERTOOG, THOMAS BIELTLOT, Van Der HEYDEN y FERIN 1975) a diferencia de lo que ocurre en los primates quienes presentan niveles bajos durante todo el embarazo, siguiendo un curso paralelo con las fluctuaciones de estrógenos plasmáticos.

Las concentraciones plasmáticas, que alcanzan su máximo nivel hacia el tercer trimestre, permanecen elevadas hasta el momento del parto tras el cual caen rápida y progresivamente

hasta valores normales, lo que se alcanza hacia los 15 días si la madre no lacta a su hijo. Es interesante señalar a este respecto que el total desarrollo de la mama lactante se produce hacia el 3er-4º día del puerperio, en el momento en el que los niveles de PRL han descendido a la mitad de los hallados en el momento del parto; parece obvio que la prolactina sola no es el único factor envuelto en la iniciación de la lactancia, aunque es el factor primordial para este inicio y su mantenimiento (SCHAMS 1976).

En las madres que lactan los niveles de PRL varían marcadamente, con incrementos abruptos después de cada período de amantamiento (BRYANT, SILVER, GREENWOOD, PASTEELS, ROBYN y RUBINOT 1971; JAFFE, L'HERMITE y MIDGLEY 1972). Los valores máximos se aprecian a los 30 minutos del inicio de la succión (FRANTZ, KLEIMBERG y NOEL 1972) declinando posteriormente hasta niveles basales (NOEL, SUH y FRANTZ 1974), aunque es probable que no se produzca una cesación secretora completa. Es interesante que la línea basal de PRL en mujeres que lactan pueden estar dentro del rango normal (TYSON, FRIESEN y ANDERSEN 1972).

Por otra parte, mientras el incremento de los niveles de PRL en respuesta a la estimulación del pezón por el niño es modo durante los primeros días del postparto y se hace mayor hacia los días 9-10 (L'HERMITE, STRAVIC y ROBYN 1972), se aprecia un lento declinar aunque persista la lactación. REYES, WINTER y FAIMAN (1972) han comunicado que, aunque existan amplias variaciones en los niveles individuales, la secreción total es mucho mayor en la lactancia conseguida con éxito que en aquella no productiva.

Aunque más adelante se comentará ampliamente, citemos aquí que el estímulo que causa este incremento es la estimulación mecánica del pezón (FRANTZ y col. 1972) teniendo mayor importancia el mero fenómeno del contacto físico que los reflejos psíquicos acompañantes; una liberación de PRL de igual magnitud que la provocada por la succión se ha conseguido mediante la extracción

láctica con bomba (NOEL y col. 1974). La estimulación mamaria en mujeres menstruantes normales causa un significativo aumento de PRL en un tercio de las mujeres estudiadas, si bien KOLODNY, JACOBS y DAUGHADAY (1972) han comunicado que tal liberación se produce en todas las mujeres estudiadas por ellos. Se puede, pues, avanzar, que el reflejo de secreción de PRL por estimulación mamaria existe, al menos en forma latente, en todas las mujeres siendo ampliamente incrementado por los cambios hormonales del embarazo y postparto.

5E) Secreción Nocturna. Ritmo Nictameral y Ritmo Estacional

CLARK y BAKER, en 1964, describieron una periodicidad de tipo circadiana en la secreción de PRL de la rata, lo que fue posteriormente comprobado por DUNN, ARIMURA y SCHEVING (1972) y SINHA, SALOCKS, WICKES y VANDERLAAN (1977) al estudiar el contenido hipofisario de PRL.

También se ha descrito un ritmo similar en mono Rhesus (QUABBE, GREGOR, BUMKE-VOGT, ECKOHF, BOHLSCHEID y SCHOPPENHORST 1978). NOKIN, VEKEMANS, L'HERMITE y ROBYN (1972) describen el primer estudio humano sobre la ritmicidad de secreción de PRL, obteniendo los mismos valores de secreción entre la 1 y las 5 de la madrugada tanto en mujeres no embarazadas como en hombres normales; los valores más bajos fueron descritos hacia el mediodía y se indicó la pérdida de este ritmo en los últimos meses de embarazo.

SASSIN, FRANTZ, WITZMAN y KAPEN (1972) comunicaron, casi al mismo tiempo que NOKIN y col. (1972), que el incremento en la concentración de PRL se producía hacia los 60-90 minutos del inicio del sueño, aumentando progresivamente durante las restantes horas hasta alcanzar las máximas concentraciones entre las 5 y 7 de la madrugada, no apreciando diferencias significativas respecto al sexo como se había descrito en algunas especies animales.

Unos meses más tarde Van HAE~~L~~ST, GOLSTEIN, Van CANTER, L'HERMITE y ROBYN (1973) comprueban que esta descarga circadiana de PRL no estaba necesariamente relacionada con los ciclos sueño-vigilia, demostrando la existencia de liberaciones episódicas durante las 24 horas del día con niveles más bajos entre las 10 de la mañana y las 12 del mediodía. En este mismo estudio comprobaron cierta elevación coincidente con las horas de alimentación de los enfermos estudiados. Con el fin de definir la relación de la secreción nocturna respecto al sueño SASSIN, FRANTZ, KAPEN y WITZMAN (1973) estudian cuatro adultos normales durante una inversión parcial o completa del ciclo sueño-vigilia, comprobando que la PRL no se incrementaba hasta que no se había producido el sueño, con picos de secreción inmediatos y completos; por otra parte, aprecian que el estado de vigilia nocturna no produce secreción de PRL cuando esta ha ocurrido previamente durante el sueño. Estos resultados demuestran que la concentración nocturna de PRL aumenta o disminuye dependiendo de la ocurrencia de sueño, pero no de una secreción rítmica inherente a la hora del día como ocurre con el sistema ACTH-Cortisol. Esta relación no parece ser poseída por las ratas en las cuales ocurre una oleada secretoria durante la obscuridad, tanto en las hembras pseudoembarazadas (FREEMAN y NEILL 1972) como en los machos.

PARKER, ROSSMAN y VANDERLAAN (1974) analizaron las relaciones entre las liberaciones episódicas de PRL y la profundidad del sueño respecto a la presencia o ausencia de movimientos rápidos de los ojos (MRO). Tomando muestras de sangre cada 20 minutos apreciaron una correlación con los ciclos cortos, mostrando como con cada estado secuencial de sueño se produce un brusco incremento de PRL que coincide con el período en el que no se producen MRO; posteriormente se apreció una caída que precedía la aparición del ciclo siguiente.

Las concentraciones más bajas se apreciaron durante el sueño con MRO, y las más altas hacia la mitad del período MRO. En este estudio confirmaron el rápido descenso que ocurre al des

pertar en la mañana, no encontrando diferencias esenciales respecto a si el despertar ocurría durante un período no MRO o MRO. Además PARKER, ROSSMAN y VANDERLAAN (1973) han demostrado una correlación entre los períodos de sueño diurno (siesta) y la secreción de PRL. Aunque el incremento inicial tras el sueño se inicia al mismo tiempo que el de HC el pico máximo de PRL ocurre 40 minutos después que el de la hormona de crecimiento.

La relación entre la elevación de PRL durante el sueño y la existencia de un posible mecanismo de supresión del PIF ha sido estudiada por BOYAR, KAPEN, WITZMAN y HELLMAN (1976) en la especie humana. En una serie de 9 pacientes con diversos estados hiperprolactinémicos encuentran 7 con una ausencia del incremento normal de la secreción de PRL durante el sueño. Las concentraciones elevadas durante estos estados patológicos permanecieron sin modificaciones ostensibles tanto durante el sueño como en los períodos de vigilia, siendo de particular importancia la ausencia del descenso normal apreciado en los controles al despertar, lo que sugiere un fallo en el mecanismo inhibitor hipotalámico.

Los estudios del patrón de secreción de 24 horas en controles prepuberales y puberales, respecto a los adultos, revelan un patrón normal durante los períodos de maduración sexual, con un descenso de las cifras absolutas en la vejez, (FINKELSTEIN, WU y BOYAR 1974). Recientemente BADAWI y col. (1978) han demostrado la presencia de esta ritmicidad circadiana durante la vida fetal, en un momento en el que aún el ritmo de sueño no está totalmente establecido, no guardando relación con el ritmo de sueño de la madre, lo que permite sugerir que hay que tomar con ciertas reservas el papel del sueño en este incremento de la secreción de PRL. La amplitud del pico nocturno en el neonato se encuentra reducida si se compara respecto a la del adulto (ROBYN, DELVOYE, VEKEMANS, CAUFRIEZ, MICHAUX-DEUCHENE y L'HERMITE 1977), pero es muy similar al que presenta la mujer embarazada durante el último trimestre, momento en el que los niveles basales son muy altos; ello sugiere que en los casos de hiperprolactinemia no tumoral el pico nocturno de PRL se mantiene, pero a niveles más bajos.

KRIEGER, HOWANITZ y FRANTZ (1976) han comprobado una alteración de este ritmo nictamental en un grupo de pacientes afectados de patología de la secreción de ACTH y glucocorticoides. Los pacientes con enfermedad de Cushing mostraron una disminución significativa en el incremento nocturno, así como en el porcentaje de incremento respecto a un grupo normal. Los pacientes afectados de síndrome de Cushing o tratados con dosis terapéuticas de corticoides mostraron un descenso menos acusado, de tal modo que cuando se compararon ambos grupos las diferencias fueron claramente más elevadas en los pacientes con síndromes de Cushing. Todo ello permite suponer que las modificaciones observadas no son solo una consecuencia de la hipercortisolemia per se; los pacientes bajo terapéutica esteroidea o afectados de adenomas suprarrenales, que mantienen sus picos nocturnos, parece que permiten sostener esta suposición. Variaciones en el contenido o actividad de un neurotransmisor central, implicado en la regulación de los ciclos sueño-vigilia, pudiera ser el responsable de este tipo de alteraciones (JOUVET 1974) hecho sugerido, por otra parte, al observarse una respuesta normal de PRL tras el estímulo con TRH. Recientemente HAGEN, KEHLET y BINDER (1978) han confirmado en un estudio similar los datos publicados por KRIEGER y col. (1976).

MANN, KOROWITZ, MacFARLAND y COST (1976) han estudiado las interacciones del ciclo luz-oscuridad respecto a la secreción adrenal y administración de esteroides, comprobando que las elevaciones de PRL tras la administración de progesterona son independientes de las condiciones de luz, y sugiriendo que la interacción entre los ciclos de luz y los esteroides adrenales para sincronizar la liberación hormonal está mucho menos estrictamente relacionada con el control de PRL que, por ejemplo, en la liberación de LH, al menos en la rata. TARQUINI, GHERI, ANICHINI, NERI y BURICCHI (1977) han comunicado, estudiando un grupo de pacientes cirróticos, que la media diaria de la concentración de PRL durante un período de 24 horas no difiere de la de los controles, pero cuando los datos se relacionan en un análisis de coseno los pacien

tes cirróticos, en contraste con los controles, no presenta el ritmo circadiano. Aunque no encuentran una clara explicación para sus hallazgos, citan el trabajo de VEKEMANS y ROBYN (1975) en el que los autores estudian la influencia de la administración de estrógenos, encontrando como éstos reducen algo la amplitud del incremento nocturno, de forma similar a sus resultados en cirróticos.

PRLh parece presentar un ritmo circanual al igual que ha ocurrido en otras especies similares o con otras hormonas humanas (REINBERG, LAGOGUEY, CESSÉLIN, TOUITOU, LEGRAND, DELASSALLE, ANTREASSIAN y LAGOGUEY 1978). Así, por ejemplo, todos los rumiantes presentan una variación anual con un pico máximo en verano y un valor menor en invierno (SCHAMS y REINHARDT 1974) fenómeno que se ha interpretado como una respuesta a alguna de las variaciones climáticas como, por ejemplo, las observadas en el tiempo de duración de la luz diurna o la temperatura. Recientemente BUTTLE (1977) ha sugerido que la innervación simpática de la pineal está implicada en la expresión de las variaciones estacionales, explicando, además, una vía de conexión, a través de los ganglios cervicales anteriores, entre los ojos y la pineal que indujera modificaciones de la dopamina hipotalámica y, por tanto, de los niveles de PRL. BECK, HANCKE y WUTTKE (1978) han descrito en el mono Rhesus un pico anual entre junio y agosto, y una cifra más baja en abril o mayo y PETERS y TUCKER (1978) una relación de PRL respecto a los fotoperíodos y temperatura ambiental; temperaturas inferiores a 0°C suprimen en efecto de los fotoperíodos definidos por 16 h luz -8 h oscuridad, lo que no ocurre por encima de 0 y 21°C. Otros animales como la rata también sufren regulación de sus niveles de PRL por fotoperíodos (BETHEA y NEILL 1979).

5F) Strees

NOELL, SUN, STONE y FRANTZ (1972) comunicaron elevaciones de PRL en diversas condiciones de stress, entre las que se inclu-

ieron el ejercicio, las modificaciones tras la práctica de una gastroscopia, rectoscopia, en mujeres a los 10 y 30 minutos tras el coito, durante y después de la anestesia general y tras la hipoglucemia insulínica.

Los valores absolutos fueron corrientemente mayores en la mujer que en el hombre, aunque sin una marcada significación estadística. En general, los aumentos fueron de la misma magnitud que los observados para HCh, aunque la liberación no se produce necesariamente al mismo tiempo. Resultados similares han sido publicados por SOWERS, RAJ, HERSMAN, CARLSON y McCALLUN (1977) y MIYABO, ASATO y MIZUSHIMA (1977) quienes utilizando stress psicológico observan una mayor respuesta en mujeres neuróticas.

De todas las causas inicialmente citadas por NOEL y col. (1972) el efecto de la hipoglucemia insulínica se encuentra sujeto a reconsideración. Realmente, el grado de hipoglucemia que provoca el incremento de PRL tiene que ser intensa, habiéndose indicado la poca seguridad de el fenómeno como medida que permita estudiar la reserva hipofisaria de PRL (FRANTZ 1977); por otra parte COHEN y GALA (1975) comunican la presencia de valores normales tras hipoglucemia insulínica, dato comprobado recientemente por OSTERMAN, FAGIUS y WIDE (1977). Sin embargo WOOLF, LEE, LEBAW, THOMSON, LILAVIVATHANA, BRODOWS y CAMPBELL (1977), en un magnífico estudio sobre los mecanismos íntimos implicados en la respuesta insulínica, concluyen que el estímulo liberador de PRL es la glucopenia intracelular, postinsulínica o por bloqueo metabólico, independientemente de la cifra de glucosa plasmática, descartando en el mismo estudio cualquier otro efecto de la insulina en la liberación de PRL, por lo que, en su opinión, la fiabilidad de la prueba es aceptable.

OSTERMAN y col. (1977) han comunicado que el pretratamiento con dexametasona suprime la respuesta de prolactina a la hipoglucemia. Este hallazgo plantea la posibilidad de que el efecto de PRL frente al stress sea consecuencia de una acción directa

de CRF o ACTH sobre la célula prolactínica, como ha sugerido OGLE en la rata (1977) apoyado en el planteamiento similar de HARMS, LANGLIER y McCANN (1975); de todos modos muy recientemente, en 1979, KAWAKAMI, NIGUCHI y MATSUURA, utilizando un modelo de inmovilización en la rata, han propuesto una implicación del sistema dopaminérgico frente a la no acción de un PRF fisiológico (TRH). Por otra parte, NATHAN, SACHAR, LANGER, TABRIZI y HALPERN (1979) han propuesto la modulación de la respuesta hipoglucémica y sus variaciones respecto a la influencia del sistema estimulador serotoninérgico.

5G) Alteraciones en la Secreción de PRL

De manera general las modificaciones de la secreción de PRL, pueden ser debidas a exceso (HIPERPROLACTINEMIA) o defecto, (HIPOPROLACTINEMIA) estas últimas mucho más raras.

5G-1) Hiperprolactinemias.

La hiperprolactinemia es, probablemente, la enfermedad más común del eje hipotálamo-hipofisario vista en clínica, pero es aún uno de los procesos menos caracterizados y diagnosticados. En pacientes no seleccionados con amenorrea secundaria la incidencia de hiperprolactinemia se ha citado entre 13 y 30% de los casos (BOHNET, DAHLEN, WUTTKE y SCHENEIDER 1976).

5G-1a) Características Clínicas de la Hiperprolactinemia. En el pasado ha sido habitual subdividir el síndrome hiperprolactinéxico en la mujer en grupos de acuerdo con su presentación clínica. Sin embargo, como el síndrome puede tener diversas etiologías y presentaciones, tal clasificación no aporta nada, debiendo de ser abandonados los términos de Chiari-Frommel, Argonz del Castillo y Forbes-Albright, ya que todos ellos están caracterizados por hiperprolactinemia y representan distintos estados de la misma enfermedad. Sin embargo, la hiperprolactinemia es mucho más común de lo que podría suponerse si todos los pacientes diagnos-

ticados bajo síndrome con nombre propio hubieran sido agrupados bajo un término común. Una de las razones para ello es que la hiperprolactinemia puede ocurrir tanto en la mujer como en el hombre, y en ausencia de galactorrea.

Los pacientes con hiperprolactinemia pueden presentarse con una gran variedad de síntomas y con un número diferente de formas clínicas: síntomas de tumor hipofisario o enfermedad hipotalámica, amenorrea primaria o secundaria, disfunción de la hemorragia menstrual, galactorrea, infertilidad primaria o secundaria, menstruaciones regulares, irregulares o ausentes, impotencia asociada a un síndrome psiquiátrico o hipogonadismo. La incidencia de galactorrea en mujeres con hiperprolactinemia se ha cifrado entre un 30 y 80% dependiendo de los centros y métodos de evaluación, aunque se acepta la posibilidad de un importante número de pacientes con galactorreas normoprolactinémicas. Esto puede parecer una sorpresa si no fuera por el hecho de que la lactación es dependiente de un variado número de factores hormonales siendo la prolactina uno de ellos. Sin embargo, la hiperprolactinemia se asocia comunmente con hipogonadismo, amenorrea, disfunción menstrual, períodos luteales cortos o, simplemente, con una infertilidad en la mujer o impotencia en el hombre.

5G-1b) Causas de Hiperprolactinemia. Las principales causas de hiperprolactinemia quedan resumidas en la tabla III.

- Enfermedades Hipotálamo-Hipofisarias. Dado el mecanismo de regulación de prolactina, tónicamente inhibida por el hipotálamo, cualquier enfermedad a su nivel, o disrupción de la circulación portal, puede causar hiperprolactinemia. Así, craneofaringeomas, sarcoidosis y tumores hipotalámicos se han asociado al síndrome hiperprolactinémico (FRANTZ 1973), al igual que las secciones quirúrgicas o traumáticas del tallo hipofisario (EHNI y ECKLESI 1959).

Tabla III

CAUSAS DE HIPERPROLACTINEMIA (HUMANOS)

(I) FISIOLOGICAS

- (A).- Embarazo
- (B).- Postparto
 - Madres que no lactan hasta la 4ª semana
 - Madres que lactan hasta la 4ª semana, con incrementos transitorios durante la mamada
- (C).- Estimulación mamaria fuera del postparto
- (D).- Período fetal
- (E).- Período precoz de la primera infancia
- (F).- Stress
- (G).- Hipoglucemia

(II) PATOLOGICAS

- (A).- Enfermedades hipotalámicas
 - S. de Chiari-Frommel: hiperprolactinemia prolongada tras período de lactancia postparto
 - S. de Ahumada-Del Castillo: galactorrea idiopática
 - Tumores hipotalámicos
 - Tras resección de craneofaringeomas
 - Sarcoidosis diseminada
- (B).- Tumores hipofisarios secretores de prolactina
 - S. de Forbes-Albright: tumor hipofisario con galactorrea-amenorrea
 - Acromegalia
 - S. de Nelson
 - Adenoma cromofobo "no funcionante"
- (C).- Sección quirúrgica del tallo hipofisario
- (D).- Hipotiroidismo primario
- (E).- Insuficiencia renal crónica
- (F).- Producción ectópica
 - Carcinoma broncogénico
 - Hipernefroma

- (G).- Lesiones irritativas de la pared torácica
 - Herpes zoster
 - Cirugía
 - Traumatismo nervios intercostales

(III) FARMACOLOGICAS

- (A).- Drogas psicotropas
 - Fenotiacinas, clorpromacina, flupenacina, promacina, perfenacina
 - Antidepresivos tricíclicos: amitriptilina, nortriptilina, imipramina
 - Reserpina
 - Butirofenonas: haloperidol
- (B).- Drogas antihipertensivas
 - Reserpina
 - Alfa-Metildopa
- (C).- Tras terapéutica discontinua con anovulatorios
- (D).- Estrógenos
- (E).- Inyección de TRF

A menudo, la primera presentación de un tumor hipofisario es una disfunción gonadal, asociada equívocamente a una deficiencia de gonadotropinas, aunque en la realidad tal hecho es poco común en estos enfermos (MORTIMER, BESSER, McNEILLY, MARSHALL, HARSOULIS, TUNBRIDGE, GOMEZ-PAN y HALL 1973).

- Drogas. La hiperprolactinemia por drogas es una de las causas más frecuentes (para revisión ver SHERMAN y KOLODNY 1974). Por simplicidad es útil clasificarlas en tres grandes grupos: drogas bloqueantes de los receptores de dopamina, drogas que producen deplección de dopamina, y aquellas que no actúan directamente sobre los sistemas adrenérgicos (tabla IV). Las fenotiacinas y drogas anti-psicóticas, así como los derivados de procainamida, el sulpiride, y la metocloropropamida, son de los más potentes secretagogos de prolactina; actúan a nivel hipofisario bloqueando los receptores de dopamina y, por tanto, bloqueando los efectos del principal PIF fisiológico (MacLEOD y LEHMEYER 1974)^a.

La administración de drogas de actuación central producen hiperprolactinemia con síntomas clínicos de hipogonadismo y galactorrea. La incidencia de estas complicaciones es difícil de asegurar ya que la función gonadal de algunos pacientes psiquiátricos no es correctamente comprobada y no son examinados para buscar secreción para el pezón. Sin embargo, un importante número de sedantes menores de gran utilización en el mundo occidental, como por ejemplo el sulpiride y el primperam, producen hiperprolactinemias prolongadas y mantenidas durante todo el tiempo de su administración (McCALLUN, SOWERS, HERSHMAN y STUDERVANT 1976).

Otras drogas que producen deplección de catecolaminas, como la reserpina y la metil-dopa, también causan hiperprolactinemia al igual que los inhibidores de la síntesis de catecolaminas a nivel de la enzima limitante, como la α -metil-paratirosina (GUDELSKY y PORTER 1979). Finalmente, altas dosis de estrógenos elevan los niveles de PRL circulante (CHEN y MEITES 1970), y en el ani-

Tabla IV

DROGAS QUE ELEVAN LOS NIVELES DE PRL

- 1) Bloqueantes de Receptores Dopaminérgicos
 - Fenotiacinas
 - Butirofenonas
 - Benzamidas: Metocloropropamida, sulpiride

- 2) Agentes depleccionantes de catecolaminas
 - ametil-dopa
 - Reserpina

- 3) Drogas no dependientes de catecolaminas
 - Estrógenos
 - TRH

mal de laboratorio estimulan el grado de mitosis de la célula secretora de PRL.

- Hipotiroidismo Primario. En el hipotiroidismo primario los niveles basales de prolactina son corrientemente normales (BOWERS, FRIESEN, HWANG, GUYDA y FOLKERS 1971; JACOBS, SMYDER, WILBERG, UTIGER, DAUGHADAY 1971). Sin embargo, la respuesta de prolactina a TRH es exagerada (REFETOFF, FANG, RAPOPORT y FRIESEN 1974), y ocasionalmente pueden encontrarse concentraciones basales de PRL elevadas (EDWARDS, FORSYTH y BESSER 1971). Tanto los niveles basales, como la respuesta a TRH, son disminuídos por la terapéutica de reemplazamiento, habiéndose sugerido que los niveles circulantes de hormonas tiroideas tienen poco papel patogénico en la secreción de PRL en pacientes eutiroides con amenorrea-galactorrea, en contraste con su marcado efecto en pacientes hipotiroideos (AONO, SHIOJO, MIYAI, ONISHI y KURACHI 1977). Parece, pues, claro que el hipotiroidismo debe ser excluído en todos los pacientes con hiperprolactinemia dada la facilidad de su tratamiento.

- Insuficiencia Renal Crónica. Entre un 20 y un 75% de los pacientes con insuficiencia renal crónica presenta hiperprolactinemia (NAGEL, FREINKEL, BELL, FRIESEN, WILBER y METZGER 1973), sin apreciarse modificaciones tras la diálisis. Sin embargo, algunos de estos pacientes son tratados de hipertensión con alfa-metil-dopa, la cual por si misma puede causar hiperprolactinemia (HAGEN, OLGAARD, McNEILLY y FISHER 1976). Recientemente RAMIREZ, O'NEILL, BLOOMER y JUBIZ (1977) han comunicado una posible disfunción hipotálamo-hipofisaria en estos pacientes y LIM, KATHPALIA y FROHMAN (1979) han descrito una falta de respuesta hipofisaria a sistemas dopaminérgicos y a la estimulación con TRH, que quedan corregidas tras el trasplante renal.

- Idiopática. En un número de pacientes la causa de hiperprolactinemia no puede ser encontrada. Sin embargo, pueden diferenciarse de las secundarias a adenoma mediante un test combina

do clorpromacina-TRH (BOYD, REICHLIN y TURKSOY 1977). Parece que en su patogenia se encuentra envuelta una lesión hipotalámica y que muchos casos idopáticos corresponden a tumores que aún no han producido signos clínicos o radiológicos de crecimiento hipofisario (McKENNA, GLICK, COBB y JACOBS 1978). HEALY y BURGER (1978) han propuesto la administración crónica de metocloropropamida como un posible modelo para estudiar la fisiopatología de los estados hiperprolactinémicos idiopáticos, obteniendo respuestas dinámicas semejantes a los casos clínicos estudiados que portaban tumor, incluyendo una disminución del efecto estimulador de TRH. BARBARINO, MARINIS, MENINI, ANILE y MAIRA (1979) y JESKE (1979) han aportado resultados similares, sugiriendo que los casos de "enfermedad funcional" son la consecuencia de una hiperreactividad a la estimulación aunque en algunas ocasiones con galactorrea esta puede ser debida a una hiperreactividad del receptor mamario.

En el cuadro adjunto se resumen los principales datos para el diagnóstico diferencial de ambos síndromes:

HIPERPROLACTINEMIA

PRL	FUNCIONAL	TUMORAL
Basales	Normal u ocasionales	Siempre elevada
Clorpromacina	Hiperrespuesta	Muy disminuida
TRH	Hiperrespuesta	Muy disminuida
Inhibición (L-DOPA; CB154)	Conservada	Conservada; algunos pueden no responder (autónomos)

- Hiperprolactinemia y Tumores Hipofisarios. Ya se ha indicado que la hiperprolactinemia puede causar una gran variedad de síndromes. Sin embargo, su etiología a menudo no es descubierta a menos que el paciente presente un claro tumor hipofisario o haya ingerido drogas que modifiquen su secreción, aunque es cada vez más frecuente el número de pacientes en las que puede reconocerse un microadenoma (BOYAR, KAPEN, WEITZMAN y HELLMAN 1976). A pesar de ello se mantiene el debate de si un paciente con microadenoma tiene solo interés académico o una importancia práctica, ya que estos tumores pueden crecer rápidamente durante el embarazo produciendo compresión del quiasma óptico con defectos del campo ocular (CHILD, GORDON, MASHITER y JOPLIN 1975; THORNER, BESSER, JONES, DACIE y JONES 1975). Por otra parte, algunos autores opinan que el microtumor debe de ser extirpado, aunque en la mayoría de las series con adecuado seguimiento la extirpación del microadenoma es insuficiente para restaurar unos niveles normales de PRL.

Si los niveles basales de PRL se encuentran considerablemente elevados (más de 200 ng/ml) pueden ser diagnósticos, aunque, en realidad, pueden ser muy variables, habiéndose comunicado concentraciones entre 40-200 ng/ml. En otros casos la cifra de PRL no es definitivamente aclaratorio dado que la extensión del tumor en el hipotálamo, o cualquier otro proceso que lo afecte, puede causar modificaciones de los mecanismos de regulación que conduzca a la presencia de modestas elevaciones de la hormona circulante. A pesar de las variaciones que suelen ocurrir en los niveles circulantes a lo largo del día los valores más bajos en los pacientes con tumor raramente se encuentran dentro del rango normal. Algunos pacientes presentan cifras muy superiores a los 500 ng/ml pudiendo, en ocasiones, y aún con cifras más elevadas, no presentar galactorrea u otra anomalía sugestiva de la enfermedad.

Tales tumores secretores de PRL parece que no son completamente autónomos, habiéndose observado disminución de las cifras plasmáticas con L- DOPA y ergocriptina, y aumentos con TRH y,

más dudosos, con cloropromacina; de hecho, la utilización de estos test dinámicos no permiten realizar un diagnóstico cierto de tumor hipofisario (L'HERMITE 1976; KLEIMBERG, NOEL y FRANTZ 1977), aunque Van LOON, SOLE, BAIN y RUSE (1979) han descrito una respuesta anormal (no modificación de los niveles circulantes de dopamina, A y NORA) tras la administración de CB154 proponiéndola como una posible prueba de disfunción hipotalámica.

De acuerdo a la asociación clínica del tumor secretor de PRL con o sin acromegalia se han dividido en dos grupos genéricos:

- Adenomas cromofobos sin acromegalia. Como se ha puntualizado previamente, pacientes con adenomas cromofobos, que además presentan galactorrea, casi invariablemente tiene concentraciones elevadas de PRL, habiéndose sugerido tres posibles mecanismos para explicar la hiperprolactinemia. El primero es la posible secreción autónoma por tumores formados de células hipofisarias secretoras de prolactina que no responden a la regulación hipotalámica a pesar de las posibilidades apuntadas previamente. La segunda es la hipersecreción por células hipofisarias teóricamente normales que se han liberado del efecto inhibitor del hipotálamo a consecuencia de la invasión de este por células tumorales no secretoras de PRL. La tercera explicación presupone una enfermedad hipotalámica productora de una disminución de la secreción de PIF, con la consiguiente hiperplasia y eventual formación de un tumor productor de PRL; una variante de esta teoría sería el aumento del hipotético factor estimulante de PRL (NICOLL, FIORINDO, MCKNEE y PARSONS 1970; KRULICH, QUIJADA e ILLNER 1971; VALVERDE y CHIEFFO 1971).

- Tumores Asociados con Acromegalia. FRANTZ y KLEIMBERG (1970) han descrito niveles elevados de PRL medidos por bioensayo parcial o completamente neutralizados por suero anti-HCh. En un estudio posterior con RIA seis de 15 pacientes con acromegalia activa mostraron concentraciones elevadas de PRLh y HCh, con valores entre 50 y 1.000 ng/ml, sin correlación entre las concentra

ciones plasmáticas de ambas hormonas (FRANTZ, KLEIMBERG y NOEL 1972)^b. La proporción de pacientes con hiperprolactinemia en series de acromegálicos es similar a la apreciada en pacientes con tumor hipofisario pero sin acromegalia o galactorrea y, además, se ha obtenido PRL del medio del cultivo de tumores de enfermos con acromegalia (LIPSON, BEITINS, KORNBLITH, McARTHUR, FRIESEN, KLIMAN y KJELLBERG 1978).

Estos hallazgos pueden ser interpretados como una alternativa a favor del segundo punto discutido en el apartado anterior, es decir, el crecimiento hipofisario debido a hiperplasia de células no prolactínicas que por algún mecanismo permiten el incremento de secreción de la célula prolactínica, aunque también es posible la presencia de un mecanismo múltiple de disrupción hipotalámica en la neurotransmisión dopaminérgica responsable de la hiperactividad de más de un grupo celular (MULLER, FINK, WERDER y SCRIBA 1978).

5G-1c) Formas de Presentación de la Hiperprolactinemia en la Mujer. El llamado Síndrome Amenorrea-Galactorrea. De la revisión de THORNER y BESSER (1977) se infiere que en la mujer las formas de presentación son muy variadas, lo que permite afirmar que no todas las pacientes con hiperprolactinemia deben de presentar forzosamente galactorrea, y mucho menos amenorrea, aunque esta pueda estar presente (KLEIMBERG, NOEL y FRANTZ 1977), variando la incidencia de aquella entre un 35 y un 87% (BERGH, NILLIUS y WIDE 1977) según el distinto criterio de definición de galactorrea o de las distintas técnicas de examen mamario.

Aproximadamente la mitad de las enfermas presentan imágenes radiológicas de la silla turca sugestivas de tumor hipofisario, aunque las concentraciones elevadas de prolactina puedan apreciarse, al menos, otros 5 grupos de pacientes: a) síndrome de ovario poliquístico, b) amenorrea por toma de anovulatorios orales, c) amenorrea postparto, d) fallo ovárico prematuro y e) amenorrea secundaria.

- Síndrome Amenorrea-Galactorrea asociado a Tumor Hipofisario. El ejemplo considerado típico es el de las enfermas afectadas de un síndrome de FORBES-ALBRIGT en el cual, junto a amenorrea-galactorrea, se asocia una disminución de los niveles plasmáticos de gonadotropinas, y evidencia de un tumor hipofisario con cifras de PRL, en general, elevadas. Sin embargo, ni la magnitud ni la duración de la galactorrea pueden ser correlacionadas con los niveles plasmáticos de PRL aunque su reducción se asocie a una disminución de la galactorrea.

El punto más fascinante es, sin duda alguna, la fisiopatología de la amenorrea inducida por los niveles elevados de PRL. Es difícil imaginar que pequeños adenomas de 20-40 mg produzcan una deficiencia de gonadotropinas solo por compresión, aunque en algunos casos, una minoría, tal efecto podría ocurrir (BOYD y col. 1977). Parece posible que los niveles elevados de PRL inhiban la normal descarga cíclica de LH y FSH ya por un efecto sobre el ovario (la hiperprolactinemia "per se" origina un deterioro funcional del cuerpo lúteo (L'HERMITE, MICHAUX-DUCHENE y ROUBYN 1979) o más probablemente, por una acción directa sobre el hipotálamo, o ambas (TOURNAIRE 1979).

Que entre ambas hormonas existe una correlación antagónica ha sido sugerido por BEN-DAVID, DANON y SULMAN (1971) quienes han comprobado que tras la ovariectomía en ratas los niveles de PRL caen abruptamente al mismo tiempo que aumentan los de gonadotropinas. La supresión de la secreción de gonadotropinas por la administración de methallibure causa un incremento en los niveles de PRL. A conclusiones similares llegan VOOGT y MEITES (1971) y FANG, REFETTOFF y ROSENFELD (1974) estudiando el papel de la PRL como una hormona de interacción en el sistema corto de retroalimentación. A los 20 días del período prepuberal se observa un incremento de PRL asociado a un descenso de los niveles basales de LH, pero no de FSH que se mantiene en límites normales (DOHLER y WUTTKE 1974); además, la administración de PRL

exógena deprime los picos esporádicos de secreción de LH, sin modificar los más altos niveles de FSH, durante estos días del período prepuberal murino (WUTTKE, DÖHLER y GELATO 1976). A resultados parecidos se llega al estudiar pacientes con hipogonadismo y galactorrea (BESSER, PARKE, EDWARDS, FORSYTH y McNEILLY 1972; THORNER, McNEILLY, HAGEN y BESSER 1974; Del POZO, VARGA, WYSS, TOLIS, FRIESEN, WENNER, VETTER y UETTWITER 1974; BESSER, THORNER y WASS 1977). QUIGLEY, JUDD, GILLILAND y YEN (1979) han comunicado un alto grado de actividad dopaminérgica en neuronas LRF que podría ser responsable de la baja secreción de LH apreciada en estas enfermas.

Por otra parte, es conocida la amenorrea fisiológica de la mujer lactante de tal modo que la ovulación es rara antes del día 80 del postparto; más información se ha obtenido a este respecto estimulando los ovarios tras el parto con gonadotropina urinaria de mujeres postmenopáusicas, no apreciándose un incremento significativo de las hormonas esteroideas ováricas ni de la actividad endometrial (ZARATE, CANALES, SORIA, RUIZ y MCGREGOR 1972), lo que posiblemente indica una acción inhibitoria de PRL sobre la estimulación del ovario por gonadotropinas, aunque algún otro factor debe participar en esta respuesta dado que el ovario no se hace refractario al efecto de gonadotropina exógena en mujeres normales hechas hiperprolactinemias (AONO, YASUDA, SHIOJI, KONDO y KURACHI 1978).

Pero independientemente de esta acción periférica, el estudio de BOHNET y col. (1976), sobre un total de 127 mujeres con síndromes anovulatorios, reveló solo 17 pacientes con hiperprolactinemia, 8 de las cuales no presentaron galactorrea, apuntando con un razonamiento lógico que el síndrome que estamos tratando no refleja el verdadero y complejo aspecto del mecanismo de anovulación inducido por PRL. De acuerdo con sus observaciones, la existencia de un mecanismo de base común es factible y aparente en la mayoría de los casos, y relacionado con una disfunción hipotalámica. Esta disfunción incluye la hemorragia por retirada de gestágenos, niveles normales o bajos de estradiol, falta de res-

puesta a clomifeno, hipogonadotropismo LH con normogonadotropismo FSH y ausencia de episodios secretorios de LH. La disrupción de la función hipofisaria parece ser tan solo para la célula de PRL y no para las demás (JAQUET, GRISOLI, GUIBOIT, LISSITZKY y CARAYON 1978), y secundaria a la disfunción hipotalámica.

Recientemente LACHELIN, ABU-FADIL y YEN (1977) han realizado un interesante estudio sobre la delimitación de la lesión funcional del síndrome que nos ocupa. Además de confirmar resultados ya conocidos sobre el distinto comportamiento de gonadotropinas en los dos estados fundamentales de hiperprolactinemia-amenorea, encuentran una alteración funcional para la dinámica de LH y, particularmente, FSH. Aunque el mecanismo de tal alteración no es bien conocido parece, en su opinión, relacionado con los bajos niveles de estradiol hallados en estas pacientes (pues ejercería una inhibición preferencial sobre la FSH (YEN y TSAI 1971)), o con la disminución del cociente E_2/T que podría incrementar la acción de retroalimentación de testosterona sobre FSH (la testosterona puede aumentar preferencialmente la FSH (GAY y TOMACARI 1974)); de esta forma en los estados de hiperprolactinemia la situación funcional de las gonadotropinas parece inclinada hacia un incremento en la síntesis y almacenamiento de FSH, y como la liberación inducida por LRF exógeno parece ser biológicamente activa se puede sugerir que la hiperprolactinemia, excepto en el postparto, puede no tener un efecto mensurable en la respuesta ovárica a gonadotropinas.

La alteración de la secreción de gonadotropinas por disfunción hipotalámica podría tener su origen a nivel de una lesión en los sistemas dopaminérgicos que inhiben la secreción de PRL y LH, quizás al alternarse la relación NORA/D hipotalámica; la disfunción del normal servomecanismo dopaminérgico para PRL causa su hipersección, (posiblemente a través del receptor dopaminérgico de las células lactotropas), hiperplasia, y adenoma hipofisario, alterándose al mismo tiempo la liberación pulsátil de LH (FUXE,

HOKFELT y NILSSON 1972). La marcada reducción de la relación LH/FSH sugiere, además, una disminución cuantitativa de la liberación de LRF; BERGH y col. (1977) han descrito una alta respuesta de FSH y LH al LH-RH en pacientes hiperprolactinémicas con silla turca normal respecto a aquellas con signos radiológicos de tumor hipofisario aunque, en general, los niveles basales se encontraron dentro del rango normal.

Que de alguna manera la PRL condiciona los bajos niveles de LH, la exagerada respuesta a LH-RH y la respuesta alterada de LH a la inyección aguda de estrógenos, todo ello intrincándose en una alteración del mecanismo de regulación del servomecanismo estrógenos-LH, queda al menos parcialmente demostrado, junto a su gran papel fisiopatológico, al comprobarse como el efecto beneficioso de bromocriptina (al disminuir los niveles de PRL) recupera el mecanismo normal de retroalimentación con reaparición de la hemorragia menstrual (AONO, MIYAKE, SHIOJI, YASUDA, KOIKE y KURACHI 1979). En una reciente revisión de STRAUCH, BONNEFOUS, PAULIAN, ZAKS, PAGES y BRICAIRE (1978), sobre 350 pacientes con anovulación por síndrome de disfunción hipotálamo-hipofisaria, llegan a la conclusión de que la hiperprolactinemia ejerce una acción inhibitoria sobre el desarrollo folicular en los primeros estadios del ciclo, siendo esta la única función específicamente afectada por lo que, unido al efecto alterativo sobre la liberación de FSH/LH, cabe también pensar en una acción directa a nivel ovárico.

Respecto a la secreción de progesterona parece existir una insuficiencia del cuerpo luteo con normalización de los niveles hormonales tras estímulo con clomifeno y bajo el tratamiento con antiprolactinicos. De este modo puede sospecharse un efecto de la hiperprolactinemia en la función luteal que está de acuerdo con la observación en el humano de la supresión de secreción de progesterona por la hiperprolactinemia inducida con TRH. Se han comunicado niveles bajos de progesterona en humanos, efecto supresor sobre la secreción de células de la granulosa "in vitro" y efectos luteolíticos tras terapéutica con TRH.

En el hombre también se ha apreciado, junto al hipogonadismo, una disminución de los niveles de T, siendo muy oscura la explicación a tal hecho. Pudiera ser la consecuencia de una inhibición de la actividad de LH en el testículo secundaria a una disminución de la secreción de LH o a una inhibición de la respuesta de LH-RH. CARTER, TYSON, TOLIS, Van ULJET, FAIMAN y FRIESEN (1978), en una revisión sobre 22 pacientes, concluyen que es la disminución de LH-RH la responsable del hipogonadismo, aunque no pueden descartar la coexistencia de algunos de los otros factores.

- Síndrome del Ovario Poliquístico. En el trabajo inicial de FORBES se citaba la asociación de galactorrea, virilismo, y disfunción de la hemorragia uterina con cifras elevadas de 17 μ en orina. SEPPALA, LEHTOVIRTA y RANTA (1977) han comunicado, en dos series distintas, 10 pacientes con claro hirsutismo sobre un total de 15 enfermas hiperprolactinémicas. No es, por tanto, sorprendente que algunas pacientes con hiperprolactinemia puedan mostrar hechos clínicos de ovario poliquístico (SEPPALA e HIRVONEN 1975).

La anomalía puede ser debida a una acción de la PRL sobre el metabolismo adrenocortical, pues existe evidencia preliminar que sugiere que la hiperprolactinemia puede alterar la secreción adrenal de andrógenos, volviendo a la normalidad al disminuir estos niveles. GIUSTI, BASSI, BORSI, CATTANEO, GIANNOTTI, LANZA, PAZZAGLI, VIGIANI y SERIO (1977) han demostrado la presencia de niveles elevados de DHEA-S que bajan tras el tratamiento con bromocriptina o hipofisectomía. La alteración del metabolismo corticoadrenal parece ser ACTH dependiente ya que este incremento de secreción puede ser suprimido por dexametasona. Sin embargo, la alteración por prolactina de la vía androgénica corticoadrenal ACTH dependiente requiere una larga y marcada hiperprolactinemia. Niveles elevados de testosterona han sido comunicados en 5 de 37 pacientes hiperprolactinémicas por REYES, GOMEZ y FAIMAN (1977), aunque SEPPALA, HIRVONEN, UNNERUS, RANTA, y LAATI

KAINEN (1976) han encontrado valores basales normales no modificados por antiprolactínicos.

- Amenorrea por Anticonceptivos Orales. Algunas pacientes con amenorrea tras toma de anovulatorios presentan niveles elevados de PRL (BESSER, PARKER, EDWARDS, FORSYTH y McNEILLY 1972; TYSON, KHOJANDI, HJTH, SMITH y THOMAS 1975) y algunas de ellas galactorrea. SHERMAN (1971) puntualiza que algunas de estas enfermas ya presentaban anomalías menstruales antes de comenzar la toma de anovulatorios por lo que es difícil saber si la hiperprolactinemia antecede la toma de la píldora, o si es causa de ella. Los estrógenos elevan los niveles de PRL, pero la combinación estrógenos-progesterona de los anticonceptivos, en condiciones normales, no la elevan (Del POZO, VARGA, WYSS, TOLIS, FRIESEN, WENNER, VETTER y VETTWILER 1974).

- Fallo Ovárico Prematuro. Algunas pacientes con fallo ovárico prematuro pueden presentar hiperprolactinemia, por lo que pacientes con altos niveles de gonadotropinas y de prolactina deben de ser sometidas a biopsia ovárica para confirmar el diagnóstico. En caso de no confirmarse se obtienen buenas respuestas al tratamiento de la hiperprolactinemia.

- Amenorrea Secundaria. En casos no seleccionados de pacientes con amenorrea secundaria la incidencia de hiperprolactinemia oscila entre un 13 y un 30% (BOHNET y col. 1976; SEPPALA, HIRVONEN, RANTA, VIRKKUNEN y LEPPALUOTO 1975). Parece, pues, claro que algunas pacientes antiguamente clasificadas dentro del grupo de amenorreas funcionales presentan en realidad las consecuencias de una hiperprolactinemia. HIRVONEN, RANTA y SEPPALA (1976) han comunicado que el estímulo con TRH causa mayor incremento de PRL en enfermas normoprolactinémicas, siendo ampliamente inhibido por CB154; por otra parte, bajo tratamiento con ergocriptina la estimulación con TRH causa un incremento mucho más claro en pacientes hiperprolactinémicas, lo que sugiere que entre ambos grupos de enfermas existen mecanismos fisiopatológicos distintos.

5G-1d) Hiperprolactinemia en el Hombre. Su incidencia es muy variable, oscilando entre un 25% para MALARKEY y JOHNSON (1976) y un 85% para ZIMMERMANN, DEFENDINI y FRANTZ (1974). Aunque la secreción de leche en el hombre es muy rara existen en nuestra centuria algunas descripciones. OSAMURA, WATANABE, TERAMOTO, HIRACA WA, KAMANO y MORII (1978) han demostrado la presencia de adenomas hipofisarios masculinos claramente secretores de PRLh. Para THORNER y BESSER (1977) solo un tercio de los enfermos con hiperprolactinemia presentan galactorrea siendo casi la regla la impotencia con pérdida de la líbido. Algunos pacientes que en estadios precoces retienen su potencia presentan una marcada disminución del volumen seminal y eyaculado. La ginecomastia, si se presenta, no suele ser importante, y la galactorrea puede ser fácilmente apreciada, a veces con volúmenes sorprendentemente elevados. Los testes pueden ser normales o pequeños y, a menudo, blandos; la próstata generalmente es pequeña, y algunos pacientes pueden presentar una distribución feminoide de la grasa corporal y del vello.

Los datos bioquímicos a menudo confirman el hipogonadismo, con testosterona sérica baja en la mayoría de los casos. El análisis seminal, en los raros casos en que ha podido obtenerse, ha mostrado unos espermatozoides de morfología normal, así como su número y movilidad, aunque el volumen de eyaculado haya sido pequeño. Como en la mujer, no hay signos evidentes de deficiencia engonadotropinas, apreciándose en ocasiones alteraciones en la reserva de otras hormonas hipofisarias, probablemente resultado de la alta incidencia de tumores asociados.

5G-1e) Secreción Ectópica. Hasta diciembre de 1979, y al contrario de lo que ha ocurrido con el lactógeno placentario que ha sido detectado en un importante número de tumores (ROSEN y WEINTRAUB 1977), la PRL ha sido referida en contadas ocasiones. Además de la comunicación de TURKINGTON (1971)^b quien publicó dos casos, (un carcinoma de pulmón y un carcinoma renal), RESS,

BLOOM, FIELD, RESS, CORRIN, FRANKS y RATCLIFFE (1974) describen un carcinoma de pulmón, tipo grano de avena, en el que encuentran, al igual que en su metastasis, concentraciones de PRL muy por encima de las apreciadas en tejidos testigos (187 y 98 ng/gr). Más recientemente PODMORE, WILSON, COWDEN, BEASTALL y RATCLIFFE (1979) han comunicado que el 65% de 20 apudomas bronquiales contenían HC o PRL, además de HCTH y LPh, y el 92% de 13 tumores de mama contenían HC o PRL solas o en asociación a LPh y ACTH, y STEPHEN, PROPER, MAY y ERTEL (1979) encuentran un 33% de pacientes con carcinoma bronquial que presentan niveles elevados de PRL.

5G-2 Hipoprolactinemia (Deficiencia aislada de la Secreción de PRL)

Independientemente de la deficiente secreción de PRL asociada al síndrome de SEEMON-SEHAM, la deficiencia aislada de esta hormona puede considerarse una rareza clínica. En 1972 TURKINGTON^b comunica dos casos tras estudio con bioensayo, planteándose la cuestión de si esta hipoprolactinemia era debida a una deficiencia verdadera o a una hiposensibilidad metodológica. CARLSON, BRICKMAN y BOTAZZO (1977) han descrito 6 miembros de dos familias afectas de pseudohipoparatioidismo con una deficiencia de PRL, demostrada por la seria alteración de la respuesta a TRH y clorpromacina y no mejorada por la administración de estrógenos. De acuerdo con sus resultados, y en base a una posible deficiencia congénita o adquirida de células lactotropas, han propuesto una posible etiología autoinmune, o relacionada con un defecto funcional del sistema adenil-ciclasa estimulador. SPITZ, LANDAU, ALMALIACH, ROSEN, BRAUTBAR y RUSSELL (1977) han comunicado un caso aislado que sigue criterios similares de respuesta dinámica a los anteriormente expuesto, si bien podían detectarse niveles basales mínimos de PRL circulante. Se ha descrito también una reserva disminuída de PRL asociada a hipogonadismo en dos hombres con hemocromatosis (LEVY y CARLSON 1978).

6. REGULACION DE LA SECRECION DE PROLACTINA

Durante la pasada década ha resurgido el interés en los mecanismos que regulan la secreción y modo de acción de PRL. El relativo fallo de las investigaciones, en comparación con otras hormonas de la hipófisis anterior, es consecuencia del retraso en la inequívoca demostración de su existencia, en la insensibilidad de los bioensayos para la fina experimentación biológica y en el retraso en la aparición de adecuados sistemas de determinación. Sin embargo, desde la introducción del RIA la literatura existente a este respecto ha aumentado considerablemente; sirvan como ejemplo algunas de las publicaciones dedicadas a revisiones de conjunto concernientes a mecanismos de regulación: MEITES y CLEMENS (1972); PASTELS y ROBYN (1973), FRANTZ (1973), CLEMENTS y MEITES (1974), BONNET y FRIESEN (1976), CLEMENTS (1976), McLEOD (1976), MEITES (1977), MARTINI (1977), WUTTKE (1977), NILLIUS (1978), ENJALBERT, RUBERG y KORDON (1978), McLEOD y LAMBERTS (1978), McCANN, KRULICH, OJEDA y VIJAYAN (1978), TINDAL (1978) y LABRIE, BEAULIEU, FERLAND, RAYMOND, DIPAOLO, CARON, VEILLEUX, DENIZEAU, EUVRARD, RAYNAND y BOISSIER (1979). El área de la investigación de la neuroendocrinología relacionada con la PRL ha avanzado hasta el punto de identificar una serie de factores hipotalámicos que ejerce poderosos estímulos o inhibiciones en la síntesis y secreción de PRL hipofisaria, junto a un gran arsenal de productos farmacológicos que influyen en estas respuestas.

6A) Papel del Hipotálamo

La conexión anatómica entre la eminencia media y la hipófisis es crítica en el mantenimiento del control fisiológico de la secreción de prolactina. EVERETT (1954) comunicó los efectos biológicos de la hipersecreción de prolactina tras el transplante de la hipófisis debajo de la cápsula renal. El aislamiento

de la hipófisis del hipotálamo por sección del tallo hipofisario causó, de igual manera, un incremento en la concentración plasmática de PRL, y la lesión electrolítica del área hipofisótropa de la eminencia media incrementó la concentración sérica (CHEN, AMENO, MORI, LU, VOOGT y MEITES 1970) y la producción hipofisaria de prolactina (McLEOD y LEHMEYER 1972). BUTTLER, KREY, LU, PECKHAM y KNOBIL (1975) confirman estos hallazgos en el mono tras la desconexión quirúrgica del hipotálamo medio basal y FERIN, ANTUNESS, AIMMERMAN, DYRENFURTH, FRANTZ, ROBINSON y CARMEL (1977) y ZANINI, GIANNATTASSIO, De CAMILLI, MULLER y MELDONESI (1979), aportan evidencia indirecta del efecto inhibitor de esta área sobre la secreción de PRL.

La intervención del hipotálamo medio basal es también importante para el mantenimiento de los niveles hormonales, ya que la deafferentación parcial o total produce una disminución de los niveles de hormona circulantes en la rata normal (BLAKE, SCARAMUZZI, NORMAN, HILLIARD y SAWYER 1973) y en la rata pseudoembarazada (KATO, VELASCO, ROTHCHILD 1978)^b. Por tanto, la influencia que el hipotálamo ejerce sobre la PRL es profunda y compleja, especialmente si tenemos en cuenta trabajos recientes como los de TURPEN y DUNN (1976) quienes comprueban, tras la ablación del hipotálamo medio, una dualidad de efectos sobre los niveles basales de PRL, o los más recientes de TURPEN, MORRIS y KNIGGE (1978) quienes demuestran que en este modelo persiste una secreción de PRL regulada por factores extrahipotalámico o los de MALVEN (1979), quien en la oveja, y en condiciones basales, obtiene una disminución de la PRL tras estimulación eléctrica del núcleo acumbeus (también implicado en la liberación de TRF) pero no tras estimulación de PRL con barbital o TRH.

6A-1 Influencias inhibitoras

La acción primaria del hipotálamo en la secreción de prolactina en mamíferos es inhibitora. PASTELS en 1961 y TALWALKER,

RATNER y MEITES en 1963 fueron los primeros en demostrar que los extractos ácidos hipotalámicos inhibían "in vitro" la secreción de prolactina. El modelo experimental era, sin embargo, refractario a agentes neurofarmacológicos como acetilcolina, adrenalina, noradrenalina, serotonina, oxitocina y vasopresina. Concluyeron que el hipotálamo contenía un factor no identificado que inhibía "in vitro" la síntesis y la liberación de PRL. Este concepto fue extendido a otras especies animales por NICOLL, FIORINDO, MCKENNEE y PARSONS (1970). Además se intuyó que los extractos hipotalámicos podían tener la capacidad de estimular "in vitro" la secreción de PRL.

La capacidad inhibidora in vivo de los extractos hipotalámicos sobre la concentración de hormona circulante es también un hecho comprobado. AMENOMORI y MEITES (1970) comunicaron que preparaciones hipotalámicas crudas disminuían la concentración sérica de PRL a la hora, y cuatro horas, de la inyección en ratas normales, pero no en ratas lactantes. WATSON, KRULICH y McCANN (1971) ampliaron estas observaciones inyectando extractos similares en la vena yugular, obteniendo resultados similares en el animal normal pero no en el animal castrado. KUHN, KRULICH, FAWCETT y McCANN (1974) demostraron que ultrafiltrados reconstituidos de extractos ácidos hipotalámicos producían una disminución transitoria de las hormonas circulantes en ratas lactantes, sugiriendo que los fallos iniciales en la obtención de respuesta podrían ser explicados por la presencia de un factor inhibidor con una vida biológica media muy corta. KAMBERI, MICAL y PORTER (1971)^C, administrando extractos de tejido cerebral en los vasos portales hipofisarios, indicaron que las administraciones sistémicas de estos extractos probablemente podían tener su efecto primario directamente sobre la hipófisis, y pudieron obtener una típica curva dosis-respuesta de inhibición; con extractos hipotalámicos apreciaron además que el efecto supresivo se retrasaba algún tiempo desde el momento de la inyección. Aunque estos datos mostraban que los extractos cortico-cerebrales no tenían efecto sobre la concentración plasmática de PRL, ARIMURA, DUNN y SCHALLY (1972) comunicaron que los

extractos corticales, al igual que los hipotalámicos, disminuían significativamente los niveles circulantes de PRL en ratas anestesiadas con pentobarbital, no teniendo ningún efecto en animales con lesiones hipotalámicas. Ello les permitió sugerir que el efecto de estos extractos no era ejercicio directamente a nivel hipofisario, sino que liberaría un factor hipotalámico que actuaría inhibiendo la secreción hipofisaria de PRL.

6A-2 Influencia estimuladora

Los estudios "in vitro" de NICOLL y col. (1970) aportaron evidencia de que la secreción de PRL podía encontrarse bajo un control inhibitorio y bajo un control estimulador. Durante el período inicial de incubación hipofisaria los extractos hipotalámicos producían una inhibición, pero cuando se alargaba el tiempo de cultivo se apreciaba un incremento en la liberación de hormona. Existen, por otra parte, amplios datos fisiológicos que mantienen el concepto de un mecanismo hipotalámico capaz de estimular la secreción de PRL. Así, se ha observado un incremento abrupto de los niveles de hormona circulante tras situaciones estresantes, anestesia con éter, estimulación del pezón o lactación.

MALVEN (1975) en la oveja, y QUADRI, NORMAN y SPIES (1976) en el mono, han comunicado el incremento de PRL tras la estimulación eléctrica de la región eminencia media-arcuata mientras que ROSE, GOLDSMITH, LOVINGER, AUBERT, KAPLAN y GANONG (1977) no obtienen claras modificaciones al estimular el núcleo supraóptico difuso, excepto en dos experiencias sobre un mismo animal. Nuevamente QUADRI, NORMAN y SPIES (1977) comunican estudios de mayor precisión respecto a las áreas implicadas en este efecto estimulador; la descarga eléctrica del área extendida sobre la parte dorsal del núcleo ventromedial hasta el núcleo arcuato produjo un incremento del 200-400%, mientras que el estímulo del hipotálamo rostral y la amígdala produjo resultados variables, siendo las áreas estimuladoras la supraquíasmática del hipotálamo anterior y la porción basal o basal-lateral amigdalares. Resultados

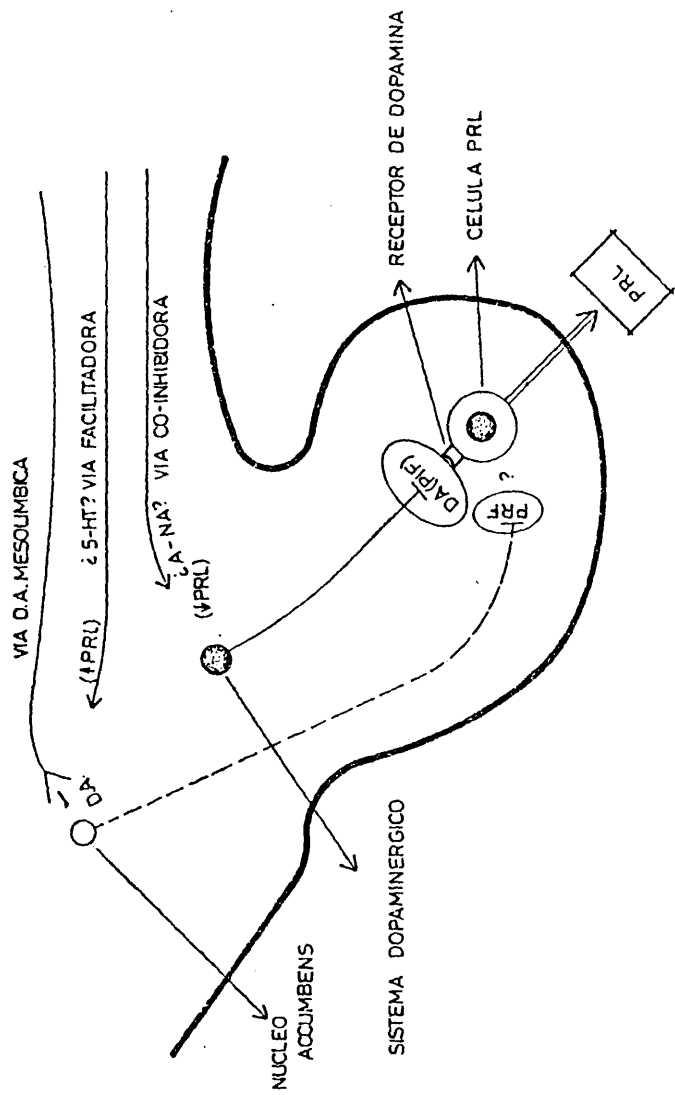
muy similares han sido comunicados por COLOMBO (1978) en ratas anestesiadas con pentobarbital. Por otra parte, el núcleo arcuato, muy directamente implicado en la regulación hipotalámica de la secreción de gonadotropinas, no parece estarlo en la de PRL (PLANT, KREY, MOOSSY, McCORMACK, HESS y KNOBIL 1978), al menos en el mono, pues CLEMENS, ROUSH, FULLER y SHAAR (1978) han aportado evidencia en la rata sobre la participación de dicho núcleo cuando se requiere un incremento abrupto de PRL, actuando como inductor o amplificador del estímulo inicial. Sin embargo, debe de tenerse aún presente que muchos resultados pueden ser modificados por las propias condiciones experimentales (TURPEN y DUNN 1978) e incluso por la complejidad anatómica del área estudiada.

Evidencia sobre el concepto de un factor liberador de PRL (PRF) ha sido comunicada por VALVERDE, CHIEFFO y REICHLIN (1972) utilizando extractos metanólicos de rata y extractos de tallo hipofisario de cerdo. Estos materiales producían una respuesta estimuladora dosis-dependientes, sobre un rango 10 veces superior, en ratas pretratadas con estradiol y progesterona.

De esta forma, puede llegarse a la conclusión inicial de que el hipotálamo ejerce un doble efecto, estimulador e inhibidor, sobre la secreción hipofisaria de PRL, aunque con peculiaridades según el animal estudiado.

6B) Animas biogénicas como factores inhibidores de PRL (El concepto de PIF)

Es cada vez más evidente que las animas biogénicas tienen una importante función en la regulación de la secreción de PRL. KANEMATSU, HILLIARD y SAWYER, en 1963, sugirieron una función específica de las catecolaminas hipotalámicas al observar la producción de lactación, y disminución del contenido hipofisario de PRL, en conejas ovariectomizadas tras la inyección de reserpina. HOKFELT, en 1967, aportó datos anatómicos sobre la terminación de neuronas dopaminérgicas tuberoinfundibulares en la eminencia me-



Modificado de FUXE y COL (1978)

FIG.7

dia, adyacentes a los vasos portales de la hipófisis anterior, e HYYPPA y WURTMAN (1973), aunque no pudieron especificar su localización, comunicaron la presencia de serotonina en la hipófisis.

Las catecolaminas contenidas en las neuronas hipotalámicas pueden, por tanto, ejercer un efecto directo sobre la secreción hipofisaria de PRL después de ser transportadas a la glándula o, alternativamente, tener un efecto indirecto, actuando sobre el área hipofisótropa del hipotálamo, causando la liberación de un segundo mensajero (el hipotético PIF) que suprimiría la secreción de PRL (Fig. 7).

6B-1) Acción directa e indirecta de catecolaminas sobre la secreción de prolactina

6B-1a) Inhibición indirecta. El trabajo pionero de PASTEELS, en 1962, y el de TALWAKER, RATNER y MEITES en 1963, aportaron evidencia de la presencia de un PIF en los extractos hipotalámicos. Posteriormente RATNER, TALWAKER y MEITES (1965) comunicaron que si estos extractos hipotalámicos procedían de ratas tratadas con reserpina eran menos efectivos en inhibir la secreción de PRL, sugiriendo que esta droga depleccionaba el hipotálamo de PIF. De forma similar COPPOLA, LEONARDI, LIPPMAN, PERRINE y RINGLER (1965) sugirieron, sin demostrarlo, que en las ratas así tratadas la ausencia de noradrenalina (NORA) cerebral alteraba la síntesis y la liberación de PIF. ARIMURA, DUNN y SCHALLY (1972) propusieron que estos extractos actuarían por liberación de PIF y no por acción directa sobre la hipófisis, indicando que la perfenacina y la reserpina bloquean la liberación de PIF.

Los hallazgos de KAMBERI, MICAL y PORTER (1971)^a contribuyeron de forma significativa al establecimiento de la importancia de las catecolaminas cerebrales en la regulación de la secreción de PRL, indicando que A y NORA son activas cuando se utilizan a grandes dosis, y que su perfusión en los vasos hipofisarios, arterias pedunculares o vasos infundibulares no producen una

importante reducción de los niveles plasmáticos de PRL, lo que si ocurre cuando son perfundidas en el tercer ventrículo. KAMBERI, MICAL Y PORTER (1971)^c aportan nueva evidencia de que los extractos ácidos neutralizados de fragmentos hipotalámicos reducen notablemente las concentraciones plasmáticas de PRL cuando son perfundidos directamente en los vasos hipofisarios, si bien su efecto es transitorio, y sugieren que las catecolaminas, especialmente la dopamina, como habían indicado DONOSO, BISHOP, FAWCETT, KRULICH y McCANN (1971), estimulan los gránulos neurosecretores de PIF actuando, por tanto, mediante un efecto indirecto. KAMBERI, MICAL y PORTER (1971)^d corroboraron esta suposición, planteando la dificultad de reconciliar tales resultados con el defecto dramático apreciado "in vitro"; independientemente de los efectos de las catecolaminas y extractos que teóricamente contienen PIF, la única posibilidad de coordinar ambos resultados se establecería si el PIF fuera las propias catecolaminas o sustancias íntimamente relacionadas con ellas. SCHALLY, DUPONT, ARIMURA, TAKAHARA, REDDING CLEMENS Y SHAAR (1976) confirmarían, años más tarde, esta suposición.

6B-1b) Inhibición directa. Van MAANEN y SMELIK (1968) demostraron que la dopamina es la catecolamina predominante en el hipotálamo y que tras la administración de reserpina desaparece de éste. Con esta base plantean la hipótesis de que dopamina era liberada a los vasos porta hipofisarios alcanzando la hipófisis donde ejercería un efecto inhibitorio directo sobre la liberación de prolactina. McLEOD (1969) y BIRGE, JACOBS, HAMMER y DAUGHADAY (1970) aportaron datos apoyando este mecanismo al demostrar que las catecolaminas tienen un efecto inhibitorio directo "in vitro" sobre la síntesis y liberación de PRL. Dado que la incorporación de aminoácidos radiactivos en la molécula de prolactina se incrementaba en la hipófisis en presencia de catecolaminas, mientras que la cantidad de material liberado al medio de incubación disminuía, propusieron que el efecto primario era mayor sobre la liberación que sobre la síntesis. KOCH, LU y MEITES (1970) comunicaron idénticos resultados.

Aunque la adición de NORA a hipófisis mantenidas "in vitro" causa una rápida cesación de la liberación de PRL radioactiva, es necesaria la exposición constante, por lo menos durante 60 minutos, para inhibir de una forma efectiva la liberación de hormona. Una exposición durante 15 minutos, seguida por cambio del medio cultivo, es inefectiva para disminuir los niveles de PRL (McLEOD y LEHMEYER 1972). La exposición durante tres horas produce una abolición completa de la liberación, pero la subsiguiente incubación con medio normal restaura, en un tiempo medio de dos horas, el mecanismo liberador. Todo ello sugiere que las catecolaminas se ligan pobremente al receptor hipofisario o son rápidamente metabolizadas. Esta última posibilidad parece ser la más importante dado el contenido hipofisario de monoaminoxidasa, que es capaz de degradar dos nanomoles de catecolaminas por minuto. En modelos similares CLEMENTS(1976) y CARON, DROUIN, RAYMOND, KELLY y LABRIE (1976) han demostrado que el efecto inhibitorio de NORA se consigue a concentraciones mucho más altas que con dopamina.

Tanto los bloqueantes α y β de los receptores adrenérgicos son parcialmente efectivos en bloquear la inhibición inducida por catecolaminas sobre la liberación de PRL (BIRGE, JACOBS, HAMMER y DAYGHADAY 1970). Una combinación de propanalol y fentolamina bloquea completamente "in vitro" los efectos de NORA, al igual que el haloperidol bloquea los efectos de dopamina. Estos hallazgos demuestran claramente que la hipófisis es altamente sensible a la acción inhibitoria directa de las catecolaminas.

Esta acción directa se correlaciona bien con los cambios en las concentraciones plasmáticas de PRL tras las manipulaciones farmacológicas en las catecolaminas cerebrales. McLEOD y ABAD (1968) demostraron "in vitro" que la inyección de reserpina o alfa-metil-p-tirosina (AMpT) producían un incremento de la síntesis y liberación de PRL. LU, AMENOMORI, CHENG y MEITES (1970) demostraron que la reserpina, clorpromacina y AMpT, agentes que deprimen de forma efectiva la función de catecolaminas cerebrales,

causaban un incremento en los niveles séricos de PRL, mientras que la administración de L-Dopa, un precursor de catecolaminas, causaba una disminución de esta concentración. Sin embargo, como más adelante veremos, la mediación de inhibición por catecolaminas (excepto dopamina) no está aún aclarada, pues NORA también estimula la liberación de PRL, al mismo tiempo que la posible presencia de alguna otra vía, quizás extrahipotalámica, pueden coadyuvar en este control inhibitorio (LANCRAJAN, Del POZO y OHNHAUS 1978).

6B-2) Dopamina como PIF fundamental

Ya he comentado que el efecto primario de dopamina es inhibir la secreción de PRL. Sin embargo, la disminución de los niveles de PRL apreciados en cultivo no es proporcional con el grado de nueva síntesis, debido a la secreción inicial, no inhibida, de prolactina preformada. La dopamina "in vivo" también inhibe el incremento nocturno de PRL, al igual que L-DOPA (CHIHARA, KATO, MAEDA, OHGO e IMURA 1976), la respuesta a la hipoglucemia insulínica (LEEBAW, LEE y WOOLF 1978) y, quizás en ocasiones, su síntesis (CHEUNG y WEINER 1978). Existe, pues, una gran evidencia de que la dopamina puede ser el inhibidor fisiológico de la secreción de PRL, pudiendo actuar directamente "in situ" sobre la hipófisis. Mecanismos similares han sido comunicados para otras hormonas como, por ejemplo, MSH (BOWER, HADLEY y HRUBY 1974).

SHAAR y CLEMENTS(1974) examinaron el contenido en catecolaminas de extractos hipotalámicos, comunicando que la actividad PIF puede ser ejercida por la reserva hipotalámica de NORA y de dopamina. La digestión enzimática con monoamino-oxidasa, o el tratamiento con alúmina, convierte los extractos en inactivos, mientras que la digestión péptica no modifica su actividad para inhibir la secreción de PRL. TAKAHARA, ARIMURA y SCHALLY (1974)^b purificaron parcialmente una fracción PIF preparada de hipotálamo de cerdo, señalando que con esta preparación, y tras repetidas cromatografías, se podía obtener la suficiente cantidad de NORA y dopamina

para justificar la actividad PIF. Tal aseveración, identificando la dopamina al hipotético PIF ha sido posteriormente compartida por otros autores (HOROWSKI y GRAF 1976).

Sin embargo, QUIJADA, ILLNER, KRULICH y McCANN (1973) introdujeron la idea de que no toda la actividad PIF podía ser achacada a dopamina. GREIBROKK, HANSEN, KNUDSEN, LAM y FOLKERS (1975), SCHALLY, DUPONT, ARIMURA, TAKAHARA, REEDING, CLEMENTS y SHAAR (1976) y, más recientemente, ENJALBERT, MOOS, CARBONELL, PRIAM y KORDON (1977) demuestran esta idea, afirmando que casi el 50% de la actividad PIF corresponde a factores motivo de especulación y que parecen encontrarse, al menos en algunas preparaciones, en la fracción sinaptosómica.

6B-2a) Efecto de L-DOPA. La concentración de catecolaminas en el cerebro es incrementada por la administración de L-DOPA tras conversión metabólica a dopamina y NORA. LU y MEITES (1972) demostraron que la L-DOPA, a los 30 minutos de su inyección en ratas, causa un dramático descenso en la concentración sérica de prolactina y un incremento del contenido hormonal hipofisario. Su efecto ha sido introducido en clínica como prueba de función hipofisaria (MALARKEY, JACOBS y DAYGHADAY 1971; TURKINGTON 1972)^c. La administración oral de 500 mg producen un descenso de la concentración de PRL entre la primera y tercera hora, finalizando su efecto al cabo de 6 horas. Aún con tratamiento crónico la supresión de la droga se sigue de un rápido incremento en la concentración sérica de la hormona.

La acción de L-DOPA es incrementada por los inhibidores periféricos de la descarboxilasa de aminoácido-L-aromático (MK 486), aunque su respuesta se encuentra retardada (JIMENEZ, VOOGT y CARR 1978) y parece que en su mecanismo de acción no es solo necesaria la descarboxilación periférica (WIGGINS y FERNSTROM 1977) siendo capaz de ejercer su efecto supresor cuando esta queda restringida al sistema nervioso central (SZABO, NAKAWATASE, KOVOTHANA y

y FROHMAN 1977); ello presupone, como ha demostrado BRONW, GARFINKEL, WARSH y STANCER (1976) en el humano, que la L-DOPA debe de transformarse en dopamina a nivel central, efecto contrario al observado para HCh en pacientes acromegálicos donde el efecto inhibidor es mediado a través de su conversación periférica (CAMANNI, PICOTTI, MASSARA, MOLINATTI, MANTEGAZZA y MULLER 1978). La L-DOPA en su decarboxilación periférica contribuye al efecto inhibidor tónico de dopamina sobre la liberación hipofisaria de PRL.

El mecanismo a través del cual L-DOPA-dopamina inducen la supresión de prolactina sigue siendo aún objeto de debate. LU y MEITES (1972) y DONOSO, BANZAN y BARCAGLIONI (1974) midieron la concentración sérica de PRL, en ratas portadoras de trasplantes hipofisarios, tras la inyección de L-DOPA; la droga disminuyó la concentración sérica elevada producida por el trasplante lo que les permitió suponer que la dopamina formada en el cerebro actúa directamente en la hipófisis y no a nivel hipotalámico, punto de vista de acuerdo con los hallazgos iniciales de que L-DOPA (a las altas dosis utilizadas) deprimía los niveles de prolactina sérica de ratas con lesiones en la eminencia media.

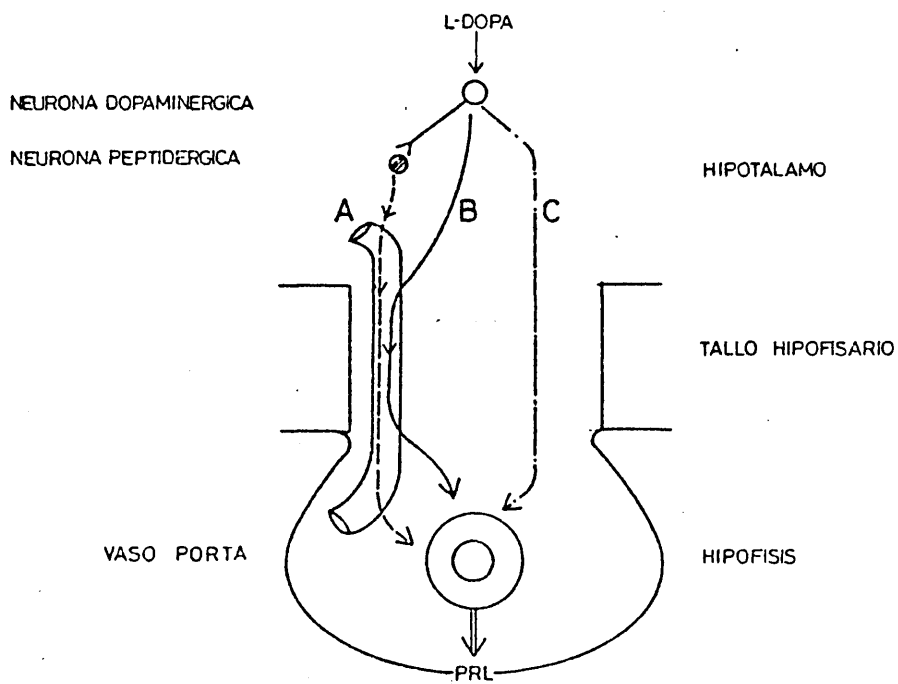
LU y MEITES (1972) apuntan que la L-DOPA incrementa la síntesis y liberación de PIF, postulando un mecanismo de acción indirecto. De acuerdo con esta hipótesis KAMBERI, MICAL y PORTER (1971)^a comunicaron que la administración intraventricular de catecolaminas disminuye los niveles plasmáticos de PRL, mientras que la inyección directa en la hipófisis, a través de un vaso portal hipofisario, no produce tal disminución. Estas afirmaciones han sido reconsideradas por TAKAHARA y col. (1974)^b quienes demuestran que cuando se disuelve dopamina en una solución de glucosa y se perfunde por la vía portal hipofisaria se produce una significativa disminución de las concentraciones séricas de PRL.

La idea de que la dopamina hipotalámica inhibía la secreción de prolactina por una acción directa es mantenida por los

trabajos de DONOSO y col. (1974). La producción de lesiones electrofisiológicas en la eminencia media inducía una tendencia al incremento de los niveles séricos de PRL, que eran disminuidos tras la inyección de L-DOPA. De forma adicional, la inhibición que L-DOPA produce en ratas con trasplantes hipofisarios es prevenida si estos animales reciben inyecciones de bloqueadores de la descarboxilación de L-DOPA a dopamina en el cerebro. L-DOPA también suprime la hipersecreción de PRL en el Macacus Rhesus con sección del tallo hipofisario (DIEFENBACH, CARMEL, FRANTZ y FERIN 1976).

Tras revisar el posible mecanismo de acción de L-DOPA, NOEL SUH y FRANTZ (1973) también sugieren una acción directa sobre la hipófisis en humanos. COOPER y JACOBS (1977) aportan evidencia sobre este efecto directo al apreciar la inhibición de PRL, estimulada por TRH, con apomorfina, si bien WOOLF, LEEBAW y LEE (1977) han comunicado, tras la administración de L-DOPA y carbodopa, que el sistema dopaminérgico puede tener dos sitios distintos de acción; uno a través de la barrera hematoencefálica, y otro periférico dado que la dopamina exógena no atraviesa esta barrera. FINE y FROHMAN (1977) trabajando con mujeres afectas de tumor hipofisario secretor de PRL, CAMANNI, MASSARA, BELFORTE, ROSATELLO y MOLINATTI (1977) en pacientes acromegálicos y personas normales y LEBLANC, LACHELIN, ABI-FADIL y YEN (1976) inyectando dopamina en voluntarios humanos corroboran estos resultados.

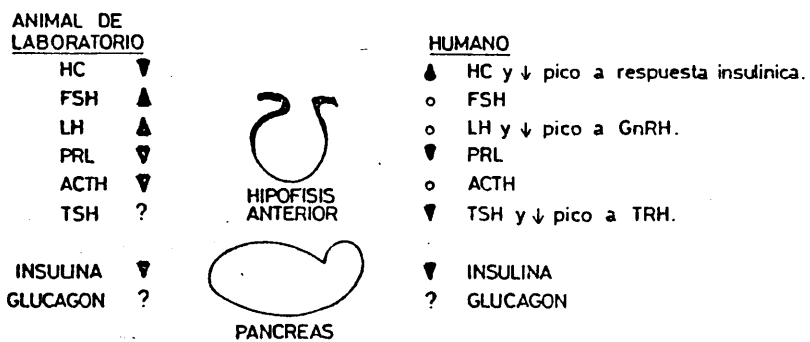
Por otra parte, VIJAYAN y McCANN (1978)^a en la rata han comunicado que la dopamina puede tener diferentes acciones según la dosis utilizada y el estado endocrino del animal. A dosis bajas y en animal pretratado con estrógenos-progesterona, o en inyecciones pulsátiles, tanto en el animal ovariectomizado como en el anterior modelo, obtienen un incremento de LH, mientras que a grandes dosis en animal ovariectomizado la secreción de LH queda suprimida previa inhibición del LH-RH; aunque la PRL se movió dentro de los límites esperados las diferencias obtenidas en la cuantificación de gonadotropinas es posible que haya que tenerlas en cuenta, (extrapolándola



- A) Dopamina libera. PIF, de forma alternativa la hipofisis puede ser afectada por el PIF (un agonista dopaminergico) y dopamina.
- B) Dopamina, comportandose como una verdadera hormona, es transportada hasta alcanzar la hipofisis
- C) Dopamina llega a la hipofisis por una via hipotalamo - hipofisaria directa.

Modificado de HOROWSKI y GRÄF(1979)

FIG. 8



Efectos de la L-Dopa y/o Dopamina sobre la hipofisis anterior y el páncreas.

Modificado de LEBOVITZ, BOYD y FELDMAN (1972).

FIG. 9

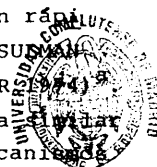
a otras hormonas), especialmente cuando se valoren resultados paradójicos de comparación de respuesta en distintas especies animales. A este respecto merece citarse el trabajo de CHEUNG y WEITNER (1978) sobre la aparición de supersensibilidad para dopamina tras lesión del tallo hipofisario, obteniéndose mayores grados de inhibición con dosis menores que las utilizadas en cultivo. Además, el efecto directo de dopamina es dosis dependiente (KOCH, LU y MEITES 1970).

La dopamina en el humano afecta también la secreción de otras hormonas. Al menos la HC, LH, y TSH son influenciadas por efectos mediados a través de sus correspondientes factores liberadores, por lo que los resultados finales en lo que a PRL se refiere quizás haya que considerarlos con un sentido menos simple a consecuencia de esta serie de interacciones hormonales (LEEBAW, LEE y WOOLF 1978).

En la Figura 8 se esquematizan los posibles mecanismos de acción de dopamina, y en la Figura 9 los distintos efectos sobre el resto del sistema endocrino.

6B-2b) Drogas Estimuladores de la Secreción de Prolactina. La administración de tranquilizantes a algunos pacientes puede ocasionar incremento del volumen mamario y galactorrea. Tras los trabajos pioneros de BARRACLOUGH y SAWYER en 1959, KANEMATSU, HILLIARD y SAWYER en 1963 y COPPOLA, LEONARDI, LIPPMAN, PERRINE y RINGLER en 1965 demostraron, como hemos comentado previamente, el efecto de reserpina, y otros agentes depleccionantes de catecolaminas, sobre la prolactina, abriendo el camino de la investigación farmacológica a la estimulación de su secreción.

Los derivados fenotiacínicos, especialmente la perfenacina, son bien conocidos a este respecto. Su inyección provoca un rápido incremento de la prolactina sérica (BEN-DAVID, DANON y SUZMAN 1970; LU, AMENOMORI, CHEN, y MEITES 1970; McLEOD y LEHMEYERS 1974). Funcionalmente, aunque no bioquímicamente, actúan de manera similar a reserpina y AMPT. Sin embargo, se han postulado otros mecanismos de acción. La incubación de hipófisis de ratas machos o hembras



con dopamina sabemos que produce un dramático descenso de la secreción de hormona sintetizada de novo, y que la inyección diaria de 1 mg de perfenacina, durante cuatro días, provoca un incremento en la síntesis de PRL que en ratas hembras es cinco veces superior al obtenido "in vitro". Cuando las hipófisis de estos animales son incubadas con dopamina no se aprecia la usual inhibición de acción. El momento del inicio de la acción de perfenacina es muy rápido; cuanto más se retrasa el tiempo entre la inyección de la droga y el sacrificio del animal el efecto inhibidor de dopamina es mucho menor, pudiendo obtenerse un bloqueo parcial del efecto de dopamina a los tres minutos de la inyección del tranquilizante.

La perfenacina puede producir este efecto por una serie de mecanismos combinados, o por uno solo: a) La droga puede actuar en el hipotálamo disminuyendo el contenido de PIF (RATNER, TALWALKER y MEITES 1965; DANON y SULMAN 1970), b) puede actuar en el hipotálamo disminuyendo el contenido de catecolaminas y, secundariamente, el contenido de PIF (MEITES, LU, WUTTKE, WELSCH, NAGASAWA y QUADRI 1972), c) puede depleccionar el contenido hipotalámico de catecolamina dejando libre a la hipófisis del efecto inhibidor, y d) puede actuar directamente sobre la hipófisis bloqueando el efecto PIF, lo que parece haber sido demostrado por McLEOD (1976) al comprobar que la perfenacina sola no ejercía ningún efecto "in vitro", pero cuando se incubaba con dopamina bloqueaba el efecto de ésta aumentando la cantidad de PRL-H³ eliminada al medio de cultivo. Supuso, además, una alta especificidad de acción dado que el efecto bloqueante podía obtenerse con concentraciones mínimas de la droga.

El haloperidol es un antagonista competitivo de las catecolaminas que bloquea la neurotransmisión de los receptores dopaminérgicos. DICKERMAN, CLARK, DICKERMAN y MEITES (1972) demostraron, con dosis muy pequeñas, el incremento de las concentraciones séricas de PRL a la hora de su inyección. Además, la capacidad de los extractos hipotalámicos para disminuir los niveles de prolactina eran significativamente reducida en ratas tratadas con esta droga, lo que permitió sugerir a DICKERMAN, KLEDZIK, GELATD, CHEN y MEITES (1974) que el haloperidol, probablemente, disminuía el

contenido hipotalámico de catecolaminas, siendo este el mecanismo responsable del control observado sobre PRL. McLEOD y LEHMEYER (1973) demostraron que el haloperidol ejercía algún efecto sobre la hipófisis, produciendo un incremento en la síntesis y liberación de PRL y bloqueando la capacidad de dopamina para inhibir "in vitro" la síntesis de PRL-H³. QUIJADA, ILLNER, KRULICH y McCANN (1973) demostraron un efecto semejante, además de postular el ya conocido efecto liberador de PIF por dopamina, y observar que la incubación de la hipófisis en un medio que contenía dopamina y haloperidol daba como resultado una disminución de la secreción de PRL. DICKERMAN y col. (1972) también obtuvieron un descenso de la secreción de PRL "in vitro", por lo que no puede negarse la existencia de un efecto de esta droga sobre la hipófisis para inhibir la secreción de PRL.

El pimocida, droga neuroléptica bloqueante específica de los receptores de dopamina (ANDEN, BUTCHER, CORRODI, FUXE y UNGERSTEDT 1970), es un potente estimulador de la secreción de PRL. Su inyección en ratas incrementa significativamente los niveles de hormona circulante, así como tiene la capacidad "in vitro" de aumentar la síntesis hormonal (MAURER y GORSKI 1977); deja, además, a la hipófisis refractaria al usual efecto inhibitorio de dopamina (McLEOD y LEHMEYER 1974)^a ejerciendo, por tanto, una acción biológica similar a perfenacina y haloperidol. Es también capaz de bloquear "in vitro" la acción de dopamina sustrayéndose, por tanto, que estos datos aportan información sobre la efectividad de los agentes bloqueantes dopaminérgicos en la inhibición directa de la acción de las catecolaminas hipotalámicas.

OJEDA, HARMS y McCANN (1974) comunicaron que el implante de pimocida en la hipófisis producía un incremento gradual de PRL sérica, al igual que cuando la droga era implantada en la región eminencia media-arcuata, sugiriendo un efecto central en la acción de la droga. Además, con pimocida se ha podido comprobar que el control dopaminérgico sobre PRL se produce rápidamente tras el nacimiento (OJEDA y McCANN 1974).

Parece claro, con los datos aportados, que reserpina, perfenecina, haloperidol y pimocide incrementan la concentración de PRL, aunque por mecanismos variables para cada una de ellas. Pero, en conjunto sugieren que las catecolaminas, fundamentalmente dopamina, ejercen una inhibición directa sobre la secreción de PRL aunque no puede descartarse, como luego veremos, la posible mediación del efecto PIF por otras sustancias distintas de catecolaminas.

6B-2c) Drogas que Reproducen el Efecto Biológico de Dopamina (Drogas inhibitorias de Prolactina). La apomorfina y los alcaloides del ergo son las drogas mejor conocidas en la reproducción de los efectos dopaminérgicos sobre la secreción de PRL.

La apomorfina tiene las mismas actividades farmacológicas que la dopamina, pudiendo estimular sus receptores. Aunque inicialmente se pensó que disminuía los niveles circulantes de PRL actuando sobre el hipotálamo se demostró que este alcaloide actúa directamente sobre la hipófisis, causando una disminución del 60% en la cantidad de hormona secretada (McLEOD y LEHMEYER 1973). En ratas tratadas previamente con perfenacina, o cuyas hipófisis eran incubadas con la droga, la apomorfina ejercía un efecto protector inhibiendo la acción estimulante de aquella. SMALSTIG, SAWYER y CLEMENS (1974) observaron que la administración de apomorfina atenuaba significativamente el incremento producido por clorpromacina. Además, la apomorfina prevenía el incremento de la PRL sérica en ratas lactantes, y el aumento que ocurría en el proestro. OJEDA, HARMS y McCANN (1974) aportaron evidencia de que la inyección de apomorfina y dopamina en el tercer ventrículo de la rata ovariectomizada y tratada con estrógenos causaba una disminución de los niveles de PRL. La inyección previa de pimocide prevenía el efecto depresor sobre la prolactina, sugiriéndose la importancia de la acción central junto a la periférica. En dos estudios clínicos (LAL, de la VEGA, SOURKES y FRIESEN 1973; MARTIN, LAL, TOLIS y FRIESEN 1974) la apomorfina disminuyó los niveles séricos de prolactina en cuatro de las 12 pacientes estudiadas, efecto que era bloqueado por clorpromacina.

Otros estimulantes de los receptores de dopamina como el piribedil han producido efectos similares (MULLER, GENAZZANI, MURRU y FIORETTI 1977).

Las mejores drogas conocidas, y las de más importancia clínica, son las derivadas de los alcaloides del ergo, por lo que merece la pena dedicarles un estudio más amplio.

Durante los últimos 5 años se ha acumulado evidencia de que las drogas ergotínicas ejercen una acción dopaminérgica agonista sobre los receptores postsinápticos del cerebro. Consecuencia de ello son las acciones neuroendocrinas y medio-ambientales de estas drogas. Entre las primeras, y quizás unas de las mejores conocidas, se encuentran la marcada reducción en la liberación de PRL. Sin embargo, las drogas ergotínicas no solo afectan específicamente a los receptores de dopamina. Ergocornina, LSD-d y lisuride pueden actuar como agonistas de los receptores para 5-hidroxitriptamina, o ejercer, probablemente, una acción alfa-adrenérgica ya que la ergocornina, bromocriptina y lergotrile pueden incrementar el "turnover" de NORA. Por todo ello, y por las cruciales implicaciones fisiológicas y terapéuticas de estas drogas, queda justificado este estudio. Los aspectos concernientes a su farmacología y bioquímica han sido reciente objeto de amplias y detalladas revisiones (FUXE, FREDHOM, OGREN, AGNATI, HOKFELT y GUSTAFSSON 1978; 1978 a), así como sus principales actividades neuroendocrinas (LEMBERGER 1978; FLUCKIGER y del POZO 1978; FLUCKIGER 1978; Del POZO y LANCRANJAN 1978).

Las cuatro clases principales de alcaloides del ergo (alcaloides de clavina, ácido lisérgico, amidas simples del ácido lisérgico y ergopeptidos) son compuestos activos. A ellos se puede añadir una quinta clase, las 8-amino-ergolinas, de las cuales no se conocen alcaloides naturales. Desde 1954, cuando SHELESNYAK describió sus observaciones con la ergotoxina, más de 60 compuestos diferentes se han comunicado en la literatura como capaces

de inhibir la secreción de PRL de la hipófisis de mamíferos. Pero solo desde hace muy poco tiempo se ha empezado a conocer las relaciones entre su estructura y actividad, así como el sitio y modo de acción de estas drogas. Por todo ello su introducción con éxito en el tratamiento de los estados hiperprolactinémicos es muy reciente, a pesar de lo cual se han mostrado muy eficaces como puede observarse de la amplia literatura existente (McMURTRY y MALVEN 1974; LUTTERBEC, PRYOR, VARGA y WENNER 1971; BESSER, PARKE, EDWARDS, FORSYTH y McNELLY 1972; Del POZO, VARGA, WYSS, TOLIS, FRIESEN, WENNER, VETTER y VETTWILER 1974), y que ha sido recientemente revisada por FRANTZ y KLEIMBER (1978) y por FLUCKIGER, VIGOURET y WAGNER (1978).

SHELESNYAK consideró dos sitios de acción a nivel de los cuales los alcaloides del ergo podía suprimir la secreción hipofisaria: el hipotálamo y la hipófisis. ZEILMAKER y CARLSEN en 1962 aportaron la primera evidencia, basada en experimentos "in vivo", de que la ergocornina actuaba directamente a nivel hipofisario. En 1971, trabajando "in vitro", PASTEELS, DANGUY, FREROTTE y ECTORS utilizando un método de bioensayo, demostraron que la ergocornina y bromocriptina reducían la secreción de un material semejante a un sistema de RIA, LU, KOCH y MEITES (1971) demostraron que la ergocornina inhibía la secreción y síntesis de hormona de hipófisis de ratas, y McLEOD y LEHMEYER (1972) observaron, con hipófisis en cultivo de rata, que la ergocornina, alfa-ergocriptina y ergotamina inhibían la liberación de prolactina naciente, lo que sería posteriormente confirmado por VALE, RIVIER, BROWN, CHANG, LING y RIVIER (1976). Esta acción no es específica para los derivados amídicos del ácido lisérgico, ya que CLEMENS, SMALSTING y SHAAR (1975) utilizando el derivado clavínico lergotrile, también observaron una acción inhibitoria para PRL en hipófisis de rata mantenida en cultivo. Quedaba, pues, bien documentada la acción directa sobre la hipófisis.

Otras observaciones sugirieron que la droga podía actuar a nivel hipotalámico. FUXE y HOKFELT, en 1970, fueron los primeros en comunicar que el tratamiento con ergocornina o bromocriptina reducía el "turnover" de dopamina de las neuronas dopaminérgicas

tubero-infundibulares (TIDA) y de las del núcleo arcuato de ratas lactantes. WUTTKE, CASSELL y MEITES (1971) comunicaron una actividad PIF incrementada en el hipotálamo de ratas tratadas con ergo-cornina, y HOKFELT y FUXE (1972) sugirieron, basados en estas observaciones, que los compuestos que nos ocupan mostraban un sitio de acción a nivel hipotalámico, lo que puede explicar el resto de las acciones conocidas sobre las hormonas hipofisarias distintas de PRL, y que justifican la complejidad de sus efectos neuroendocrinos (Tabla V).

Los alcaloides del ergo, y compuestos relacionados, se sabe que actúan sobre los receptores adrenérgicos y de 5HT. Una nueva dimensión fue añadida por CORRODI y col., en 1973, al aportar evidencia bioquímica de que la administración sistémica de ergo-cornina y bromocriptina reducía el "turnover" de dopamina e incrementaba su contenido en el cerebro de ratas, lo que fue interpretado como la consecuencia de una estimulación presináptica de las neuronas dopaminérgicas. En el hombre la concentración del ácido homovanílico (HVA) disminuye en el líquido cefalorraquídeo tras el tratamiento con bromocriptina, añadiendo más evidencia a este concepto.

McLEOD (1976), trabajando "in vitro", ha aportado evidencia muy positiva de que la célula de prolactina está equipada con receptores sensibles a dopamina cuya estimulación reduce la liberación hormonal, efecto que es inhibido por los agentes bloqueantes de los receptores de dopamina. Por ello el haloperidol y la perfenacina antagonizan, de forma dosis dependiente, la acción inhibitoria de la alfa-ergocriptina y bromocriptina sobre la secreción de prolactina. CLEMENS (1976) demostró que la acción del lergotril "in vitro" podía ser antagonizada por pimocide, pero no por fentolamina o propanolol. Recientemente CRONIN, ROBERTS y WEINER (1978) han caracterizado, en fracciones subcelulares de hipófisis de ratas y ovejas, zonas del cuerpo estriado, hipófisis posterior y eminencia media, estos receptores, que muestran alta afinidad ($K_d=50$ y

Tabla V

EFECTOS DE LOS ALCALOIDES DEL ERGO

1) Reducen la liberación de PRL

- a) Gran afinidad y gran actividad intrínseca (agonista) sobre receptores de DA en célula prolactínica.
- b) Baja afinidad y actividad agonista en receptores de DA en la parte dorsal y posterior del núcleo acumbens.

2) Reducen la secreción de LH

- Baja afinidad y actividad agonista de DA en terminales nerviosas que contienen LHRH de la zona lateral de la eminencia media.

3) Incrementan secreción de GH

- Actividad agonista a nivel de receptores DA en terminales nerviosas que contienen somatostatina en la eminencia media.

4) Disminuyen GH en Acromegalia

- Afinidad media y actividad agonista a nivel de receptor DA en las células GH patológicas.

80 nM/3,7 -6 nM), baja capacidad de sitios de unión (336 fmol/mg prot/250 fmol/mg prot) y que parecen estar asociados con un orden simple de unión, además de presentar estereo-selectividad y ser dependientes de temperatura.

Sin embargo, el efecto agonista sobre los receptores de dopamina parece mucho más complejo. El lisuride ejerce una importante acción agonista (HOROWSKI y WACHTEL 1976) pero la metergolina no produce una estimulación significativa de los receptores de dopamina aunque si parece que bloquea los receptores de 5HT, efecto que curiosamente es bloqueado por pimocide (CHIODINI, LIUZZI, MULLER, BOTALLA, CREMASCOLI, OPPIZZI, VERDE y SILVESTRINI 1976). Por otra parte, GOLDSTEIN, LEW, NAKAMURA, BATTISTA y LIEBERMAN (1978) han comprobado que algunas de las drogas comentadas pueden desplazar la unión de haloperidol y dopamina de la membrana de células hipofisarias de rata; dado que una y otra se comportan como antagonistas y agonistas de los receptores de dopamina sugieren que las drogas ergoderivadas ejercen una acción dual sobre los receptores dopaminérgicos. FUXE y col. (1978), en base a sus experimentos sobre AMPc, corroboran esta teoría.

Como la inhibición de la secreción de prolactina por bromocriptina es, no solo demostrable "in vivo", sino que también lo es "in vitro", parece evidente que la bromocriptina actúa directamente, y no indirectamente por la liberación de catecolaminas almacenadas. Por otra parte, se ha observado en ratas que el sistema inhibitor es atenuado si se depleccionan los niveles de amina biogénica, o si su síntesis es reducida por reserpina y AMPt (LOEW, VIGOURET y JATON 1976). Reserpina más AMPt administradas a ratas elevan apreciablemente los niveles de PRL, que son disminuídos a casi un 90% por la bromocriptina y el lisuride (HOROWSKI y GRAF 1975; GRAF, NEWMANN y HOROWSKI 1976) lo que demuestra que la acción de las drogas no depende de los niveles intactos de catecolaminas.

Otros neurotransmisores distintos de dopamina han sido implicados en el control de PRL, como veremos más adelante. Pero

avancemos que no existe evidencia de que los alcaloides del ergo estimulen o bloqueen la acetilcolina, receptores H_1 o H_2 , o receptores beta-adrenérgicos (MULLER-SCHEINITZER y WEIDMAN 1978) aunque el papel de la serotonina parece que no puede ser olvidado, al igual que el de NORA.

En ratas intactas DONOSO, BISHOP, FAECETT, KRULICH y McCANN (1971) han comunicado que la dihidroxifenil-serina, un precursor de NORA, incrementa los niveles de PRL. La clonidina, un agonista de los receptores alfa-adrenérgicos, deprime o incrementa estos niveles, pero la fenoxibenzamina y la fentolamina se ha comunicado que aumentan la concentración plasmática de PRL en ratas (LAWSON y GALA 1975). La bromocriptina tiene innegables acciones agonistas alfa-adrenérgicas, pero bloquea estos receptores en modelos de vena safena de perro, siendo equipotente con la dihidro-ergotamina. En contraste con estos hallazgos la dihidroergotamina es 20 veces menos potente como inhibidor de la PRL que la bromocriptina. La ergocornina, la bromocriptina y el lisuride incrementan la depleción de NORA en cerebro de ratas tras la inhibición de la síntesis de ésta, sugiriendo alguna acción bloqueadora de los receptores noradrenérgicos. De acuerdo con toda esta compleja evidencia la participación de un efecto bloqueante de los receptores alfa-adrenérgicos en el organismo íntegro no puede ser excluida, aunque la importancia de este mecanismo no ha sido establecida. A favor de esta hipótesis se encuentran los recientes trabajos de FUXE y col. (1978) y GOLDSTEIN y col. (1978) quienes aportan evidencia de un bloqueo de receptores de NORA en el hipotálamo por la bromocriptina. Este efecto puede provocar un incremento compensador en el "turnover" de NORA, y dado que un sistema mediado por NORA parece regular la actividad de la vía tubero-infundibular de dopamina, podría explicarse la aceleración observada del "turnover" de dopamina.

6B-2d) Sistema Dopaminérgico y Vitamina B_6 . En 1973 FOUKAS comunicó que la piridoxina (PDX) suprimía de forma efectiva la lactancia purperal y la ingurgitación mamaria, no indicándose nada respecto

al posible mecanismo de acción. Posteriormente McINTOSH (1976) indicó la positividad terapéutica de la PDX (200-600 mg/día/37-94 días) en tres pacientes con síndrome amenorrea-galactorrea. Dado que la PDX es uno de los tres precursores naturales del piridoxal-5-fosfato (P-5-F), que funciona como una coenzima en la decarboxilación y transaminación de aminoácidos, en particular en la conversión de DOPA a dopamina y 5-Hidroxitriptófano a Serotonina, y aunque ambos sistemas son antogónicos respecto a PRL, McINTOSH propuso una prepondencia del sistema dopaminérgico para explicar la disminución de los niveles circulantes de PRL inducidos por la PDX. DELITALA, MASALA y ALAGNA (1977), apoyan este efecto inhibitorio, y comunican un efecto supresor de la PDX sobre la hiperprolactinemia inducida por pimocida, sugiriendo un incremento de la actividad dopaminérgica derivado de una mayor concentración de dopamina utilizable tras el incremento de conversión inducido por la PDX. Posteriormente DELITALA y MASALA (1977) comunican una potenciación del efecto supresor de levodopa por la PDX, merced a una aceleración de la conversión periférica y efecto extracerebral (al no atravesar la barrera hematoencefálica) ya sobre la hipófisis o sobre la eminencia media, al igual que comunicaron CAMANNI, MASSARA, BELFORTE, ROSSATTELO y MOLINATTI (1977) y BROWN, GARFINKEL, WARSH y STANCER (1976) trabajando con carbidopa.

HARRIS, SMITH, ALEX, SALHANICK, VAGENAKIS y BRAVERMAN (1978) demuestran en la rata el efecto reductor de la PDX, a dosis farmacológicas, sobre el pico de PRL del proestro, y dado que la vitamina B₆ deprime los niveles de hormona circulante tras la administración de AMPt y TRH sugieren un posible efecto inhibitorio directo sobre las células lactotropas hipofisarias.

Sin embargo, el efecto inhibitorio de la PDX no parece tan claro en base a recientes trabajos de TOLIS, LALIBERTE, GUYDA y NAFTOLIN (1977) quienes han comunicado que no se produce ninguna modificación aguda de HCh o PRLh ni disminución de la galactorrea

o reaparición de las reglas tras dos meses de tratamiento. A resultados similares han llegado SPIEGEL, ROSEN, WINTRAUB y MARYNIC (1978) y LEHTOVIRTA, RANTA y SEPPALA (1978) en dos series de pacientes con hiperprolactinemia, y REITER y ROOT (1978) estudiando el eje hipotálamo hipofisario en niños.

No cabe duda que el mecanismo de acción de la PDX, y su posible efecto fisiológico, no están aún bien estudiados.

6B-3 Otras sustancias con efecto PIF

Se ha comentado previamente que no toda la actividad PIF podía ser achacada a dopamina y sistema adrenérgico. ENJALBERT, RUBERG, FIORE y KORDON (1978) en un intento de identificar esta fracción no dopaminérgica estudian el efecto del ácido gamma-aminobutírico (GABA), mediador capaz de inhibir la secreción de PRL como previamente habían comunicado SCHALLY, REDDING, ARIMURA, DUPONT y LINTHICUM en 1977; "in vitro", pudieron comprobar el efecto inhibitorio, pero mucho más débil que el de dopamina. Los efectos del GABA y dopamina fueron interdependientes y no parece que implicaran a un mismo receptor; el alfa-flupentixol no antagoniza el efecto del GABA, y la picrotoxina, un inhibidor gabaérgico, suprime por completo el efecto del GABA sin afectar la acción dopamínica, por lo que la sustancia que nos ocupa puede ser uno de los PIF localizados en el hipotálamo medio basal. A resultados similares han llegado recientemente ENJALBERT, RUBERG, ARANCIBIA, FIORE, PRIAM y KORDON (1979) con un modelo "in vitro".

Sin embargo, las cosas no parecen claras. MIODUSZEWSKI, GRANDISON y MEITES (1976), ONDO y PASS (1976), y PASS y ONDO (1976) en la rata, y TAKAHARA, YUNOKI, YAKUSHIJI, YAMAUCHI, YAMANE y OFUJI (1977) en el humano, han comunicado que la inyección intraventricular incrementa la secreción de PRL, además de que su concentración, a nivel de eminencia media, es la más baja de todo el cerebro. Apoyando esta complejidad del efecto del GABA, LOCATELLI, COCCHI,

FRIGERIO, BETTI, KROGSGAARD-LARSEN, RACAGNI y MULLER (1979) basados en la administración sistémica de muscinol, droga gabamimética que disminuye los niveles de PRL en la rata, corroboran datos anteriores y aportan que la picrotoxina y la bicucullina, dos antagonistas de los receptores del GABA, no contrarrestan, o incluso potencian, el efecto de muscinol; en animales ovariectomizados y tratados con estrógenos ambas drogas provocan una caída progresiva de los niveles de PRL, siendo incapaces de oponerse al efecto del muscinol. La inyección de muscinol en el ventrículo lateral produjo un claro incremento de PRL que era contrarrestado por bicucullina. En base a estos resultados proponen que el efecto dual de la droga gabamimética, relacionado con la vía de administración, era indicativo de un lugar de acción no central cuando se utiliza por vía sistémica. De acuerdo con esta hipótesis, el muscinol inhibió la liberación de PRL de hipófisis aisladas, efecto abolido por la coincubación con picrotoxina, pero no disminuyó los niveles de PRL de ratas con trasplantes hipofisarios. Este efecto directo del muscinol sobre la hipófisis fue conceptualmente favorecido por el hecho de que inhibe, tras administración sistémica, el incremento de PRL provocado por AMPT.

Por tanto, puede sugerirse un doble sistema gabaérgico, uno estimulador central, y otro inhibidor a nivel hipofisario, como ha vuelto a corroborar GRANDISON y GUIDOTTI (1979).

Otro factor con actividad PIF ha sido descrito recientemente por BAUER, GRAF, FAIVRE-BAUMAN, BEIER, TIXIER-VIDAL y KLEINHAUF (1978). Se trata de un sistema mediado por la histidil-prolina-diketopiperacina, sustancia catabólica que supone una pequeña parte de una fracción residual procedente de los extractos hipotalámicos, y de la que se desconoce su mecanismo de acción.

6C) Estrógenos y regulación de PRL

Desde hace tiempo se sabe que los esteroides, especialmente los estrógenos (E) y la testosterona (T), causan hipertrofia de la hipófisis e incremento de la secreción de prolactina. Además, la ovariectomía se acompaña de una disminución en la producción de PRL, que es revertida por la administración de E y T (CATT y MOFFAT 1967; McLEOD, ABAD y EIDSON 1969, ATTRAMADAL, NAESS, HAUG, HANSSON y DURVIS 1977). El incremento de la PRL sérica en estos modelos es proporcional a la cantidad de estradiol administrada. Cantidades muy altas producen un claro decremento del pico de respuesta pero dosis de 500 mcg causan un significativo incremento de los niveles hipofisarios y séricos de PRL (CHEN y MEITES 1970). Los niveles circulantes de PRL son claramente incrementados por la androgenización de ratas, no observándose mayor incremento cuando se administran, además, altas dosis de estrógenos (MALLAMPATI Y JOHNSON 1973).

La PRL que se libera durante el ciclo estral es un fenómeno rítmico, controlado internamente, con un pico secretor característico en la noche del proestro (AMENORI, CHEN y MEITES 1970; NEILL 1970). Los estrógenos son esenciales para este pico, ya que la inyección de antisuero antiestrógenos en el segundo día del diestro produce una abolición del esperado incremento de PRL (NEILL, FREEMAN y TILLSON 1971), y esta inhibición puede ser neutralizada por la inyección concomitante de dietilestibestrol. Para la obtención de estos picos de secreción parecen necesarios los esteroides de origen suprarrenal y ovárico, al igual que para la obtención de respuesta tras la estimulación cervical (SMITH y NEILL 1976). SHIN (1979) ha sugerido tres posibles mecanismos para explicar esta pulsatilidad, en base a la desaparición de hormonas tras su liberación. Estos mecanismos comprenderían la conocida inhibición del PIF la secreción pulsátil de PRF, o una descarga cuantal, sincronizada a nivel hipofisario, sin intervención de ningún mediador.

El tratamiento de mujeres normales con 2,5 mg de dietilestibestrol (dos veces diarias/5 días) no produce una clara elevación

de los niveles basales de PRL, aunque la secreción estimulada por TRH se incrementa significativamente, algo similar a lo que ocurre tras la administración de fenotiacina, siendo ambas respuestas mayores en la mujer que en el hombre.

La evidencia de que las fluctuaciones en los niveles de estrógenos afectan a los de PRL es aún contradictoria. En general frente a estímulos similares las concentraciones de la mujer son mayores que las del hombre, pero no está aún claro si los estrógenos condicionan las modificaciones de la PRL a lo largo del ciclo menstrual. EHARA, SILER, VANDENBERG, SINHA y YEN (1973) han comunicado un franco incremento de la concentración nocturna durante el período postovulatorio en comparación con la fase folicular y luteal, BOYD y SANCHEZ-FRANCO (1977) han indicado picos mayores tras TRH en la fase luteal que en la fase folicular y RÜTLIN, HAUG y TORJESEN (1977) observan respuestas semejantes, junto a la normalización de éstas y de los valores basales, en mujeres postmenopáusicas con concentraciones bajas de PRL.

Existen también comunicaciones que sugieren la no existencia de tales efectos, aunque las discrepancias en estos resultados pueden surgir de una inadecuada valoración del estado estrogénico en el momento de realizar el estudio (BUCKMAN, PEAKE y SRIVASTAVA 1976). Aunque, en general, el mono Rhesus y, al parecer, el humano, siguen un patrón similar de requerimientos de E para mediar la secreción de PRL, el hecho de la observación de su incremento en ciertas condiciones patológicas tras la supresión del tratamiento con estrógenos (EHARA, SILER y YEN 1976), fenómeno comprobado experimentalmente en el macaco Rhesus (QUADRI, OYAMA y SPIES (1979), sugiere no solo precaución en la interpretación de los resultados, sino un mecanismo de rebote en el sistema homeostático de PRL modulado por estrógenos, sin respuesta durante los primeros momentos de la administración de la hormona.

Intentando estudiar el mecanismo de acción AHREN, FUXE, HAMBERGER y HÖKFELT (1971) y HÖKFELT Y FUXE (1972) correlacionan el

nadir de PRL sérica durante el diestro con un incremento para el "turnover" de dopamina en las neuronas tuberoinfundibulares, y la elevación del proestro con una disminución de dicho "turnover" hipotalámico. Otros estudios también demuestran que los estrógenos ejercen un efecto específico sobre las catecolaminas hipotalámicas. El "turnover" de dopamina en la región tuberoinfundibular disminuye tras la ovariectomía en ratas, y es normalizado por la administración de E y T (GUEDELISKI, ANNUNZIATO y MOORE 1977), fenómeno que, además, se correlaciona con las concentraciones séricas de PRL (JIMENEZ, VOOGT y CARR 1977). STEFANO y DONOSO (1967) comunicaron que la ovariectomía disminuía el contenido hipotalámico de dopamina y, en contraste, el "turnover" hipotalámico de NORA era incrementado, así como el grado de síntesis (ANTON-TAY, PELHAM y WURTMAN 1969).

LABRIE, LAGACE, DROUIN, DeLEAN, KELLY, FERLAND, BEAULIAU, RAYMOND, DUPONT y CUSAN (1977) comprueban que la preincubación hipofisaria con estrógenos conduce a una reversión, casi total, del efecto inhibitor de CB-154, en presencia y ausencia de TRH. HAUG y GAUTVIK (1976)^a trabajando "in vitro" concluyen que el E178 estimula directamente y significativamente la secreción de PRL, progesterona (P) causa un decremento dosis relacionado, T la estimula y la 5OH-testosterona tienen un mínimo efecto no reproducible. Resultados similares para E han sido comunicados en hipófisis de perro mantenidas en cultivo (JONES y BOYNS 1976).

El efecto de estrógenos parece que no solo aumenta directamente la liberación de PRL, sino que incrementan precozmente el grado de síntesis (APFELBAUM y TALEISNIK 1977; MAURER y GORSKI 1977), lo que está de acuerdo con las modificaciones morfológicas comunicadas por AUMULLER, WAGNER y GRAFF (1978). Una semana de tratamiento con estrógenos en la rata incrementa la actividad de mRNA específica, con un tiempo de retraso hasta el momento de la síntesis de PRL, (SEO, REFETOFF, MARTINO, VASSART y BORCAS 1979), así como en la oveja (SHUPNIK, BAXTER, FRENCH y GORSKI 1979); "in vitro" se ha calculado

el período de lactancia en 24 horas, siendo inhibido por progesterona que suprime la actividad prePRL-mRNA (VICIAN, SHUPNIK y GROSKI 1979).

Se ha propuesto que este efecto directo puede ser mediado a través de un aumento en la síntesis de receptores de estrógenos en la célula hipofisaria (de LEAN, FERLAND, DROUIN, KELLY y LABRIE 1977) del mismo modo que el efecto de los andrógenos puede ser debido, al menos en parte, a su capacidad de aromatización a estrógenos (DOHLLER, WONG, Von ZUR, MÜHLEN 1978).

Tanto el efecto indirecto sobre hipotálamo como el efecto directo en la hipófisis pueden ser posibles ya que existe una representación morfológica en la captación de esteroides por áreas nerviosas centrales y por la propia hipófisis (WAREMBOURG 1977), siendo de recalcar el hecho de que las concentraciones de PRL y catecolaminas se correlacionan bien tras el tratamiento con estrógenos a nivel de los terminales dopaminérgicos del núcleo acumbens (LÖESTROM, ENEROTH, GUSTAFSSON y SEKTT 1977).

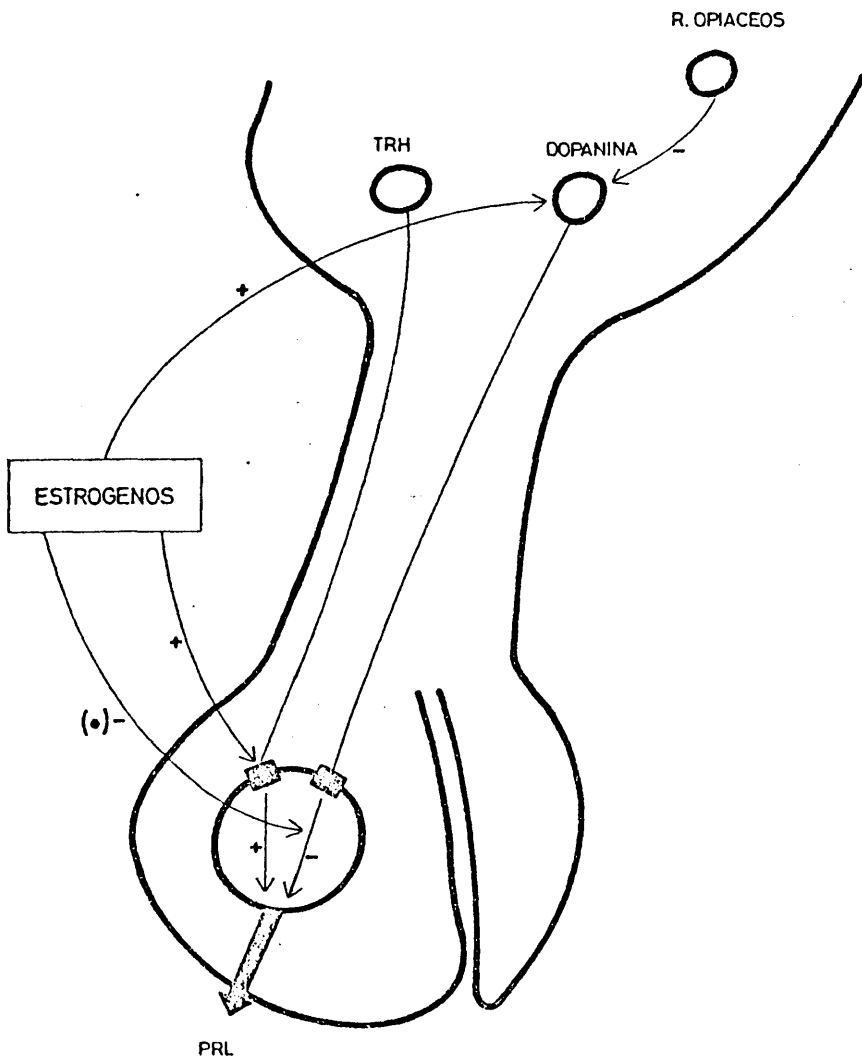
Para CALIGARIS y TALEISNIK (1977) los estrógenos a nivel hipofisario estimulan tónicamente la secreción de PRL, opinión compartida por KATO, VELASCO y ROTHCHILD (1978)^a, mientras que a nivel hipotalámico la acción puede ser bifásica. En el animal intacto pueden favorecer la secreción de PIF durante la mañana y su inhibición por la tarde, efecto intimamente relacionado con vías aferentes hipotalámicas, aunque no se ha llegado a especificar si en ambos mecanismos se implican el mismo o diferentes sistemas neuronales; de estas, parecen más importantes las vías situadas en la mitad posterior del hipotálamo o áreas con conexiones aferentes laterales, superiores o posteriores.

FREEMAN y STERMAN (1978) proponen, por otra parte, que el efecto de los esteroides no solo es dual, sino dependiente de la hormona estudiada, dado que niveles elevados de progesterona acentúan el pico nocturno estral de la rata mientras que niveles elevados

de E17 β acentúan el pico diurno y atenuan el nocturno. Incrementos similares del pico nocturno producido por progesterona, a través de un sistema mediado por NORA, ha sido comunicado por KALRA, KALRA, CHEN y CLEMENS (1978). NEGRO, VILAR, OJEDA, ADVIS y McCANN (1979) han descrito un efecto modulador y diferencial sobre este sistema noradrenérgico estimulado por E17 β . De GREEF y ZEILMAKER (1979) indican, en ratas pseudoembarazadas por maniobras endocrinas (administración de progesterona el día del estro), una serie de interacciones hipofiso-esteroideas con la característica de que el doble pico de PRL, típico de este estado, se acopla con la secuencia luz-oscuridad activándose el nuevo cuerpo luteo formado; durante el período se requieren los esteroides ováricos para mantener los picos de PRL, hasta que la disminución de los niveles de progesterona originan un incremento de LH que induce un pico de E17 β el cual, al inhibir el ascenso nocturno de PRL, facilita la ovulación y pone fin al pseudoembarazo; el útero se encuentra de alguna manera implicado en este mecanismo (FREEMAN 1979).

Muy recientemente CRAMER, PARKER y PORTER (1979) han comunicado la supresión de la liberación de dopamina hipotalámica en el tratamiento agudo con estrógenos, y HAUG (1979) la inhibición de la síntesis de los receptores de estrógenos por progesterona a nivel de la célula lactotropa; por otra parte, LIBERTUN, KAPLAN y De NICOLA (1979) han propuesto un sistema de retroalimentación negativo sobre PRL en la rata, en animales con función cerebral normal y altos niveles de estrógenos, quizás bloqueando la acción de estos a nivel hipotalámico.

Recientes trabajos del grupo de LABRIE (LABRIE, BERGEAT, BROUWN, BEAULIEU, LAGACE, FERLAND y RAYMOND 1979; LABRIE, BEAULIEU, FERLAND, RAYMOND, Di PAOLO, WEILLEUX, DENIZEAU, EUVRAD, RAYMOND y BOISSIER 1979) parece que reconcilian y aclaran los aspectos de la regulación periférica y central de los estrógenos sobre PRL. Utilizando el modelo de hipófisis en cultivo demuestra claramente que los estrógenos ejercen un potente efecto antidopaminérgico sobre la célula hipofisaria en cultivo, incluso "in viv



(•) El efecto estimulador parece ser ejercido fundamentalmente por bloqueo del Receptor Dopaminérgico.

Según LABRIE y COL (1979).

FIG.10

"In vitro" disminuyen la sensibilidad a los agentes dopaminérgicos, y dado que el fenómeno se produce a bajas dosis de hormona, el efecto "in vivo" puede ser aparentemente debido a una disminución de la sensibilidad para la liberación de PRL respecto a la acción dopamínica. Estos hallazgos indican que las altas concentraciones de dopamina en el sistema portal hipotálamo-hipofisario son necesarias para inhibir la secreción de PRL bajo la situación de alta influencia estrogénica. Además, explicaría el efecto potenciador de los estrógenos a la respuesta a TRH. En la figura 10 se resumen los hallazgos de LABRIE y col, (1979).

Los efectos de los antiestrógenos son aún poco concluyentes. Hasta 1977 los estudios en humanos no habían demostrado claras alteraciones en los niveles de PRL (SEKI, SEKI, OKUMURA y HUANG 1976). En la rata los resultados han sido contradictorios pues mientras JORDAN (1979) comunica una inhibición o retraso del pico del proestro, DANNIES, YEN y TASHJIAN (1977) comunican un incremento de síntesis en un clono celular aislado. Recientemente GERSHENGORN, MARCUS-SAMUELS y GERAS (1979) han comunicado que el tamoxifen inhibe el incremento de síntesis de receptores para TRH mediado por estradiol.

El antiandrógeno ciproterona provoca un incremento de las concentraciones plasmáticas de PRL en humanos (GRAFF, SCHMIDT-GOLLWITZER, KOCH, LORENZ y HAMMERSTEIN 1978).

Los estrógenos, por otra parte, reducen la actividad de somatomedina, incrementando junto a PRL los niveles de HCh, y a dosis altas producen un incremento agudo de ambas hormonas (WIEDEMANN, SCHWARTZ y FRANTZ 1976).

6D) El Factor Liberador de PRL (PRF)

6D-1) TRH.

Hemos visto al inicio de esta revisión que el hipotálamo también ejercía un efecto estimulador sobre la secreción de PRL. Hace más de 20 años que BENSON y FOLLEY (1956) propusieron que la

oxitocina podía ser el factor hipotalámico responsable de la liberación de PRL, basados en la observación de que las inyecciones de esta hormona, al igual que la prolactina, podían inhibir la involución de las glándulas mamarias tras el postparto de la rata. Dado que en aquella época no podía cuantificarse PRL en plasma los resultados de BENSON y FOLLEY quedaron sin comprobar hasta que GREENWOOD, en 1971, comunicó que la oxitocina no tenía prácticamente ningún efecto sobre los niveles de PRL en la oveja, sugiriendo que no tenía la función de PRF.

Ya he comentado que las inyecciones de extractos hipotalámicos crudos inducían lactación en ratas (MISHKINSKY, KHAZAN y SULLMAN 1968). NICOLL (1971) comunicó que la incubación de hipófisis de ratas con extractos hipotalámicos producía inhibición de la secreción durante las primeras cuatro horas, e incremento de secreción durante las horas siguientes. Usando un sistema algo diferente de incubación MEITES (1970) observó solo inhibición durante un período de 8 horas, fenómeno obtenido también por otros autores (VALVERDE, CHIEFFO y REICHLIN 1972; MACHLIN, JACOBS, CIRULIS, KIMES y MILLER 1974).

KRULICH, QUIJADA e ILLNER comunicaron en el Congreso de San Francisco de 1971 que la actividad PIF era predominante en la región dorsolateral del área preóptica, mientras que la actividad PRF era predominante en la eminencia media. Sin embargo, estos hallazgos son difíciles de reconciliar con las lesiones experimentales a este nivel, que producen un incremento en la actividad de PRL.

Hasta el momento no se ha identificado claramente una hormona o factor hipotalámico que exclusivamente tenga la capacidad de estimular la secreción de prolactina. Sin embargo, existe importante evidencia de que la TRH funciona con tal. Aunque no existen datos de que la TRH incremente los niveles de HCh, la administración del triptido incrementa la concentración de somatotropina en ratas (TAKAHARA, ARIMURA y SCHALLY 1974). En el hombre la TRH produce un rápido incremento de los niveles de PRL alcanzando el máximo valor entre los

30 y 45 minutos, descendiendo posteriormente a pesar de la perfusión del tripeptido durante 4 horas (WARTFOSKY, DIMOND, NOEL, FRANTZ y EARLL 1976; BREMMER, ABREU, STOCKIGT, KRETSER y BURGER 1977). El tratamiento previo con triyodotironina en la oveja deprime el incremento de PRL y TSH inducido por la TRH. Esto se correlaciona bien con el hecho de que los pacientes hipotiroideos son más sensibles que los hipertiroideos a la actividad de la TRH (NOEL, DIMOND, WARTOFSKY, EARLL y FRANT 1974).

El concepto de que una disminución de la función tiroidea puede, en circunstancias apropiadas, ser un factor causal de la elevación de la PRL plasmática se apoya en el hecho de una correlación entre T_4 baja y PRL alta en humanos, y ciertas especies animales como la cepa de ratas Búfalo (KIEFFER, MIREL, MOVER, ERBAN y MALOOF 1978), aunque moderados grados de hipotiroidismo no se acompañan de tal elevación (BIGOS, RIDGWAY, KOURIDES y MALOOF 1978). La administración de hormonas tiroideas a pacientes hipotiroideos causa una disminución significativa de la liberación de PRL tras la administración de TRH, así como una disminución de la PRL en aquellos casos de hipotiroidismo con concentraciones iniciales elevadas (YAMAJI 1974); contrariamente, los pacientes con hipertiroidismo presentan una respuesta incrementada a TRH tras la instauración del tratamiento antitiroideo.

SOWERS, HERSHMAN, CARSLON, PEKARY, NAIR y BAUGH (1976), en un reciente estudio, no han encontrado relación entre los niveles basales de T_3 , T_4 y PRL, ni con los obtenidos tras la administración de TRH o M-TRH, sugiriendo que el punto inicial para la secreción basal de PRL, y la respuesta a TRH, no es regulada por las hormonas tiroideas, aunque sí se correlaciona con el punto de partida de la TSH basal. Tan solo durante los primeros días del período perinatal parece no presentarse este tipo de respuesta, al menos durante 5 a 7 días, y en el cordero (SACK, FISHER, GRAJWER, LAM y WANG 1977). De forma inespecífica, aunque al parecer mediada por una reducción en el mecanismo de estimulación hipotalámica, el ayuno prolongado

también reduce el efecto estimulante de la TRH (CAMPBELL, KURCZ, MAR, SHALL y MEITES 1977). Parece, pues, claro que, independientemente del efecto de la TRH, los niveles fisiológicos de hormonas tiroideas no ejercen ningún efecto en la modulación de la liberación de PRL en personas normales (CARLSON, SAWIN, KRUGMAN, MEYER y HERSHMAN 1978), aunque sí lo hagan en personas con patología tiroidea.

NOEL y col. (1974) observaron que la cantidad mínima de TRH capaz de producir un incremento en la concentración de TSH también aumentaba la de PRL, abundando en la idea de que la TRH tiene un papel fisiológico en el control de la secreción de PRL. SOWERS, HERSHMAN, CARLSON, PEKARY, REDD, NAIR y BAUGH (1976) estudian la acción de M-TRH, y demuestran un incremento de las concentraciones de TSH, PRL, T_3 y T_4 en relación con la dosis empleada y con amplias variaciones individuales; además, confirman que la dosis estimulante para la PRL es mucho menor que la necesaria para incrementar los niveles de TSH (75 veces menor) y TYSON, PEREZ y ZANARTU (1976) aportan evidencia al respecto al comprobar que la TRH no estimula de forma crónica la secreción de PRL en mujeres lactantes normales, pero sí en aquellas que presentan insuficiencia lactacional.

La TRH puede actuar directamente a nivel hipofisario y no a través de un factor hipotalámico, ya que estimula la secreción de PRL en hipófisis transplantadas en ratas con lesiones bilaterales de la eminencia media (PORTEUS y MALVEN 1974), y en células hipofisarias tumorales "in vitro". En este mecanismo se ha implicado un posible transporte de TRH por el líquido cefalorraquídeo (VIGNERI, PEZZINO, FILETTI, SQUATRITO, CORSO, MARICCHIOLO, POLOSA y SCAPAGNINI 1977) al no haberse demostrado que al menos el sistema alfa-adrenérgico juegue un papel primordial en la mediación del efecto de TRH sobre PRL (LEEBAW, LEE y WOLF 1978; ROGOL, REEVES, VARNA y BLIZZARD 1979).

La estimulación "in vitro" de la secreción de PRL en la hipófisis normal es dependiente de la situación hormonal "in vivo" del huésped. Aunque LU, SHAAR, KORTRIGHT y MEITES (1972) no fueron capaces de demostrar el efecto "in vitro" de TRH en glándulas de ratas, trabajos posteriores demostraron la normalización de la respuesta tras estrogenización de los animales. De LEAN, GARON, KELLY y LABRIE (1977) han comprobado "in vivo" que la respuesta a la TRH varía marcadamente durante el ciclo estral de la rata, posiblemente por incremento de los receptores de TRH inducidos por estrógenos a nivel hipofisario (De LEAN, FERLAND, DROUIN, KELLY y LABRIE 1977). VALE, BLACKWELL, GRANT y GUILLEMIN (1973) comunicaron que las hipófisis de ratas eutiroideas mostraban una respuesta mínima al efecto de TRH, pero el tratamiento previo con propiltiouracilo incrementaba "in vitro" la sensibilidad de esta respuesta.

HILL-SAMLI y McLEOD (1974), estudiando la acción "in vitro" de la TRH, comunican la no obtención de efecto estimulante directo aunque el tripeptido revertía parcialmente la acción inhibitoria de dopamina. Datos adicionales demostraron que la ergocriptina y la apomorfina inhibían la secreción "in vitro" pero la TRH abolía la acción de estos agonistas dopaminérgicos; sobre HCh no se obtenía ninguna respuesta en este modelo. TAKAHARA, ARIMURA y SCHALLY (1974)^c comunicaron resultados similares con glándulas de oveja, aunque en este caso la dopamina inhibió la secreción de HCh, y la presencia de TRH revertió el efecto inhibitor de las catecolaminas. Todos estos hallazgos están de acuerdo con la demostración de NOEL, SUH y FRANTZ (1973) sobre la inhibición que L-DOPA ejerce al efecto estimulante de la TRH sobre las concentraciones plasmáticas de PRL en humanos.

Parece, por los datos mencionados, que la dopamina y la TRH tienen efectos opuestos, como propusieron RIVIER y VALE (1974). Recientemente HARVEY, SCANES, CHADWICK y BOLTON (1978), trabajando con gallos domésticos, han presentado la interesante evidencia de

una discordancia de efectos; la TRH no produjo incremento de PRL en el animal despierto, provocando por el contrario, una depresión de los niveles de PRL, con dosis entre 2,5 y 25 mcg, en el animal anestesiado. Ello les ha permitido sugerir que la TRH actúa tanto sobre el hipotálamo como sobre la hipófisis, y que "in vivo" cualquier efecto hipofisario es anulado por acciones a nivel central. MULLER, PANERAI, COCCHI, GIL-AD, ROSSI y OLGATI (1977) observan que la TRH no incrementa los niveles de PRL en ratas con lesiones de la eminencia media, fenómeno probablemente no atribuible a la presencia de una desinhibición casi máxima de las células lactotropas; por el contrario, la TRH sí fue efectiva en ratas con operaciones simuladas. De forma similar se ha descrito una disminución del efecto de TRH en animales con hipófisis autotransplantadas. Dado que ambos modelos responden a la estimulación con clorpromacina puede sugerirse un efecto central, quizás dopaminérgico, en la acción estimulante de la TRH. BURROW, MAY, SPAULDING y DONABEDIAN (1977) han sugerido un efecto similar en el humano.

STEINER, ILLNER, ROLFS, TOIVOLA y GALF (1978) han comunicado datos recientes sobre los mecanismos implicados en esta relación TRH-sistema adrenérgico. Trabajando sobre mono demuestran como la dopamina bloquea el efecto sobre PRL, confirmando los estudios humanos de LEBLANC, LACHLELIN, ABU-FADIL y YEN (1976), confirman el efecto estimulante de carbidopa en humanos (BROWN, GARFINKEL, WARSH y STANCER 1977), y aprecian como la infusión de NORA no suprime el efecto estimulante de la TRH sino que, por el contrario, aumenta la respuesta de PRL de igual manera que la inyección intrahipotalámica de esta catecolamina. Este fenómeno estaría de acuerdo con el efecto alfa-adrenérgico positivo sobre PRL comunicado recientemente por DURAND, MARTIN y BRAZEAU (1977), y que podría estar mediado por la liberación de TRH; al mismo tiempo este mismo efecto suprime la liberación de HCh. VIJAYAN y McCANN (1978) obtienen resultados similares en la rata tras la inyección intraventricular de NORA, pero no de A, quien disminuye los niveles como siempre se ha admitido. GOLD, DONABEDIAN y REDMON (1978) plantean como explicación

teórica de los efectos del piperoxan y la clonidina una posible proyección noradrenérgica que, o facilita la liberación de PRL, o inhibe su mecanismo inhibitor, ya que el piperoxan incrementa la actividad del sistema nor-adrenérgico mediada por receptores alfa-2 y la clonidina disminuye esta actividad o estimula la de pendiente del sistema de adrenalina. Tal mecanismo podría mediar las eliminaciones episódicas a través de un efecto potenciador (WILLOUGHBY, BRAZEAU y MARTIN 1977).

Sin embargo, a pesar de las pruebas aportadas sobre el efecto de la TRH, la aceptación de este como único factor estimulante de PRL no parece que sea unánime. GAUTVIK, TASHJIAN, KOURI DES, WEINTRAUB, GRAEVER, MALOOF, SUZUKI y ZUCKERMAN (1974) indicaron que la estimulación del pezón durante la lactancia incrementaba la concentración de PRL sérica pero no los niveles de TSH, T₃ y T₄, sugiriendo que aunque la TRH podía causar la secreción de PRL la acción del tripeptido solo no explicaba la total liberación de PRL durante la succión del pezón, aunque su administración crónica prolongaba o reproducía la secreción láctea (TYSON y col. 1976).

A favor de esta hipótesis existen datos procedentes de los resultados obtenidos de la separación cromatografica de la hipotética actividad liberadora, de la estructura correspondiente a la TRH (VALVERDE, CHIEFFO y REICHLIN 1972; DULAR, LaBELLA, VIVIAN y EDDIE 1974) y de la retención de la actividad estimuladora bajo condiciones que destruyen la actividad de la TRH (MACHLIN y col. 1974). Existe, pues, la posibilidad de la presencia de algún otro factor liberador distinto del estudiado hasta ahora. SZABO y FROHMAN (1976) han estudiado la actividad de extractos metanólicos de la eminencia media porcina, encontrando una liberación de PRL en ratas tratadas con estrógenos tras la administración intracarotidea. La liberación de PRL fue mayor en respuesta a una dosis efectiva máxima de extracto hipotalámico que a una dosis máxima de TRH; administradas juntas pudieron observar un incremento adicional de PRL pero no de TSH. Tras la incubación del extracto hipotalámico con plasma, que inactiva la TRH, se produjo una mayor

disminución de la liberación de TSH que de PRL, y tras la adsorción con carbón la solución careció la actividad TRH-TSH conservando gran parte de la liberadora de PRL. BOYD, SPENCER, JACKSON, REICHLIN (1976), utilizando un modelo muy similar, confirman los anteriores resultados y demuestran que la vasopresina no es otro factor con actividad liberadora de PRL. Por último GRIMM y REICHLIN (1973) han implicado a la serotonina como otro de los posibles mediadores hipotalámicos de la liberación de PRL, como a continuación veremos.

6D-2) Indoleaminas y secreción de PRL

6D-2a) Serotonina. KAMBERI, MICAL y PORTER (1971)^b comunicaron que la simple inyección de serotonina (S) y melatonina (M) en el tercer ventrículo de la rata incrementaba la concentración plasmática de PRL. De forma similar se comunicó que la inyección sistémica de triptofano (TF) o 5-hidroxi-triptofano (5-HT) producían un rápido incremento de los niveles circulantes de PRL en la rata (MEITES y CLEMENS 1972; MEITES, LU, WUTTKE, WELSCH, NAGASAWA y QUADRI 1972) y en humanos, siendo disminuidos por drogas antiserotoninérgicas (PONTIROLI, CASTEGNARO, VETTARO, VIBERTI y POZZA 1977). Sin embargo, este incremento puede tener una mínima y dudosa relevancia fisiológica en el control espontáneo de la secreción de PRL, aunque sí puede tenerlo en otras situaciones como, por ejemplo, durante el stress (MASALA, DELITALA, DEVILLA, ALAGNA y ROVASIO 1979). Por otra parte, la inhibición de la síntesis de 5-HT no afecta los niveles de PRL en el animal intacto (KORDON, BLAKE, TERKEL y SAWYER 1973) aunque sí los reduce en ratas pretratadas con estrógenos (CHEN y MEITES 1975).

FUXE, ANDERSSON, HOKFELT, AGNATI, OGREN, ENEROTH, GUSTAFSON y SKETT (1978), trabajando con un nuevo y selectivo bloqueante de la captación de 5-HT (el GEA-654), comunicaron un incremento, dosis-relacionado, de la secreción de PRL; otro inhibidor selectivo, la fluoxetina, que bloquea la recaptación de serotonina, no produjo por sí mismo incremento de la secreción pero facilitó

y aumentó el causado por 5-HT. Por otra parte, y en el mismo estudio, corroboran un efecto serotoninérgico facilitador para ACTH y LH, e inhibidor para HC, aunque LANCRAJAN, WIRZ-JUSTICE, PÜHRINGER y Del POZO (1977), trabajando con un ester del 1-5-HT, observan junto al aumento de PRL otro de HCh no estando aún claro el efecto de este sistema en la mediación de la hormona de crecimiento. COCCHI, GIL-AD, FANEIRA, LOCATELLI y MULLER (1977) proponen una activación inespecífica del sistema de catecolaminas en la rata, y PILOTTE y PORTER (1979) describen un efecto inhibidor sobre LH, no dependiente de PRL, en ratas castradas.

El agente liberador de 5-HT, la p-cloroanfetamina, produce un incremento de PRL que es bloqueado por la cimelidina, otro potente inhibidor de la captación de 5-HT. La amitriptilina, un anti-depresivo que bloquea los receptores de 5-HT, produce efectos opuestos que el GEA-654. La metisergida disminuye los niveles de PRL en mujeres con amenorrea-galactorrea (D'AGATA, ANDO, LACHELLO, PEZZINO, GULIZIA y SCAPAGNINI 1977), y CLEMENS, SAWYER y CERIMELE (1977) han observado, también, un incremento significativo de la PRL en ratas tratadas con fluoxetina tras la administración de 5-HT, no obteniendo ningún resultado con ambas drogas separadas. De forma similar, el quipacine, un agonista de los receptores serotoninérgicos, eleva significativamente los niveles de hormonas en animales machos y hembra, y MORGAN y HERBERT (1978) han comunicado que la fluoxetina incrementa los niveles de PRL en las ratas jóvenes, aunque no lo hace en ratas viejas en las que parece suprimir las elevaciones circadianas.

Sin embargo, no todos los trabajos que utilizan drogas modificadoras de la serotonina han aportado resultados esclarecedores. Por ejemplo, DELITALA (1977) trabajando con el antiserotoninérgico de larga acción metergolina sugiere que el efecto antilactogénico basal puede ser debido a otros mecanismos, como un efecto dopaminérgico, y no a la simple inhibición del sistema que nos ocupa; LAMBERTS y McLEOD (1978) mantienen la misma opinión.

La respuesta estimuladora muy precoz de la metisergida puede ser mediada por una inhibición dopaminérgica, mientras que la respuesta inhibidora tardía normal puede ser mediada por un estímulo dopaminérgico ejercido por la propia droga o algún metabolito. LAWSON y GALA (1978) también sugieren un antagonismo directo entre ambos sistemas, cuyo efecto inhibe la secreción de PRL; KRAMER y BEN DAVID (1979) trabajando con Δ tetrahidrocannabinol y FERRARI, CALDARA, ROMUSSI, RAMPINI, TELLOLI, ZAATAR y CURTARELLI (1978) trabajando con metergolina y metisergida han comunicado resultados similares.

El efecto fisiológico más importante donde para estar implicado el sistema serotoninérgico es en el incremento de PRL inducido por la estimulación del pezón. Tras separación de las crías de sus madres durante 8 horas la reactivación de la succión causa un rápido incremento de los niveles de PRL, respuesta que es inhibida por el bloqueo de la síntesis de 5-HT (KORDON y col. 1973), mientras que la administración de su inmediato precursor, el 5-HT, recupera la respuesta normal. Por otra parte, pequeñas dosis de metisergida también inhiben la respuesta normal a la succión (GALLO, RABIL y MOBERG 1975). ROWLAND, STEELE y MOLTZ (1978) trabajando con p-cloroanfetamina en la rata, corroboran estos resultados, y CROSIGNANI, LOMBROSO, TTEI, CACCAMO y TROJSI (1979) lo hacen en el humano con metergoline metisergida.

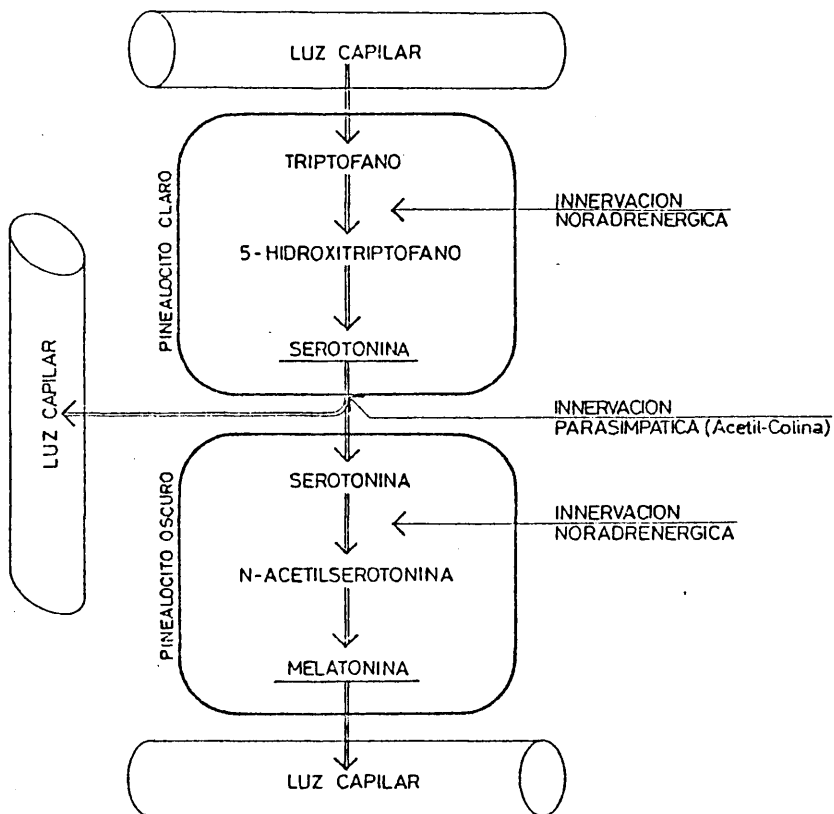
Además de las relaciones comentadas con el sistema dopaminérgico o las indoleaminas, al menos aparentemente, no disminuyen la actividad IF pudiendo actuar por incremento de la actividad PRF (GARTHWAITE y AGEN 1979). De hecho la serotonina puede elevar tanto la TSH como la RL en la rata (MEITES 1977), existiendo la posibilidad de que pueda estimular la secreción de TRH. Sin embargo, GOLDSTEIN, Van HAELST, RUNO y L'HERMITE (1979) no observan ninguna modificación en los niveles basales o nocturnos de TSH tras el tratamiento con ciproheptamina, que al igual que la metisergida disminuye claramente los niveles nocturnos de PRL. KRULICH, VIJAYAN, COPPING, GIACHETTI, McCANN MAYFIELD (1979) han comunicado que la actividad central de los receptores de serotonina inhibe la liberación de TRH en la rata, por

lo que el mecanismo de estimulación de TRH no está claro.

No existe evidencia directa de que la serotonina pueda actuar directamente a nivel hipofisario como han pretendido demostrar LAMBERT y McLEOD (1978). Dado que la succión del pezón causa un rápido incremento de 5-HT hipotalámico, y un incremento de su metabolito de ácido 5-hidroxi-indolacético (5HIA), al mismo tiempo de la elevación de PRL, es lógico pensar en un mecanismo central de acción (MENA, ENJALBERT, CARBONELL, PRIAM y KORDON 1976). El cambio del "turnover" de 5-HT es significativo al cabo de 5 minutos del inicio de la succión y se mantiene durante todo el período que dura esta, quedando localizado solo en el hipotálamo y sin apreciarse modificaciones en los niveles de NORA. Cuando las crías son separadas de sus madres durante 24 horas no se producen ni las modificaciones de PRL ni el cambio de "turnover" de 5-HT. Parece, pues, claro que el sistema serotoninérgico mediador de la respuesta a la succión tiene un terminal hipotalámico.

Apoyan esta hipótesis recientes trabajos de McLEOD y LAMBERTS (1978) quienes comprueban que la serotonina no tiene "in vitro" efecto directo, y la metisérgida, que inicialmente incrementa y después disminuye la secreción de PRL, tampoco ejerce efecto directo aunque el metergine, su metabolito, inhibe la secreción de PRL estimulando el sistema dopaminérgico hipofisario; la ciproheptadina, que no produce efecto tras su inyección, inhibe "in vitro" la secreción de PRL por un mecanismo no conocido. El 5-hidroxitriptófano incrementa los niveles de PRL en ratas con lesiones del núcleo arcuato inducidas por glutamato (CLEMENS, ROUSH, FULLER y SHAAR 1978), mecanismo relacionado con la pérdida de sistemas dopaminérgicos a este nivel. Es posible que la acción del sistema serotoninérgico estimulante se vea enmascarado por el sistema inhibitor dopaminérgico (LAWSON y GALA 1976).

Otros metabolitos de la serotonina también modifican la secreción de PRL. IWASAKI, KATO, OHGO, ABE, IMURA, HIRATA, SENOH, TUKOYAMA y HAYAISHI (1978) han descrito en la rata un efecto estimulador intermedio entre el de serotonina y el de melatonina tras la administración de 5-hidroxikinureamina.



Modelo teórico de la síntesis de la Melatonina, y su relación con Serotonina, en el conejo

Tomado de REITER (1974)

FIG.11

6D-2b) Melatonina y efecto de la glándula pineal. Desde 1911 se sabe que los extractos pineales son lactogénicos en el gato y en la cabra, habiéndose postulado posteriormente un efecto de la glándula pineal en la mediación de las modificaciones de PRL secundarias a los cambios en los fotoperíodos de especies animales, pues los efectos de la luz constante reproducían aquellos que se obtenían tras la pinealectomía. El hallazgo de que la activación pineal era capaz de disminuir el contenido hipofisario de PRL, y que en la rata anósmica se producía el mismo efecto, permitió mantener esta suposición.

En la revisión de REITER, de 1974, sobre fisiología pineal se indica como esta glándula secreta una sustancia que evita la llegada de PIF a la hipófisis, por lo que se explica la disminución del contenido hipofisario de PRL; la pinealectomía producía claramente el efecto contrario (NIR, HIRSCHMANN, GOLDHABER y SHANI 1979). KAMBERI, MICAL y PORTER (1971)^b publican un trabajo en el que implican a la melatonina (M), la principal sustancia secretada por la pineal, en este efecto que, por otra parte, puede encontrarse íntimamente relacionado con el de la serotonina (Fig. 11); tras la inyección de este indol en el tercer ventrículo de la rata se obtiene un aumento transitorio de los niveles de PRL. Posteriormente, BLASK, VAUGHAN, REITER, JOHNSON y VAUGHAN (1976) demuestran "in vivo" e "in vitro" que este efecto de la pinea puede ser más complejo de lo que en principio parecía, pues su acción puede ser ejercida indirectamente, influenciando la actividad de PIF o PRF, o directamente en virtud de las actividades estimuladoras e inhibidoras observadas en sus extractos.

La actividad PRF no parece que sea solo debida a la TRH o a los estrógenos, pudiendo estar también implicada una fracción que contiene arginina-vasotocina. En 1976 VAUGHAN, BLASK, VAUGHAN y REITER aportan mayor evidencia de que esta fracción ejercía efecto PRF por un mecanismo extrahipotalámico, incrementando los niveles de hormona circulante sin alterar marcadamente el contenido hipofisario (VAUGHAN, LITTLE, JOHNSON, VAUGHAN y REITER 1977), efecto observado también con otros análogos de la vasotocina (arginina-vasopresina y lisina-vasopresina), sugiriendo como principal vía de acción el efecto hipofisario directo (VAUGHAN, LITTLE, JOHNSON, BLASK, VAUGHAN y REITER 1978).

NILES, BROWN y GROTA (1977) sugieren, por otra parte, que la melatonina y la N-acetilserotonina se encuentran envueltas en el mecanismo de mantenimiento basal de PRL, pero no participan en situaciones de estimulación.

La melatonina presenta también efectos antigonadotrópicos (REITER, BLASK, VAUGHAM 1975), aunque VAUGHAM, BLASK, JOHNSON y REITER (1979) han puesto recientemente en duda este efecto, en base a que la melatonina no previno el incremento postcastración de LH y FSH; en ese mismo trabajo comunican que el efecto estimulador sobre la secreción de PRL no ocurre en el animal castrado, lo que confirma otros trabajos previamente publicados. Por otra parte, la melatonina en ratas anómicas y viejas no sólo estimula los niveles de PRL sino que también los inhibe (REITER y col. 1975; RONNEKLIEN y McCANN 1975), datos recientemente comprobados por BLASK y NODELMAN (1979) y que sugieren la importancia de la manipulación animal en la interpretación de los resultados fisiológicos.

Poco o nada se sabe del efecto en humanos. Recientemente KENNAWAY, McCULLOCH, MATTHEWS y SEAMARK (1979) han determinado, con resultados contradictorios, los niveles de PRL en dos enfermos con tumores pineales.

6E) Tumores secretores de PRL. El mecanismo de retroalimentación para PRL

Un importante número de tumores hipofisarios trasplantables sintetizan y secretan grandes cantidades de PRL, y de algunas otras hormonas como HC o ACTH (MERINO 1977). Estos tumores tienen efectos biológicos y neuroendocrinos similares a los de las hormonas fisiológicas, por lo que el hipotálamo, y otros centros superiores, detectan la excesiva concentración de hormonas séricas producidas por el tumor y, probablemente, a través

de mecanismos de retroalimentación activan la liberación de factores inhibidores específicos, quienes disminuyen la capacidad de la hipófisis para sintetizar y liberar la correspondiente hormona. Es bien conocido que los animales portadores de estos tumores presentan hipófisis atróficas y disminución cuantitativa de la síntesis hormonal (McLEOD, SMITH y De WITT 1966; McLEOD, De WITT y SMITH 1968; McLEOD y ABAD 1968), restableciéndose una función hipofisaria normal tras la extirpación del tumor

El contenido hipotalámico de PIF aumenta en ratas portadoras de uno de estos tumores (MtTW). Se ha especulado que puede existir una relación causal entre el incremento de PRL sérica en estos animales y el decremento, mediado por dopamina, de la secreción hipofisaria de PRL. Esta hipótesis es compatible con la observación de HOKFELT y FUXE (1972) de que la inyección de PRL causaba una marcada activación de las neuronas dopaminérgicas tuberoinfundibulares en la rata, así como una rápida disminución del "turnover" de dopamina en estas neuronas tras la inyección de ergocornina y 2-bromo-alfa-ergocriptina.

La administración crónica de ergocriptina incrementa significativamente la síntesis, liberación y contenido total de PRL de hipófisis suprimidas por altos niveles de hormona de origen tumoral; sin embargo, la reducción de los niveles de PRL no es total, por lo que la disminución del efecto del autoservomecanismo se realiza aún en situaciones con concentraciones elevadas de hormona (LAMBERTS y McLEOD 1979). La reserpina, que deplecciona el contenido hipotalámico de catecolaminas, interrumpe, al igual que los alcaloides del ergo, el mecanismo de autorregulación tumoralmente inducido. FUXE, ANDERSON, HOKFELT, AGNATI, OGREN, ENROTH, GUSTAFSON y SKETT (1978) han comprobado que el trasplante hipofisario también produce un incremento del "turnover" de PRL a nivel de las capas subependimales de la eminencia media.

La PRL secretada por el tumor MtTW-15 causó un 65% de disminución en la capacidad de la hipófisis del huésped para secretar, en el medio de incubación, prolactina recién sintetizada (McLEOD y LEHMEYER 1974). La administración de drogas que bloquean la acumulación de dopamina en las neuronas hipotalámicas causaron un restablecimiento de la secreción de PRL. Por tanto, se supuso que la PRL sérica incrementaba la actividad dopaminérgica tuberoinfundibular, con mayor secreción de catecolaminas y dopamina en la sangre portal hipofisaria, causando así la reducción de los niveles de PRL, como han demostrado CRAMER, PARKER y PORTER (1979)^a.

VOOGT y CARR (1974) estudiaron el efecto que produce la succión del pezón en la concentración plasmática de prolactina y en el grado de síntesis de catecolaminas hipotalámicas. El resultado fué el ya conocido, pero el grado de síntesis de dopamina se retrasaba 15 minutos respecto al pico de PRL, lo que sugería la puesta en marcha de un mecanismo de retroacción corto, aunque la implicación de los sistemas dopaminérgicos del núcleo acumbens por la hiperprolactinemia (LÖFSTROM, ENEROTH, GUSTAFSSON y SKETTI 1977) permite plantear la posibilidad de algún efecto sobre los sistemas estimuladores de PRL.

De gran interés es el descubrimiento de terminales nerviosos del hipotálamo periventricular que muestran material inmunoreactivo semejante a PRL (FUXE, HÖKFELT, ENEROTH, GUSTAFSSON y SKETT 1977), así como a nivel del núcleo arcuato y en las capas subependimales de la eminencia media, barajándose la posibilidad de que la PRL ejerciera su acción sobre sistemas dopaminérgicos por estimulación de los receptores que pueden encontrarse a lo largo de estos terminales. Ello ha permitido suponer que la PRL, incrementando el "turnover" de dopamina a nivel de la zona media de las palizadas de la eminencia media, era inhibidora para su propia secreción. Sin embargo TOUBEAU, DESCLIN, PARMENTIER y PASTEELS (1979) han sugerido que estas neuronas que contienen material semejante a PRL no se encuentran directamente relacionadas con la función hipofisaria.

De más interés es el hecho de que la hipófisis pueda autorregularse secretando directamente en el hipotálamo. OLIVER, MICAL y PORTER (1977) y BERGLAND y PAGE (1978) han aportado datos anatómicos muy evidentes de la presencia de una circulación retrógrada que puede transportar el material secretado desde la hipófisis al hipotálamo. Por otra parte, CRAMER, PARKER y PORTER (1979)^a han llamado la atención de que aunque la concentración plasmática de PRL en estados hiperprolactinémicos, especialmente tumorales, es enorme, no difiere apreciablemente de la que puede llegar al hipotálamo por vía retrógrada, y dado que para afectar a la secreción de dopamina parece necesario incrementar apreciablemente los niveles arteriales, por encima de lo que normalmente puede llegar al hipotálamo por vía retrógrada, puede especularse que si la PRL es un factor de importancia en el control de la secreción de dopamina es probable que su concentración en la circulación retrógrada sea más importante en el mecanismo de regulación que su concentración sistémica.

Sin embargo, aunque el mecanismo de retroalimentación parece claro, WILLOGHBY y col. (1977) encuentran en ratas hiperprolactinémicas por buctaclamol la persistencia de picos de secreción que no parecen ser mediados por un servomecanismo corto, lo que les sugiere que las liberaciones episódicas de PRL son reguladas por un sistema neural que no es activado o inactivado por el servomecanismo normal de PRL.

Teniendo en cuenta las discrepancias observadas en algunos modelos al utilizar glándulas hipofisarias masculinas en vez de femeninas, empieza a acumularse evidencia de que el efecto de retroalimentación de PRL puede también ejercerse a nivel hipofisario (SPIES y CLEGG 1971; MORISHIGE y ROTHCHILD 1974). Aunque la PRL en el medio de perfusión no altera la liberación estimulada por TRH en glándulas normales o tumorales (MALTZ, BUCKMAN y PEAKE 1978), es muy sugestivo el hecho de que la linealidad del grado de secreción de PRL en cultivo de dos horas contrasta

con la tendencia hacia una meseta cuando el tiempo, y el caldo de cultivo, se mantienen más tiempo, sugiriendo que la acumulación de PRL puede actuar como autoinhibidor del mecanismo de liberación hormonal (ENJALBERT y col. 1977). HERBERT, ISHIKAWA y RENNELS (1979) han comunicado pruebas evidentes a favor de este mecanismo directo, que parece actuar fundamentalmente inhibiendo la liberación aunque no puede negarse algún efecto sobre la síntesis.

6F) Otros sistemas implicados en la regulación de PRL

6F-1) Acetilcolina

Las drogas colinérgicas parece que pueden inhibir la secreción de PRL. Su efecto está dirigido contra los picos secretorios diurnos y los inducidos por la succión del pezón, más que hacia los niveles basales. Pero la literatura sigue siendo conflictiva. La pilocarpina, un agonista colinérgico, disminuye los niveles de PRL en ratas macho tratadas con estrógenos, y en ratas hembra durante el proestro; sin embargo, en animales con niveles elevados de PRL inducidos por reserpina, clorpromacina, haloperidol y pimocide, la pilocarpina no produce ningún efecto. La atropina sólo tampoco tiene efecto pero puede prevenir el descenso de PRL causado por la pilocarpina; sin embargo, la metil-atropina que no atraviesa la barrera hematoencefálica, no bloquea el efecto de la pilocarpina. Parece, pues, que el efecto es central, y pudiera estar relacionado con neuronas hipotálamica catecolaminérgicas (GRANDISON y MEITES 1976).

En ratas ovariectomizadas tratadas con estrógenos los agonistas colinérgicos arecolina, nicotina y carbachol inhiben el pico nocturno normal; sin embargo, los resultados se complican cuando se comprueba que la atropina también inhibe parcialmente este pico, mientras que la mecamilamina (antagonista nicotínico frente a la atropina que lo es muscarínico) no tienen ningún efecto

(SUBRAMANIAN y GALA 1976^a; 1976^b). En el hombre ni el betancrol ni la atropina tiene ningún efecto sobre los incrementos de PRL inducidos por la metoclopramida (McCALLUM, SOWERS, HERSHAMN y STURDEVANT 1976).

En resumen, aunque la acetilcolina parece que en algunas condiciones disminuye los niveles de PRL, quizás por vía adrenérgica hipotalámica, ni su efecto ni sus repercusiones fisiológicas están aún aclaradas.

6F-2) ACTH y Glucocorticoides

Existe alguna evidencia de que neuronas dopaminérgicas regulan, al igual que para la PRL, el mecanismo hipotálmico para el control de ACTH. Se ha descrito galactorrea tras la suprarrenalectomía en una mujer afecta de enfermedad de Cushing por un adenoma hipofisario. Otros pacientes mostraron niveles de PRL en el límite de lo normal, o discretamente por encima, cuando era más lógico esperar concentraciones bajas debidas a los altos niveles de esteroides circulante. Los cinco pacientes de la serie estudiada respondieron a la bromocriptina, que redujo tanto los niveles de ACTH como los de PRL (LAMBERTS y BIRKENHAGER 1976). Por otra parte, la suprarrenalectomía en la rata produce incrementos, al menos temporales, de los niveles de PRL (HARMS, LANGLIER y McCANN 1975).

Las posibles correlaciones que pueden existir entre ambas hormonas parece que se encuentran en dependencia de las situaciones de stress. JOBIN, FERLAND y LABRIE (1976) observaron cambios paralelos para PRL y ACTH, pero no para PRL y TRH-TSH, en ratas sometidas a stress, y SCHWINN, VON-ZURMÜHLEN y WARNECK (1976) corroboraron el efecto supresor de los glucocorticoides sobre los niveles elevados de PRL en estas situaciones. Por otra

parte, los glucocorticoides en humanos, incluso a concentraciones fisiológicas, tienen un efecto supresor para la TSH, requiriéndose cifras mucho más elevadas para inhibir los niveles de PRL (RE, KOURIDES, RIDGWAY, WEINTRAUB y MALOFF 1976), efecto que parece ser mediado directamente a nivel hipofisario (SOWERS, CARLSON, BRAUTBAR y HERSHMAN 1977).

Parece, pues, claro que el ATCH en la respuesta al stress se eleva al mismo tiempo que la PRL, la cual puede ser posteriormente inhibida por los glucocorticoides secretados por la suprarrenal. El efecto fisiológico de este mecanismo es aún desconocido.

6F-3) Histamina

LIBERTUN y McCANN (1976) han comunicado un incremento dosis dependiente de PRL y LH tras la inyección intraventricular de histamina (H) en ratas, respuesta que fué bloqueada por la difenhidramina administrada por vía yugular; la inyección directa en la hipófisis no produce ningún efecto, por lo que el mecanismo de acción parece ser central (RIVIER y VALE 1977), y quizás específico y no mediado por otras aminas al menos a nivel de receptores dopaminérgicos. ARAKELIAN y LIBERTUN (1977) han comunicado que la inyección intraventricular o sistémica de un bloqueante de los receptores de histamina suprime el incremento de PRL que se produce en la rata durante la estimulación del pezón, mientras que la metiamida, un antagonista de los receptores H_2 , no modifica la secreción en estos animales pero incrementa drásticamente los niveles de PRL de ratas no lactantes, por lo que proponen que el efecto cerebral de la histamina puede ser dual, y operando a un nivel relacionado con el área ventricular. CARLSON e IPPOLITI (1977), y BOHNET, GREIWE, HANKER, ARAGONA y SCHNEIDER (1978) obtienen resultados similares trabajando en humanos con la cimetinina, el clásico antagonista de los receptores H_2 , lo que justificaría algunas de las complicaciones observadas bajo el tratamiento con esta droga (ginecomastia e impotencia), aunque el mecanismo de acción sobre PRL, estrógenos o testosterona, no está aún claro.

Por otra parte PONTIROLI y POZZA (1978) postulan, basados en que la histamina no atraviesa la barrera hematoencefálica, que el efecto estimulante, al menos en el hombre, puede ser directo sobre la hipófisis. Aunque el patrón de distribución cerebral de la histamina es muy similar al de otras aminas (dopamina), y su concentración bastante elevada en la eminencia media, su papel en el mecanismo fisiológico de regulación de PRL no está aún establecido.

6F-4) Endorfinas

MEITES, en 1966, indicó que la morfina era capaz de estimular la lactación aportando la primera idea de la estimulación de PRL por opiáceos, lo que quedaba comprobado ocho años más tarde al apreciarse hiperprolactinemias en humanos. Al aspecto que nos ocupa ha sido revisado recientemente por DUPONT, CUSAN, FERLAND, LEMAY y LABRIE (1979).

La inyección intraventricular de β -endorfina produce un rápido e importante estímulo de liberación de PRL en la rata no anestesiada, así como sobre HC a dosis mayores, MET-enkefalina produce un efecto mucho menos potente sobre ambas hormonas, habiéndose descrito efectos similares en primates (GOLD, REDMON y DONABEDIAN 1979). El estímulo liberador de β -endorfina y MET-enkefalina es específico dado que el naloxone, un antagonista específico de los receptores opiáceos, bloquea completamente la estimulación sobre HC y PRL, aunque sobre esta última a dosis mucho mayores.

El efecto de la endorfina sobre la PRL parece que tienen un significado de mediación de respuesta fisiológica. El naloxone inhibe totalmente la respuesta al stress, y entre un 50-95% la respuesta a la estimulación del pezón durante la lactancia. También suprime, según las dosis administradas, los picos nocturnos de PRL en humanos, y la morfina inhibe completamente el incremento de LH, FSH y PRL en el proestro de la rata (MURAKI, NAKADATE, TOKUNAGA, KATO y MAKINO 1979).

Independientemente del efecto que juega el sistema dopaminérgico en estas respuestas, existen poderosos datos para pensar que las endorfinas median el efecto estimulador ejercido por el sistema serotoninérgico en las situaciones mencionadas (SPANPINATO, LOCATELLI, COCCHI, VICENTINI, BAJUSZ, FERRI y MÜLLER 1979). Datos adicionales indican que, además, las endorfinas pueden ejercer su efecto estimulador produciendo una inhibición del efecto inhibitor del sistema dopaminérgico, dado que el haloperidol no es capaz de incrementar los niveles de PRL bajo tratamiento con naloxone. Ello está de acuerdo con el hallazgo de una inhibición del "turnover" de dopamina en la eminencia media tras la inyección intraventricular de MET-encefalina (FERLAND, FUXE, ENEROTH, GUSTAFSSON y SKETT 1977). El efecto parece probablemente debido a la activación de receptores opiáceos presinápticos inhibidores localizados en los terminales nerviosos dopaminérgicos tuberoinfundibulares, o a un mecanismo de bloqueo de los receptores dopaminérgicos (TOLIS, DENT y GUYDA 1978). La β -endorfina, por otra parte, parece que no ejerce ningún efecto sobre la hipófisis mantenida en cultivo (RIVIER, VALE, LING, BROWN y GUILLEMIN 1977).

6F-5) Otras sustancias

Además de las principales sustancias que intervienen en la regulación de PRL, algunas otras de menor importancia se ha demostrado que pueden modificar sus niveles. La marihuana, el dimetilbenzantraceno, el etanol, ciertos tipos de antidepresivo y la oxitocina han demostrado este efecto, quizás más relacionado con una acción farmacológica que con una misión fisiológica.

De todas ellas, la sustancia P (SP) y la neurotensina (NT) son las únicas con alguna posible implicación fisiológica. Ambas se tratan de péptidos con acción neurotransmisora, y han sido recientemente revisados por SNYDER e INNIS (1979). Las dos elevan la concentración plasmática de PRL, aunque no se conoce su verdadero mecanismo de acción. RIVIER, BROWN y VALE (1977)

han supuesto un mecanismo inespecífico relacionado con los fenómenos hipotensivos que ambas sustancias producen, no desdeñando una posible mediación a nivel de la vía histaminérgica. CHICHARA, ARIMURA, COY y SCHALLY (1978) presponen un mecanismo de acción relacionado con el sistema de receptores opiáceos, no observando ningún efecto directo sobre la hipofisis, aunque VIJAYAN y McCANN (1979) no descartan, además del efecto hipotalámico, el directo sobre la hipofisis.

La bombesina y la alitesina también se han descrito como capaces de estimular la secreción de PRL en ratas tratadas con estrógenos, a través de un mecanismo central (RIVIER, RIVIER y VALE (1978)).

La somatostatina no parece que tampoco ejerza ninguna influencia sobre PRL (GOMEZ PAZ y HALL 1977).

6G) Mecanismo de acción del PIF y PRF. Prostaglandina y AMPc.

Se trata de un área de gran confusión pues se han descrito efectos contradictorios o nulos, muchas veces no relacionados con la vía de administración.

El AMPc, en suspensiones de células dispersas de hipófisis de rata, al igual que el dibutiril-AMPc, incrementa tanto la síntesis como la liberación de PRL (NAKANE, FAWCETT y McCANN 1976; GOODYER, HALL, GUYDA, ROBERT y GIROUD 1977), así como en otros modelos que utilizan células hipofisarias u otros análogos de AMPc (DENNIES, GAUTVIK y TASHJIAN 1976).

La teofilina, que inhibe la degradación del AMPc, tiene un efecto similar al del mediador activo e incrementa la secreción de PRL en cultivos de células hipofisarias de ratas, y en la línea GH₃ (DANNIES, GAUTVIK y TASHJIAN 1976). Este efecto de la teofilina es neutralizado por extractos hipotalámicos que contienen PIF, habiéndose sugerido que este disminuye la concentración intracelular de AMPc para ejercer su acción (SANDOW y KONING 1978).

Sin embargo, frente a este efecto estimulante "in vitro", el AMPc también parece implicado en el control hipotalámico de la PRL ya que la inyección de éste, o del dibutiril-AMPc, en el tercer ventrículo de la rata anestesiada con eter deprime los niveles hormonales a los 30-60 minutos (OJEDA, KRULICH y McCANN 1974) y, aunque la respuesta no es potenciada por la teofilina, ésta, por sí sola, induce una disminución significativa de la PRL. Ello ha permitido suponer a McCANN, KRULICH, OJEDA y VIJAYAN (1978) que, dado el efecto preponderante de la dopamina, el AMPc es posible que medie su acción depresora, particularmente si se tiene presente que, en contraste con dopamina, el bloqueo ejercido con pimocide sobre los receptores dopaminérgicos no logra bloquear la respuesta del AMPc, lo que sugiere un efecto directo en las neuronas secretoras de PIF.

Cuando se inyectan cinco mcg de PGE 1, PGE 2, PGF 1 α o PGF 2 α en el tercer ventrículo de ratas ovariectomizadas y/o tratadas con estrógenos, sólo la PGE 1 produce un incremento de PRL entre los 15 y 30 minutos de la inyección (HARMS, OJEDA y McCANN 1973; OJEDA, HARMS y McCANN 1974)^b. La PGE 1 y PGE 2 no produjeron ningún efecto inyectadas directamente en la hipófisis anterior, lo que permitió sugerir una acción central (LABRIE, PALLETIER, BERGEAT, DROUIN, FERLAND y BELANGER 1976). SATO, TAYA, JYUJO, HIRONO e IGARISHI (1974) comunicaron que tras la inyección intravenosa de PGE 1, PGE 2 y PGF 2 α se obtiene un incremento de los niveles de PRL, al igual que ocurre en ratas embarazadas tras la inyección intraperitoneal de PGE 2 α (VERMOUTH y DEIS 1972). WARBER, ESKAY y PORTER (1976), investigando el efecto de la inyección intraventricular de PGs, comunican que concentraciones mayores de 5 mcg de PGE 2 no producen el típico efecto estimulador, no obteniendo tampoco ninguna respuesta con PGF 1 α , PGF 2 α , PGF 1 β , PGE 1, PGE 1, PGE 2, PGE 1 y PGE 2, pero sí con PGF 2 β .

GAUTVIK y KRIZ (1976), en un cuidadoso estudio, puntualizan algunas de las posibles y frecuentes confusiones en la interpretación de estos resultados contradictorios; trabajando con un gran dintel de concentraciones sobre células GH₃ comprueban que la PGF 2 α estimula de forma creciente con el incremento de su concentración, al igual que la PGE 2, indicando que estas altas concentraciones fueron las corrientemente utilizadas por la mayoría de los autores.

La indometacina, un potente inhibidor de la PGs sintetasa, es capaz de disminuir la elevación de PRL inducida por estrógenos, lo que está de acuerdo con el posible papel de las prostaglandinas en la mediación del efecto sobre la PRL inducido por estrógeno (OJEDA, JAMESON y McCANN 1978). El efecto posiblemente sea central, ya que estos animales muestran un incremento de respuesta frente a la PGE 1 y PGE 2 que es prácticamente inefectivo en animales no tratados. BURTON, CARLILE y JUBIZ (1975) comunican, junto al efecto estimulante de la PGF 2 α , que 2 mg/Kg de indometacina atenúan el efecto de la clorpromicina sobre la PRL, no modificando el producido por el stress de la anestesia con eter. La indometacina y la aspirina no alteran el efecto de la TRH sobre la secreción de PRL en humanos (DUSSAULT, TURCOTTE y GUYDA 1976; RAMEY, BURROW, SPAULDING, DONABEDIAN, SPEROFF y FRANTZ 1976), aunque su efecto no puede ser totalmente valorado dado que, por ejemplo, la aspirina sólo deprime los niveles de PGE 1 en no más del 50% del valor control.

Los estudios "in vivo" parecen, pues, indicar que la PGE 1 tras inyección intraventricular, y la PGE 1, PGE 2 y PGF 2 α por vía intravenosa, incrementan los niveles de PRL en la rata. Dado que no parecen estimularla a nivel hipofisario es lógico pensar su actuación central, ya estimulando el PRF, inhibiendo el PIF, o por un mecanismo combinado. La PGE 1 intraventricularmente, a dosis que no afectan las concentraciones de PRL, bloquea completamente

la respuesta a dopamina y, parcialmente, la de apomorfina (OJEDA y col. 1974)^{a,b}, lo que sugiere que el efecto intrahipotalámico de la dopamina puede ser inhibido incrementando la concentración intracelular de PGE 1. En contraste con este efecto la PGE 1 no previene la depresión inducida por el AMPc, por lo que es posible que éste sea el mensajero del efecto PIF, y la PGE 1 pueda actuar modulando la acción PIF liberadora de dopamina a un nivel previo que el del nucleótido cíclico.

Independientemente del mecanismo de mediación final parece que la membrana de la célula hipofisaria se encuentra cargada eléctricamente, pudiendo ser despolarizada o hiperpolarizada. La despolarización parece que está asociada con la liberación hormonal, mientras que la hiperpolarización se asocia a la inhibición de liberación. Parece ser que la célula lactótrofa se despolariza espontáneamente, a menos que sea mantenida en situación permanente de hiperpolarización.

La presencia de calcio es necesaria para la liberación de PRL, y su entrada es previa al vaciamiento de los gránulos de almacenamiento. Al parecer los PRF actúan permitiendo la entrada de calcio por un mecanismo que implica un cambio de permeabilidad en la membrana celular. El PIF, por su parte, transformaría a la membrana en impermeable para el calcio; el efecto de impermeabilización parece ser mediado por el AMPc mientras que el de entrada de calcio depende de la PGE 1 (OJEDA, HARMS y McCANN 1974)^a.

7. MECANISMO DE ACCION DE PRL. EL RECEPTOR DE PROLACTINA

La liberación de hormona ejerce su efecto final bajo dos premisas de efectividad fundamental: 1) la apropiada traducción del estímulo que desde el medio ambiente y a través del sistema nervioso central provoca su liberación, y 2) la unión a un apropiado sitio molecular con el cual interacciona para ejercer su grado de respuesta biológica.

La identificación de un punto de unión específico, semejante a receptor, se ha definido por la observación experimental que demuestra una constelación de propiedades que pueden ser predecidas por una serie de bases teóricas. 1) El lugar de unión ha de tener una alta afinidad para unir una hormona específica; 2) debe de exhibir un alto grado de especificidad estructural para la hormona que es ligada; 3) debe de existir en número pequeño en cada célula del órgano diana, y debe de presentar una baja capacidad de unión para el número de moléculas hormonales que han de ser ligadas; 4) debe de ligar rápidamente a la hormona, y la población de receptores debe de ser fácilmente saturada, pero mediante una unión reversible; 5) debe de presentar una distribución restrictiva entre los distintos tipos de células animales, presentando su mayor concentración a nivel del órgano diana; 6) debe de ser macromolecular, y en gran parte de estructura proteica, y 7) la formación del complejo hormona-receptor debe de activar un proceso hormona-dependiente que produzca un efecto final capaz de ser reconocido y medido.

En 1971 TURKINGTON publicó el primer ensayo de radioreceptor, demostrando por primera vez la capacidad de unión de PRL a una membrana biológica, aunque su incompleta especificidad, debido al alto grado de captación inespecífica, suponía un serio problema para la correcta evaluación del método (FRANTZ y TURKINGTON 1972). SHIU, KELLY y FRIESEN (1973) demostraron la utilidad del método no sólo para cuantificar PRL, sino para el ensayo del grupo de factores lactogénicos. Sin embargo, las características del

receptor no serían evidenciadas hasta que en 1972, y unos meses más tarde ya en 1973, TURKINGTON y FRANTZ, y TURKINGTON, FRANTZ y MAJUMDER comunicaron los resultados del análisis de unión entre PRL-I 125 y preparaciones celulares crudas, obtenidas a baja velocidad o altamente purificada, de membranas celulares de glándula mamaria. POSNER (1977) ha revisado, recientemente, las características del receptor que nos ocupa.

Se identificaron dos tipos de actividades de unión. Una rápidamente disociable y que parecía representar la fracción de baja afinidad y alta capacidad de unión. El segundo componente, que procedía de la fracción residual de radioactividad unida, se disociaba muy lentamente y representaba la fracción de alta capacidad de unión.

La cinética de unión de la fracción de alta afinidad demostró que a 4°C el grado total de unión era mayor durante los tres primeros minutos, completándose tras 20 minutos de incubación. A 37°C la capacidad de unión exhibida era algo mayor, aunque la cinética de la reacción de unión era similar a la observada a 4°C. La fracción de esta actividad, que representa la fracción de unión específica, se determinó estudiando a cada temperatura la reacción en presencia de un exceso de PRL nativa. Esta compitió por los otros sitios de unión reduciendo la actividad ligada. La porción de unión total de PRL-I 125 a cada temperatura que era desplazada sólo por la competición con PRL nativa fué designada como la fracción de unión específica de PRL. La especificidad hormonal de la actividad de unión de PRL se estudió por desplazamiento competitivo. La incubación con concentraciones de prolactina equivalente al rango fisiológico mostró una significativa disociación de PRL-I 125 de las partículas mamarias. Otras hormonas con actividad lactogénica intrínseca, como la HCh y el LPh, también desplazaron la PRL marcada, pero a un grado mucho menor que la observada con PRL nativa.

Para determinar la localización subcelular de la actividad específica de unión se utilizaron preparaciones altamente purificadas de membranas plasmáticas, núcleo y ribosomas de glándulas mamarias de ratonas lactantes. Las preparaciones de membrana plasmática exhibieron una cantidad relativamente alta de actividad ligadora de PRL, y más del 50% de la hormona unida podía ser desplazada competitivamente por PRL, pero no por cantidades iguales de LH. La actividad de unión de PRL de las preparaciones nucleares y ribosómicas fue no específica, y no fué desplazada por PRL nativa.

El tratamiento con tripsina de la fracción específica produjo una gran disminución del grado de unión, pero el tratamiento con RNasa y DNasa no produjo ninguna alteración. El calentamiento a 60°C destruyó casi completamente la actividad de unión desplazable por PRL naciente. Estos resultados sugerían que el teórico receptor era de naturaleza macromolecular, y contenía enlaces peptídicos que eran necesarios para la especificidad de unión de PRL.

Trabajando con mama de ratón y rata se observó que la mayor concentración de actividad total de unión se realizaba en tejido mamario, lugar donde pudo definirse la mayor cantidad de unión específica. También se encontró una cantidad significativa de puntos específicos de unión en preparaciones de hígado, riñón y cerebro (tras quitar la corteza cerebral y el cerebelo) en el ratón, en las suprarrenales, ovarios y vesículas seminales de la rata, en placenta, hígado, pulmón y miocardio de fetos de mono Rhesus (JOSIMOVICH, MERISKO, BOCCELLA y TOBON 1977), y en células de carcinoma de mama de rata (TURKINGTON 1974) y humano (HOLDAWAY y FRIESEN 1977). En contraste se detectó actividad inespecífica en preparaciones de corazón, corteza cerebral, pulmón y bazo.

Las curvas dosis-respuesta de estimulación hormonal se realizaron sobre el efecto de distintas concentraciones de PRL en la inducción de síntesis de caseína en explantos de mama, respecto al grado de incremento de unión específico de PRL en las partículas de mama. Por encima de una concentración de prolactina de aproximadamente 1.000 ng/ml se satura la inducción de caseína, y el

incremento de la concentración de PRL causa sólo un discreto grado de aumento en el desplazamiento de PRL marcada. El mayor grado de desplazamiento, a concentraciones de PRL entre 20 y 250 ng/ml, se asoció con el continuo incremento del grado de síntesis de caseína.

La constante de disociación, medida mediante test de Scatchard, fué aproximadamente de 9.1×10^{-9} M. Este valor, aproximadamente de 250 ng/ml, cae con los puntos de inflexión de la curva de desplazamiento de unión competitiva como una función de la concentración hormonal, y dentro del rango de concentraciones hormonales en las que la síntesis de caseína es inducida en células intactas. Por tanto, estos resultados están de acuerdo con el concepto de que la unión de PRL es hormono-específica, y la saturación de los puntos de unión ocurre en el mismo rango de concentraciones hormonales que las observadas en la activación de procesos fisiológicos de PRL en células intactas. La correlación entre las concentraciones de PRL a las cuales los receptores de alta afinidad, saturables y específicos pueden ser observados, y la inducción de síntesis de caseína en células intactas, aporta evidencia sugestiva del significado funcional de los receptores de PRL. Además, la activación de la síntesis de ácidos grasos (WANG 1972) y la inducción de síntesis de N-acetil-lactosamina (TURKINGTON 1971^a; LOEWENSTEIN, MARIZ, PEAKE y DAUGHDAY 1971) ocurre en rangos de concentración de PRL similares a los de caseína.

Es importante señalar la presencia de factores metodológicos que pueden alterar estos ensayos. Así SCHELEUSENER (1976), trabajando con tejido mamario de coneja embarazada, ha descrito que el calcio incrementa la capacidad de unión total del ensayo, no apreciándose alteraciones con tampones de bicarbonato, TRIS-ClH o tampón fosfato; el momento, en días, de la toma de la glándula también produjo diferencias en los resultados. SALIH, MURTHY y FRIESEN (1979) han comunicado la necesidad de tener una gran precaución con los estudios inmunocitoquímicos para receptores de PRL, dado que tras la fijación de los tejidos se obtienen alteraciones

en la capacidad de unión, y en el número de receptores, de los modelos más utilizados. FARKOUH, PACKER y FRANTZ (1979) han comunicado que la forma macromolecular de PRL también presenta distintas características de unión al receptor. En adultos normales, y en situación basal, donde se ha encontrado una considerable proporción de PRL "muy grande", ésta muestra una baja actividad de receptor, al igual que la forma "grande", frente a la forma "pequeña" que exhibe el mayor grado de unión. Sin embargo, las maniobras de preparación de las membranas no parece que lo alteren, dado que tras estudiar el grado de desaturación, "in vivo" con CB-154, e "in vitro" con Cl_2Mg , el receptor conserva la hormona que llevaba unida, y capta nueva hormona con una gran afinidad (KELLY, LEBLANC y DJIANE 1979).

Los estudios iniciales demostraron que un efecto precoz de la PRL en las células alveolares de la mama era la rápida inducción de una proteína-kinasa AMP-dependiente. La inducción era observada a los 30 minutos de la adición de PRL al medio de cultivo de explantos mamarios, con un nivel máximo de inducción de 4 horas. Dado que la formación de la enzima ocurría previamente al incremento del grado de fosforilización de proteínas específicas en ribosomas o membranas plasmáticas, de la de histonas y proteínas ácidas de la cromatina, y dado que ocurre también previamente al inicio de la síntesis de RNA y de la inducción de síntesis de proteínas de la leche, se supuso que la inducción de la proteína-kinasa AMP-dependiente podía ser un paso limitante en la activación inducida por PRL. Alguna otra señal citoplasmática servía para aumentar la transcripción, produciendo una rápida inducción de la enzima. Además el complejo de proteína-kinasa puede interaccionar específicamente con el AMPc pudiendo ser el factor limitante, más que el AMPc, en el proceso de activación.

En 1976 RILLEMA comunica que la PGE 2, PGB 2 y PGF 2 α estimulaban la síntesis de RNA de forma similar a como lo hacía la PRL; cada una de ellas mostró un tiempo similar de retardo, no apreciándose ningún efecto en explantos que no respondieron a PRL.

Estas PGs no mostraron efecto aditivo, y dado que la interconversión entre ellas es factible se supuso su posible mediación en el efecto de PRL sobre el metabolismo de RNA, aunque no pudo especificarse cual de ellas ejercía el papel preponderante. En el mismo sistema el efecto de estas prostaglandinas era abolido por la teofilina y el dibutil-AMPc por lo que propuso, al igual que ocurría a nivel hipofisario, que la acción de PRL y/o PGs podía ser mediada por una reducción de los niveles intracelulares de AMPc, mientras que el efecto contrario obtenido con la PGA 1, PGA 2, PGB 1, PGE 1 y PGF 1 α (que inhiben el efecto estimulante de PRL sobre la síntesis de RNA) podría ocurrir como consecuencia de un incremento de la síntesis de AMPc inducido por ellas.

De gran importancia ha sido la reciente revisión de HORROBIN, MANKU, KARMALI, ALLY, KARMAZYN, MORGAN y SWIF (1978). Trabajando con mesenterio aislado de rata concluyen en una serie de resultados e hipótesis que abren nuevas interpretaciones a fenómenos no explicados en el mecanismo de acción de PRL, y en las interacciones de esta hormona con su receptor. Respecto a la naturaleza del mensajero intracelular concluyen que las dificultades de cuantificación para el AMPc, a nivel de los ensayos de glándulas mamarias, hace difícil la demostración de que los nucleótidos cíclicos sean los responsables de la acción de PRL, y aportan clara evidencia de que la PRL incrementa los niveles de PGE, que media la acción hormonal tras su incremento por la acción de la fosfolipasa A que, estimulada por PRL, rompe el precursor de la PGE 1, el ácido dihomo γ -linolénico que se encuentran en los fosfolípidos de la membrana. RILLEMA y WILD (1977) también observan un aumento de fosfolipasa A en célula mamaria tras estímulo con PRL, comunicando además un aumento de liberación de ácido araquidónico desde la fosfatidil-colina. Unido al efecto sobre PGs, MANKU, HORROBIN, KARMAZYN y CUNNANE (1979) han comunicado que la PRL moviliza cinc (Zn), el cual presenta similitudes de acción con las de PRL, planteando la hipótesis de que el Zn puede mediar o coadyuvar en la mediación del efecto de PRL. Dado que el litio (Li) puede bloquear el efecto de PRL y Zn, mientras que el cortisol sólo bloquea

el de PRL (en su modelo), han propuesto que la PRL puede movilizar Zn por un proceso sensible a esteroides, y que éste moviliza los precursores de PGs en un proceso sensible al litio.

7A) Regulación de los niveles del receptor de PRL

De tanta importancia como el mecanismo de acción de PRL es la regulación, por interacciones hormonales, de sus receptores a nivel de la célula diana, aspecto que ha sido recientemente revisado por KELLY, FERLAND, LABRIE y De LEAN (1976), KELLY, FERLAND y LABRIE (1978) y por WATERS, FRIESEN y BOHNET (1979).

Trabajando con el modelo de receptores hepáticos se ha podido demostrar que los puntos de unión de membrana ligan específicamente no sólo hormonas con actividad somatotrópica, como la HC, sino también hormonas con actividad lactogénica como la PRL (POSNER, KELLY, SHIU y FRIESEN 1974), aunque es posible en el laboratorio distinguir claramente ambos tipos de unión. POSNER y col. (1974) demostraron que la inyección de estrona y estradiol, pero no de estriol, en ratas normales, producían un incremento entre 10 y 30 veces en el número de sitios lactogénicos a los 8-12 días de la inyección. En ratas normales este régimen de tratamiento incrementaba la unión de PRL a niveles como los apreciados durante el embarazo, siendo incluso efectivo en ratas prepúberales macho y hembra. El "binding" así inducido presenta una constante de disociación semejante a la observada con ratas embarazadas normales. Estudios posteriores de KELLY, POSNER y FRIESEN (1975) demostraron que la simple inyección de una forma retardada de estrógenos en ratas machos producía un máximo incremento en la inducción de receptores lactogénicos entre los 9 y 12 días, mientras que la misma substancia inyectada en dosis mucho menores producía un incremento de 15 veces, frente a 35 a dosis mayores. La ovariectomía reducía significativamente el número de receptores, y los antiestrógenos prevenían la inducción por estrógenos.

Una serie de estudios de dosis-respuestas demostraron que concentraciones tan pequeñas como 0.05 mcg de estradiol eran capaces de doblar el grado de unión de PRL en ratas ovariectomizadas, cuando las concentraciones de PRL eran tan sólo muy discretamente elevadas. El tratamiento con CB154 disminuía los niveles de PRL sin afectar la respuesta al estradiol. Parece, pues, que el estradiol es capaz de ejercer un efecto directo en la inducción de receptores lactogénicos hepáticos y que el papel incrementador de la PRL es secundario, aunque está claro que son necesarios pequeños niveles de PRL para la inducción por estrógenos dado que estos son inefectivos en animales hipofisectomizados. Este efecto directo de los estrógenos está de acuerdo con el hallazgo de BRADLEY, CAMPBELL, MARSHALL, MEITES y COLLINGS (1975) de que la adición directa de 0.1 mcg/ml a cortes de hígado de rata hembra produce un incremento significativo de la unión específica de PRL tras tres horas de incubación.

Este efecto directo de los esteroides sobre los receptores lactogénicos ha sido también demostrado por SHERMAN, STAGNER y ZAMUDIO (1977) quienes han publicado que la testosterona, medroxi-progesterona y cortisol no sólo disminuyen el contenido de receptores sino que antagonizan el efecto inductor de los estrógenos, aún en presencia de concentraciones elevadas de PRL.

Mientras que la aparición de respuesta al estradiol "in vivo" es lenta, la simple inyección de cicloheximida reduce, a las tres horas, la unión de PRL en más de un 90%, aportando evidencia del rápido "turnover" de los receptores de PRL. Es curioso como la cicloheximida previene la inducción de receptores por el estradiol, mientras que no lo hace la actinomicina D ni a alta dosis, implicando un control de la inducción a nivel translacional a partir de una forma de mRNA, más que un control producido por la unión del estradiol a su receptor nuclear.

La hipofisectomía disminuye la unión de lactógenos a niveles muy bajos, y produce la abolición de la inducción producida por los

estrógenos, tanto en hígados de animales macho como hembra. El papel de la hipófisis ha sido también investigado utilizando transplantes hipofisarios en ratas hipofisectomizadas (POSNER, KELLY y FRIESEN 1975 ; POSNER 1976), y en la cepa de ratas enanas (Snell Dwarf Mouse) que congénitamente carecen de PRL (KNAZEK, LIU y GULLINO 1977)^a. Los implantes reducen la pérdida de receptores lactogénicos tras la hipofisectomía y permiten su inducción alcanzando el máximo hacia los cuatro días del implante; además se restablece la ya conocida respuesta al estradiol. Puede, pues, establecerse que la prolactina induce la síntesis de su propio receptor.

Este concepto ha sido confirmado por el grupo de McGUIRE, quienes demuestran la capacidad de síntesis de receptor de PRL en ratas hipofisectomizadas tras la inyección de 0.05 mg de PRL. La inducción máxima se produce con 2 mg de PRL, y el tiempo de inducción es mucho más rápido que el observado con estradiol; la máxima respuesta se obtiene entre las 12 y 18 horas declinado hacia el nivel control a las 30 horas. La especificidad del fenómeno queda demostrada al observar que el estradiol, la progesterona, la hidrocortisona, la triyodotironina y la HG no producen ningún efecto. El estradiol y la triyodotironina combinadas con prolactina, o la inyección repetida de PRL, no es más efectivo que una simple dosis de hormona, implicando que el estradiol ejerce su efecto sólo por incremento de la secreción de prolactina en el animal intacto. Sin embargo, las dosis simples de PRL sólo producen una recuperación de un 20-30% por lo que puede suponerse que, al menos en este modelo, se incluyen algunos otros factores de potenciación.

Se ha obtenido alguna evidencia de un papel indirecto de la hipófisis (GELATO, MARSHALL, BOUDREAU, BRUNI, CAMPBELL y MEITES 1975) dado que en animales tiroidectomizados y ovariectomizados se produce una reducción del número de receptores que es mayor cuando ambas intervenciones se realizan juntas. El estradiol y la tiroxina son altamente efectivas en el reemplazamiento, y administradas juntas incrementan el grado de unión por encima de los niveles control.

La testosterona ha sido otra de las hormonas implicadas en la regulación de los receptores de PRL. Cuando se estudian animales hipofisectomizados machos y hembras se obtienen algunas diferencias dado que el incremento de receptores es mucho menor en los machos. En efecto, la adición de PRLo a una combinación de HC y ACTH produce una disminución del grado de unión de acuerdo con la incapacidad de PRLo para inducir receptores en los machos. La contestación a esta paradoja puede residir en que la testosterona disminuye considerablemente la capacidad inductora del ACTH y PRL, mientras que el estradiol la incrementa.

El hecho de este efecto supresor, que no se observa en las hembras, implica una acción testicular; la inyección de PRLo en ratas macho hipofisectomizadas produce un incremento en los niveles de testosterona. Este efecto no es mayor comparado con el efecto combinado de PRL y LH, pero es posible que la testosterona en el animal hipofisectomizado no sea sólo secretada por las gonodas. BOYNS, COLE, GOLDBERGER, DANUTRA, HARPER, BROWNSEY, COWLEY, JONES y GRIFFITHS (1972), han demostrado que la PRLo estimula marcadamente la secreción de testosterona en suprarrenales de humano y conejillo de indias mantenidas en cultivo, aunque la producción combinada de testosterona por el testículo y suprarrenal "in vivo", tras la administración de PRLo, actúa para reducir algún efecto inductivo directo para PRL, y ACTH o HCh, sobre los receptores lactogénicos del modelo hepático en ratas hipofisectomizadas.

Existe evidencia de que el incremento producido por los estrógenos en ratas castradas puede ser antagonizado por la inyección de testosterona o 5- α -dihidrotestosterona; además, la castración produce un considerable grado de inducción de receptores hepáticos en la rata macho (ARAGONA y FRIESEN 1975). Partiendo del estudio de los mecanismos envueltos en la síntesis lenta de receptores hepáticos que sigue a la castración de ratas jóvenes maduras pudo observarse que la testosterona bloquea la síntesis de receptores por un mecanismo que no parece ser mediado por los estrógenos, dado que los antiestrógenos no alteran el efecto. Sí es, por el

contrario, hipófiso-dependiente dado que no se observó en ratas hipofisectomizadas, pero tampoco parece mediado directamente por la prolactina. La supresión de los niveles de PRL con CB 154, o la elevación con flupenacina, no afecta el resultado del proceso inductivo. En efecto, la supresión provocada por la testosterona en la inducción de receptores tras la castración se asocia "in vivo" a una concentración elevada de PRL. (ARAGONA, BOHNET y FRISEN 1976). La PRL administrada a ratas macho hipofisectomizadas tampoco induce receptores lactogénicos hepáticos, aunque la concentración sérica sea incluso mucho mayor que la obtenida con trasplante hipofisario. Independientemente de la posibilidad de un hipogonadismo asociado con el tumor secretor de prolactina, que puede contribuir a la inducción del receptor por disminución de los niveles de testosterona, puede también sugerirse la presencia de otros factores hipofisarios que, sintetizados por la hipófisis tumoral, sinergicen con el efecto de la prolactina.

De entre los factores hipofisarios capaces de potenciar el efecto de la PRL la hormona de crecimiento y el ACTH son los dos que han demostrado mayor efecto. La administración diaria de PRL durante 7 días en ratas hipofisectomizadas es, si se utiliza a dosis bajas, muy poco efectiva, mientras que la inyección adicional de ACTH induce niveles de unión mucho más altos que los observados con la dosis baja efectiva de PRL. La misma dosis de PRL más HC también produce un incremento de unión de PRL, aunque no tan marcado como con la combinación anterior; ninguna de las dos hormonas es capaz de inducir el receptor cuando son administradas separadamente, pero la combinación de ACTH y HC produce niveles altos comparables con los observados en ratas portadoras de tumor hipofisario, quienes, probablemente, sintetizan el factor sinergizante completo.

El efecto del ACTH parece ser dependiente de las suprarrenales dado que no puede ser reproducido en animales suprarrenalectomizados, pero no parece ser dependiente de la liberación incrementada de corticosterona, ya que la combinación PRL más cortisona es inefectiva en la inducción del receptor. La disminución de un 30% del

contenido de receptor observada tras la suprarrenalectomía puede ser reflejo de este efecto del ACTH, mediado por un factor adrenal que podría ser un estrógeno.

El efecto del sinergismo y antagonismo hormonal que regula el contenido de receptores de PRL es, pues, complejísimo, al menos en este modelo experimental. No solo comprende la acción de varias hormonas hipofisarias (PRL, ACTH y HC) sino que se necesita el concierto de los esteroides sexuales (relación estrógenos/testosterona), tiroxina y algún posible factor adrenal aún no conocido. Pero para dar mayor complejidad al problema CHAMNESS, COSTLOW y MCGUIRE (1975) han publicado que el receptor de estrógenos de la célula hepática es regulado por PRL.

7A-1) Receptores de PRL en el Testículo y la Próstata.

ARAGONA y FRIESEN (1975) estudiaron la unión de PRL en el testículo, epididimo, vesículas seminales y próstata. La unión fue específica y de gran afinidad, siendo mayor en la próstata ventral y menor en las vesículas seminales. Aunque bajo, fué significativo en el testículo y epididimo, localizándose en aquél a nivel de la fracción de células intersticiales. La unión prostática parece que sigue los niveles de testosterona. La administración de estrógenos, que disminuyen los niveles de testosterona en la rata macho, o la castración, disminuyó el grado de unión prostática. La inyección de testosterona produjo un incremento del receptor en el animal castrado y en el íntegro (KLEDZIK, MARSHALL, CAMPBELL, GELATO y MEITES 1976). Por tanto, la relación andrógenos/estrógenos parece que gobierna el estado de los receptores de PRL de forma inversa a como ocurre en el hígado.

AUCLAIR, KELLY, COY, SCHALLY y LABRIE (1977) han comunicado que un análogo de LHRH es capaz de reducir la concentración del receptor de PRL a nivel testicular, a través de la posible mediación de un incremento de la secreción de gonadotropinas.

7A-2) Receptores de Prolactina en el Ovario. Sinergismo con la inducción de receptores de LH.

En el cuerpo lúteo de la rata la administración de PRL incrementa el receptor de LH, y produce un aumento de la secreción de progesterona en el animal inmaduro tratado con FSH y estradiol (HOLT, RICHARDS, MIDGLEY y REICHERT 1976). Junto a CB 154 la administración de PRL no cambia el número de receptores lactogénicos, aunque éstos son marcadamente incrementados como resultado de la inyección de LH en este modelo. Contrariamente, el incremento en el contenido ovárico de receptor de LH disminuye tras la inyección de CB 154, de forma similar a lo que ocurre en las células de Leydig, implicando un papel de la PRL en la inducción de receptores de LH. Los niveles de receptor de FSH, LH y PRL es incrementada por el pretratamiento con estradiol, y la FSH y la LH pueden modificar los receptores citosólicos de estrógenos, demostrándose una mutua interacción en la inducción de receptores entre hormonas protéicas y esteroideas.

RICHARDS y WILLIAMS (1976) han mejorado el modelo de HOLT introduciendo la hipofisectomía para eliminar cualquier contribución de la LH y PRL endógena en el desarrollo de la célula luteal. En este modelo observan que el contenido de receptores de LH y FSH disminuye, mientras que aumenta el de PRL, tras el tratamiento con LH en ausencia de PRL, confirmando el estudio obtenido con CB 154. Sin embargo, si se administra también prolactina tras el tratamiento de LH se observa un incremento de estos receptores a las 96 horas de la inyección de LH. Los receptores de LH, aunque presentes, no parecen ser funcionales, ya que no existen niveles endógenos de LH, y aún así la prolactina es capaz de estimular la secreción de progesterona. Este estímulo se inicia a las 48 horas de la inyección de LH siempre que exista un aporte de PRL cuando se inicia el período de tratamiento. Aquí aparece también claramente la inducción de receptores de PRL por otras hormonas, corroborándose, además, con una respuesta biológica. Parece que debe existir receptor de LH para conseguirse la inducción del receptor de PRL, tras lo cual el fenómeno lúteotrófico parece ser solo mediado

por la prolactina. Si la administración de PRL se retrasa 72 horas a la de LH, cuando el nivel de receptor de ésta se encuentra declinando, se observa un fenómeno de luteólisis a pesar de que la prolactina parezca actuar a través de su receptor.

La unión de PRL al cuerpo lúteo de la rata disminuye a través del embarazo hasta el término de éste, al contrario de lo que ocurre en el cerdo (ROLLAND, GUNSALUS y HAMMOND 1976) e igual que lo que ocurre en el conejo. Esta disminución puede suponerse por el hecho de que la PRL juega un papel precoz en el mantenimiento de la secreción de progesterona luteal mientras que el lactógeno placentario la sustituye en estadios más tardíos (FORD y YOSHINAGA 1975).

7A-3) Receptores de Prolactina en la Glándula Mamaria

Desde hace tiempo se conoce el papel lactogénico de la PRL y se sabe, además, que la unión de prolactina durante el embarazo es aproximadamente un tercio de la que se presenta durante la lactancia. HOLTSCOMB y col. (1977), utilizando muestras de mama de rata, demostraron que la unión de PRL permanecía muy bajo hasta el parto, momento en el que se incrementaba del orden de 20 veces más, lo que les hizo estudiar el papel que podía jugar el lactógeno placentario durante todos los períodos del embarazo. La histerectomía y ovariectomía produjo un gran incremento del grado de unión hacia el día 11, correspondiendo al período de secreción de lactógeno placentario (SHIU, KELLY y FRIESEN 1973), por lo que propusieron la ocupación por el lactógeno placentario del receptor de PRL, y la incapacidad de ésta para ligarse a su receptor ocupado.

Mantiene esta suposición el hecho de que ni los estrógenos ni la progesterona bloquean el incremento en el receptor tras la ovariectomía e histerectomía. Probablemente la progesterona bloquea el desarrollo de la maquinaria enzimática lactogénica aunque el receptor esté ocupado. La ocupación es muy probable, dado que la infusión de PRL produce una depresión significativa de la unión de

prolactina en el hígado y en tumor de mama sólo cuando la concentración sérica de ésta es superior a 300 ng/ml, nivel aún inferior al de lactógeno placentario en la rata.

Estudios posteriores han implicado a la estimulación del pezón como un factor mayor en la inducción de receptores de PRL (BONNET, GOMEZ y FRIESEN 1977). El máximo incremento del contenido de receptor se observó dos días después del parto, y pudo ser abolido cuando las crías eran retiradas en el momento de su nacimiento. Dado que la ergocornina fue también capaz de suprimir este incremento, el efecto inductivo de la succión del pezón sobre los niveles de PRL parece ser el factor condicionante mayor, incluso más que la abolición por ocupación. Esta discrepancia podría explicarse por diferencias en el contenido de hormona endógena cuando se utilizan rebanadas de tejido o membranas aisladas, pero, aún así, no hay duda de que el fenómeno de ocupación ocurre, incluso en este último caso (DJIANE, DURANT y KELLY 1977).

La resolución a este problema se ha abordado utilizando el conejo, animal que no posee lactógeno placentario. En un estudio inicial DJIANE y col. (1977) fueron capaces de demostrar la presencia de un número elevadamente razonable de receptores de PRL durante la mamogénesis, en el día 6 del embarazo, con un claro incremento durante la lactancia precoz, momento del inicio de la producción de leche. Este incremento podía ser aumentado aún después de desaturar el receptor por tratamiento con ergocornina durante 36 horas, procedimiento que disminuye los niveles de PRL. Se encontraron diferencias significativas entre los animales control y los desaturados, hallazgo que apoya el papel de los altos niveles de lactógeno placentario encontrados en otras especies. También observaron en la rata que el tratamiento con ergocornina dos días antes del parto suprimía el incremento de PRL tras éste, e inhibía el claro incremento del receptor de PRL observado a los 6 días del parto.

En un trabajo posterior DJIANE y DURANT (1977) comunicaron que la inyección de 100 UI de PRLo eran capaces de inducir receptores

en la coneja, y que este efecto podía ser bloqueado por progesterona, extrapolando este resultado al efecto inhibitor que ejerce esta hormona sobre la lactogénesis a nivel del receptor de PRL. Se sugirió también que la aparición de receptores de PRL era originalmente producida por el pico postcoital de estrógenos (HILLARD y EATON 1971) en presencia de PRL, y dado que los estrógenos también actúan incrementando los receptores de estrógenos y progesterona el tejido podía quedar en condiciones de responder al efecto supresor de la progesterona sobre la lactogénesis y sobre el receptor de PRL. Este efecto supresor podía ser abolido cuando al final del embarazo caen los niveles de progesterona y aumentan los de prolactina, induciéndose la síntesis de su receptor que ocurre en el momento de máxima lactogénesis. La presencia de cantidades relativamente altas de esteroides sexuales interfieren este desarrollo por un mecanismo directo de inhibición (BOHNET, GOMEZ, FRIESEN 1977^a, BOHNET, DEL POZO y GOMEZ 1978).

De acuerdo con el trabajo de SHERMAN y col. (1977), en el que demuestran el bloqueo de inducción de receptores de PRL por corticoesteroides en el hígado de rata, el papel del incremento de cortisol antes del parto permanece aún sin aclarar. Recientemente SAKAI, BOWMAN, YANG, McCORMICK y NANDI (1978) han comunicado, "in vitro", el efecto positivo de la hidrocortisona, pero ni en la rata ni en el conejo existe suficiente información para construir un modelo coherente que relacione, a nivel de receptor, la acción de las tres hormonas mamotrópicas fundamentales (PRL, Insulina y Cortisol) con la acción de los esteroides sexuales.

7A-4) Receptores de Prolactina en el Riñón y en la Glándula Suprarrenal

Parece que una de las acciones de la PRL es la regulación del balance electrolítico en ciertas especies animales. No está aún aclarado si este efecto se ejerce directamente sobre el riñón o con la colaboración de la secreción de mineralcorticoides por la

suprarrenal, secundaria a la inhibición de la 5 α reductasa (GUSTAFSON y STENBERG 1975); el hallazgo de que la PRL se liga a la suprarrenal, incrementándose por el aporte de sal y la deshidratación, implica un sinergismo a este nivel.

Recientemente se ha demostrado la presencia de receptores de PRL en el riñón de la rata, con variaciones respecto a la edad y con la relación testosterona/estrógenos, al igual que ocurre en la próstata. Por otra parte, se sabe que la testosterona y los estrógenos se unen al riñón y suprarrenal, y aunque su significado fisiológico no está claro podría encontrarse relacionado con la capacidad de ambos para producir retención de sal y de agua. MARSHALL, BRUNI y MEITES (1979) han comunicado la regulación de los receptores de PRL renales por hormonas tiroideas; la hipofisectomía con hipotiroidismo reduce el número de receptores, que son normalizados por el reemplazamiento con T₄, mientras que el hipertiroidismo incrementa su número.

8. FUNCIONES DE LA PROLACTINA

La prolactina es la única entre las hormonas hipofisarias que desarrolla una gran variedad de funciones en los vertebrados, desde los teleosteos a los mamíferos. De ellas, resalta que la PRL no queda sólo restringida a una serie de funciones en la evolución de los vertebrados, ni a un grupo reducido de acciones fisiológicas. Entre las funciones mejor conocidas en especies inferiores destacan las relacionadas con la reproducción, cuidado del niño, osmorregulación, crecimiento, y funciones sobre las estructuras tegumentarias.

Buscando un denominador común en la acción de la prolactina puede resumirse que hasta el momento no existe ninguno aparente, y la PRL puede ser utilizada para la regulación de procesos fisiológicos que van apareciendo en la adaptación a un nuevo ambiente,

y a nuevos modos de vida. Por ejemplo, la PRL favorece la existencia acuática en anfibios, es necesaria para la regulación del agua y sal en algunos peces, es esencial para la incubación de huevos en las aves, y promueve la secreción de leche en los mamíferos.

Aunque la mayoría de las acciones de PRL estudiadas en los vertebrados lo han sido utilizando especies de mamíferos, la hormona ha sido separada de la hipófisis de otras especies no relacionadas, y los estudios histológicos la han identificado en casi todos los grupos de vertebrados estudiados.

Las funciones de la PRL pueden ser clasificadas bajo varios puntos de vista: reproducción, nutrición del niño, incluyendo la creación del medio ambiente paterno, osmorregulación, efecto somatotropico y acciones tegumentarias. Las funciones que se van a comentar han sido revisadas en estos últimos años por BERN y NICOLL (1968), NICOLLY y BERN (1972), NICOLL (1974) y SWEARINGEN Y NICOLL (1974).

8A) Funciones de Reproducción

Uno de los sinónimos de prolactina es el de luteotropina, nombre dado por ASTWOOD (1941), y EVANS y col. (1941), al comprobar que la PRL mantenía la función del cuerpo lúteo en la rata. Desde entonces ha quedado perfectamente establecido que la hormona que nos ocupa es necesaria para la síntesis de progesterona en la rata, ratón y hamster y, probablemente, en otras especies. Sin embargo, el estudio de la PRL y su papel en la función luteal en ésta, y en otras especies, se ve complicado por una serie de factores, dado que la función del cuerpo lúteo no está bajo el control de una sola hormona. Uno de estos factores es el útero, donde se ha demostrado la presencia de una luteolisina, por lo que el estudio del mantenimiento luteal requiere la histerectomía previa, al menos en la oveja, cerdo y ternera. Otro factor complicativo es el derivado de la acción luteotrófica y luteolítica de las gonadotropinas, y de la misma PRL según la situación fisiológica del

animal, y de que el mantenimiento de la secreción de progesterona se encuentra bajo el control de un complejo hormonal y no una hormona simple, como ocurre en la rata, ratón, hamster, conejo y otros ungulados domésticos. El aspecto de la interacción hormonal a nivel del cuerpo amarillo ha sido revisado recientemente por HAOUR y LANG (1979).

El mecanismo de acción de PRL en aquellas especies en las cuales se ha demostrado la existencia de una promoción en la secreción de progesterona, parece que envuelve el mantenimiento de un "pool" de precursores para la síntesis de esteroides. La enzima esterol-acil-transferasa se encuentra aparentemente envuelta en esta respuesta (BEHRMAN, ORCZYK, McDONALD y GREEP 1970); por tanto, la PRL puede incrementar la respuesta del tejido luteal a gonadotropinas aportando precursores para la síntesis de progesterona. Además, se ha demostrado en la rata que la PRL inhibe la enzima 20- α -hidroxiesteroide-deshidrogenasa que convierte la progesterona en un derivado inactivo, la 20- α -hidroxipregn-4- en -3 ona.

La LH en ausencia de PRL puede inducir la formación del cuerpo lúteo, quien contienen importante número de receptores de PRL, escaso de LH, y una reducida capacidad de sintetizar progesterona. La presencia de PRL durante el proceso inicial de luteinización facilita un mejor desarrollo del cuerpo amarillo, con una mayor capacidad de ligar LH y producir progesterona (HOLT, RICHARDS, MIDGLEY y REICHERT 1976), aunque el efecto de PRL sobre los receptores de LH y secreción de progesterona parece que son dos fenómenos independientes (GIBORI y RICHARDS 1978). Sin embargo, al menos en el mono, la hipófisis no es necesaria para el mantenimiento del cuerpo lúteo en etapa tardía del embarazo, que puede ser mantenido por la unidad fetoplacentaria (WALSH, MEYER, WOLF y FRIESEN 1977), de forma similar a lo que ocurre en la rata.

El fenómeno más representativo de esta acción sobre el cuerpo amarillo quizás sea la fase de anovulación fisiológica del período de lactancia y del pseudoembarazo de la rata, que requiere la

interacción de varias hormonas junto a PRL, y donde sigue discutiéndose cual de ellas es el factor fundamental para esta acción antigonadotrópica. En la rata lactante la sola presencia de pequeños estímulos de succión suprime la secreción de LH, incrementan los niveles de PRL, y altera la respuesta hipofisaria al LH-RH (MURALIDHAR, MANECKJEE y MOUDGAL 1977), efecto que parece estar relacionado con la presencia de una suprarrenal funcionante (GREELEY y KIZER 1979). La retirada de las crías con la supresión de la lactancia se sigue de la reaparición de la ovulación en la rata (Van Der SCHOOT, LANKHORST, De ROO y De GREEF 1978), así como en el pseudoembarazo del hamster tras tratamiento con ergocriptina (TERRANOVA y GREEWALD 1978).

El trasplante hipofisario en la rata castrada suprime el patrón típico de secreción de LH (aunque no de FSH), pero entre los 6 y 8 días después los niveles de LH se normalizan (BECK, ENGELBERT, GELATO y WUTTKE 1977). Algo similar ha sido publicado por GRANDISON, HODSON, CHEN, ADVIS, SIMPKIS y MEITES (1977) lo que puede estar en relación con el reciente hallazgo de BECK y WUTTKE (1977) sobre la obtención de desensibilización de los receptores de dopamina inhibidores de LH durante el curso de la hiperprolactinemia. Ello está, además, de acuerdo con la teoría uniformemente aceptada de la acción inhibidora central de PRL sobre LH (CELOTTI, MASSA y MARTINI 1978), aunque bajo ciertas condiciones experimentales se puede inducir el efecto contrario (DANG y VOOGT 1977).

La relación existente entre PRL y gonadotropinas ha sido excelentemente revisada por MEITES, LU, GRANDINSON, HODSON y SIMPKIS (1978). En el modelo de rata embarazada y ovariectomizada concluyen que el estímulo de lactación, a través de la vía serotoninérgica, incrementa los niveles de PRL e inhibe los de LH y FSH, quizás por una reducción de la descarga de LH-RH en los vasos portales. El incremento de PRL también puede deprimir los de LH y FSH, actuando a nivel hipotalámico por estimulación del "turnover" de dopamina. El ovario del animal lactante también contribuye a la reducción de las gonadotropinas, dado el patrón predominante de

progesterona frente a estrógenos mantenido por el efecto luteotrópico de la PRL; de esta forma la hipófisis queda insensible al efecto del LH-RH (Fig. 12).

También se ha indicado una inhibición directa a nivel hipofisario (WINTERS y LORIAUX 1978), al menos en la rata macho, animal en el que, además, podría establecerse un mecanismo inhibidor secundario al estímulo de la testosterna a nivel de las células de Leydig.

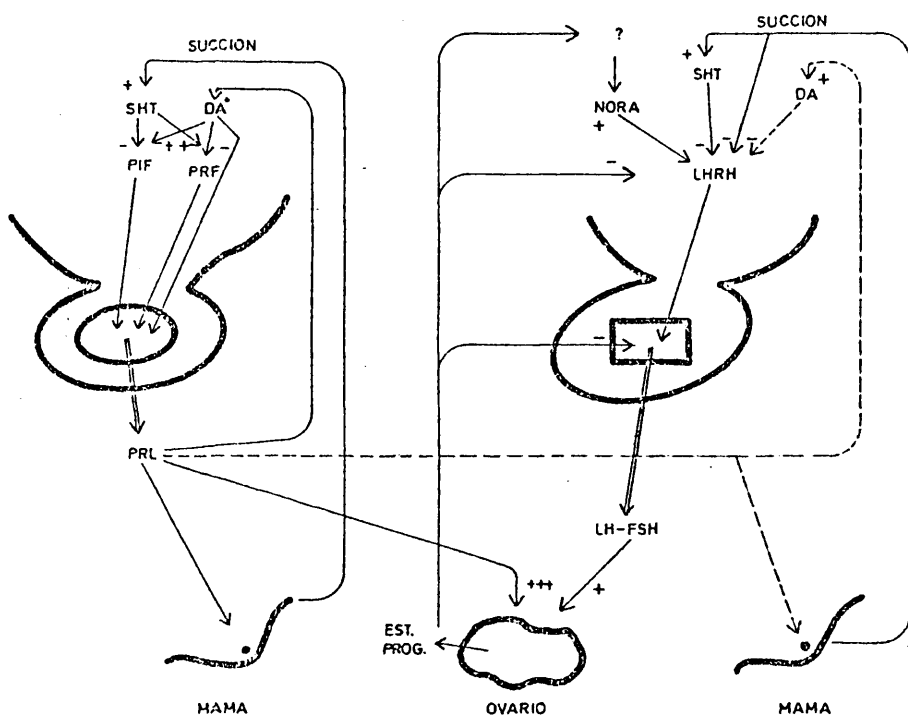
Aunque la PRL se ha mostrado hormona luteotrópica en ciertas circunstancias, y en algunas especies, también puede ejercer un efecto luteolítico. La inyección de PRL en animales hipofisectomizados ejercería el efecto luteotrópico o luteolítico según el momento de la realización de la hipofisectomía. Además, a ciertos niveles, la PRL ejerce el ya conocido efecto trófico con incremento de síntesis de progesterona, pero a dosis más altas el efecto es el contrario.

El efecto luteolítico de la PRL parece que es ejercido a nivel ovarico dado que el tratamiento con antisuero antirreceptor de PRL "in vivo" lo suprime, al mismo tiempo que se incrementan las concentraciones de PRL (BOHNET, SHIU, GRINWICH y FIRESEN 1978). En la rata, a nivel ovarico, la PRL parece que controla la sensibilidad del cuerpo amarillo al efecto luteolítico de las PGs, sobre todo la PGF, posiblemente regulando el receptor de LH ya directamente o a través de la disminución de los niveles de progesterona (BEHRMAN, GRINWICH, HICHENS y McDONALD 1978).

Otros efectos de la PRL sobre la reproducción femenina incluyen el sinergismo con las hormonas esteroideas para promover el desarrollo del oviducto en varias especies de pájaro, y el sinergismo con los estrógenos y progesterona para promover la mucificación del epitelio vaginal de la rata (KENNEDY y ARMSTRONG 1972). Puede, también, modificar el metabolismo de la progesterona en el útero de rata (ARMSTRONG y KING 1971).

PROLACTINA

GONADOTROPINAS



Relacion PRL- GONADOTROPINAS durante la lactacion de la rata

Segun MEITESy COL(1978)

FIG. 12

ADVIS y OJEDA (1978) han comunicado la capacidad de inducir pubertad precoz en la rata, tras provocar hiperprolactinemia con sulpiride; al parecer, el mecanismo no sería otro que el de una sensibilización ovárica a los bajos niveles de gonadotropinas. En ese efecto parece que juega algún papel la normalidad funcional de la suprarrenal, acoplada al pico de PRL de la rata que ocurre en los días 28-30 de la vida, pudiendo incluso sustituirse el efecto de PRL por corticosterona (RAMALEY y CAMPBELL 1977). Sin embargo, en el humano las cosas no están tan claras. PARKER, SACK, FISHER y ODELL (1978) no obtienen datos sugestivos de que la PRL ejerza algún control sobre la pubertad en niños, y KOENING, ZUPPINGER y LICHTI (1977) encuentran un retardo puberal en una enferma de 18 años con síndrome hiperprolactinémico.

El papel de PRL en el macho ha sido durante años un rompecabezas para los endocrinólogos. La PRL está presente en cantidades importantes en la hipófisis de una serie de machos de mamíferos, pero su función no ha sido claramente descrita hasta la comunicación de los estudios de BARTKE y su grupo (1969; 1971; citados por NICOLL 1974) quienes publicaron que el ratón macho infértil, que era deficiente en PRL y HG, podía ser revertido a la fertilidad mediante inyecciones de PRL; además, en la rata enana recupera la síntesis de testosterona, incrementa la respuesta del testículo a LH y estimula la liberación de FSH por la hipófisis (BARTKE, GOLDMAN, BEX y DALTERIO 1977). La testosterona, por otra parte, parece que puede estimular la síntesis de PRL, tanto en el animal inmaduro como en la rata vieja (HERBERT, CISNEROS y RENNELS 1977).

Sin embargo, se han publicado trabajos negando el efecto de PRL sobre el testículo. BARTKE, SMITH, MICHAEL, PERON y DALTERIO (1977) no encuentran, en ratas con trasplante hipofisario e hiperprolactinemia crónica, modificaciones de los niveles de testosterona, o cambios histológicos a nivel del testículo, encontrando tan sólo un aumento del tamaño de las vesículas seminales. LU, GRANDISON, HUANG, MARSHALL y MEITES (1977) con un

modelo similar tampoco observan modificaciones en la próstata ni en la espermatogénesis a nivel testicular, aunque se ha publicado un incremento de esta mediada por un efecto sobre las células de Leydig.

La PRL parece que mantiene el "Poll" de esteroides, asegurando un aporte suficiente de colesterol para la síntesis de andrógenos bajo el efecto de LH (SHERIFF y GOVINDARAJULU 1978), al mismo tiempo que aumenta la unión de LH endógena (BEX y BARTKE 1977) al mantener el nivel de receptores e inducir un efecto positivo de la hormona sobre su receptor (ZIPE, PAYNE y KELCH 1978).

En el humano la hiperprolactinemia inducida por sulpiride parece que interfiere la conversión de testosterona en dihidrotestosterona, a nivel del metabolismo de la 5- α - reductasa (MAGRINI, EBINER, BURCKHARDT y FELDER 1976), incrementándose los niveles de testosterona tras el estímulo con gonadotropina coriónica por un efecto sobre la célula de Leydig (AMBROS, TRAVAGLINI, BECK-PECCOZ, BARA, ELLI, PARACCHI y FAGLIA 1976) y correlacionándose con el incremento nocturno de testosterona respecto al de PRL (RUBIN, POLAND y TOWER 1976), aunque su efecto es menos potente que el de LH (RUBIN, POLAND, SOBEL, TOWER y ODELL 1978). La estimulación con metil-TRH también produce un incremento agudo de testosterona en el hombre normal (RUBIN, POLAND, SOWERS y HERSHMAN 1978).

Aunque la PRL interfiere la conversión de testosterona incrementa la cantidad de dihidrotestosterona radioactiva que se liga al núcleo de las células prostáticas (JOHANSSON 1976).

La prolactina influencia también los órganos sexuales accesorios (NEGRO-VILAR, SAAD y McCANN 1977) a través de un sinergismo con los andrógenos para estimular el desarrollo y la actividad secretora de la próstata de rata, de las vesículas seminales, y de los órganos accesorios de otras especies no mamíferos.

En algunos vertebrados, especialmente en especies avia-
rias, la prolactina también juega un papel antigonadotrópico. Su
inyección en pájaros con total desarrollo de las gónadas reduce
el peso de éstas, efecto revertido por FSH que sugiere que la ac-
ción inhibidora de PRL se realiza a través de una abolición de la
secreción de gonadotropinas. Existe también evidencia de que pue-
de tener una acción adicional bloqueando el efecto de aquéllas
sobre el órgano diana. El fenómeno del efecto gonadotrópico o an-
tigonadal, que depende de la situación fisiológica del animal, se
encuentra relacionado con situaciones ambientales como la época
del año, duración del día y estado de nutrición. Este efecto an-
tigonadal puede servir para suprimir la actividad sexual durante
el período en el cual los pájaros incuban los huevos o cuidan de
la cría. Además, crea el medio ambiente para la incubación y la
situación del medio ambiente paterno.

La PRL también interviene en la predisposición de los pá-
jaros para los movimientos migratorios, promueve el paso de la
salamandra desde el medio terrestre al hábitat acuático, y la
emigración de ciertos peces desde el mar a corrientes fluviales,
induciendo en cada caso cambios fisiológicos especiales aunque se
desconoce si tales cambios son secundarios a una acción directa
sobre centros neurales; o a través de los cambios psicológicos
en el animal.

8B) Funciones de Nutrición en los Hijos y Desarrollo Mamario

Desde que, en 1940, pudo disponerse de hormonas ováricas
purificadas se iniciaron una serie de estudios de laboratorio que
demostraron que los estrógenos y la progesterona tenían la capaci-
dad de inducir el desarrollo ductal y lóbulo-alveolar de la glán-
dula mamaria. Pudo también observarse que las glándulas mamarias
de animales hipofisectomizados mostraban una pequeña o nula res-
puesta a las hormonas ováricas, estableciéndose que una o más
sustancias secretadas por la hipófisis anterior jugaban un papel
esencial en el efecto de inducción mamogénico y respuesta al medio

ambiente hormonal. En 1940, al disponerse de extractos hipofisarios, LYONS y su grupo (citado por COWIE 1974) iniciaron los estudios clásicos sobre el análisis de los requerimientos hormonales para el crecimiento ductal y desarrollo lóbulo-alveolar de ratas, al unísono con los realizados en el ratón por NANDI. También se mostró una relevante atención sobre la placenta como órgano capaz de tener un efecto mamotrópico, habiéndose descrito tales actividades en especies como roedores, rumiantes y primates, aislándose posteriormente un factor que conocemos como lactógeno placentario (LP) o somatomamotropina coriónica (SMC). Sin embargo, estos aspectos no se aclaran definitivamente hasta el descubrimiento de que el factor hipofisario responsable de estos efectos era la PRL, hormona independiente y separable de la HC. Para más detalles pueden consultarse las recientes revisiones de COWIE (1974) y JACOBS (1977).

En el modelo de rata triplemente operada de LYONS se demostró que el normal crecimiento ductal podía ser inducido con HC bobina asociada a estrona y esteroides suprarrenales, pero la adición de progesterona y PRL_o eran necesarias para el desarrollo lóbulo-alveolar. Estos estudios indicaban que la respuesta de crecimiento mamario en la rata intacta u ovariectomizada era dependiente de la hipófisis anterior y de las suprarrenales. TALWALKER y MEITES (1961) fueron capaces de inducir un moderado desarrollo lóbulo-alveolar en este modelo de rata en ausencia de esteroides ováricos y suprarrenales mediante la triple inyección diaria de HC bobina y PRL_o, estudios que, aunque no negaban el papel de los esteroides, sugerían que la principal función de éstos era sensibilizar el tejido mamario a la acción de las hormonas hipofisarias.

Estudios de NANDI, revelaron claras diferencias en los requerimientos hormonales para la mamogénesis de ratones. En el modelo triplemente operado podía conseguirse algún crecimiento ductal tras administrar la combinación estrógenos-esteroides suprarrenales; respuesta que no ocurría en el mismo modelo de la rata. Pudo también observarse que en esta cepa de ratones (la C3H/HeCrlg) la PRL no era esencial para el desarrollo lóbulo-alveolar, aunque sí lo era en

otras cepas distintas.

Las hormonas tiroideas no ejercen un papel fundamental en el desarrollo mamario de la rata, pero pueden modificar la respuesta ya que cuando los niveles de PRL en cultivo son óptimos para el desarrollo lóbulo-alveolar la adición de tiroxina inhibe este desarrollo; sin embargo, a niveles subóptimos de PRL la tiroxina a bajas concentraciones incrementa el desarrollo lóbulo-alveolar y lo inhibe a concentraciones mayores. Parece, pues, evidente la existencia de un efecto regulador de las hormonas tiroideas dado que su disminución retarda el crecimiento ductal, aunque no impide la diferenciación en presencia de un medio hormonal adecuado (Von Der HAAR y GRECO 1979).

Aunque los estudios basados en la administración de hormonas a ratas hipofisectomizadas ha permitido un mejor conocimiento de los factores hormonales que regulan el crecimiento mamario, salvando las dificultades que supone la interacción con hormonas endógenas, esta técnica introduce algunas fuentes de error. La pérdida de la hipófisis deprime una variedad de procesos metabólicos esenciales que pueden afectar la capacidad de la glándula mamaria para responder a hormonas exógenas; además, no estudia el efecto del factor mamotrópico del embarazo sobre el que no existe duda de que suplementa, o complementa, la acción de las hormonas hipofisarias.

Se han realizado algunos análisis de los requerimientos hormonales en otras especies, como el conejo y la oveja. Los estudios en conejos hipofisectomizados demuestran que el parenquima mamario presenta una respuesta parcial a las hormonas ováricas, adrenales y tiroideas. En la oveja, las hormonas ováricas tienen un efecto mamogénico mínimo en ausencia de hormonas hipofisarias o de la placenta, hecho comprobado en la rata tras la inhibición de PRL con lisuride y CB154 (GRAF, HOROWSKY y EL ETREBY 1977).

La testosterona, por otra parte, media el desarrollo mamario fetal en el sexo masculino, posiblemente inhibiendo la feminización del esbozo glandular (GOLDMAN, SHAPIRO y NEUMANN 1976).

En primates se han realizado extensos estudios sobre el crecimiento mamario en monos rhesus normales y ovariectomizados, demostrándose que el tratamiento prolongado con estrógenos solos puede inducir un extenso crecimiento lóbulo-alveolar. Las hormonas hipofisarias también parece que se encuentran envueltas, dado que tras la destrucción hipofisaria en animales inmaduros se produce una atrofia mamaria. Sin embargo, los niveles de PRL en la sangre son bajos durante el embarazo (FRIESEN, BELANGER, GUYDA y HWANG 1972) lo que hace suponer un papel importante del complejo mamotrópico placentario en la estimulación del crecimiento mamario normal; además, corrobora esta suposición el hecho de que la hipofisectomía en la mona embarazada no afecta de forma substancial el desarrollo lóbulo-alveolar.

En la especie humana la información al respecto ha derivado necesariamente de observaciones clínicas. Los estrógenos y las progesteronas se han utilizado ampliamente en pautas terapéuticas por desarrollo inadecuado de la glándula mamaria. Existen, además, comunicaciones en la literatura de la aparición de ginecomastia en el hombre en respuesta a tratamiento con estrógenos.

La PRL parece que actúa en conjunción con las hormonas ováricas para estimular el normal desarrollo mamario. Durante el embarazo es posible que el L.P. juegue un papel importante en el desarrollo lóbulo-alveolar, aunque los niveles de PRL sean muy altos durante la segunda mitad del embarazo.

Ya se ha comentado cómo los estímulos del pezón, prolongados y repetidos, pueden inducir proliferación lóbulo-alveolar y, eventualmente, secreción láctea en mujeres no embarazadas. No existe duda sobre la mediación de esta respuesta a nivel de un eje neuroendocrino cuyo punto final es la hipófisis. Es importante reseñar que el desarrollo lóbulo-alveolar y la lactancia pueden ser inducidos en cabras vírgenes ovariectomizadas por la aplicación repetida de estímulos en el pezón, respuesta que es abolida tras la sección del tallo hipofisario.

Existen también factores locales que afectan al desarrollo mamario. Además de los requerimientos hormonales existe un mecanismo de control local que regula el desarrollo mamario en la hembra de roedores normalmente cíclica. El sistema ductal mamario entra en rápido crecimiento justo antes del inicio del estro, adoptando un crecimiento que puede alcanzar un tamaño proporcionalmente de tres a ocho veces la superficie corporal. A la edad de tres meses los ductos han alcanzado su máxima extensión y la proliferación cesa. Esta fase de crecimiento rápido es iniciada y mantenida por los estrógenos ováricos actuando conjuntamente con la HC hipofisaria. La ovariectomía antes del inicio del estro inhibe la fase de crecimiento rápido alcanzando el tejido glandular mamario un tamaño proporcional al del resto del cuerpo. En el animal intacto esta fase termina aproximadamente a los tres meses de edad, aunque persista la secreción ovárica y se produzcan ciclos estrales normales. Algún mecanismo regula el estímulo hormonal, habiéndose implicado al estroma glándular como el factor primordial en el control local del crecimiento de los ductos, así como en su posición.

El espacio que ocupan parece ser determinado por algún factor inhibidor del crecimiento producido por el estroma, hasta el punto de que las hormonas circulantes que ejercen el efecto positivo sobre el desarrollo pueden ser inhibidas a nivel local por esta señal inhibidora ductal. Cuando el animal queda embarazado el medio ambiente hormonal cambia, al igual que el sistema regulador local, ductos y alveolos se desarrollan, y ocupan el espacio interductal previamente libre hasta que la gran mayoría del estroma queda reemplazado por un abigarrado parenquima. Se desconoce, por el momento, cuales son los factores locales de regulación aunque es factible suponer que sean derivados de hormonas locales.

Existe una clara relación entre los cambios proliferativos en la glándula mamaria y la acción local de las hormonas implicadas en la mamogénesis. Los estudios de división celular han demostrado que durante el crecimiento postpuberal las células encargadas de la síntesis de DNA se localizan, casi exclusivamente, en la yema

de los conductos, lo que sugiere que el crecimiento ductal se efectúa por un proceso de elongación por división de las células situadas en su extremo, y que la diferenciación de un sistema sólido a un sistema ductal se asocia al final, al menos en el tiempo, de la actividad reproductiva celular.

El número de células que sintetizan DNA en las yemas aumentan y disminuyen de una manera cíclica, en fases de 5 a 7 días de duración. La ovariectomía condiciona una virtual desaparición en 3 a 5 días de las células sintetizadoras de DNA, pudiendo restablecerse mediante dosis fisiológicas de estradiol, quedando también reestablecidas las fases proliferativas a través de un mecanismo asociado a la secreción cíclica de hormonas hipofisarias.

La progesterona también induce la síntesis de DNA en glándulas mamarias de ratones ovariectomizados, pero en contraste con el estradiol evoca la síntesis en las células del epitelio ductal y en las de las yemas de los conductos. A este nivel la proliferación inducida por la progesterona induce la ramificación de los conductos en otros muchos más finos, así como en alveolos terminales. Estas observaciones confirman que el desarrollo lóbulo-alveolar, y la posterior tortuosidad de los sistemas ductales que ocurre en el embarazo, se asocia directamente a un incremento de la progesterona en sangre (FREEMAN y TOPPER 1978).

La acción de las hormonas ováricas parece que se realiza en conjunto con HC o HC más PRL, ejerciendo un doble efecto de incremento en el porcentaje de las células parenquimatosas implicadas en la proliferación y un incremento en el grado de replicación celular, efectos denominados por BRESCIANI como de inducción y de modulación del ciclo de replicación celular.

Los estudios en cultivo han confirmado lo que ya se conocía con el modelo del animal triplemente operado, aportando el hecho de la necesidad de añadir insulina al medio de cultivo en

concentraciones aparentemente más altas que las necesarias "in vivo", pudiendo obtenerse un ciclo de división celular con sólo su presencia como única hormona en el medio de cultivo (TOPPER (1970). Esta respuesta no ocurre en explantos de mama de rata en los que la prolactina no está presente (DILLEY 1971). La respuesta de crecimiento estimulada por la insulina parece estar asociada con la diferenciación celular hacia una actividad funcional y no hacia el crecimiento lóbulo-alveolar.

Las glándulas cultivadas, procedentes de animales entre 5 y 7 semanas de edad, muestran un perfecto desarrollo lóbulo-alveolar en presencia de un medio de cultivo que contengan insulina, estradiol, progesterona, aldosterona, prolactina y hormona de crecimiento. Las glándulas de animales más jóvenes no muestran crecimiento a menos que el animal sea pretratado "in vivo" con estradiol más progesterona durante un tiempo suficiente para estimular el crecimiento ductal y la formación de las yemas terminales; tras esta pauta se obtiene un normal desarrollo lóbulo-alveolar con un requerimiento hormonal mínimo, formado por insulina, aldosterona y PRL.

En un excelente trabajo PETERS (1977) ha estudiado el efecto mamogénico del suero de ratas preñadas, asociado o no a las principales hormonas que ejercen algún efecto "in vitro". La insulina a altas concentraciones incrementa el efecto del suero de ratas embarazadas, y no modifica el efecto del suero de ratas normales; el cortisol no ejerce efecto mamogénico aunque si lactogénico; la progesterona transforma el suero control en parcialmente mamogénico, aunque con mucha menor potencia que el suero de la rata embarazada y, por último, la PRL produce un efecto similar respecto a la acción mamogénica. Pero el hecho de que el suero de rata embarazada sea activo a concentraciones más bajas que las de su propio contenido en PRL, y que este efecto no sea bloqueado por suero anti-PRL, sugiere otro factor mamogénico que en este estudio ha sido la somatomotropina coriónica. La insulina, claramente, y a concentraciones fisiológicas al menos en cultivo en monocapa,

incrementa la incorporación de uridina a RNA, timidina a DNA y leucina a proteínas, efectos sobre los que los glucocorticoides ejercen un acción bifásica según su concentración, disminuyéndolo a concentraciones elevadas (LINEBAUGH y RILLEMA 1978). De gran importancia, sobre todo en su relación con las neoplasias de mama, ha sido el reciente hallazgo de OKA, KANO y PERRY (1977) de que la espermidina puede suplir o potenciar el efecto de los glucocorticoides facilitando la síntesis de RNA.

No revisará aquí en profundidad los efectos de las hormonas a nivel local, que llevaría al estudio de las acciones de receptor y que será tratado más adelante al estudiar el capítulo de las neoplasias mamarias. Los estrógenos, además de su efecto hipofisario, actúan localmente merced a su unión al receptor específico (BAULIEU, ALBERGA, JUNG, LEBEAU, MERCIER-BODARD, MILGROM, RAYNAUD, RAYNAUD-JAMMET, ROCHEFORT, TROUNG, y ROBEL 1971; KING, GORDON, MARX y STEGGLES 1971; JENSEN y De SOMBRE 1972).

Sin embargo, adelantemos el planteamiento, motivo de intensas investigaciones, sobre los cambios de sensibilidad del órgano diana a su hormona específica a través de mediaciones localizadas en modificaciones funcionales del receptor. Además, si una hormona tiene más de un órgano para el que es sensible, y la sensibilidad de cada órgano permanece constante, la alteración en los niveles circulantes puede no producir el efecto selectivo esperado sobre ese órgano, y si, por el contrario, la sensibilidad del órgano diana varía bajo diferentes condiciones fisiológicas la selectividad de la respuesta a la hormona puede quedar modificada. Este razonamiento se sigue de la aplicación de que los niveles de hormonas circulantes no son un necesario reflejo de la interacción hormona-tejido. En concreto, y respecto a PRL, la respuesta del tejido mamario, aunque inducida esencialmente por ella, no necesita estar asociada a niveles elevados de hormona en sangre.

En la Tabla VI se resumen, con respecto a su efecto, las principales hormonas que influyen el desarrollo y crecimiento mamario.

TABLA VI

FACTORES HORMONALES EN EL DESARROLLO Y CRECIMIENTO MAMARIO.

1). HORMONAS FUNDAMENTALES

- Estrógenos
- Progesterona
- Prolactina
- Lactógeno placentario

2). HORMONAS PROBABLEMENTE PERMISIVAS

- T_3 - T_4
- Insulina
- Cortisol

3). HORMONAS DUDOSAS EN EL HUMANO

- Hormona de crecimiento
- Aldosterona

4). HORMONAS INHIBIDORAS DEL DESARROLLO

- Andrógenos.

8B-1. Secreción láctea.

La lactación comprende dos procesos fisiológicos distintos: la secreción de leche y la expulsión. La secreción láctea comprende la síntesis dentro de las células alveolares y su excreción a la luz alveolar; la expulsión comprende la transferencia del material lácteo del alveolo y ductos terminales a los grandes conductos, cisterna glandular y senos lácteos. La secreción de leche es regulada por hormonas de la hipófisis anterior, aunque en su iniciación, y en algunas especies, ejercen una labor de ayuda hormonas procedentes de la placenta. La expulsión requiere operaciones de un reflejo neuroendocrino, que implica la liberación de oxitocina por el lóbulo posterior de la hipófisis.

La secreción láctea se considera en esta revisión porque la mayoría de las hormonas que la regulan también lo hacen sobre el crecimiento mamario y, como comentó LYONS, la lactogénesis puede ser considerada como la etapa final de la mamogénesis. En realidad hay una considerable superposición entre estos dos estados, y en varias especies la proliferación de células alveolares es elemento previo a la lactancia, mientras que bajo condiciones experimentales, como por ejemplo en la cabra, el crecimiento mamario y la secreción de leche pueden ocurrir simultáneamente dentro de la misma glándula. El control de la lactación ha sido revisada recientemente por SCHAMS (1978) y KANN, CARPENTIER, FEVBRE, MARTINET, MAUBON, MEUSNIER, PALLY y VERMEIRE (1978).

La prolactina se ha considerado como la hormona lactogénica por excelencia, pero estudios en otras especies han revelado que también se necesita la influencia de otras hormonas. Por tanto, es más correcto referirse al complejo lactogénico, fundamentalmente compuesto por PRL, cortisol, estrógenos, progesterona, insulina y hormona de crecimiento, aunque algunos de estos componentes pueden variar según la especie estudiada.

Desde los estudios iniciales de LYONS y NANDY se demostró que, en ratas y ratones, tanto la PRL como la hormona adeno corticotropa eran requeridas para iniciar la secreción de leche, pudiendo ser reemplazada la PRL por la hormona de crecimiento en algunas cepas de ratones. En la cabra hipofisectomizada la iniciación requería prolactina, HC, cortisol y hormonas tiroideas, mientras que en el conejo triplemente operado sólo la prolactina era suficiente. Recientes estudios sobre los niveles de PRL en sangre de mujeres que lactan han indicado que son sólo los niveles de PRL elevados en respuesta a la succión del pezón, relacionado íntimamente con la iniciación (AONO, SHIOJI, SHODA y KURACHI 1977) y a través de un reflejo asociado directamente con la estimulación táctil del pezón (McNELLY y FRIESEN 1978)^b, los que son indispensables para la lactogénesis humana, jugando la HC sólo un papel menor. El factor mamotrópico placentario realiza también en el humano una labor de iniciación.

Los estrógenos a dosis bajas pueden inducir desarrollo mamario e iniciar la secreción láctea en conejos y rumiantes vírgenes, pero no existe evidencia de que los estrógenos, en ausencia de PRL, ejerzan un estímulo lactogénico directo sobre el epitelio mamario, siendo más probable que su efecto sea mediado a través de la secreción hipofisaria de PRL. La aplicación repetida de estímulos lácteos en la cabra vírgen, o los estímulos de succión en la mujer no embarazada, pueden también inducir crecimiento mamario y secreción de leche.

Pero, quizás, la cuestión más importante sea la forma en la que el embarazo a término influencia la lactogénesis. Desde los trabajos de KUHN en 1969 se sabe que a las 30 horas del parto los niveles plasmáticos de progesterona caen debido al cambio en el metabolismo de los esteroides ováricos, postulando la teoría de que este descenso pone en marcha el mecanismo de la lactogénesis. La respuesta puede ser reproducida por la ovariectomía e inhibida por la administración de progesterona en el mismo momento de la castración. Parece que en la rata embarazada la secreción de leche es

inhibida durante el embarazo por una acción directa de la progesterona en las células alveolares, que previene la respuesta al efecto lactogénico de PRL, esteroides adrenales o lactógeno placentario-esteroides adrenales, aunque su mecanismo íntimo de acción aún no está aclarado. En los rumiantes se produce también una disminución en los niveles de progesterona al final de la gestación, pero la actividad secretora ya ocurre en el alveolo mamario hacia la mitad del embarazo, sintetizándose lactosa mucho antes de la caída de los niveles de progesterona; es posible que éste efecto precoz se relacione con el incremento de los niveles de lactógeno placentario. Existen, pues, considerables diferencias interespecie en los mecanismos hormonales que regulan la iniciación de la secreción de leche.

La leche contiene caseína, lactoalbúmina, (que es claramente estimulada por PRL en glándulas de primates (KLEIMBERG, TODD y NIEMANN 1979), al igual que en los bobinos, incluso en estadios precoces del embarazo), lípidos y lactosa (cuya secreción es inhibida por colchicina y vincristina (GUERIN y LOIZZI 1978)). Se sabe que tras la síntesis en el retículo endoplásmico las proteínas de la leche son transportadas a la región del Golgi donde son "empaquetadas" en gránulos secretorios; la lactosa, aparentemente sintetizada en el Golgi, sufre un proceso de granulación similar al de las proteínas lácteas. Los gránulos son liberados desde el interior de la célula a la luz alveolar por la fusión de la membrana del gránulo con la membrana celular. La esterificación de ácidos grasos para formar lípidos parece que también ocurre en el retículo endoplásmico, formándose gotas que son englobadas por la membrana celular y liberadas al exterior.

A nivel bioquímico la respuesta a PRL incluye el incremento de síntesis de RNA mensajero, de transferencia y ribosómico. Una nueva población de polisomas entran al citoplasma donde se induce la síntesis de las enzimas específicas para las proteínas de la leche.

Las modificaciones de la secreción láctea pueden ocurrir a nivel de estimulación o inhibición. Se sabe que en los animales, y en el hombre, la deficiencia de hormonas hipofisarias anteriores se asocia a un bajo grado de secreción láctea, pudiéndose incluir en este apartado los defectos funcionales de la eyección, extracción ineficiente o una combinación de ambas.

Los efectos galactopoyéticos son influenciados por las hormonas tiroideas fenómeno bien establecido en la ternera, en la que, además, los estrógenos a dosis bajas ejercen también este efecto; algo similar ocurre con finos implantes de estrógenos colocados en la hipófisis anterior de ratas lactantes (BRUCE y RAMIREZ 1970). Es probable que lactogénesis y galactopóyesis dependan en sus respuestas de los estrógenos, y de la capacidad de estos de liberar PRL y, quizás, otras hormonas de la hipófisis anterior (CLEMENS, SHAAR, RANDY y ROUSH 1971). Una gran variedad de drogas tranquilizantes sabemos que ejercen efecto mamogénico y lactogénico a través de la liberación de PRL, aunque no existe evidencia actual de que estas drogas ejerzan efecto galactopoyético.

La secreción de leche puede ser inhibida simplemente cuando su extracción cesa, siendo en ocasiones necesario suprimir la lactación por necesidades terapéuticas. La administración de estrógenos en dosis bajas a ratas o ratones lactantes produce retardo del crecimiento de la cría a pesar de la continuación de la lactancia, lo que no ocurre en aquellas madres que son previamente ovariectomizadas. La combinación de estrógenos-progesterona inhibe la lactación establecida en ratas ovariectomizadas, siendo inefectiva cuando se administra independientemente. Existe clara evidencia de que los esteroides gonadales pueden actuar, a ciertas dosis y en ciertas combinaciones, directamente en las células alveolares mamarias, dejándolas insensibles a la respuesta lactogénica de PRL. Este efecto está en claro contraste con el efecto sensibilizador de las hormonas ováricas respecto al efecto mamogénico de PRL. Sin embargo, el antagonismo puede ser relativo, y puede ser abolido o incrementando las dosis de PRL o disminuyendo la de esteroides ováricos.

Estudios recientes en la rata han aportado evidencia negando el clásico punto de vista de que las grandes dosis de estrógenos inhiben la liberación y la síntesis de PRL. Es interesante el hecho de que durante años los estrógenos se han utilizado para prevenir el inicio de la secreción láctea en la mujer, o ayudar a la supresión de una lactación ya existente. Hoy es evidente que esta terapéutica es efectiva porque previene la ingurgitación mamaria, pero es muy cuestionable el efecto sobre la supresión de la lactancia (TYSON, HWANG, GUYDA y FRIESEN 1972).

Los efectos de los progestagenos sobre la secreción láctea en la mujer son menos conocidos. La progesterona o la hidroxiprogesteronas administradas en una sola dosis tienen muy poco efecto; sin embargo, la 6α -metil- 17α hidroxiprogesteronas, progestageno sin actividad estrogénica, administrada durante 10 días deprime de forma significativa la secreción de leche, y controla la ingurgitación mamaria, siendo mucho más efectiva cuando se suplementa con estrógenos. Pero en la actualidad está claro que el mejor método antilactogénico se obtiene mediante la utilización de los inhibidores de la secreción de PRL.

Al igual que en la glándula mamaria el buche de las palomas responde a la estimulación por PRL, produciendo un material nutritivo que es utilizado para la alimentación del pichón, efecto final de una sensibilidad incrementada del buche a la respuesta de PRL con proliferación del epitelio mucoso. Esta proliferación produce un conglomerado de células que forman un material caseoso conocido como leche de pichón, rico en proteínas, grasas y ácidos nucleicos, pero que no contiene proteínas semejantes a la caseína o lactosa. Un efecto similar se observa en los teleosteos quienes producen una sustancia mucosa a nivel de unas glándulas modificadas de la piel que es utilizado para la alimentación de la cría; la PRL incrementa el número, tamaño y actividad secretora de estas glándulas.

8C) Efectos de Medio Ambiente Materno

Otra función de PRL en las especies aviarias es la promoción del desarrollo y la incubación de los huevos. Previamente, o durante el período previo a la puesta, la PRL ejerce un efecto sinérgico con los esteroides gonadales para producir el "parche de incubación", área desplumada de la piel abdominal ventral que queda ricamente vascularizada, asegurando una zona de fácil transmisión de calor a los huevos durante la incubación. En aquellas especies en las cuales el macho también incuba los huevos, la prolactina actúa en cooperación con los andrógenos.

Además de los cambios fisiológicos envueltos en la alimentación de la prole, la PRL ha sido también implicada en la creación del medio ambiente paternal en teleósteos y mamíferos como, por ejemplo, la recuperación del parto en las ratas y la construcción del nido en los conejos. En algunos peces incrementa el tamaño de la aleta que asegura una corriente de agua fresca sobre los huevos, disminuye el instinto combativo, induce la empujación y contribuye a la formación del nido de espuma.

Para más detalles puede consultarse la revisión de HUTCHINSON (1978).

8D) Función de Osmorregulación y Acción sobre las Suprarrenales

Aquellos peces que emigran a aguas dulces plantean una serie de problemas de osmorregulación que requieren numerosos ajustes fisiológicos a nivel branquial, intestinal y renal. En agua dulce los problemas de osmorregulación derivan de la pérdida de sal hacia un medio externo hipotónico, así como de la tendencia a la inundación acuosa. Ambos son prevenidos reduciendo la permeabilidad de las branquias al flujo iónico, incrementando la captación a su través, y excretando grandes cantidades de orina diluida.

En años recientes se ha demostrado el papel de la PRL en estos ajustes. Si un pez adaptado al agua de mar es hipofisectomizado antes de ser colocado en agua dulce el animal muere debido a la pérdida de sal. Las inyecciones de prolactina permiten la sobrevivencia en su nuevo medio, reduciendo la pérdida primaria de sal, efecto que se acompaña de una reducción en los niveles de función del sistema sodio-potasio-ATP-asa asociado con la actividad de la boma de sodio en agua de mar. La PRL también incrementa en el riñón la excreción de agua, y reduce la pérdida de sal, lo que en algunas especies se acompaña de un incremento en el tamaño de los glomérulos y una hipertrofia en las células tubulares renales.

El papel de la prolactina en la osmorregulación de mamíferos ha recibido poca atención; sin embargo, existe evidencia que sugiere que puede actuar incrementando la retención de sodio. LOCKETT, y LOCKETT y NAIL en 1965 comunicaron que la PRL disminuía la excreción de sodio en gatos y ratas. BOND, PASLEY, KOIKE y LLERENA (1977) publican que la PRL en ratas produce una disminución del flujo urinario y un aumento de osmolaridad sin afectar la excreción renal de sodio o potasio, respuesta que es bloqueada por la ADH y la ergocornina (KOIKE, BOUND, PASLEY y LLERENA 1977). El lactógeno placentario humano puede incrementar la secreción de aldosterona, y la PRLo puede incrementar la respuesta adrenal a una simple administración de ACTH. HORROBIN, CURSTYN, LLOYD, DURKIN, LITON y MUIRURI (1971) demostraron que las inyecciones de PRLo producían una disminución de la excreción de sodio y agua, habiéndose comunicado que la prolactina puede acelerar la recuperación de los riñones de rata lesionados por isquemia.

Sin embargo, WALLIN y LEE (1976) han comunicado que en ratas con diabetes insípida la PRL produce un efecto semejante al de la vasopresina, lo que ha sido comprobado por ADLER, DOLPHIN, SZEFLER y SOKOL (1979) trabajando con transplantes hipofisarios. Por otra parte RILEY, HAGEN y STEFANIAK (1978) han observado un incremento del grado de filtración glomerular en perros que no es

dependiente de modificaciones hemodinámicas. MALTTEHEIJ (1977) no ha apreciado alteraciones en los niveles de PRL tras sobrecarga o depleción salina en ratas, y BAUMANN y LORIAUX (1976) no han encontrado modificaciones del metabolismo hidrosalino tras hiperprolactinemia inducida por TRH en humanos, ni tras manipulaciones con aporte hídrico, infusión de solución salina hipertónica, o administración de nicotina (BAUMANN, MARYNIK, WINTERS y LORIAUX 1977). Para CAREY, JOHASON y SEIF (1977) el efecto observado en algunos humanos puede ser debido a contaminación con vasopresina de la solución de PRL utilizada.

Es, por tanto, posible que la PRL juegue un papel osmoregulador en mamíferos, incluido los humanos, aunque su efecto es aún muy discutido. Donde parece que esta función puede tener relevancia significativa es durante la lactación, donde se produce una importante pérdida de agua y electrolitos hacia la leche (NICOLL 1971). A este respecto LINZELL y PEAKER (1971) han especulado que la PRL puede actuar en la membrana apical de la célula mamaria para reducir la actividad de la bomba de sodio aunque FALCONER y ROWE (1977) han comunicado que la PRL activa la extrusión de sodio y la entrada de potasio en el tejido mamario, fenómeno que puede ser abolido por la ouabaina, implicando, por tanto, una acción directa del sistema ATPasa.

Ya se han comentado las relaciones que existen a nivel de las suprarrenales con los receptores de PRL. Aunque el significado fisiológico no está del todo claro existen datos que apuntan hacia una acción de PRL sobre el metabolismo esteroideo suprarrenal. MILLINGTON, GOLDBER, COWLEY, LONDON, ROBERTS, BUTT y GRIFFITHS (1976) observaron el aumento de la síntesis de estrógenos en un tumor feminizante suprarrenal incubado con PRL, VERMEULEN, SUY y RUBENS (1977) comunicaron un incremento de la síntesis de DHEA y DEHA-S en mujeres con hiperprolactinemia y CARTER, TYSON, WARNE, McNELLY, FAYMAN y FRIESEN (1977) observan la disminución de los niveles de aquéllos tras el tratamiento con bromocriptina.

OGLE y KITAY (1979) han sugerido un papel de la PRL en el mantenimiento de la secreción de corticosterona inhibiendo la acción de la 5- α -reductasa y estimulando la cantidad de precursor utilizable, aunque este último punto ha sido objetado por COLBY (1979). Sin embargo, a pesar de estos efectos, la hiperprolactinemia no modifica sistemáticamente la respuesta del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal (FELDMAN y PLONK 1978), y GIUSTI, BASSI, FORTI, GIANNOTTI, CALABRESI, PAZZAGLI, FIORELLI, MANNELLI, MISCIGLIA y SERIO (1978) han llamado la atención sobre la dudosa interpretación de los efectos de PRL a nivel suprarrenal; aunque no niegan el efecto de la hiperprolactinemia sobre la vía Δ^5 indican que la interpretación de los resultados sobre los esteroides Δ^4 , como la testosterona, es mucho más compleja, dadas las posibilidades de interconversión periférica.

8E) Efectos Somatotrópicos

Se ha indicado que la PRL α y PRL β reproducen los efectos de la hormona de crecimiento, promoviendo el crecimiento corporal en teleosteos, anfibios, reptiles, pájaros y mamíferos. La PRL puede tener también un efecto metabólico semejante al de HC, como acciones hiperglucémicas y diabetogénicas, efecto sobre el BUN, balance nitrogenado, metabolismo de ácidos grasos y calcio. Sin embargo, estos efectos pueden ser más aparentes que reales, reflejando tan sólo la similitud estructural entre ambas hormonas.

En algunas especies los receptores tisulares no son capaces de discriminar perfectamente ambas hormonas, mientras que la PRL endógena no tiene un efecto tan significativo sobre los de HC como los tiene ésta reproduciendo los de PRL; así, por ejemplo, en la oveja la PRL α no duplica el efecto de la HC. El que la PRL produzca un efecto semejante al de HC o al suyo propio puede depender de si ciertos esteoides son capaces de ejercer un efecto sinérgico con PRL, del estado endocrinológico del animal, de la hora del día de la administración de la hormona y, probablemente, de la pureza de la PRL utilizada.

Un caso en el cual la PRL ejerce un efecto significativo en la regulación del crecimiento es en el desarrollo de las larvas de anfibios. La hormona promueve el crecimiento de aquellas estructuras específicamente larvarias, sobre todo de la aleta final, y promueve un bloqueo de la metamorfosis inducida por la tiroxina. Algunas especies, como los urodelos, sufren una segunda metamorfosis y tras vivir en tierra por un período de tiempo retornan al medio acuático para engendrar; la PRL estimula la emigración hacia el agua, la aparición de la quilla, y las características de piel lisa y mucosa. Durante esta segunda metamorfosis la PRL bloquea el efecto de la tiroxina al igual que durante la primera. Por tanto, puede resumirse que la PRL es la hormona encargada de promover el crecimiento y el mantenimiento de aquellas estructuras necesarias para la existencia acuática.

Además de las acciones sobre la mama durante el embarazo, se ha especulado con la posible participación de la PRL y/o el lactogéno placentario sobre el feto (NICOLL 1978). Parece que podría estimular la secreción de calostro, funcionar como una hormona de crecimiento de forma análoga a como actúa en la larva de anfibios, colaborar en el desarrollo renal facilitando la expulsión de líquido amniótico, estimular la secreción sebácea y promover el desarrollo de la capa de cobertura cutánea. También es posible que pudiera influenciar la transferencia de agua por la placenta.

Recientes trabajos en mamíferos abogan en favor del efecto somatotrópico. FRANCIS y HILL (1975) han comunicado que la PRLo, a concentraciones 20 veces menores, es tan efectiva como la hormona de crecimiento bovina para incrementar los niveles de somatomedina en el hígado perfundido. La PRLo también incrementa el peso corporal de ratas enanas lo que no se consigue con HC (CHEN, MEIER, HEINIGER y HUEBNER 1972),

Respecto al metabolismo de lípidos MEIER (1977), en una reciente revisión, recoge los datos que favorecen la hipótesis

de que la PRL pueda ser una de las principales hormonas liporreguladoras, pues estimula marcadamente el almacenamiento de grasas en peces, anfibios, reptiles, pájaros y mamíferos. Sin embargo, como ya he apuntado, el momento de la administración exógena parece que juega un papel fundamental, pues a ciertas horas puede promover acumulo de grasas y en otras su movilización. Este ritmo parece acoplado a los fotoperíodos diarios, pero también es circadiano dado que se mantiene durante varios días cuando se establecen condiciones constantes de luz y temperatura. Además, este acoplamiento a los fotoperíodos también se regula por los niveles de corticosteroides, por lo que se supone que ambas hormonas coordinadamente regulan los acumulos de grasas en los lugares de almacenamiento.

Respecto al calcio la apreciación de un posible efecto hipercalcémico parece que se vió potenciado por el hallazgo de una estimulación de PRL sobre el sistema de la 25-hidroxi-vitamina-D1-hidroxilasa renal. En el humano BAR, MAZZAFERRI y MALARKEY (1975) comentaron que junto a la hiperprolactinemia del síndrome de la silla turca vacía se observaba hipercalciuria, hiperfosfaturia y acidosis tibular renal, e ISAAC, MERCERON, CAILLENS, RAYMOND y ARDAILLOU (1978) comunicaron que los extratos paratiróideos producen un rápido incremento de PRL en humanos normales; sin embargo, MATSUMOTO, HORIUCHI, SUDA, TAKAHASHI, SHIMAZAWA y OGATA (1979), en la rata, no han podido demostrar el efecto de la PRL sobre el sistema 1- α -hidroxilasa por lo que, independientemente de las diferencias interespecie, hay que plantearse la necesidad de más estudios respecto a la influencia de la PRL en el metabolismo del calcio.

La PRL potencia, a bajas concentraciones, la respuesta vascular, y la inhibe a altas dosis, bloqueándose este efecto inhibitor por dosis fisiológicas de cortisol (HORROBIN, MTABAJI y MANKU 1976).

Aunque mal definidas dentro del terreno inmunológico parece que la PRL ejerce un efecto inhibitor en la respuesta linfocitaria a la fitohemaglutinina (KARMALI y HORROBIN 1976), y

restablece la función del timo en ratas enanas.

8F) Acciones sobre Estructuras Ectodérmicas

Las acciones de PRL consideradas en este apartado incluyen parte de las ya comentadas, como los efectos sobre la glándula mamaria, buche, parche de incubación y acciones sobre las glándulas cutáneas de algunos peces. Otros efectos incluyen los observados sobre las branquias y los cambios cutáneos asociados con la emigración de ciertos anfibios. Entre los no mencionados destacan la respuesta amarilla cutánea en ciertos teleósteos, consecuencia de la dispersión de los xantóforos, la muda de piel en reptiles, la estimulación del crecimiento de plumas y secreción de las glándulas nasales en pájaros, y la estimulación en mamíferos de la actividad y tamaño de las glándulas sebáceas prepurciales, y la maduración del pelo.

C A P I T U L O
=====

S E G U N D O
=====

CAPITULO SEGUNDO

9. PROLACTINA Y CANCER DE MAMA

9A) Introducción

Durante estos últimos años se ha producido un increíble aumento en la investigación de PRL como factor potencialmente importante en el desarrollo neoplásico del cáncer de mama humano. Tal ímpetu ha sido la consecuencia de numerosos estudios experimentales han demostrado convincentemente que la PRL es, posiblemente, el factor más importante en el desarrollo y crecimiento del cáncer de mama en la especie murina.

Tras los intuitivos estudios de BEATSON en 1896, las hormonas ováricas, especialmente los estrógenos, fueron consideradas como iniciadoras y promotoras del desarrollo tumoral. Aunque el conocimiento del factor lactogénico data de 1928 hasta hace muy pocos años los estrógenos han sido el principal objetivo en el estudio de la carcinogénesis mamaria, aunque ya se presumía la presencia de un factor primordial de origen hipofisario.

Durante estas primeras etapas el ratón fué el principal animal empleado, dada la alta incidencia para desarrollar tumores espontáneos e inducidos. Aunque BITTNER describió en 1946-1974 el factor filtrable, hoy conocido como virus del cáncer de mama (MTV), los estrógenos seguían siendo considerados como agentes básicos en la promoción tumoral de estos animales. A mediados de nuestro siglo empieza a dilucidarse el papel del factor lactogénico, apreciándose que en la rata hipofisectomizada los estrógenos eran incapaces de desarrollar el tumor, lo que se conseguía al asociarse progesterona, PRL y HC; esta misma asociación era la que ocasionaba la hiperplasia funcional del tejido mamario. También pudo observarse que los estrógenos tenían efectos oncogénicos en otros órganos distintos de la mama, siendo típico el desarrollo de tu-

mores hipofisarios, entonces conocidos como adenomas cromofobos. DESCLIN en 1950, EVERETT en 1954 y FURTH y CLIFTON en 1966 comprobarían que estos tumores secretaban gran cantidad de PRL (tumores MtT) observando además una diferencia básica entre la carcinomogénesis de la rata y del ratón portadores de estos tumores: el ratón desarrollaba siempre el tumor, mientras que la rata no, explicándose esta diferencia por la presencia en el primero del Virus de BITTNER.

De esta forma, y de acuerdo con la hipótesis de oncogénesis en dos etapas, la PRL estaría implicada como promotor del desarrollo tumoral y no como inductor. Trataremos aquí solamente los aspectos concernientes a PPL en el carcinoma de mama experimental y humano, tocando las diversas correlaciones que se establecen con otras hormonas también implicadas en su desarrollo. Estas, junto a los virus, han sido ampliamente estudiadas en estos últimos años, lo que patentiza su actual interés. Sirvan como ejemplo las revisiones de MCGUIRE, CHAMNES, COSTLOW y SHEPHERD (1974), BRENNAN (1975), MCGUIRE (1975), O'MALLEY (1975), GARCIA BARRENO (1976), KIRCHNER (1977), LEGROS y HEUSON (1978), MATSUMOTO y SUGANO (1978), MONACO y LIPPMAN (1978), LEUNG (1978)^a, PEARSON y MANNI (1978), MCGUIRE, HORWITZ, ZAVA, GAROLA y CHAMNESS (1978), MCGUIRE, ZAVA, HORWITZ y CHAMNES (1978), SEGALOF (1978), OSBORNE y LIPPMAN (1978), y las específicas sobre PRL de WELSCH y MEITES (1974), TCHAD (1974), ROBYN (1975), CAPPELAERE (1975), SMITHLINE, SHERMAN y KOLODNY (1975), KIM y FURTH (1976), FRIESEN (1976), WFLSCH y MEITES (1978), COSTLOW y MCGUIRE (1978) y KELLY, LABRIE y ASSELIN (1979).

9B) La idea de Promoción e Inducción. Diferencias conceptuales

El concepto de carcinogénesis en dos etapas data desde el desarrollo por KENNAWAY y HIEGER (1930) de un carcinógeno policíclico aromático extraído del alquitrán. Unos años después ROUS y KIDD (1941) descubren que estos agentes, ahora llamados inductores, producen una modificación irreversible sobre las células, que puede permanecer latente durante largo tiempo hasta la desaparición del efecto del inductor; ROUS también encon-

tró que un segundo agente no carcinogénico causaba la proliferación de esta células pero no su transformación, y cuando actuaban los dos juntos el resultado final era el desarrollo neoplásico, mecanismo que sería perfectamente estudiado en 1947 por BERENBLUM.

En la actualidad se puede concebir la iniciación como una mutación que modifica el aparato reproductor celular, distinguiéndose tres clases principales: los cancerígenos químicos, las radiaciones ionizantes y los virus. Los tres pueden inducir la transformación neoplásica del epitelio mamario en el animal de experimentación, aunque su mecanismo íntimo de actuación es distinto. Las hormonas con acciones cancerígenas cabe preguntarse si se encuentran incluidas en el grupo de promotores o como sustancias químicas inductoras.

El carácter de prolactina como promotor queda bien indicado tras la serie de estudios del grupo de YOKORO, recientemente recogidas por FRIESEN (1972), que demuestran que cuando una dosis subcarcinogénica de un carcinógeno clásico es acoplada en el tiempo con la administración de PRL sólo los animales que reciben ambas sustancias desarrollan un tumor que inicia un crecimiento progresivo; la hormona o el carcinógeno administrados independientemente son inefectivos.

El concepto biológico básico de promotores e inductores ha sido universalmente aceptado, si bien con respecto a la posición de los estrógenos y la prolactina todavía existe una importante controversia. Para la carcinogénesis mamaria parece que tiene primacía la acción de los estrógenos, agente multipotente con receptores en un gran número de células, siendo la hormona que ocasiona la diferenciación fisiológica de los túbulos mamaros rudimentarios. Los estrógenos, por tanto, pueden comportarse como un promotor perfecto.

Existe amplia evidencia de que la prolactina puede ocasionar un crecimiento extenso y progresivo del epitelio mamario diferenciado en ausencia de hormonas gonadales, y puede también iniciar una cadena de eventos desde la hiperplasia, neoplasia condicionada y tumor autónomo, cuando actúa en presencia de un inductor. La diferencia bioquímica básica entre la acción de la prolactina y los esteroides es compatible con el concepto de que los estrógenos, a diferencia de la PRL, pueden ser también carcinógenos. La diferenciación conseguida con esteroides puede asociarse con algún tipo de desrepresión del código genético, mientras que la acción de las hormonas protéicas no parece que sean capaces de producirlas; de todos modos, al igual que otros promotores aparentemente puros de la proliferación celular normal, la prolactina puede llegar a producir una neoplasia sin la presencia de un carcinógeno o un codesdiferenciador como los estrógenos (FURTH 1969), incrementando la replicación celular e incrementando la posibilidad de aparición de mutaciones espontáneas, dado que los errores en la copia del DNA durante la replicación celular son mucho más frecuentes de lo que se creía hasta ahora.

La replicación preferencial de algunas mutantes puede concebirse siguiendo el concepto evolutivo de DARWIN, y las mutantes así producidas son incapaces de reconocer los factores homeostáticos que limitan el número de sus ancestros, o se hacen defectivas para utilizar las señales recibidas por sus receptores ganando un gran potencial proliferativo. En su evolución estas mutantes son susceptibles de modificación, pudiéndose pasar desde una forma dependiente a una autónoma, en ocasiones asociadas a cambios en su medio ambiente. Por el contrario, la acción de los inductores probablemente se ejerce con un efecto más drástico causando instantáneamente la transformación neoplásica a través de un mecanismo de rotura del código genético.

9C) Promoción por Prolactina de la Tumoregénénesis Mamaria

9C-1) Ratón.

El control hormonal de la oncogénesis mamaria del ratón ha sido objeto de numerosos debates desde que LATHROP y LOEB, en 1916, (citado por WELSCH y NAGASAWA, 1977) demostraron que los cambios hormonales del embarazo podían conducir al desarrollo de neoplasias mamarias. En 1939 LOEB y KIRTZ, (citado por WELSCH y NAGASAWA 1977), y en 1959 MUHLBOCK y BOOT, demostraron que el trasplante múltiple de hipofisis al ratón incrementaba marcadamente la incidencia de tumores mamarios, abriéndose el camino a la idea de que la PRL era una hormona potencialmente llave en el desarrollo de tumores mamarios en esta especie animal.

YANAI y NAGASAWA (1972) han aportado evidencia de que la PRL es la hormona secretada por los trasplantes hipofisarios de los modelos anteriores, y comprueban que la supresión de la secreción de PRL inducida por drogas produce una abrupta reducción en la incidencia de tumores mamarios en los animales que habían recibido el trasplante hipofisario. Evidencia adicional para mantener el concepto del efecto primordial de la PRL en la oncogénesis mamaria del ratón ha sido aportada por BRUNI y MONTEMURRO (1971) quienes obtienen un aumento de la incidencia tumoral tras la inducción de lesiones hipotalámicas, medida que, como sabemos, incrementa la secreción de PRL.

Aunque es cierto que los trasplantes hipofisarios secretan PRL también producen HC (MEITES y KRAGT 1964), aunque en mucha menor cantidad que en la hipófisis normale, por lo que es probable que su efecto en la oncogénesis murina sea despreciable. Esta aseveración es particularmente cierta cuando sólo se trasplanta una hipofisis, procedimiento que incrementa abruptamente la tumorogénesis mamaria (LIEBELT y LIEBELT 1961).

De lo comentado hasta ahora parece claro que en algunas cepas de ratón si se incrementa crónicamente los niveles de PRL invariablemente se produce un aumento de la incidencia de tumores mamarios. Cabe preguntarse si el efecto contrario, la disminución de PRL por debajo de lo normal, tiene una influencia inversa sobre el desarrollo tumoral. La respuesta ha sido aportada por WELSCH y GRIBLER (1973) quienes demostraron que el tratamiento crónico de ratones nulíparos C3 H/Hej con CB154 prevenía virtualmente el desarrollo tumoral; la cuarta parte de los animales controles desarrollaron tumor, mientras que sólo uno de 90 animales tratados lo desarrollaron. En estudios posteriores, utilizando un derivado de la ergolina, WELSCH y CLEMENS (1973) y WELSCH, GRIBLER y CLEMENS (1974) confirmaron estos resultados iniciales. Parece, pues, que la PRL no es sólo un factor hormonal estimulante de la tumorigénesis mamaria, sino que puede ser un factor esencial en la transformación neoplásica del epitelio mamario del ratón, sobre todo si se tiene en cuenta la capacidad de mediar los cambios displásicos inducidos por los estrógenos (WELSCH, ADAMS, LAMBRECHT, HASSETT y BROOKS 1977) aunque para el desarrollo del nódulo alveolar es necesaria la función ovárica. La administración neonatal de estrógenos en ratones incrementa constantemente los niveles de PRL, al mismo tiempo que produce un fallo ovárico, no apareciendo los cambios displásicos preneoplásicos (NAGASAWA, MORI, YANAI, BERN y MILLS 1978).

Aunque los estudios citados demuestran una relación entre la secreción de PRL y la oncogénesis mamaria la medida de los niveles hormonales en la hipófisis y en sangre, como test de predicción de la susceptibilidad para padecer el tumor, no ha aportado resultados correlacionables. Por ejemplo, hay pocos patrones consistentes de los niveles de PRL en animales vírgenes, embarazados y lactantes con respecto a la alta o baja incidencia tumoral (SINHA, SALOCKS, LEWIS y Van DERLAAN 1974; SINHA, SELBY y Van DERLAAN 1974),

aunque se ha observado, en algunas cepas puras de ratones, algún patrón de especificidad en la secreción de PRL y HC (SINHA, SALOCKS y Van DERLAAN 1975). Además, no se ha observado diferencia en los niveles de lactógeno placentario durante el embarazo en la cepa de alta incidencia C3H/He ni en la de baja incidencia C57B L/6, aunque el crecimiento mamario es mucho más claro en la primera que en la segunda. Estos resultados no niegan la importancia de la PRL en la tumorigénesis mamaria pero sugieren que un moderado grado de secreción puede ser suficiente para permitir el desarrollo tumoral, e implican que la sensibilidad de la glándula mamaria para PRL es otro factor importante en el desarrollo neoplásico.

Este punto, de potencial importancia, ha sido investigado por NAGASAWA, YANAI, TANIGUCHI, TOKUZEN y NAKAHARA (1976). El crecimiento mamario inducido por PRL fue comparado en animales vírgenes de una cepa de alta incidencia de cáncer mamario y en una de baja incidencia. Tras 20 días de estimulación de la secreción de la PRL por un trasplante hipofisario el grado de crecimiento mamario fue más marcado en la cepa de alta incidencia que en la de baja incidencia, aunque los niveles de PRL fueron similares en ambos grupos. Resultados similares han sido observados con las cepas C3H/He y C57BL/6. De acuerdo con ello las preparaciones de membrana de la cepa C3H se ha comunicado que ligan más lactogéno placentario que las obtenidas de la C57BL/6 (SHETH, RANADIVE y SHETH 1974). Aunque el factor que influencia la sensibilidad del epitelio mamario a la PRL permanece oscuro, parece evidente que la sensibilidad a la hormona es un factor etiológico adicional en la oncogénesis mamaria del ratón.

El nódulo alveolar hiperplásico (NAH) se ha descrito como un precursor de la mayoría de los tumores mamarios de esta especie animal (MEDINA 1973; MEDINA 1976). Lesiones morfológicas similares se han descrito en el cáncer de mama humano (JENSEN, RICE y WELLINGS 1976; WELLINGS, JENSEN y MARCUM 1975). En el ratón el NAH se ha considerado como lesión precancerosa dado que trasplantado

a un huésped singénico se desarrolla un tumor más frecuentemente y en menos tiempo que en el tejido mamario normal. La dependencia hormonal de estos nódulos hiperplásicos se ha demostrado al comprobarse que la hipofisectomía y la ovariectomía-suprarrenalectomía en animales susceptibles de desarrollar el tumor suprime su desarrollo y crecimiento; además, su transformación a carcinoma requiere generalmente hormonas hipofisarias, habiéndose comunicado que la PRL parece ser la principal hormona implicada en su desarrollo, mantenimiento y transformación (YANAI y NAGASAWA 1970). El tratamiento crónico de animales nulíparos o múltiparos de la cepa C3H con CB154 produce una reducción de la incidencia nodular en los primeros, y una disminución del número en los segundos, así como una marcada reducción de la incidencia neoplásica en ambos tipos de ratones (WELCHS, LAMBRECHT y HASSETT 1977). Estos resultados potencian la estrecha sensibilidad en los estados precoces del desarrollo de los tumores espontáneos del ratón frente a PRL.

Aunque el desarrollo tumoral mamario parece estar marcadamente influenciado por los niveles secretados de PRL, el tumor espontáneo avanzado en la mayoría de las cepas de ratón parece ser prolactin-independiente. El tratamiento de ratones hembra C3H/Hej portadores de tumor avanzado con CB154 no influenciá su crecimiento. Además el crecimiento de estos tumores no se influyen significativamente por la administración crónica de PRL o por el trasplante hipofisario. Parece, pues, que el tumor espontáneo de la cepa C3H evoluciona, gradual y lentamente, hacia un estado de insensibilidad a PRL, un fenómeno mucho más común en esta especie que en la rata. MEDINA (1977) ha comprobado esta evolución hacia la independencia en 5 líneas de nódulos preneoplásicos de la cepa BALB/cCrg.

El papel de la PRL en el desarrollo y crecimiento de tumores inducidos por carcinógenos en el ratón ha sido poco investigado. Se sabe por experimentos antiguos que la condición hormonal del pseudoembarazo y embarazo incrementa la carcinogénesis en varias es

pecies de ratones. Pero en estas situaciones el estado endocrino es lo suficientemente complejo para postular que la PRL sea la única hormona implicada en el proceso oncogénico. El trasplante de tumores secretores de PRL ha sido otro de los métodos utilizados para estudiar la carcinogénesis química y su influencia por la PRL. HARAN-GHERA (1961) utilizó esta técnica en ratones hembra C57L_xA/HeF₁ antes, durante y después del tratamiento con MCA; la secreción por los tumores trasplantados produjo un marcado incremento en la incidencia tumoral cuando se colocaban antes y durante el tratamiento con el carcinógeno, mientras que el tratamiento con MCA solo no producía ningún desarrollo neoplásico y la sola presencia del trasplante producía un 9% de tumores. Aparentemente, pues, la estimulación previa del epitelio mamario con hormonas hipofisarias contribuye a la carcinogénesis química, un hecho mucho menos frecuente que el que ocurre en la rata.

Dado que los trasplantes hipofisarios también secretan algo de HC es importante evaluar la participación simple de PRL en este proceso. LIN, BANERJEE y CRUMP (1976) han sugerido que la prolactina es la hormona principal de este proceso, demostrando "in vitro" que la estimulación previa de la mama del ratón BALB/c con prolactina sola, insulina, aldosterona y cortisol, y el subsiguiente tratamiento con DMBA es suficiente para provocar cambios hiperplásicos que eran indistinguibles de las lesiones precancerosas observadas "in vivo". Parece, pues, que la estimulación previa, o al mismo tiempo, de la mama con hormonas mamotrópicas, especialmente con prolactina, incrementa su sensibilidad al efecto del carcinógeno. Sin embargo, a pesar de que el DMBA incrementa el contenido hipofisario de PRL no ha podido establecerse ninguna correlación entre este contenido, o los niveles plasmáticos de la hormona, respecto a la incidencia de tumores mamarios en la cepa BALB/c tratada con MCA o DMBC (MEDINA, O'BRYAN, WARNER, SINHA, Van DERLAAN, Mc CORMACK y HANN 1977).

La PRL es, además, capaz de provocar un aumento en la producción de partículas MTV (YANG, ENAMI y NANDI 1977); aunque con

un importante grado de respuesta condicionada por aspectos puramente técnicos, la PRL actúa sobre el epitelio mamario normal de ratones BALB/cfC3H crónicamente infectados ejerciendo un efecto permisivo para la virogénesis inducida por hormonas, especialmente glucocorticoides. Por el contrario, no se obtuvo ningún efecto en células tumorales, posible expresión de un defecto en el reconocimiento hormonal y prueba de la posible independencia frente a la PRL.

9C-2) Ratas

Se ha reconocido durante un número de años que las ratas multíparas tienen una mayor incidencia de tumores mamarios espontáneos que las nulíparas (NOBLE y CUTTS 1959) sugiriéndose que la PRL podía ser la hormona estimuladora de la carcinogénesis en esta especie ya que, como en el ratón, sus niveles se incrementan durante el parto. WELSCH, JENKINS y MEITES (1970) trasplantaron hipófisis múltiples a animales multíparos y nulíparos de la cepa Sprague-Dawley (SD) observando que las ratas portadores de los injertos, independientemente de su estado de paridad, demostraban una mayor incidencia de tumores que las ratas controles no trasplantadas. Los resultados de estos estudios implicaban a la PRL como una de las hormonas más importantes en la tumorigénesis espontánea de la rata, como habían propuesto KWA, Van Der GUGTEN y VERHOFSTAD (1969) al demostrar una correlación positiva entre los niveles elevados de PRL en plasma, hipertrofia hipofisaria y la presencia de tumores mamarios en ratas hembras de la cepa R-Amsterdam.

Que la PRL es la principal hormona hipofisaria de este proceso es mantenido por resultados procedentes de estudios en animales con lesiones de la eminencia media, con lo que se obtiene un marcado incremento en la incidencia de tumores espontáneos (WELSCH, NAGASAWA y MEITES 1970). Este estudio da énfasis al papel llave de

la prolactina, y es de particular significado puesto que, tal como habían demostrado estudios previos, presupone la elevación de los niveles endógenos de PRL en animales con una función hipofisaria normal, lo que no excluye la participación de otras hormonas hipofisarias en este proceso. Parece, por tanto, que el desbalance endocrino causado por la secreción de PRL incrementada, y la reducción de otras hormonas hipofisarias, puede ser oncogénico, al menos en la rata.

La prolactina no sólo incrementa la génesis de los tumores espontáneos de rata sino que también influye significativamente en el crecimiento de los ya establecidos. El tratamiento de ratas SD portadoras de grandes tumores espontáneos con drogas supresoras de la secreción de prolactina produce una rápida y prolongada regresión del tumor (QUADRI y MEITES 1971). Tras la supresión de la droga se observa una rápida recuperación del tamaño tumoral, aspecto distinto al de los tumores del ratón, pues aquéllos acaban haciéndose independientes de la influencia de la PRL.

Quizás, el mayor número de estudios realizados haya sido con los tumores de ratas inducidos por carcinógenos químicos, en los que ha quedado claramente establecido su dependencia de la hipófisis. Realmente parece que existe una correlación directa entre los niveles séricos de PRL y la susceptibilidad, determinada genéticamente en ciertas cepas de rata, para la inducción química de tumores mamarios (BOYNS, BUCHAN, COLE, FORREST y GRIFFITHS 1973). En general, la mayoría de los tratamientos que causan hiperprolactinemias en ratas hembras tratadas con DMBA o MCA producen un marcado incremento en el crecimiento tumoral. Así, se han descrito técnicas que incrementan la oncogénesis en ratas SD como la suprarrenalectomía (CHEN, BRADLEY y MEITES 1976), el embarazo (McCORMICK y MOON 1965), el pseudoembarazo, los injertos hipofisarios (HARADA 1976), tumores hipofisarios, lesiones hipotalámicas (KLAIBER, GRUENSTEIN, MERANZE y SHIMKIN 1969 SINHA, COOPER y DAO 1973; WELSCH, CLEMENS y MEITES 1969), implante hipotalámico de esteroides (NAGASAWA y MEITES 1970), tratamiento con reserpina, perfenacina y haloperidol (QUADRI, CLARK y MEITES 1973), dietas ricas en grasas (CARROL y KHOR 1970; CHAN y COHEN 1974; CHAN,

HEAD, COHEN, WYINDER 1977) y administración de TRH (CHEN, BRADLEY y MEITES 1977). De acuerdo con ello, la inducción de hipoprolactinemia mediante derivados del ergo (CASELL, MEITES y WELSCH 1971; HEUSON, WAELBROECK, Van GAVER y LEGROS 1970; SWEENEY, POORE, KORNFEL, BACH, OWEN y CLEMENS 1975; WELSCH, ITTURI y MEITES 1973), derivados cíclicos de imida (MUCKLER, FRANKUS y MORE 1970), ácido lisérgico, derivados de ergolina, L-DOPA (QUADRI, KLEDZIK y MEITES 1973), pargilina y suero antiprolactínico (BUTLER y PEARSON 1971) causan una marcada disminución del crecimiento de estos tumores. Queda, pues, claro de estos estudios que las marcadas fluctuaciones en la secreción de PRL influyen profundamente el crecimiento de estos tumores. Sin embargo, parece no haber una correlación entre los niveles séricos, que se encuentran dentro del rango normal, y la calidad de las cepas de crecimiento rápido o lento, respecto a la carcinogénesis inducida en estos animales. Puede, por tanto, concebirse que las variaciones en el crecimiento pueden ser el resultado de la sensibilidad de la célula tumoral a la PRL; estos cambios sutiles en la secreción de la hormona, que no son detectados en los análisis séricos, pueden influir marcadamente la proliferación celular tumoral.

Si la hormona de crecimiento coopera con la PRL, o ejerce un efecto directo en el crecimiento de los tumores inducidos por carcinógenos, es algo aún no bien conocido. Dado que las lesiones hipotalámicas en la eminencia media causan un rápido crecimiento de estos tumores, y estas lesiones suprimen la secreción de HC, puede suponerse que esta no tiene un papel crítico en el crecimiento tumoral. Por otra parte, la administración de HC a ratas portadoras de tumor se ha comunicado que no tiene efecto (NAGASAWA y YANAI 1970), o tienen un ligero efecto estimulador. Estudios recientes "in vitro" demuestran que la HC puede estimular la síntesis de DNA en cultivo aunque a un nivel considerablemente menor que el realizado por PRL.

9D) Inhibición de la Tumorigénesis Mamaria por PRL.

Existen ciertas condiciones endocrinas en las cuales un incremento de la secreción de PRL produce un efecto inhibitor constante sobre el proceso neoplásico de ratas y ratones. Uno de los ejemplos más claros se obtiene en la carcinogénesis inducida en la rata. El incremento de la secreción de PRL mediante embarazo, injerto hipofisario, stress con éter (GALA y LONGINSKY 1973), tratamiento con reserpina, estrógenos (KLEDZIK, BRADLEY y MEITES 1974), contraceptivos orales (WELSCH y MEITES 1969) o lesiones hipotalámicas antes de la administración del carcinógeno reduce marcadamente la incidencia tumoral en relación a los controles. Estos tratamientos generalmente producen una intensa estimulación de la glándula mamaria con predominio morfológico lóbulo-alveolar, en contraste con el predominio del sistema ductal observado en los animales controles no tratados, lo que sugiere que la diferenciación lóbulo-alveolar en la rata produce un estado refractario a la acción del carcinógeno. El tumor inducido mediante este sistema en la rata parece originarse del epitelio ductal, o de los elementos de las yemas terminales, más que de los alveolos, lo que en parte explica este fenómeno (MURAD y Von HAMM 1972; SINHA y DAO 1974; SINHA y DAO 1975).

Otro ejemplo en el cual el incremento mantenido de la secreción de PRL es inhibitor para la carcinogénesis química se obtiene en el modelo de mama de roedores durante la lactación. En esta situación, en ratas y ratones, se observa un período refractario a la acción del carcinógeno cuando se compara respecto a animales no lactantes. Se ha pensado que esta inhibición puede ser la consecuencia de un aumento en la eliminación del carcinógeno por la secreción mamaria (SHELLABARGER 1976), lo que parece apoyado por el hecho de que la oncogénesis inducida por radiación en la glándula mamaria de rata no es alterada por la lactación. Además, el bajo grado de síntesis de DNA característico de la glándula lactante (NAGASAWA y YANAI 1976) puede ser un factor significativo que inflencie este proceso. Se ha creído durante años que la frecuencia de la división celular

en el momento del tratamiento con el carcinógeno podía ser un importante factor limitante del efecto químico sobre la glándula mamaria; la carcinogénesis química con hidrocarburos aromáticos policíclicos es más efectiva a la edad de 50-60 días (DAO 1969) cuando la síntesis de DNA glandular parece que alcanza el máximo nivel (NAGASAWA y YANAI 1974)^a. La supresión de PRL, y por tanto la de DNA, en el momento de la administración del carcinógeno produce una disminución del efecto oncogénico, aportando importancia al hecho de la influencia de la síntesis de DNA en la carcinogénesis química (NAGASAWA, YANAI y TANIGUCHI 1976). Durante el período de lactación la síntesis de DNA es muy baja, a pesar de los grados relativamente altos de secreción de PRL (AMENOMORI, CHEN y MEITES 1970).

La secreción de PRL, aumentada durante el período de lactación, no sólo inhibe la inducción por carcinógenos químicos sino que puede causar la regresión de tumores inducidos por ellos (McCORMICK y MOON 1967), así como influenciar el desarrollo y crecimiento de los tumores espontáneos e inducidos por carcinógenos en el ratón (ZEILMAKER 1968). El mecanismo por el cual la lactación es inhibidora del crecimiento tumoral mamario es desconocido, pero puede ser el reflejo de una deficiencia en la secreción de otras hormonas, como por ejemplo ováricas, o debida a un proceso de diferenciación funcional sobre el epitelio mamario. Partiendo de resultados previos en los que demuestran que la adrenalectomía en ratas no lactantes incrementa los niveles de PRL y la incidencia de tumores mamarios, fenómeno que es inhibido por la administración de cortisol, CHEN, BRADLEY y MEITES (1976) introducen la suprarrenalectomía en el estudio de la regresión inducida por la lactación. En los animales control, y en los tratados con estradiol en el postparto lactante, los tumores disminuyen aproximadamente un 40% hacia el quinto día, alcanzando el 50% del tamaño original hacia el día veinticinco; la adrenalectomía en el día tres del postparto no sólo inhibe la regresión sino que potencia el crecimiento, pudiendo ser la responsable de este efecto la abolición de la secreción de glucocorticoides (AYLSWORTH, HODSON, BERG, KLEDZIK y MEITES 1979).

Existen dos modelos de tumores trasplantables en los cuales el crecimiento también parece ser inhibido por el incremento de la secreción de PRL (BODGEN, TAYLOR, KUO, MASON y SPEROPOULOS 1974; HILF, BELL, GOLDENBERG y MICHEL 1971). La elevación de PRL por trasplante hipofisario, o la inyección de perfenacina a estos animales, también inhibe el crecimiento de la neoplasia. El análisis histológico de estos tumores muestra una marcada estimulación epitelial y algún signo de secreción, aunque no se ha comunicado si el tumor "per se" es verdaderamente secretor; parece, pues, posible que bajo ciertas condiciones endocrinas el incremento de la secreción de PRL induce en el tumor un grado de diferenciación, fenómeno fisiológico que puede oponerse a la proliferación celular tumoral.

9E) Relación entre la PRL y las Hormonas Ováricas en la Oncogénesis Mamaria.

Uno de los problemas más intrincados respecto al control de la tumorigénesis mamaria murina es la naturaleza de la interacción de las hormonas esteróideas y peptídicas en el proceso neoplásico (HEITES 1972). Aunque esta interacción en la mayoría de los casos parece ser crucial su muy complicado mecanismo de interrelación no ha sido aún dilucidado.

Es un hecho bien conocido que la hipofisectomía en los roedores reduce, y en la mayoría de los casos previene totalmente, el desarrollo de los tumores espontáneos, fenómeno que es particularmente cierto si la ablación se realiza a edades muy jóvenes del animal. De manera similar, los ratones o ratas que son ovariectomizados muy jóvenes desarrollan muy pocos tumores mamarios y si se realiza, además, suprarrenalectomía el desarrollo tumoral es muy raro (DURBIN, WILLIAMS, JEUNG y ARNOLD 1966; RICHARDSON 1967).

La administración de estrógenos a ciertas cepas de ratas y ratones incrementa marcadamente la incidencia de tumores mamarios (GASS, BROWN y OKEY 1974; STONE, HOLTEMAN y SHELLABARGER 1979).

Este tratamiento incrementa la secreción de PRL, mientras que la ovariectomía la reduce, observación que ha permitido desarrollar el concepto, originalmente propuesto por FURTH (1973), de que los estrógenos son oncogénicos para la mama por un efecto primario sobre la estimulación de la liberación de PRL. El tratamiento de animales hipofisectomizados con estrógenos, en un intento de determinar si los esteroides son capaces de inducir tumores en animales sin hipofisis, no ha sido efectivo dado que el roedor hipofisectomizado es intolerante durante largo tiempo al tratamiento con esteroides. Sin embargo, la secreción de PRL puede ser suprimida en el animal tratado crónicamente con estrógenos mediante la asociación de alcaloides del ergo, a pesar del efecto estimulador de aquéllos sobre la secreción de PRL. Recientemente se ha comunicado que el tratamiento crónico de ratona C3H con estrógenos, o con la asociación noretinodrel-mestranol, incrementa la incidencia de la hiperplasia mamaria y de tumores, pero la asociación de CB154 reduce ambos a un nivel comparable con el del animal control no tratado con esteroides. Por tanto, en este particular estudio parece que los estrógenos sean oncogénicos para la mama a través del efecto primario sobre la secreción de PRL. SLUYSER, BOOT y RÖPCKE (1978) han demostrado la presencia de gran cantidad de R.E en hipófisis trasplantadas hiperplásicas, no cuantificando prácticamente nada de R.P.

Sin embargo, puede también plantearse que el efecto de los estrógenos no sea mediado sólo a través de la hipófisis, pudiéndose especular sobre un efecto indirecto. Aunque en este modelo se requiere, con toda probabilidad, una hipófisis funcionante, el crecimiento inducido por esteroides en los tumores establecidos puede no siempre requerir el concurso hipofisario. En una reciente comunicación SLUYSER y Van NIE (1974) indican que el tumor trasplantable GR/A regresa tras la hipofisectomía, pero su crecimiento es reactivado por la administración aguda de estrógenos y progesterona, siendo una de las escasas comunicaciones en la que los esteroides estimulan un tumor preexistente en el animal hipofisectomizado.

La administración de hormonas hipofisarias a animales ovariectomizados-suprarrenalectomizados se ha intentado con el fin de evaluar si estas hormonas son capaces de inducir tumorigénesis mamaria en animales deficientes en esteroides. Se ha comunicado que los trasplantes hipofisarios incrementan la incidencia tumoral en animales ovariectomizados, intactos, y orquidectomizados (HAGEN 1966), lo que sugiere un papel primario de la PRL y secundario para los esteroides ováricos. Sin embargo, la glándula suprarrenal puede contribuir significativamente aportando esteroides a este proceso por lo que el modelo no puede considerarse completo.

En un clásico estudio YANAI y NAGASAWA (1971) trasplantan hipófisis a animales C3H ovariectomizado-suprarrenalectomizados y observan dentro de los 8 primeros meses una incidencia tumoral del 51%, no observándose ningún tumor en los animales controles que no sufrieron el trasplante hipofisario. Otros trabajos han demostrado que el lactógeno placentario humano estimula la aparición de NAH cuando se administra a animales ovariectomizados (YANAI Y NAGASAWA 1973), y aunque la presencia o ausencia de tejido adrenal accesorio en animales suprarrenalectomizados es un problema difícil de resolver, los resultados de estos estudios sugieren que altas concentraciones de prolactina endógena son capaces de incrementar la aparición de tumores mamarios en animales deficientes en esteroides sexuales.

En este modelo de animal doblemente operado al que se trasplantan hipófisis o se administra LPH puede discutirse que por presentar una edad entre 7 y 11 meses, y ser en ocasiones multíparos, ya presentan un importante número de nódulos displásicos por lo que la PRL puede haber promovido el crecimiento de células ya transformadas. El éxito de la inducción de tumores espontáneos mediante hormonas hipofisarias en este modelo, realizado a edad muy joven del animal, no parece que haya sido aún comunicado, por lo que queda la duda de determinar si las hormonas hipofisarias pueden o no iniciar la inducción de tumores espontáneos en animales libres de esteroides sexuales.

La inducción de tumores mamarios en ratas por carcinógenos químicos y hormonas ováricas e hipofisarias es uno de los problemas más importantes a resolver. La ovariectomía en ratas 30 días antes de la administración del carcinógeno previene la aparición de tumores inducidos (DAO 1962). La asociación de niveles incrementados de PRL en estos animales no aumenta la incidencia del número de tumores. Sin embargo, si la ovariectomía se realiza ligeramente antes de la administración del carcinógeno el tratamiento subsiguiente con prolactina y HC incrementa la incidencia de tumor mamario muy considerablemente por encima de la observada en el animal control ovariectomizado. La supresión de PRL antes de la administración del carcinógeno también reduce marcadamente esta incidencia, mientras que la secreción aumentada de la hormona duplica la aparición de tumores en el animal tratado con DMBA (WELSCH, LOUKS, FOX y BROOKS 1975). Parece, por tanto, que las hormonas ováricas y la PRL, o al menos su efecto residual, es crítico, y quizás esencial, en la transformación química del epitelio glandular mamario de la rata, y que las hormonas hipofisarias solas pueden promover el crecimiento de estas células transformadas aún en ausencia de función ovárica normal.

Complementando los resultados anteriores se ha observado que si la concentración de prolactina es lo suficientemente alta, quizás por encima del nivel de la capacidad secretora de la hipófisis "in situ", los esteroides ováricos pueden no ser esenciales para la carcinogénesis química de la glándula mamaria de la rata. No ha sido descrita la carcinogénesis química en animales libres de hipófisis o sin sus hormonas, entre otras cosas porque como ya hemos comentado el animal hipofisectomizado es intolerante al tratamiento con carcinógenos. La única excepción ha sido la realizada años atrás por YOUNG (1961) quién demostró la inducción de tumores mamarios con MCA en ratas SD hipofisectomizadas y tratadas crónicamente con estrógenos, progesterona y grandes dosis de hormona de crecimiento bovina; sin embargo, puede objetarse que la pureza de la preparación de hormona de crecimiento no fué comunicada, por lo que puede sospecharse la contaminación por PRL en una época en la que no se habían separado ambas fracciones hormonales.

El crecimiento de tumores ya establecidos en la rata parece ser regulado por la interacción entre las hormonas ováricas e hipofisarias. La ovariectomía en estos animales produce una rápida y prolongada regresión tumoral (WELSCH 1971). La producción de hiperprolactinemia en estos animales, por lesión en la eminencia media, previene la regresión inducida por la ovariectomía y estimula el crecimiento de estos tumores experimentales. Sin embargo este aumento en el crecimiento tumoral no puede persistir durante largos períodos de tiempo a menos que se reimplanten los ovarios; de acuerdo con ello, la inyección diaria de PRL o LPH en animales doble o triplemente operados portadores de carcinoma de mama inducidos por carcinógenos químicos también produce, al menos inicialmente, incremento en el crecimiento tumoral (NAGASAWA y YANAI 1973). Cuanto más alta sea la concentración de prolactina o lactógeno administrada el crecimiento tumoral es mucho mayor que el observado en controles intactos. Estos resultados sugieren que la PRL puede estimular el crecimiento de tumores mamarios de rata inducidos por carcinógenos en animales carentes de esteroides ováricos, pero para obtener un efecto persistente, a pesar de la hiperprolactinemia, los esteroides ováricos parecen ser esenciales.

Una excepción a este concepto es el comunicado por KIM y FURTH (1960) quienes demuestran que la secreción hormonal de un tumor hipofisario transplantable induce tumor mamario en ratas FW ovariectomizadas durante un período de varios meses, aunque la participación de las suprarrenales en este modelo no fué evaluada. Evidencia adicional sobre el significado de la interacción entre PRL y las hormonas ováricas en el crecimiento de estos tumores es aportada por el estudio de la combinación de drogas inductoras de inhibición de PRL asociadas a ovariectomía, lo que causa una regresión tumoral mucho mayor que cualquiera de los dos tratamientos solos (QUADRI, KLEDZIK y MEITES 1974)^a. Es probable que la dependencia del crecimiento de estos tumores respecto a la PRL y esteroides ováricos varíe de un tumor a otro, ya que algunos tumores requieren concentraciones más o menos altas de ambas hormonas para poder obtener un crecimiento óptimo (BRADLEY, KLEDZIK y MEITES 1976).

La posible influencia de los estrógenos en el crecimiento de tumores inducidos por carcinógenos en animales hipofisectomizados ha sido investigado por STERANTAL, DOMINGUEZ, WEISSMAN y PEARSON (1963). La hipofisectomía causaba una rápida regresión del tumor mamario, y la administración de estrógenos no producía un nuevo crecimiento tumoral, demostrándose claramente la dependencia de los esteroides respecto a la función hipofisaria. Es probable que haya variantes de tumores mamarios en los cuales el crecimiento pueda ser estimulado por hormonas hipofisarias en ausencia de secreción ovárica o, en más raras ocasiones, que éstas actúen en ausencia de aquéllas, pero la realidad es que la mayoría de los tumores hormono-sensibles en los roedores parecen requerir la participación de ambas glándulas para un óptimo crecimiento.

La PRL puede influenciar el desarrollo y crecimiento del tejido mamario normal y neoplásico por una acción directa o por un mecanismo indirecto, a través del ovario. Ya se ha comentado el efecto luteotrópico de la PRL y, en ocasiones luteolítico, por lo que un incremento en la secreción de PRL en el animal intacto puede causar un incremento de la secreción de estrógenos y progesterona. Esto hace mucho más difícil discernir cuantitativamente la contribución de cada hormona en la tumorigénesis mamaria murina. Sin embargo, parece que la primera acción de la PRL debe de ser directa, sobre todo si se tiene en cuenta la demostración convincente de que ejerce un efecto mitogénico directo sobre la mama normal y neoplásica. Por ejemplo, la administración de PRL a ratas mono, di o tri operadas portadoras de tumor inducido por carcinógenos produce un incremento inicial en el crecimiento de los tumores. Además, la administración de hormona a cultivos de órganos de estos tumores produce un marcado incremento en la incorporación de timidina-³H en la molécula de DNA, y de leucina-³H en la de proteínas (LEWIS y HALLAWES 1974; PASTEELS, HEUSON, HEUSON-STIENNON y LEGROS 1976), así como una reducción de la conversión de testosterona en 5- α -dihidrotestosterona y 5- α -androstenediol (MILLER 1976), lo que está de acuerdo con la capacidad de PRL de abolir el efecto inhibitor ejercido por los andrógenos (QUADRI, KLEDZIK y MEITES

1974). Aunque estos estudios aportan evidencia indicando que la PRL puede estimular directamente el crecimiento de los tumores mamarios de la rata, también puede ocurrir la existencia de un efecto sinérgico y/o distinto de las hormonas ováricas en este proceso de crecimiento (LEUNG y SASAKI 1975; LEUNG, SASAKI y LEUNG 1975). Esto no parece único para el tejido neoplásico dado que la sensibilización del tejido mamario normal con dosis fisiológicas de estrógenos también produce un incremento en el efecto promotor del crecimiento inducido por la PRL.

Aunque las dosis fisiológicas de estrógenos pueden incrementar la acción de PRL, altas dosis "in vitro" (PASTEELS, HEUSON, HEUSON-STIENNON y LEGROS 1976) e "in vivo" (NAGASAWA y YANAI 1971; NAGASAWA y YANAI 1974)^a pueden inhibir la estimulación directa de PRL sobre el desarrollo de la mama normal y neoplásica de la rata. En ratas intactas y ovariectomizadas la inyección de grandes cantidades de estrógenos produce una regresión de los tumores inducidos químicamente, a pesar de las concentraciones plasmáticas relativamente altas de PRL, lo que es prevenido por la administración simultánea de prolactina; la PRL estimula la síntesis de DNA en tumores mamarios mantenidos en cultivo, efecto que puede ser suprimido por la adición de dosis relativamente altas de estrógenos. Además, el efecto antagónico de estas dosis de estrógenos en el crecimiento inducido por PRL sobre la mama normal y neoplásica ha sido demostrado en ratas tratadas neonatalmente, o en ratas tratadas con prolactina y carcinógeno (NAGASAWA, YANAI, SHODONO, NAKAMURA y TANABE 1974). Aunque estas ratas mostraban altos niveles de PRL y estrógenos la incidencia y crecimiento tumoral quedaba marcadamente reducida, acompañándose de una atrofia del resto del tejido glandular. Los frotis vaginales demostraban un estado constante de estro y los ovarios signos de ciclos anovuladores. Estos resultados sugieren, por tanto, que dosis relativamente altas de estrógenos pueden interferir la acción de PRL a nivel de la glándula mamaria o del tumor, mientras que dosis bajas puede incrementar la acción de la hormona hipofisaria a este nivel.

9F) Mecanismos de Dependencia a PRL. El Receptor de PRL y su Regulación.

Es un hecho clásicamente aceptado que la acción de las hormonas se realiza previa interacción con sus receptores específicos. En los tumores mamarios estos receptores pueden permanecer o perderse durante el proceso de transformación maligna, lo que presupone el mantenimiento o pérdida de los mecanismos de control, en definitiva la existencia de hormono-dependencia, hormono-sensibilidad u hormono-independencia (HUGGINS 1978).

Durante los últimos años se ha prestado gran atención a la identificación de los receptores de estrógenos (RE), a su cuantificación, y al estudio de sus relaciones respecto a la hormono-dependencia del tumor mamario (BOYLAN y WITTLIFF 1975; COSTLOW, BUSCHOW, RICHERT y McGUIRE 1975; GIBSON y HILL 1976; JENSEN y De SOMBRE 1973; KEIGHTLEY y OKEY 1973; LECLERQ, HEUSON, De BOEL y MATTEHEIM 1975; LEUNG, GRIPPAEHNÉ y FLETCHER 1974; McGUIRE 1973; McGUIRE y JULIAN 1971; MEDINA, IRAMAIN y CLARK 1975; MOBBS y JOHNSON 1974; RICHARDS, SHYAMALA y NANDI 1974; SASAKI y LEUNG 1975; SINGHAKOWINTA, POTTER, BURKER, SAMAL, BROOKS y VAITKEVICIUS 1976; VIGNON y ROCHEFORT 1976).

Resultados iniciales indicaron una menor unión de estrógenos en tumores autónomos respecto a aquellos considerados hormono-dependientes (McGUIRE, JULIAN y CHANNES 1971)^a. Pero resultados recientes, relativos a la dependencia hormonal de tumores DMBA, han introducido una mayor complejidad de lo que en un principio se suponía, pues aunque los tumores autónomos tienden a presentar menor nivel de RE la superposición de valores con los hormono-dependientes no permite asegurar una predicción de dependencia para cada tumor considerado individualmente (BOYLAN y WITTLIFF 1975). Estos resultados, aunque no alteran las conclusiones de que los tumores autónomos presentan un bajo nivel de RE, llaman la atención de que no todos los tumores que los contienen son hormono-dependientes. Es de destacar que se ha llegado a conclusiones similares en tumores humanos (McGUIRE, CARBONE y VOLLMER 1975).

Dado que el receptor puede ser funcionalmente defectivo se ha buscado un producto terminal de su acción como factor indicativo de la integridad de su sistema. Dado que ha quedado bien establecido que la síntesis de los receptores de progesterona (RP) en el útero es dependiente de la acción de los estrógenos, se ha realizado un planteamiento similar para el tumor mamario. HORWITZ y McGUIRE (1977), y McGUIRE, RAYNAUD y BAULIEU (1977) han demostrado que los estrógenos inducen la producción de RP en tumores DMBA. Además, su presencia se correlaciona con la respuesta terapéutica en tumores humanos mejor que con la determinación simple de los RE (McGUIRE, HORWITZ, PEARSON y SEGALOFF 1977).

Pero los estrógenos no son las únicas hormonas responsables del desarrollo, mantenimiento y dependencia de los tumores mamarios, por lo que la inexactitud de los resultados con receptores de esteroides puede ser secundaria al olvido de una alteración de la respuesta hormonal por factores distintos de las hormonas ováricas, y de ellos el más importante, dada la posición llave que ocupa en el control de los tumores mamarios, es la PRL.

El tumor de mama contiene receptores específicos de PRL (COSTLOW, BUSCHOW y McGUIRE 1974; De SOMBRE, KLEDZIK, MARSHALL y MEITES 1976; HOLDAWAY y FRIESEN 1976; KELLY, BRADLEY, SHIU, MEITES y FRIESEN 1974; KLEDZIK, BRADLEY, MARSHALL, CAMPBELL y MEITES 1976; SMITH, HILF y SENIOR 1976; TURKINGTON 1974). En el trabajo pionero de TURKINGTON el contenido de R-PRL oscilaba entre un 30 y 80% del presentado por el tejido mamario normal, mientras que las formas autónomas del tumor del ratón contenían un nivel significativamente menor. Estos resultados iniciales sugerían una correlación entre los R-PRL y el grado de hormono-dependencia, algo similar a lo que ocurría con las cepas dependientes y autónomas de los tumores trasplantables de mama.

Recientemente COSTLOW, SLUYSER y GALLAGHER (1977) han estudiado las relaciones de los R-PRL y la hormono-dependencia del crecimiento del tumor inducido, en la cepa GR de ratón, mediante estrógenos y progesterona. Este tumor es un modelo inicialmente

dependiente, dado que no crece en animales castrados, pero al trasplantarlo pierde eventualmente esta característica. Pues bien, el R-PRL se encuentra en considerable cantidad en el tumor inicial, descendiendo paulatinamente según aparece la autonomía post-trasplante hasta llegar a un 5% del nivel encontrado en el tumor primario.

Aunque estas observaciones mantienen una relación causal entre la pérdida de los R-PRL y la pérdida de hormono-dependencia en tumores experimentales, esta interpretación se complica con otros hallazgos, tanto sobre cepas tumorales trasplantables como sobre el clásico tumor DMBA. Por ejemplo, el tumor hormono-independiente R-3230AC, que contiene un bajo nivel de R-PRL (15%), no depende para su crecimiento ni de los estrógenos ni de prolactina, aunque responde a ambas hormonas con distintos cambios de actividades enzimáticas (HILF, MICHEL y BELL 1967), y su nivel de R-PRL es equivalente al del tejido mamario normal. Estos resultados han sido confirmados por SMITH, HILF y SENIOR (1977).

Por otra parte, en tumores DMBA que ligan 3 veces más PRL que la mama normal (SMITH, HILF y SENIOR 1976), la cuantificación de receptores tras ovariectomía fue mucho más baja en aquellos que demostraron un crecimiento autónomo, aunque la superposición de valores entre éstos y los hormono-dependientes planteó el mismo problema que con los RE; además, el efecto de disminución de receptores parece inherente a la propia ovariectomía y no al grado de respuesta (COSTLOW, BUSCHOW y MCGUIRE 1976)². Si la hormono-dependencia se estudia respecto a la respuesta tumoral tras tratamiento con drogas modificadoras de la secreción de PRL, se observa que el nivel de receptor es mucho mayor en aquellos tumores que responden al incremento de PRL con una exacerbación de su crecimiento (HOLDAWAY y FRIESEN 1976). La predicción por el estudio de los niveles de receptor en muestras de tumor antes de inducir una disminución de PRL tampoco parece válida, aunque con este criterio de clasificación los niveles de receptor son mucho mayores en los tumores que responde, calculados antes y después del tratamiento. Finalmente, en estudios

de crecimiento tumoral y R-PRL, respecto a la dependencia en tumores trasplantados, todos los tumores demostraron la presencia de receptor, aunque aquellos que siguieron con crecimiento autónomo su nivel fué un 50% más bajo, volviéndose a establecer una superposición de valores que hace inútil cualquier predicción respecto a los niveles de receptor (De SOMBRE, KLEDZIK, MARSHALL y MEITES (1976)).

KELLY y col. (1974) ordenaron los niveles de receptor respecto al grado relativo de respuesta de crecimiento tras la administración de PRL en animales portadores de tumor DMBA. Pudieron comprobar que el mayor nivel se asociaba con aquellos que mostraban un mayor crecimiento de la masa tumoral, insinuando que el número de receptores podía realmente indicar el grado de respuesta a PRL, pero que ésta también podía depender, dada la heterogeneidad de la población tumoral, del número de células que contuvieran receptores para PRL, hecho que fué demostrado por COSTLOW y MCGUIRE (1977) mediante autorradiografía. Por tanto, las diferencias comunicadas sobre los niveles de receptor podían ser consecuencia del número total de células que los contuvieran o no. Sin embargo, a pesar de la poca seguridad de respuesta que se obtiene cuantificando sólo un receptor puede llegarse hasta un 90% de predicción cuando se determinan conjuntamente los RE y los R-PRL.

Estudiando más en detalle los tumores trasplantables, especialmente los MTW, se aprecia como la cuantificación del receptor no aborda el problema de la verdadera situación hormonal, dado que las interrelaciones endocrinas pueden influir muy directamente la respuesta tumoral. FURTH desarrolló la técnica para obtener tumores mamarios en aquellos animales que no lo presentaban tras la administración de un carcinógeno conocido (MCA O DMBA); en ratas W/Fo la inyección de MCA desarrollaba un carcinoma mamario si la glándula era estimulada por la coexistencia de un tumor mamosomatotrópico (MtT) resultando unos tumores parcialmente hormo-dependientes dado que podían regresar tras ovariectomía o hipofisectomía pero podían continuar su crecimiento en huéspedes normales de ambos sexos. Estos tumores MTW eran estables y fácilmente trasplantables, proporcionando un especial modelo para el estudio de las relaciones hormonas-tumor.

McLEOD, ALLEN y HOLLANDER (1964) estudiaron los requerimientos hormonales para el crecimiento de estos tumores, específicamente el MTW9. Cuando el tumor crecía bajo el efecto del tumor secretor de PRL (MtTW5 o MtTW10) la ovariectomía no causaba regresión, por lo que supusieron que el ovario actuaría a través del tumor hipofisario secretor de PRL; cuando se ovariectomizaba al animal en el momento del implante del MTW9 y MtTW5 el tumor mamario no crecía, y cuando se retrasaba respecto al momento del implante la inhibición del MTW9 era menor, hasta el punto de que el retraso de un mes en la castración aún permitía el desarrollo de francos tumores 14 días después. El MTW9 crecía perfectamente en animales ovariectomizados si se administraba diariamente estradiol y progesterona, y MUROTA y HOLLANDER (1972) demostraron que el deficiente crecimiento del tumor mamario en animales castrados no era el resultado de una insuficiente secreción de PRL por el MtTW5 sino que era el resultado directo de la deficiencia de esteroides ováricos.

El crecimiento tumoral también se obtenía cuando el MtT era reemplazado por un trasplante hipofisario, pero no crecía cuando el reemplazo se hacía con un tipo de MtT que secretaba poca PRL y mucha HC. Por otra parte, aún en ausencia de tumor secretor de PRL el tumor mamario crecía bien si el animal era tratado con perfenacina (DIAMOND, KOPLAK, SHEN y HOLLANDER 1976), su crecimiento se detenía al retirar la droga, y se reincrementaba al administrar PRL. Hasta aquí puede resumirse que este modelo de carcinoma mamario necesita PRL para su crecimiento y mantenimiento, y estrógenos para su crecimiento inicial, acabando por hacerse independiente de la influencia ovárica. Sin embargo, la manipulación inducida por la supresión del tumor MtT y sustitución por perfenacina hace que en este segundo modelo el tumor mamario regrese tras la ovariectomía, haciendo que un tumor independiente del ovario se haga dependiente de él, corolario de gran importancia dado que plantea el fenómeno de un cambio en la dependencia hormonal tumoral inducido por modificaciones del medio endocrino.

Se ha buscado una interpretación a estos resultados mediante estudios de receptores para hormonas esteroideas y PRL. Tanto

el tumor primitivo como el procedente del modelo hiperprolactinémico por perfenacina (MTW9-P) presentan receptores, pero con evidentes diferencias en su contenido. El modelo MTW9-P liga 4 veces más cantidad de hormona que el MTW9-MtT, reduciéndose la cantidad de estradiol ligada al suprimir el tratamiento con perfenacina; la escisión del tumor MtT doblaba el contenido de receptor de PRL no modificando el contenido del RE. La interpretación de estos resultados, en base a la ocupación del receptor por hormona endógena, no ha dado resultados concluyentes, pero ha apuntado la posibilidad que para los estrógenos el valor cuantificable del receptor no parece depender del nivel de hormona endógena mientras que para PRL puede sospecharse esta dependencia.

Otras dos sublíneas de tumor MTW9, la MTW9-MD, que crece en ratas intactas y regresa rápidamente tras la ovariectomía, y la MTW9-A y MTW9-MA que crecen igualmente en ratas intactas, ovariectomizadas e hipofisectomizadas, han sido estudiadas respecto su nivel de R-PRL. COSTLOW, BUSCHOW y MCGUIRE (1974) han descrito la presencia de R-PRL en la sublínea MTW9-MD a niveles semejantes que los obtenidos en tejidos mamarios de rata lactante, mientras que la forma autónoma contiene menos del 15% que la forma dependiente MD. De lo expuesto hasta aquí se plantea la necesidad de estudiar como las distintas hormonas que influyen la respuesta tumoral lo hacen, posiblemente, a través de modulaciones para los niveles de receptor de las hormonas de quien dependen, aspecto de capital importancia para interpretar algunas de las respuestas paradójicas que se han visto.

VIGNON y ROCHEFORT (1976) observaron que la regresión tumoral inducida por la ovariectomía en tumores DMBA de ratas se asociaba a una disminución de un 90% en los niveles de RE, recuperándose parcialmente esta pérdida de actividad tras tratamiento con estradiol o PRL; sin embargo, la administración de estradiol no recuperaba los niveles de receptor en animales castrados y tratados con CB154. Este hallazgo les permitió sugerir que la PRL estimulaba de forma específica el crecimiento del tumor

mamario por una sensibilización hacia los estrógenos, a través de un incremento en los aceptores específicos de la hormona. LEUNG y SASAKI (1975) indicaron conclusiones similares al estudiar el crecimiento de estos tumores inducido por PRL; la deplección de los RE tras la ovariectomía era recuperada por PRL, pero no por la administración conjunta de PRL y nafoxidina. Esta observación está de acuerdo con el papel obligatorio de los estrógenos en el mecanismo de estimulación del crecimiento inducido por PRL, y en la recuperación de los niveles de RE inducido por la hormona hipofisaria. GIBSON y HILL (1976) observaron que la disminución del contenido de RE en tumores DMBA tras la ovariectomía sólo ocurría en los tumores en regresión, pero no en los que mantenían un crecimiento estático.

Esta acción reguladora de PRL sobre los RE parece ser directa. SHAFIE y BROOKS (1977) estudiaron este efecto en la línea MCF-7 mantenida en cultivo -(MCF-7 es una línea de tumor humano de mama procedente de un exudado pleural, obtenida por SOULE, VAZQUEZ, LONG, ALBERT y BRENNAN (1973), que contiene RE (BRADLEY, KLEDZIK y MEITES 1976), y que incrementa su crecimiento a bajas dosis de estrógenos (LIPPMAN y BOLAN 1975)-; la PRLo y PRLh adicionadas al medio de cultivo eran capaces de doblar el contenido de R.E. aunque ninguna de las dos formas de hormona estimulaban el crecimiento. En tumores DMBA KLEDZIK, BRADLEY, MARSHALL, CAMPBELL y MEITES (1976) comunicaron una reducción específica de los lugares aceptores de PRL, acompañada de regresión tumoral, tras la administración de altas dosis de estrógenos, aportando evidencia bioquímica del posible mecanismo de acción de esta hormona a dosis altas.

SMITH, HILF y SENIOR (1977) han estudiado el efecto de los estrógenos, PRL, lergotriple y diabetes inducida por estrep-tozotolin sobre el contenido de R-PRL de tumores DMBA y R-3230 AC. La PRL disminuyó la unión específica de hormona marcada en ambos tumores, pero incrementó el crecimiento sólo en los DMBA; el lergotriple causó una disminución del tamaño tumoral, el

estradiol el efecto contrario, y ninguna de las dos drogas modificó el grado de unión de PRL. En ratas diabéticas el tumor R3230AC mostró un crecimiento incrementado, mientras que el 50% de los DMBA sufrieron regresión; los niveles de R-PRL disminuyeron un 30% en el modelo de tumor trasplantable, y un 50% en el modelo inducido por DMBA. De estos resultados los autores sugirieron que, dado el papel que ejerce la insulina en el crecimiento de los tumores DMBA, la hormona pancreática podía controlar la respuesta tumoral, al menos en parte, regulando la respuesta para PRL a través de modificaciones en el número de los R-PRL. Por otra parte, indicaron que el efecto de los estrógenos podía ser directo y no mediado por modificaciones en el receptor de prolactina, y que el efecto de ésta sobre el receptor no parecía tan claro como ocurría, por ejemplo, en el hígado, criticando que el efecto positivo obtenido en otros trabajos podía ser sólo la consecuencia de un aumento en el número de células que contenían el R-PRL, y no un aumento verdadero del número de receptores por célula; además, también supusieron que la disminución de la unión de PRL observada en su trabajo podía ser consecuencia más que de una ocupación de una verdadera reducción del receptor, lo que planteaba la posibilidad de un doble efecto regulador relacionado o con la dosis de hormona administrada, o con la situación hormonal en el momento de la administración exógena. Sin embargo, la relación entre la PRL y los RE no está del todo clara dada la posibilidad de que la PRL actúe directamente sin la presencia de RE (MANNI, TRUJILLO y PEARSON 1977).

Bajo ciertas condiciones la progesterona puede ser capaz de regular el nivel de los R-PRL, lo que puede aportar alguna explicación al efecto de prevención que ejerce sobre el incremento en la captación de estrógenos en tumores de mama, y en mama normal mantenidas en cultivo, inducido por PRL (SASAKI y LEUNG (1975)

Se ha propuesto que los andrógenos, que a altas dosis reducen el tamaño del tumor DMBA, y que administrados junto a PRL no tienen efecto, pueden bloquear la acción periférica de la PRL

(OUADRI, KLEDZIK y MEITES 1974). COSTLOW, BUSCHOW y McGUIRE (1976) estudiaron esta posibilidad en tumores dependientes e independientes a andrógenos, comunicando que en aquéllos que respondían los niveles de R-PRL disminuyeron en un 73%, aunque esta reducción no fué observada en todos los tumores estudiados. Los tumores que no respondieron no mostraron cambios en el receptor, indicando que la distinta respuesta no era secundaria a modificaciones plasmáticas de la PRL inducidas por la testosterona. Sin embargo, pueden existir otros mecanismo que justifiquen la respuesta y que no dependan de modificaciones en los niveles del R-PRL: los andrógenos pueden reducir el número de RE (ZAVA y McGUIRE 1977), y la disminución de receptores de PRL ocupados y funcionantes puede, también, reducir los RE mediando la acción de la testosterona. Sin embargo, GARCIA y ROCHEFORT (1978) han comunicado en el tumor DMBA que dosis altas, o no producen efecto, o estimulan el crecimiento tumoral, mientras que dosis bajas lo inhiben; aquellas dosis estimuladoras tienen la capacidad de ocupar y traslocar el RE, estableciéndose una relación directa en la que los andrógenos ejercen su efecto sobre el tumor mamario a través de una acción estrogénica.

Volviendo nuevamente a los tumores MTW se aprecia que no puede explicarse tan claramente las diferencias de comportamiento observadas en los modelos fundamentales de tumor (MTW-MtT y MTW-P) sólo en base a las modificaciones de receptor. Para R-PRL el contenido es normal en la forma MTW9-MtT (con muy alto contenido de PRL circulante), alto para la forma MTW9-T (con alto contenido de PRL), y alto para la forma de supresión terapéutica del MTW9-F (MTW9-PD que presentan concentraciones normales de PRL circulante) (DIAMOND, GILADI, KHAN y HOLLANDER 1977). Basados en las predicciones de los modelos DMBA cabría esperarse que aquellos tumores con mayor contenido de PRL circulante mostraran la mayor concentración de RE; sin embargo, los niveles de receptores estrogénicos corren paralelos a los de PRL (POWELL, DIAMOND, KOPRAK y HOLLANDER 1977), pero con concentraciones de estrógenos circulantes bajas para las dos primeras formas tumorales y normales para la tercera.

Esta discrepancia ha intentado correlacionarse con los niveles de progesterona, que corren paralelos a los de PRL, en base a que esta es capaz de disminuir el contenido de los RE en el útero (WEST, VERHAGE y BRENNER 1976). Sin embargo, no ha sido posible encontrar una clara evidencia al respecto que justifique el bajo contenido de RE de este modelo hiperprolactinémico. En base al efecto de PRL sobre el contenido de receptor en la membrana del hepatocito, y en la mama de conejo, en los que se incrementan claramente, cabría esperar que en este modelo se produjera un fenómeno similar, pero el resultado es que los tumores de mama estimulados por tumor MtT muestran la menor capacidad de unión de PRL. Dado que la progesterona en conejos bloquea el efecto positivo de la PRL sobre su receptor, y la medroxiprogesterona reduce el contenido de R-PRL en el hígado (SHERMAN y col. 1977); se pensó que serían los niveles elevados de progesterona los responsables de esta discrepancia, pero el resultado, al igual que con los RE, fué el de no poder establecerse una relación causa-efecto.

La ovariectomía no produce tampoco cambios singificativos en los niveles de los RE de los tumores MTW9, MTW9-MtT o en el MTW9-PD, por lo que puede pensarse que las diferencias de hormono-dependencia observadas en estos modelos, no relacionadas con la ocupación del receptor con hormona endógena o por mecanismos de regulación de receptor por los niveles hormonales, puedan ser explicadas por cambios endocrinos más complejos ocurridos en el animal íntegro a consecuencia de las manipulaciones endocrinas. Sin embargo, hay que empezar a tener presente la posible existencia de formas distintas del mismo receptor, al menos en su capacidad funcional, en base al reciente hallazgo de POWELL y HOLLANDER (1978) quienes han demostrado la posible existencia de una forma de receptor que liga PRL de manera irreversible.

Dada la repercusión de estos hallazgos para su extrapolación al tumor humano, especialmente en cuanto a la dependencia a PRL y fallos de respuesta a ovariectomía se refiere, merece la

pena repasar la evidencia existente por la cual no regresan tras la castración los tumores de mama dependientes en su crecimiento de un tumor hipofisario secretor de PRL. El fallo de respuesta en tumores con alto contenido de RE puede explicarse teóricamente por defectos a nivel de la maquinaria genética celular: a) receptores defectivos que no sufren transformación o translocación, b) incapacidad del complejo hormona-receptor para unirse a la cromatina o c) incapacidad para iniciar la respuesta translacional. Resultados iniciales de HOLLANDER y DIAMOND (1978) demuestran que los tumores MTW9-MtT poseen la información genética que les induce regresión tras la ovariectomía, dado que la resección del MtT produce la regresión del MTW9, que es mucho más completa cuando se asocia una ovariectomía. Cabe la posibilidad de que el tumor MtT secrete algún factor que inhiba el efecto de la ovariectomía. El modelo MTW9-PD, que regresa tras ovariectomía, presenta un medio ambiente endocrino muy distinto que el MTW9-MtT, incluyendo la posibilidad de una fuente ectópica de estrógenos que suplante el efecto de la ovariectomía, y el fenómeno ya conocido de que estos animales no muestran un ciclo estral normal pues se mantienen en pseudoembarazo y sus niveles de estradiol son bajos (DIAMOND y col. 1977). Así, en el modelo MTW9-PD la administración de ACTH, 17-hidroxiprogesterona, HC, implante de tumor secretor de HC o administración de PRL_o y PRL_b no modifican la respuesta positiva a la ovariectomía, que tan sólo queda abolida por el implante de un nuevo tumor MtT, tras el que se aprecia un nuevo y claro brote de crecimiento.

De gran interés es el hecho de que la administración exógena de PRL_o y PRL_b no inhiben el efecto de la ovariectomía, aunque la corta vida media de la PRL podría hacer pensar que no se alcanzaran niveles tan elevados ni activos como los obtenidos con el tumor MtT, aspecto que posteriormente se comprobó no ser cierto; 2 mgr de PRL_o causan un incremento de la PRL circulante en el rango de los niveles tumorales, y se mantienen durante 8 horas, por lo que puede suponerse que en este protocolo el tumor MTW9-PD regresa tras ovariectomía en un medio altamente hiperprolactinémico,

y que ninguna de las sustancias secretadas por el MtT administradas independientemente son capaces de reproducir el efecto del tumor biológicamente activo. No parece tampoco posible que combinaciones hormonales, incluyendo la insulina, reproduzcan el efecto del tumor, aunque alguna de ellas no puede ser definitivamente eliminada (DIAMOND, KHAN, KOPRAK y HOLLANDER 1978).

Pero, además, de estos efectos puramente de acción indirecta, los estrógenos y la progesterona pueden ejercer otras acciones a nivel del medio ambiente celular. Así, el estradiol incrementa la angiogénesis de los tumores implantados, lo que puede justificar su necesidad durante los primeros momentos del crecimiento, y la progesterona puede producir un efecto inmunosupresor. Por otra parte, el tumor mamario puede ser un tumor célula-hormonalmente heterogéneo, por lo que una maniobra endocrina puede sólo suprimir las células dependientemente de esa hormona, e incluso dejar en libertad las no dependientes de ella para crecer en un ambiente más seleccionado, permitiéndose el eventual y gradual desarrollo hacia la hormono-selección y hormona-independencia; es el concepto introducido con la teoría de la mutación-selección de hormono-dependencia propuesto por PASTEELS, HEUSON-STIENNON, DANGUY, LEGROS y HEUSON (1978).

Como resumen, y en base a todo lo expuesto, puede plantearse a nivel del carcinoma mamario un modelo interhormonal de control de receptor que incorpora las supuestas interacciones entre esteroides y polipéptidos, y en el cual el receptor de PRL parece ser un punto crucial de acción (Fig. 13). El modelo comprendería:

A) Insulina: a través de su receptor incrementa o mantiene el de PRL, y participa directa o permisivamente en el control del crecimiento.

B) PRL: bajo la influencia secretoria de los estrógenos, y actuando sobre su receptor, estimula el crecimiento del tumor mediante la síntesis de los RE, y regulando sus propios niveles de receptor.

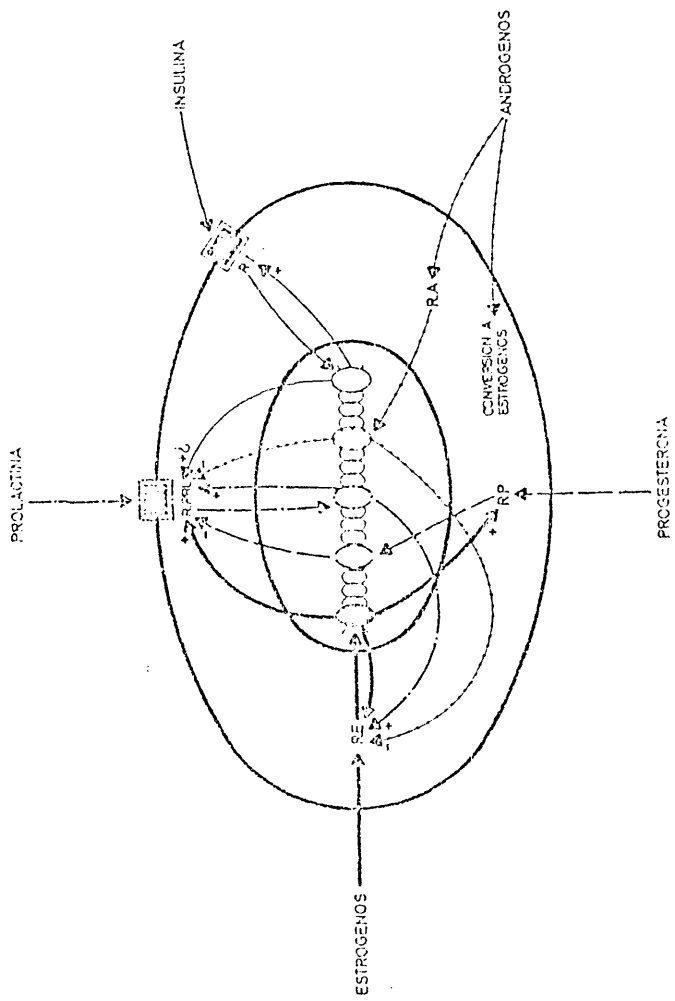


FIG. 13

MODIFICADO DE COSTLOW / MCGUIRE (1979)

C) Estrógenos: regulan el nivel de los receptores de progesterona (WATSON, MEDINA y CLARK 1979) y, aunque, no está claro el mecanismo, parece que influenciaría los de prolactina (ASSELIN, KELLY, CARON y LABRIE 1977).

D) Progesterona: a través de su receptor puede estimular directamente el crecimiento, hacerlo mediante acciones permisivas y modificar, disminuyendo, el receptor de PRL.

E) Andrógenos: pueden disminuir el número de los RE y R-PRL, interfiriendo el efecto periférico de la hormona endógena. Además, podrían tener otros efectos merced a su capacidad de conversión, junto a DHAE, a estrógenos (ADAMS y CHANDRA 1977 ; ADAMS 1977).

Por último, hay que resaltar los recientes hallazgos de HORROBIN y col. (1977) sobre las hipotéticas interrelaciones a nivel de receptor entre la hormona y los mediadores hormonales, especialmente las PGs. Basado en que los mecanismos de regulación del crecimiento y lactación pueden ser mediados por sistemas diferentes, incluso en el tumor, y en el efecto cooperador de algunos esteroides (progesterona) y PRL en la síntesis de DNA, plantean que el mecanismo de regulación del crecimiento es altamente complejo, intentando buscar una interpretación a los hechos mencionados en el esquema de COSTLOW y MCGUIRE.

Para todo ello, partiendo del hallazgo de FUNDER (SUTHER, PRESSLEY y FUNDER 1976) de que los receptores para esteroides contienen un sitio activo y uno alostérico sin la ocupación del cual el primero no puede expresarse, proponen la hipótesis de que la PGE₁, y por tanto la PRL, ocupa un lugar central en la unión al punto alostérico y en la activación de los RE: el RE nativo contiene un lugar inactivo para ligar estradiol a bajas concentraciones y otro para ligar PGE₁, punto en el que competirían la progesterona y el estradiol a altas concentraciones. Una vez activado el punto alostérico el receptor de estradiol quedaría activado y podría ligar estrógenos a bajas concentraciones; por el contrario, altas

concentraciones de estradiol harían que éste se uniera al punto alostérico lo que actuaría como una señal para inactivar el punto de unión a estrógenos y, por tanto, el receptor. La progesterona, uniéndose al lugar de la PGE1, imitaría el efecto de ésta en vez de bloquearlo.

El RP funcionaría de manera semejante. El lugar alostérico uniría la PGE1 con gran afinidad, y el estradiol con baja afinidad. La PGE1, unida a su punto, activa el de progesterona y, por tanto, el receptor. Los estrógenos a altas concentraciones pueden unirse al centro alostérico manteniendo inactivo el punto progesterona e inactivando el receptor.

Esta hipótesis explica la estimulación de la síntesis de lactosa por PRL y su bloqueo por progesterona, el sinergismo de PRL y progesterona sobre el crecimiento, el sinergismo de dosis bajas de estrógenos y el antagonismo de dosis altas sobre el efecto estimulador del crecimiento ejercido por PRL, y el efecto de PRL induciendo la aparición de los RE.

9G) Prolactina y Carcinoma de Mama Humano

9G-1) Correlaciones y diferencias entre los modelos experimentales y el tumor humano.

Es importante conocer de que manera los modelos experimentales se aproximan a las características del tumor humano, debiendo de considerarse al menos cuatro aspectos entre los tumores del ratón, la rata y la mujer; a) genéticos, b) del propio tumor, c) efectos hormonales, ocupándonos aquí de lo que a PRL se refiere, y d) factores etiológicos implicados en el desarrollo tumoral. (Tabla VII).

El modelo de ratón con tumor espontáneo utiliza cepas puras, generalmente el tipo C3H, que tienen la ventaja de ser genéticamente homogéneas. Aunque los resultados experimentales del ratón son altamente comparables, la información obtenida debe de ser

TABLA VII

CARACTERISTICAS DE LOS TUMORES DE MAMA DEL RATON, RATA Y HUMANOS

<u>ASPECTO</u>	<u>RATON C3H</u>	<u>RATA S.D.</u>	<u>HUMANO</u>
Especie genética	Pura	No pura	No pura
Característica del tumor	<p>Espontáneo</p> <p>Raramente metastatiza</p> <p>N.A.H. pretumoral</p> <p>Alveolar</p> <p>NAH hormono-dependiente; tumor hormono-independiente</p>	<p>Inducido por DMBA</p> <p>Raramente metastatiza</p> <p>-</p> <p>Alveolar</p> <p>80% hormono-dependiente</p>	<p>Espontáneo</p> <p>Metastatiza</p> <p>¿Lesión precancerosa?</p> <p>¿Ductal?</p> <p>40% hormono-dependiente</p>
PRL	<p>Luteotrópica</p> <p>Los estrógenos incrementan la PRL</p>	<p>Luteotrópica</p> <p>Los estrógenos incrementan la PRL</p>	<p>No probable efecto luteotrópico</p> <p>¿Los estrógenos incrementan la PRL?</p>
Factor etiológico	<p>Viral</p> <p>Predisposición en múltiparas</p> <p>Incremento tumoral por dieta grasa</p>	<p>Carcinógeno</p> <p>El embarazo estimula el tumor preexistente</p> <p>Inducción incrementada por dieta grasa</p>	<p>Viral?</p> <p>El embarazo precoz protege, tardío incrementa el riesgo.</p> <p>Asociación en incidencia tumoral, consumo grasa.</p>

considerada relevante sólo para aquellas especies de ratón. El ejemplo más claro sobre este punto es la extensa variación en la susceptibilidad hacia los tumores mamarios en las diferentes cepas de ratones. La cepa de ratas SD, la más extensamente utilizada para el estudio de los tumores mamarios, no es genéticamente homogénea y proporciona una población muy variable; por tanto, las diferencias de animal a animal pueden afectar la naturaleza y el crecimiento para cada forma de tumor.

Algunas características de los tumores del ratón y de la rata parecen estar muy distantes de lo que ocurre en el humano. Por ejemplo, el tumor de mama de los roedores es de origen alveolar (FURTH 1972), mientras que el tumor humano se ha reconocido tradicionalmente como originado en el sistema ductal. Además, los tumores del ratón y la rata raramente metastatizan (McMAHON, COLE y BROWN 1973; PEARSON, MURRAY y MOZAFFARIAN 1972) aunque pueden alcanzar tal crecimiento que maten al animal. Los tumores mamarios del ratón son precedidos por el desarrollo del nódulo alveolar hiperplásico, habiéndose sugerido en el humano un posible paralelismo tras los resultados de WELLINGS y JENSEN (1973), quienes comunicaron la presencia de estructuras semejantes a lóbulos hiperplásicos y focos precoces de carcinoma ductal "in situ" en los ductus terminales y en los lóbulos de tejido mamario humano, cambios hiperplásicos mucho más frecuentes en las mamas con tumor que en aquellas que no lo presentaban. Ello les ha permitido plantear la hipótesis de que el tumor humano, de forma semejante al murino, puede hacer de estructuras semejantes a nódulos hiperplásicos; además, sugieren que la multiplicación de las células neoplásicas en la unidad lóbulo-ducto terminal permite una distensión lobular y un desplegamiento, con obliteración de la arquitectura lobular normal, que hace difícil identificar el origen de las células en los ductos terminales o en los lóbulos. Es, pues, posible que los tumores humanos procedan de la progresión de nódulos hiperplásicos al igual que el carcinoma murino.

Los tumores de roedores tienen diferentes respuestas a las manipulaciones hormonales. Ya hemos visto que el nódulo alveolar

hiperplásico, pero no el tumor ya desarrollado, es dependiente de la deprivación hormonal; en la cepa SD el tumor inducido por DMBA regresa en un 80% tras la ovariectomía, y en proporciones distintas tras otros tratamientos hormonales. Por otra parte, alrededor del 40% de los tumores de la mujer regresan tras terapéuticas endocrinas, ya ablativas o aditivas. La prolactina es la hormona principal en la estimulación de los nódulos hiperplásicos del ratón, y en el crecimiento del tumor mamario de las ratas, pero hay que tener en cuenta que aunque las acciones de la PRL son muy similares en los roedores en los humanos no son idénticas, como quedó expresado al revisar los aspectos fisiológicos de la hormona que nos ocupa.

Los tumores mamarios del ratón se han asociado a una etiología viral, mientras que los DMBA son tumores inducidos químicamente. Los tumores humanos parecen tener un origen espontáneo, existiendo importante evidencia de un origen viral. Pero los carcinógenos químicos pueden inducir la aparición de virus oncogénicos, y las hormonas también se han asociado con un efecto virogénico.

El embarazo precoz de la mujer se ha asociado con un riesgo disminuido de carcinoma mamario, mientras que el embarazo tardío se acompaña de una mayor incidencia de neoplasias mamarias. Comparando estos resultados con aquellos de los tumores inducidos químicamente, en los cuales el tiempo de transformación maligna está bien definido, es posible extrapolar que la transformación bioquímica del epitelio mamario ocurre posiblemente en la primera década después de la menarquía. Se ha demostrado también en el tumor DMBA de la rata SD que estos animales son más susceptibles al efecto del carcinógeno a edades entre los 28 y 60 días, período que corresponde a la prepubertad y al desarrollo puberal de la glándula mamaria. También se ha demostrado que el incremento de ciertas hormonas antes de la administración del carcinógeno disminuye el grado de incidencia tumoral, mientras que este incremento después de administrar el carcinógeno

produce un crecimiento aumentado. Análogamente con estas observaciones, el embarazo precoz puede producir un incremento de niveles hormonales que ocurren antes de que la transformación neoplásica tenga efecto, siendo un factor protector para la oncogénesis mamaria; por el contrario, estos aumentos hormonales tras embarazos tardíos pueden ser capaces de estimular el crecimiento de aquellas células ya biológicamente transformadas pero no desarrolladas.

Mujeres que habitan en países con un gran consumo de grasa presentan un riesgo incrementado de padecer cáncer de mama (McMAHON, COLE y BROWN 1973; DRASAR e IRVING 1973). Aunque no se ha encontrado una relación directa entre su consumo y la incidencia individual de tumores, ya sabemos que la dieta rica en grasas incrementa en las ratas los niveles de PRL (COHEN, DIDATO y CHAN 1974) y la inducción de tumores mamarios por DMBA, implicando que la prolactina puede ser un factor que medie esta frecuencia tumoral incrementada. Manteniendo esta hipótesis están las observaciones de que la inhibición de la secreción de PRL produce una abolición de este riesgo incrementado.

En resumen, que aunque los modelos experimentales y humanos no son totalmente superponibles existen datos en estos primeros que sugieren, al igual que ocurre en ellos que la PRL, y otros péptidos hipofisarios, pueden estar muy directamente implicados en la tumorigénesis humana. Dado que desde hace algunos años se dispone de métodos sensibles para la determinación de hormonas hipofisarias es lógico revisar lo que, en el momento actual, se conoce sobre su influencia en el carcinoma de mama humano.

9G-2). Pruebas a favor de la repercusión de prolactina sobre la aparición y evolución del carcinoma de mama humano.

9G-2a) Efecto de la hipofisectomía. Es un hecho bien conocido que la hipofisectomía en humanos produce un importante grado de remisión en la evolución del carcinoma metastásico, aunque sus cifras

son muy variables, siendo más altas para aquellas enfermas premenopáusicas que respondieron a la castración (KENNEDY y KIANG 1972), y para las postmenopáusicas que obtuvieron mejoría objetiva tras la administración de estrógenos y/o andrógenos. Pero sus cifras son también dependientes de la técnica de destrucción hipofisaria empleada (ROBIN y DALTON 1977) por lo que los resultados finales, y su interpretación en cuanto a respuesta endocrina, son aún difíciles de valorar, viéndose complicado por la repercusión que sobre otras glándulas pueda ejercer la supresión de la hipófisis (FOTHERBY y JAMES 1974).

Por otra parte, la sección del tallo hipofisario en el humano, con la consiguiente hiperprolactinemia, ha sido capaz de inducir remisiones, acercando, al menos teóricamente, el modelo experimental a la observación clínica humana, aunque plantea la paradoja de la obtención de un mismo efecto con dos técnicas completamente diferentes; de todos modos no todas las pacientes con hiperprolactinemia por sección del tallo hipofisario presentan remisiones clínicas de la enfermedad (TURKINGTON 1972)^a.

9G-2b) Determinaciones plasmáticas. Los estudios "in vivo", determinando las concentraciones hormonales, han aportado resultados contradictorios. Junto a comunicaciones de enfermas con carcinoma metastásico que han mostrado valores elevados respecto a pacientes libres de enfermedad (MURRAY, MOZAFFARIAN y PEARSON 1972; ROLANDI, BARRECA, MASTURZO, POLLERI, INDIVERI y BARABINO 1974), otros autores como BOYNS, COLE, GRIFFITHS, ROBERTS, BUCHAN, WILSON y FORREST (1973), WILSON, BUCHAN, ROBERTS, FORREST, BOYNS, COLE y GRIFFITHS (1974), SHETH, RANAVIDE, SURAIYA y SHETH (1975) o FRANKS, RALPHS, SEAGROAT y JACOBS (1974), a pesar de encontrar cifras basales elevadas, han comunicado la no correlación entre los niveles séricos de PRL y la presencia o ausencia de tumor mamario, o bien observan concentraciones a menudo normales no pudiendo relacionar las variaciones plasmáticas respecto a la evolución clínica (GORINS y NETTER (1974)).

KWA, De JONG-BAKER, ENGELSMAN y CLETON (1974), KWA, CLETON, De JONG-BAKKER, BULBROOK, HAYBARD y WANG (1976), y HENDERSON, GERKINS, ROSARIO, CASAGRANDE y PIKE (1975) comunican que aunque no puede establecerse una correlación con los niveles séricos de PRL de pacientes con o sin enfermedad, aquellas mujeres que presentan una historia familiar de neoplasias mamarias muestran cifras más elevadas de PRL circulante, MITTRA, HAYWARD y McNEILLY (1974) tampoco encuentran correlación con los niveles plasmáticos pero observan una mayor reserva hipofisaria de PRL, tras estímulo con TRH, en mujeres con carcinoma avanzado respecto a mujeres sin enfermedad, sin apreciar tampoco ninguna diferencia según el grado de precocidad o evolutividad diagnóstica. Por otra parte, HILL, WINDER, KUMAR, HELMAN, RONA y KUNO (1976) observan concentraciones elevadas de PRL en mujeres ovariectomizadas antes de los 35 años de edad, y en aquellas cuyo primer embarazo ocurrió después de esa edad, aportando evidencia al hecho ya comentado de la disminución del riesgo tras la ovariectomía e incremento por el embarazo tardío (McMAHON, COLE y BROWN 1973), estableciéndose una nueva paradoja respecto a dos situaciones completamente opuestas que muestran cifras igualmente elevadas de hormona.

En paciente con procesos mamarios benignos se ha comunicado la presencia de concentraciones elevadas de PRL circulantes respecto a sus controles (COLE, SELLWOOD, ENGLAND y GRIFFITHS 1977), así como la capacidad de estimularse la síntesis de DNA por LPh (WELSCH y McMANUS 1977), lo que no se consigue con HC (WELSCH, DOMBROSKE y McMANUS 1978), aunque no puede establecerse una relación causal de su papel como posible proceso preneoplásico.

Frente a los trabajos iniciales comentados en los que no se apreciaba una clara correlación entre los niveles de PRL y la presencia de tumor mamario, existen algunos trabajos en la literatura en los que se indican la existencia de concentraciones elevadas de PRL. McFADYEN, PRESCOTT, GROOM, FORREST, GOLDER, FAHMY y GRIFFITHS (1976) en un estudio sobre 6 postmenopáusicas con distintos tumores evolucionados indican que, aunque en el rango

control, los niveles de PRL, testosterona y estradiol fueron mayores en las pacientes con cáncer. OHGO, KATO, CHIHARA e IMURA (1976) han indicado claras elevaciones ocasionales y COLE, ENGLAND, SELLWOOD y GRIFFITHS (1976) comunican que las pacientes mastectomizadas tienden a presentar concentraciones más elevadas de PRL, especialmente durante la fase folicular y tiempo preovulatorio. WILLIS, LONDON, WARD, BUTT, LYNCH y RUDD (1977), utilizando un rígido protocolo de control terapéutico con tamoxifen en carcinoma metastásico, comunican que 18 de 45 enfermas presentaron concentraciones elevadas de PRL.

Recientemente SLATOPOLSKY, WILDER y MEDICI (1978) han comunicado niveles más elevados de enfermas premenopáusicas y postmenopáusicas (aunque éstas a un nivel inferior) que sus respectivos controles, así como niveles más altos en aquellas enfermas con tumores en estadios avanzados. KOBAYASHI, SAITO, y NAGAI (1978) comunican, por otra parte, valores más elevados en enfermas con tumor, especialmente en premenopáusicas; en un estudio posterior amplían los resultados iniciales y observan que el 60% de las premenopáusicas, 40% de menopáusicas y 40% de postmenopáusicas presentan cifras elevadas, después de descartar las posibles elevaciones inespecíficas, indicando que estas cifras elevadas pueden tener una relevancia clínica y ser consecuencia de la presencia del tumor, aunque no observan correlación con el tamaño tumoral (NAGAY, KATAOKA, KOBAYASHI, ISHIHARA, TOBIOKA, NAKASHIMA, NARUSE, SAITO y SAKUMA 1979).

Hay que citar aquí dos estudios cuya importancia aún no ha sido aclarada. HOLTZMAN, STONE y SHELLBERGER (1979) han descrito dos tipos distintos de células de PRL en ratas SD o ACY tratadas con estrógenos, siendo uno de estos tipos células hipertróficas en las que no se indica su grado de secreción de PRL, y HYMER, SNYDER, WILFINGER, BERGLAND, FISHER y PEARSON (1976) describen en hipófisis humanas otros dos tipos celulares definidas como normales o hipertróficas, representando estas últimas un "pool" mayor en las enfermas con cáncer de mama, y presentando una marcada

capacidad para secretar PRL "in vitro" respecto a las células normales, aunque este efecto puede ser postterapéutico dado que, al parecer, existieron tratamientos previos con andrógenos.

Son pocos los estudios realizados sobre las modificaciones de secreción a lo largo de las 24 horas del día en enfermas con cáncer de mama, recojiéndose tan sólo un trabajo de MALARKEY, SCHROEDER, STEVENS, JAMES y LANESE (1977) en el que, además, estudiaban el ritmo circadiano de PRL, hallando como resultado significativo una discrepancia de la secreción nocturna no descrita hasta entonces; mientras que las enfermas postmenopáusicas con cáncer presentan una concentración nocturna disminuída, las premenopáusicas en fase luteal presentan cifras mucho más elevadas que los controles, descendiendo a valores normales al año de practicada la mastectomía.

9G-2c) Efecto de las Drogas Supresoras y Estimuladoras de la secreción de PRL, y efecto de la Cirugía Endocrina. La administración de drogas supresoras de PRL a pacientes con carcinoma mamario también ha aportado resultados conflictivos. MURRAY, MOZZAFARIAN y PEARSON (1972) comunican una mínima mejoría en dos de siete pacientes con carcinoma metastásico tras la administración de L-DOPA sólo, no mejorando el número de remisiones por la administración combinada de estrógenos (STOLL 1972). FRANTZ, HABIF, HYMAN, SUH, SASSIN, ZIMMERMAN, NOEL y KLEINBERG (1973) comprobaron que el principal problema terapéutico con L-DOPA residía en la corta duración de su efecto, requiriéndose dosis cada dos horas por lo que se produce un gran espaciamiento en las dosis nocturnas no obteniéndose una adecuada supresión de los niveles de PRL. ROZENCWIG, HEUSON, BILA, L'HERMITE y ROBYN (1973) trataron siete pacientes postmenopáusicas con L-DOPA y estrógenos durante dos meses obteniendo tres remisiones objetivas.

DICKEY y MINTON (1972), trabajando con las mismas dosis que FRANTZ y col. (1973), comunicaron la mejoría espectacular de

los dolores óseos en dos pacientes con carcinoma metastásico, reapareciendo aquél a las pocas horas de la supresión de la droga. En 1973 MINTON y DICKEY, en base a sus resultados, proponen que la L-DOPA puede utilizarse como test discriminativo para el tratamiento hormonal ablativo, comunicando en un estudio posterior (MINTON 1974) los resultados sobre un total de 30 pacientes, con 10 casos de positividad y remisión terapéutica. Sin embargo, este estudio no aclara la utilidad discriminativa del método, dado que el efecto beneficioso de la L-DOPA también podría haberse ejercido a otro nivel, y no sólo reduciendo las concentraciones de PRL: antagonismo periférico del efecto de PRL (FRIESEN, GUYDA y HWANG 1972), o modificaciones del sistema inmune (PAPAIOANNOU 1972).

El tratamiento con CB154 tampoco ha aportado resultados convincentes. Mientras SCHULZ, ZCYGAN, DEL POZO y FRIESEN (1973) comunican mejoría objetiva con inducción de remisión, HEUSON, COUNE y STAQUET (1972) no obtienen ningún resultado significativo. La droga ha sido investigada por el grupo cooperativo del cáncer de mama de la E.O.R.T.C. (1972, 1972). En un trabajo inicial, a dosis de 15 mg/día/6 semanas, no observan ninguna remisión en una serie de 20 pacientes, y en otro ensayo con otro inhibidor de la secreción de PRL, el CG-603, a dosis de 2 gr/día/6 semanas, observan una remisión sobre 23 enfermas postmenopáusicas con cáncer avanzado.

En una reciente comunicación SARFATY, TALLIS, MURRAY, PITT, GARDNER y LEPPARD (1977) estudian los niveles de PRL tras ovariectomía o suprarrenalectomía; además de comprobar un mayor nivel de PRL en enfermas premenopáusicas respecto a las postmenopáusicas, observan como ambos grupos afectados de tumor de mama presentan cifras más elevadas que sus respectivos controles, o que enfermas con otros tipos histológicos de tumor. Tras terapéutica ablativa en carcinoma metastásico aprecian dos patrones distintos: tras la ovariectomía los niveles de PRL caen rápidamente en las enfermas que responden, alcanzando el límite más

bajo hacia los cuatro meses, mientras que las que no responden muestran un descenso mucho menor; tras adrenalectomía se aprecia un incremento inicial, que alcanza los máximos niveles hacia los tres meses, para descender gradualmente en ambos grupos, pero las enfermas que preoperatoriamente muestran cifras más altas presentan un descenso menor sin objetivarse respuesta tras la cirugía endocrina mayor.

Se ha realizado alguna comunicación epidemiológica sobre la incidencia de carcinoma mamario en mujeres que toman drogas capaces de estimular la secreción de PRL. ARMSTRONG, STEVENS y DOLL (1974), HEINOMEN, SHAPIRO, TOUMIEN y TURUNEN (1974), JICK, SOLONE, SHAPIRO, HEINOMEN, HARTZ, MIETTINEN, VESSEY, LAWSON y MILLER (1974) y WILLIAMS, FEINLEI, CONNOR y STEGENS (1978) aportan datos estadísticos sugestivos de que las mujeres tratadas crónicamente con reserpina presentan un riesgo de 2 a 6 veces más alto de padecer un tumor de mama. Sin embargo, estos resultados no han sido comprobados (LASKA, SIEGEL, MEISNER, FISCHER y WANDERLANG 1975; MACK, HENDERSON, GERKINS, ARTHUR, BAPTISTA y PIKE 1975; O'FALLON, LABERTHE y KURLAND 1975). WAGNER y MANTEL (1978) no han observado tampoco relación entre la incidencia de cáncer mamario y el tratamiento crónico con neurolépticos en una amplia población de enfermas psiquiátricas.

9G-2d) Estudios "in vitro". Se han realizado estudios "in vitro" con el fin de evaluar el papel de la PRL en la tumorigénesis del carcinoma mamario humano. La utilización de la vía pentosa-fosfato, así como la identificación histoquímica de esta actividad, ha sido utilizada por el grupo de Westmister para identificar la dependencia hormonal del tumor humano. SALIH, FLAX, BRANDER y HOBBS (1972) y HOBBS, De SOUZA, SALIH y RAGGAT (1974) comunicaron que 16 de 50 tumores humanos crecieron en cultivo de órgano durante 24 horas y respondieron positivamente a la estimulación con PRL, incrementando la actividad de la vía pentosa-fosfato. MASTERS, SANGSTER y SMITH (1976) y MASTERS, SANGSTER, SMITH y

FORREST (1976) no han sido capaces de reproducir los hallazgos de este grupo, observando tan sólo un incremento de la vía pentosa en tres de 128 tumores en una comunicación, y en 10 de 83 en otra. Sin embargo, han trabajado con concentraciones mucho más altas que las fisiológicas (entre 1 y 10 mcg/ml), en contraste con las dosis fisiológicas utilizadas por el grupo de Westminster. A conclusiones similares han llegado BEEBY, EASTY, GAZET, GRIGUR y NEVILLE (1975).

WILSON y CARR (1975) encuentran que el 44% de 80 tumores muestran alguna evidencia de dependencia a prolactina, e identifican una importante fuente de error técnico cual es las variaciones en el grosor de las muestras de tejido cultivados, apreciándose diferencias aparentes incluso en muestras procedentes del mismo tumor. ASPEGREN (1976) comunica algunos efectos de altas concentraciones de hormonas sobre la incorporación de timidina al DNA, aunque con poca consistencia de sus resultados. DILLEY y KISTER (1975) también estudiaron la síntesis de DNA y las figuras de mitosis en tejido mamario normal, apreciando que en ausencia de hormona se produce un escaso número de mitosis o de incorporación de precursores a la molécula de DNA. La insulina sólo causa un incremento de 4 veces el observado en la cifra basal, y la PRL_o no produce un efecto mayor que el que se obtiene con PRL_h y LPh, quienes causan un incremento del 40%.

Varios grupos han trabajado con células aisladas. BUEHRING y WILLIAMS (1976) encuentran que las células procedentes de tumores mamarios se dividen más lentamente que las células procedentes de tejido normal, aunque no refieren el efecto de la adición de hormona al medio de cultivo. LIPPMAN, OSBORNE, KNAZEK y YOUNG (1977) estudiaron 7 líneas de células procedentes de tumores humanos no encontrando ninguna con receptores de prolactina o respuesta a la hormona. MIODUSZEWSKA, KOSZAROWSKI y GORSKI (1968) comunicaron que los cultivos de órganos procedentes de tumores humanos tratados con PRL_o respondían con un significativo incremento de la proliferación celular; 21 de 37 carcinomas

crecieron en cultivo celular y 13 de 20 lo hicieron en cultivo de órganos en respuesta a la hormona. Conclusiones similares han sido comunicadas por KLEVJER-ANDERSON y BUEHRIN (1976).

WELSCH, CALAF de ITURRI y BRENNAN (1976) comunican que la adición de PRL_o a cultivo de órganos de carcinoma de mama humano produce una estimulación muy significativa de la incorporación de timidina a DNA en sólo una fracción muy pequeña de las muestras estudiadas. El efecto estimulador de PRL_o y HCo sobre el crecimiento de cultivo de órganos de displasias mamarias benignas humanas y de tejido ductal normal ha sido comunicada por CERIANI, CONTESSO y NATAP (1972). DILLEY y KISTER (1975) confirman y amplían estos resultados, demostrando que el tejido mamario normal que crece en cultivo de órganos no es estimulado por PRL_o pero sí por PRL_h y LPh.

Recientemente LIPMAN, OSBORNE, KNAZEK y YOUNG (1977) han comunicado que el estradiol puede estimular algunos tumores humanos en cultivo celular en ausencia de PRL, aunque su mecanismo de acción no está claro dado que el tamoxifen inhibe estas células con la aparente ausencia de estrógenos, y LEUN (1978), trabajando con la línea CAMA 1 procedente del líquido pleural de una metástasis pulmonar humana, ha comunicado por primera vez que la PRL tiene un efecto mitogénico en tumores humanos.

La posibilidad de medir productos específicos de secreción tras el efecto hormonal ha permitido aportar nuevos datos al conocimiento del efecto de PRL "in vivo", y en cultivo tumoral, aunque los resultados han sido contradictorios o, mejor, no regidos por un patrón común. Trabajando con α -lactoalbúmina QASBA y GULLINO (1977) observan una distinta respuesta tras el trasplante hipofisario en tumor DMBA (aumento), tras administrar dimetilnitrosurea (disminución), o en distintas cepas de tumor trasplantado (no modificación), y KLEINBERG, TODD y GROVES (1977), en cultivos humanos, aprecian un distinto contenido en varias muestras observadas. Algo similar ocurre con la determinación de

caseína. NARDICCI y McGUIRE (1977) observan que la PRL estimula el mRNA que rige la síntesis de caseína, pero no el de lactoalbúmina, en tumor R3230AC, y MONACO, BRONZERT, TORMEY, WAALKES y LIPPMAN (1977) observan, en tumor humano en cultivo y en plasma, modificaciones inconstantes que hacen perder validez al ensayo. De todos modos la determinación de estos marcadores plantean nuevamente el problema de las peculiaridades individuales de cada tumor, y la dificultad de interpretación de resultados cuando se valora el efecto de una sola hormona fuera de su medio ambiente endocrino. IP y DAO (1978) piensan que en la mayoría de los casos el código genético para estas proteínas tejido-específicas no es expresado como resultado de la transformación maligna.

Falta por comprobarse lo que es capaz de aportar la determinación de lactoferritina que parece también íntimamente relacionada con el efecto de PRL en cultivo tumoral (GREN y PASTEUKA 1978), y el significado de una importante comunicación de NORTHRUP, HYMER y BERGLAND (1975) en la que el co-cultivo de tejido mamario normal y neoplásico con hipofisis de mujeres muertas de cáncer de mama o adenomas hipofisarias incrementó constantemente la secreción de PRL de estas muestras, indicando una relación de servomecanismo positivo entre la mama y la hipofisis.

9G-2e) El Receptor de PRL en carcinoma humano. Los estudios del receptor de prolactina en tumores humanos no se han descrito hasta hace muy poco tiempo (HOLDAWAY y FRIESEN 1977), y los niveles de receptor comunicados son mucho más bajos que los apreciados en tumores de ratas: 8 de 41 tumores (20%) ligaron específicamente alrededor de un 1% de PRL- I^{125} , y 20 de 36 tumores primarios mostraron una unión específica entre el 1 y el 5,4%; se ha apreciado alrededor de un 8% de unión inespecífica, no existiendo aún experiencia acumulada para obtener conclusiones de predicción o correlación de respuesta. La constante de

afinidad es semejante a la de los receptores de otros tejidos. MORGAN, RAGGATT, De SOUZA, SALIH y HOBBS (1977) han comunicado que el 27% de tumores humanos muestran actividad de receptor específico y el 64% muestran dependencia a PRL en cultivo.

También se ha estudiado la presencia de R-PRL mediante inmunohistoquímica; 45 de 80 tumores fueron dependientes de PRL en cultivo y 30 de ellos mostraron coloración específica de localización hormonal (De SOUZA, HOBBS, MORGAN y SALIH 1977). En otro estudio el 70% de los tumores mostraron una capacidad mensurable de ligar PRL (STAGNER, JOCHEMSEN y SHERMAN 1977).

KELLY, LABRIE y ASSELIN (1979) han examinado 136 muestras de tumores humanos, primarios y metastásicos, encontrando en un 24% unión específica superior al 1%, y entre 0,5 y 1% en un 21% de tumores, que también refleja una unión específica y permite obtener un total del 50% de tumores sensibles a PRL, al menos teóricamente, por contener receptor de prolactina. En el mismo estudio observan que la HCh compite con la PRL para la unión a su receptor, no observando diferencias de potencial de unión para la PRLh respecto a la PRLo, como habían comunicado DILLEY y KISTER (1975) y SHAFIE y BROOKS (1977). A pesar de las correlaciones interreceptor no han observado correlación entre los niveles de R-PRL, RE y RP.

Por último, SHIU (1979) ha estudiado el contenido de R-PRL en 5 líneas celulares de tumor humano. Todas ellas contenían más receptor que las correspondientes líneas de mama normal, aunque los valores entre las líneas tumorales fué muy variable; además, pudo observar la posibilidad de ligazón de otras actividades lactogénicas como HCh, LPh y PRLo, lo que permite plantear la posibilidad de una necesidad de disminuir los niveles de HCh junto a los de PRL dado que al unirse al receptor de prolactina puede producirse algún efecto biológico.

CAPITULO
=====

TERCERO
=====

CAPITULO TERCERO

10. HIPOTESIS

Una vez revisado el estado actual de la fisiopatología de la PRL y la evidencia existente sobre la influencia de esta hormona hipofisaria en el carcinoma de mama experimental y humano, dos hechos parecen evidentes: a) que los mecanismos de regulación de la secreción de PRL permanecen aún poco aclarados, aunque se conocen básicamente la existencia de un sistema estimulador y otro inhibidor, existiendo además algunos puntos de discrepancia en cuanto a las modificaciones de los niveles circulantes en ciertas situaciones fisiológicas y b) que, mientras en el tumor de mama experimental la evidencia existente apunta hacia un papel primordial de la PRL en su iniciación y mantenimiento, en el humano, por el contrario, los datos publicados al respecto no han hecho nada más que introducir una fuente de controversia al haberse apreciado modificaciones poco precisas o valores normales respecto a los controles. Por otra parte, no parece que se haya realizado un adecuado estudio secuencial pre y postoperatorio, ni se ha valorado correctamente el perfil secretor día-noche, punto de partida para la búsqueda de un posible mecanismo alterativo de su secreción.

Basado en estos dos hechos fundamentales, y buscando el mejor método de ordenamiento respecto a la situación hormonal, he planeado el estudio en humanos objeto de esta tesis que pretende dar una respuesta a las siguientes preguntas:

a). ¿Existe o no alguna modificación de los niveles basales de PRLh en la evolución del carcinoma de mama?.

b). En caso afirmativo, ¿esta alteración es específica y dependiente de la presencia del tumor o es, por el contrario, inespecífica y secundaria a factores de los que se conoce que pueden modificar realmente los niveles de hormona circulante?.

c). En caso de existir alguna modificación y ser dependiente de la presencia del tumor mamario, ¿guarda alguna relación con los mecanismos de disrupción del código genético secundario al prodeso oncogénico, por ejemplo como los implicados en la síntesis de antígenos embrionarios o secreción hormonal ectópica?.

d). ¿Existe alguna modificación del perfil de secreción día-noche que permita sospechar la presencia de una alteración en los mecanismos normales de regulación de la PRL?.

CAPITULO
=====

CUARTO
=====

CAPITULO CUARTO

11. PLANTEAMIENTO

Para responder a las preguntas formuladas en el apartado anterior, he realizado la cuantificación plasmática de PRLh, utilizando junto a ella la determinación de la HCh dadas las similitudes estructurales y, quizás funcionales, la facilidad con que se modifica frente a situaciones "inespecíficas" de stress, y por que es una de las hormonas hipofisarias implicadas en el crecimiento del tumor mamario. Ambas hormonas son estudiadas en dos grandes grupos: A) controles y B) enfermas afectas de carcinoma de mama, incluyéndose en cada uno de ellos dos series distintas correspondientes a las determinaciones basales y las de ritmo circadiano. Ambos grupos (control y tumoral) se han ordenado respecto a los siguientes criterios:

Presencia o ausencia de función menstrual, reagrupándose seguidamente en función del estado sexual.

11 A) Estado Sexual.

a). Fértiles, con función menstrual activa, en las que se estudian separadamente los niveles hormonales durante la fase Follicular y Luteal del ciclo menstrual.

b). Climatéricas, que incluye las determinaciones en premenopáusicas (cuando se sospecha el inicio del fallo ovárico fisiológico) menopáusicas (cuando se ha producido la reciente supresión de los ciclos menstruales) y postmenopáusicas "iniciales" (considerando como tales aquellas que se encuentran en el período de tiempo que va desde la pérdida total de las reglas hasta la abolición total de la función ovárica).

Para definir este grupo he utilizado el criterio oncológico clásico de considerar \pm N años respecto a la edad media de la

menopausia. Es fácil comprender que supone un grupo heterogéneo en el que se incluyen mujeres que aún presentan ciclos menstruales, la mayoría de las veces irregulares, y otras sin función menstrual activa pero sin haber transcurrido más de dos o tres años desde el cese de los ciclos.

No he incluido en este grupo las enfermas ovariectomizadas por considerar que la castración suprime bruscamente toda función ovárica.

c). Postmenopáusicas, que comprende las muestras procedentes de mujeres cuya edad excedía del límite máximo establecido para las enfermas postmenopáusicas iniciales.

11 B). Función Estrogénica Indirecta valorada mediante Frotis Vaginal.

De este modo he pretendido obviar el error introducido por el agrupamiento según la edad, basado en la cierta exactitud que tiene la valoración del frotis vaginal como test de función estrogénica. (BOTELLA LLUSIA 1976). De acuerdo con los patrones fundamentales he considerado 4 grupos:

- a). Frotis claramente Estrogénico.
- b). Frotis debilmente Estrogénico.
- c). Frotis Intermedio de la postmenopausia.
- d). Frotis atrófico de la postmenopausia.

La serie tumoral se ha reordenado además respecto al estadio tumoral tras la separación histológica entre enfermedad benigna y maligna. Para ello he utilizado, dada la mayor facilidad de manejo en los estudios estadísticos, la modificación a la clasificación TNM introducida por el Comité Americano para la Clasificación del Cáncer (HAAGENSEN 1973): Esta clasificación considera los siguientes estudios:

- ESTADIO I: $T_1, N_0, M_0; T_2, N_0, M_0$
- ESTADIO II: $T_1, N_1, M_0; T_2, N_1, M_0$
- ESTADIO III: $T_3, N_0, M_0; T_3, N_1, M_0; T_3, N_2, M_0; T_1, N_2, M_0; T_2, N_2, M_0$, o cualquier combinación de T_1, T_2 , ó T_3 con N_2 y M_0 .
- ESTADIO IV: cualquier estadio clínico con metastasis a distancia (M_1).

En este grupo no he tenido en cuenta el grado de función estrogénica.

11C) Agrupamiento Evolutivo: Para comprobar la posible influencia del tumor mamario sobre los niveles circulantes de PRLh y HCh he determinado nuevamente ambas hormonas tras la extirpación del tumor primitivo, durante las distintas revisiones clínicas, considerando separadamente los valores de las enfermas libres de enfermedad metastásica y de aquellas con enfermedad metastásica clínicamente comprobada.

11 D) La hipotética dependencia entre los niveles de PRLh y el grado de disrupción de la maquinaria genética celular la he evaluado cuantificando, y correlacionando, los niveles de antígeno carcinoembrionario en cada uno de los distintos estadios evolutivos del tumor, previa comprobación de la reproductibilidad del método en una serie de tumores conocidos, y tras la estimación del valor medio normal.

200 013

C A P I T U L O

Q U I N T O

CAPITULO QUINTO

12. MATERIAL

Las mujeres utilizadas en este estudio han procedido del Servicio de Cirugía General 2 (Prof. P. Gómez Fernández) de la Ciudad Sanitaria Provincial.

12 A). Muestras Basales

12 A-1) Controles.

Forman esta serie 36 mujeres seleccionadas entre las ingresadas por procesos quirúrgicos "banales", con límites de edad entre los 20 y 73 años, calculándose la edad media de la menopausia fisiológica en 47 ± 3.5 años.

De ellas, 18 presentaron función menstrual activa y 18 no la presentaron, con edades medias de 37 ± 8 y 59 ± 7 años, respectivamente. Entre las primeras, 10 se consideraron en fase folicular y 8 en fase luteal, con edades medias de 35 ± 9 y 40 ± 6 años, respectivamente.

Respecto al estado sexual la serie se encuentra formada por 12 mujeres fértiles, 9 climatéricas y 15 postmenopáusicas, con edades medias de 33 ± 6 , 47 ± 2 y 61 ± 6 años, respectivamente.

Respecto al tipo de frotis vaginal se estudian 9 mujeres con frotis estrogénico, 9 con frotis estrogénico débil, 5 con frotis intermedio y 13 con frotis atrófico de la postmenopausia, con edades medias de 41 ± 6 , 33 ± 7 , 51 ± 3 y 62 ± 6 años, aunque en esta serie la edad no juega un papel determinante al utilizarse un criterio de ordenamiento basado en un tipo de "autobioensayo funcional".

Los valores que han sido estudiados estadísticamente, así como los atributos individuales de cada elemento de la serie se

resumen en la Tabla VIII.

12 A-2) Tumoraes preoperatorias.

Se compone de 44 enfermas ingresadas para el tratamiento de un carcinoma mamario primitivo. Los límites de edad se hallan comprendidos entre los 29 y 82 años, cifrándose la edad media de la menopausia fisiológica en 49 ± 3 años.

De ellas, 18 presentaron función menstrual regular y 26 no la presentaron, mostrando una edad media de 42 ± 5 y 58 ± 9 años, respectivamente. De las 18 primeras, 11 fueron consideradas en fase folicular y 7 en fase luteal, con edades medias para cada subgrupo de 41 ± 5 y 42 ± 4 años.

Respecto al estado sexual la serie se compone de 16 pacientes fértiles, 5 climatéricas y 23 postmenopáusicas que incluye, además, aquellas enfermas previamente ovariectomizadas. Las edades medias de cada grupo se han cifrado en 41 ± 3 , 49 ± 4 y 59 ± 5 años, respectivamente.

Agrupadas según el frotis vaginal la serie queda compuesta por 7 pacientes con frotis estrogénico, 11 con frotis estrogénico débil, 9 con frotis intermedio y 17 con frotis atrófico de la postmenopausia, con edades medias de 45 ± 4 , 41 ± 5 , 55 ± 5 y 60 ± 10 años.

Respecto al estadio evolutivo del tumor la serie comprende 7 enfermas en estadio I, 13 en estadio II, 17 en estadio III y 7 en estadio IV.

Las características y datos de cada enferma de la serie quedan expresados en la Tabla IX.

TABLA VIII

C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	C ₁₅
ACA	27	13	0	1	7.60	1.40	0	1	1	3	0	1	2	0
AMT	46	14	0	1	7.80	0.90	0	2	1	3	0	1	1	0
BGC	46	14	0	1	7.30	0.90	0	2	1	3	0	1	2	0
CHS	28	13	0	1	7.80	0.90	0	1	1	3	0	1	1	0
COV	33	13	0	2	16.70	1.00	0	1	1	3	0	1	1	0
CRO	31	12	0	1	7.00	1.00	0	1	1	3	0	1	2	0
CSL	33	11	0	2	5.20	0.50	0	1	1	3	0	1	2	0
DND	47	12	0	2	8.50	0.80	0	2	1	3	0	1	1	0
FLH	43	13	0	2	12.50	1.10	0	1	1	3	0	1	1	0
ICR	34	14	0	1	6.20	2.20	0	1	1	3	0	1	2	0
JAG	39	11	0	1	12.70	2.30	0	1	1	3	0	1	1	0
JRD	36	12	0	1	5.00	0.60	0	1	1	3	0	1	2	0
JSV	46	13	0	1	14.00	0.90	0	2	1	3	0	1	1	0
MGM	47	16	0	2	7.50	1.10	0	2	1	3	0	1	1	0
HPG	37	14	0	2	5.20	0.50	0	1	1	3	0	1	2	0
OML	33	18	0	2	6.50	0.70	0	1	1	3	0	1	2	0
PGB	20	12	0	1	7.60	1.20	0	1	1	3	0	1	2	0
PSG	43	13	0	2	16.80	1.50	0	2	1	3	0	1	1	0
ACS	48	13	46	0	2.90	0.50	0	2	0	3	0	1	3	0
ADR	56	14	50	0	2.20	0.20	0	3	0	3	0	1	4	0
AIL	58	14	50	0	2.50	0.60	0	3	0	3	0	1	4	0
BET	50	16	49	0	5.10	1.20	0	2	0	3	0	1	3	0
BSA	67	16	42	0	3.90	0.80	0	3	0	3	0	1	4	0
CFD	69	12	51	0	2.30	0.70	0	3	0	3	0	1	4	0
DFM	55	13	44	0	6.80	0.90	0	3	0	3	0	1	4	0
END	54	11	51	0	7.80	0.40	0	3	0	3	0	1	4	0
IGM	61	14	48	0	3.60	0.10	0	3	0	3	0	1	4	0
JMB	60	13	50	0	5.80	0.40	0	3	0	3	0	1	4	0
JPL	69	13	49	0	8.60	0.50	0	3	0	3	0	1	4	0
JRV	54	13	44	0	8.90	0.90	0	3	0	3	0	1	3	0
NDT	56	15	52	0	5.20	1.00	0	3	0	3	0	1	3	0
NMC	62	13	44	0	4.00	0.70	0	3	0	3	0	1	4	0
NCA	73	14	45	0	9.00	1.00	0	3	0	3	0	1	4	0
OLC	62	11	40	0	4.90	0.60	0	3	0	3	0	1	4	0
RLM	54	14	50	0	2.80	1.50	0	3	0	3	0	1	4	0
TVJ	49	12	47	0	4.20	0.30	0	2	0	3	0	1	3	0

- Serie Control. Muestras basales

TABLA IX

C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	C ₁₅
AMC	43	14	0	1	6.30	0.60	2	1	1	1	0	1	2	0
ANB	34	13	0	1	7.00	0.00	2	1	1	1	0	1	2	0
AVR	44	14	0	2	31.00	0.70	1	1	1	1	0	1	1	0
CAL	45	14	0	2	18.00	0.30	4	1	1	1	0	1	1	0
CSG	40	14	0	2	8.90	0.90	3	1	1	1	0	1	2	0
CSR	41	14	0	2	28.90	2.00	2	1	1	1	0	1	1	0
ENC	44	12	0	1	8.00	0.30	3	1	1	1	0	1	2	0
ESS	43	11	0	1	5.80	4.80	1	1	1	1	0	1	2	0
FNR	37	13	0	2	37.10	1.50	3	1	1	1	0	1	1	0
JSC	44	12	0	1	26.40	0.90	2	1	1	1	0	1	1	0
MDL	44	14	0	1	32.60	1.80	4	1	1	1	0	1	2	0
MLR	41	18	0	1	6.50	1.00	2	1	1	1	0	1	2	0
MMS	43	15	0	1	4.50	0.70	3	1	1	1	0	1	2	0
MFG	43	16	0	1	7.90	0.00	2	1	1	1	0	1	2	0
NAC	40	13	0	2	31.50	1.80	2	1	1	1	0	1	1	0
PHC	49	18	0	1	6.20	0.40	1	2	1	1	0	1	2	0
PMV	51	13	0	2	8.60	0.90	2	2	1	1	0	1	1	0
TUS	29	14	0	1	15.20	2.10	2	1	1	1	0	1	2	0
AAE	62	12	47	0	2.10	0.00	1	3	0	1	0	1	3	0
AAD	79	13	50	0	5.50	0.00	3	3	0	1	0	1	4	0
AGG	68	15	54	0	13.60	0.80	1	3	0	1	0	1	4	0
AGN	47	12	44	0	25.00	0.60	1	2	0	1	0	1	3	0
ALC	53	13	50	0	8.40	0.30	3	3	0	1	0	1	3	0
ASL	60	13	53	0	15.70	0.90	2	3	0	1	0	1	4	0
BRB	55	12	48	0	6.30	0.60	3	3	0	1	0	1	3	0
CBR	57	13	55	0	16.80	0.00	4	3	0	1	1	1	4	1
DBB	52	13	50	0	6.80	1.50	3	3	0	1	0	1	3	0
DMC	54	12	45	0	15.80	0.70	3	3	0	1	0	1	4	0
DNG	68	14	50	0	6.00	0.60	3	3	0	1	0	1	4	0
DRM	45	14	45	0	14.70	0.30	4	3	0	1	1	1	4	1
IFG	82	10	52	0	6.50	0.90	3	3	0	1	0	1	4	0
JUL	58	14	48	0	5.30	0.00	4	3	0	1	0	1	3	0
JMV	61	13	45	0	5.00	0.10	2	3	0	1	0	1	4	0
MAG	51	13	50	0	18.90	0.90	3	2	0	1	0	1	4	0
MRG	60	13	40	0	14.70	1.20	4	3	0	1	1	1	4	1
PGR	50	11	50	0	5.70	0.00	4	3	0	1	0	1	4	1
PLG	47	14	40	0	7.80	0.60	3	3	0	1	0	1	4	1
FRR	55	13	49	0	8.90	0.00	3	3	0	1	0	1	3	0
RRH	51	12	49	0	2.60	1.20	3	3	0	1	0	1	4	0
RSR	49	15	47	0	14.40	1.50	2	2	0	1	0	1	3	0
SGP	63	14	50	0	6.00	0.30	3	3	0	1	0	1	4	0
SML	60	14	50	0	3.00	0.00	3	3	0	1	0	1	4	0
VLG	63	12	47	0	4.20	0.50	1	3	0	1	0	1	4	0
VNE	62	10	57	0	6.30	0.90	2	3	0	1	0	1	3	0

- Serie Tumoral. Muestras basales preoperatorias

12 A-3) Tumorales postoperatorias

Comprende 76 pacientes operadas de carcinoma mamario, controladas a partir de los 6 meses de la intervención, y cuya edad media ha sido de 52 ± 10 años con límites entre los 29 y 82 años.

De ellas, solamente 8 han presentado función menstrual mientras que 68 no la han presentado, diferencia lógica si se tiene en cuenta que muchas de las premenopáusicas o climatéricas han sufrido castración como técnica complementaria al tratamiento quirúrgico, y que el mayor porcentaje de enfermas con carcinoma mamario ya se encuentran en período postmenopáusico. Las edades medias para estos dos grupos ha sido de 42 ± 2 y 54 ± 8 años, respectivamente.

Dado el escaso número de enfermas de la muestra con función menstrual no ha sido posible estudiar las diferencias respecto a las fases del ciclo.

Respecto al estado sexual la muestra se compone de 7 pacientes fértiles, 7 climatéricas y 55 postmenopáusicas, con edades medias de 42 ± 2 , 49 ± 2 y 56 ± 10 años, respectivamente.

El agrupamiento respecto al frotis vaginal ha tenido que modificarse al no existir nada más que 2 pacientes con frotis estrogénico, reagrupándose los frotis estrogénicos y los estrogénicos débiles en uno sólo, modificación realizada también en la serie control y preoperatoria. En ambos la edad media es la correspondiente a las enfermas con función menstrual, no modificándose la de los frotis intermedio y atrófico. Para la serie postoperatoria las edades correspondientes a cada subgrupo han sido de 42 ± 2 , 49 ± 8 y 55 ± 10 años, y los elementos de la muestra 6,19 y 43, respectivamente.

Veinte pacientes con función menstrual y 23 sin ella, han sido estudiadas secuencialmente durante el período pre y postoperatorio, permitiendo la realización de un perfil evolutivo ante la presencia o ausencia de tumor.

Las características individuales de cada elemento de la muestra que compone este apartado se resumen en la Tabla X.

12 B) Muestras del ritmo nictameral

12 B-1) Controles

Esta serie se encuentra formada por 37 mujeres ingresadas y seleccionadas de la misma manera que la serie basal. Los límites de edad se han establecido en 20 y 73 años, con una media de 45 ± 14 y una edad de la menopausia fisiológica de 47 ± 3 años.

De estas 37 mujeres 18 presentaban función menstrual y 18 no la presentaban, incluyéndose aquí una mujer previamente ovariectomizada. La edad media de ambos grupos ha sido de 34 ± 8 y 56 ± 7 años, respectivamente.

De las 18 mujeres con función menstrual 9 se estudiaron durante la fase folicular y 9 durante la luteal, con edades medias de 33 ± 8 y 33 ± 9 años, respectivamente.

Respecto al estado sexual se han estudiado 15 fértiles, 10 climatéricas y 12 postmenopáusicas, con edades medias de 31 ± 7 , 48 ± 3 y 60 ± 8 años, y según el tipo de frotis vaginal 11 mujeres con frotis estrogénico, 9 con frotis estrogénico débil, 8 con frotis intermedio y 9 con frotis atrófico, presentando cada grupo una edad media de 37 ± 8 , 35 ± 9 , 50 ± 5 y 63 ± 7 años, respectivamente.

Las características y los valores hormonales de cada elemento de esta serie se resumen en la Tabla XI.

12 B-2) Serie tumoral.

Comprende un total de 50 enfermas afectas de cáncer de mama en distintos estadios evolutivos, con límites de edad entre los 29 y 80 años y una edad media de 52 ± 11 años. La edad de la menopausia

TABLA X

	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	C ₁₅
CAG	45	14	45	0	9.00	0.00	5	3	0	1	0	2	3	1	
BAE	40	13	0	1	7.90	1.00	5	3	1	1	0	2	2	0	
DAB	52	11	42	0	3.10	1.20	5	3	0	1	0	2	4	0	
RAP	74	11	50	0	1.90	0.60	5	3	0	1	0	2	4	0	
CAC	47	14	45	0	12.00	1.40	5	3	0	1	1	2	1	0	
LES	64	13	47	0	8.40	1.50	5	3	0	1	0	2	4	0	
DBB	52	13	50	0	11.00	0.30	5	3	0	1	0	2	3	0	
JLB	70	14	45	0	5.50	0.00	5	3	0	1	0	2	4	0	
JCG	63	0	0	0	5.70	0.60	5	3	0	1	0	2	4	0	
JCG	63	0	0	0	8.50	0.70	5	3	0	1	1	2	4	0	
DDL	51	14	51	0	7.30	0.60	5	3	0	1	0	2	4	1	
MDL	44	14	44	0	6.50	2.20	5	3	0	1	0	2	3	1	
MDL	44	14	44	0	2.20	2.30	5	3	0	1	0	2	3	1	
NFR	40	12	0	1	5.00	0.80	5	1	1	1	0	2	2	0	
PGR	50	11	50	0	11.00	0.30	5	3	0	1	1	2	3	1	
EGR	49	13	41	0	2.30	0.30	5	2	0	1	0	2	4	0	
JGG	68	14	46	0	1.80	0.70	5	3	0	1	0	2	4	0	
FGM	43	14	43	0	4.40	1.80	5	3	0	1	0	2	4	1	
AGN	47	12	44	0	10.00	0.50	5	2	0	1	0	2	3	0	
FRG	57	13	45	0	2.20	0.30	5	3	0	1	0	2	4	1	
DGS	53	14	49	0	3.50	0.60	5	3	0	1	0	2	4	0	
AGC	59	13	44	0	4.50	0.40	5	3	0	1	0	2	4	0	
AGG	68	15	54	0	9.50	0.50	5	3	0	1	0	2	4	0	
LGM	69	17	59	0	4.20	0.60	5	3	0	1	0	2	3	0	
JGP	63	14	50	0	4.00	0.40	5	3	0	1	0	2	4	0	
HGD	51	13	50	0	7.80	0.60	5	2	0	1	0	2	4	0	
AGA	52	14	48	0	23.10	1.20	5	3	0	1	1	2	3	0	
MHS	49	12	42	0	6.30	0.20	5	2	0	1	0	2	4	0	
DIC	51	14	40	0	1.80	0.30	5	3	0	1	0	2	4	1	
DJR	54	13	51	0	4.00	0.00	5	3	0	1	0	2	3	0	
AJR	30	13	30	0	15.70	0.00	3	3	0	1	0	2	4	1	
JJG	43	13	42	0	11.80	1.80	5	3	0	1	1	2	3	1	
PLE	61	13	51	0	5.00	0.40	5	3	0	1	0	2	4	0	
PLG	47	14	40	0	4.10	1.50	5	3	0	1	0	2	4	1	
GLG	64	13	50	0	7.50	0.80	5	3	0	1	0	2	3	1	
HLG	43	13	43	0	4.70	0.60	5	3	0	1	0	2	4	1	
VLG	63	12	47	0	3.70	0.60	5	3	0	1	0	2	4	0	
ALM	53	13	45	0	7.40	0.60	5	3	0	1	0	2	3	0	
MLV	46	16	46	0	5.00	0.90	5	3	0	1	0	2	4	1	
GMP	58	12	49	0	5.00	1.10	5	3	0	1	0	2	4	0	
DMC	54	12	45	0	10.00	0.60	5	3	0	1	0	2	3	0	
AMC	43	15	0	1	5.00	0.00	5	1	1	1	0	2	2	0	
EML	53	12	42	0	8.20	0.50	5	3	0	1	1	3	4	0	
HCA	49	16	45	0	52.60	1.20	5	2	0	1	1	2	4	0	
SML	60	14	50	0	3.00	0.70	5	3	0	1	0	2	4	0	
IRC	30	14	30	0	1.30	0.30	5	3	0	1	0	2	4	1	
ANS	45	13	45	0	1.20	0.70	5	3	0	1	0	2	4	1	
AHC	45	13	45	0	5.00	0.60	5	3	0	1	1	2	4	1	
HMS	43	15	0	1	1.80	0.60	5	1	1	1	0	2	2	0	
HMS	43	15	0	1	6.00	1.10	5	1	1	1	1	2	2	0	
IMO	55	10	45	0	7.80	1.50	5	3	0	1	1	2	4	0	
JMV	61	13	45	0	1.50	0.20	5	3	0	1	0	2	4	0	
CHH	59	14	48	0	13.10	0.00	5	3	0	1	1	2	3	1	
POF	51	13	47	0	2.00	0.70	5	2	0	1	0	2	4	0	
JFR	67	14	52	0	2.60	0.70	5	3	0	1	0	2	1	0	
EPL	60	13	46	0	5.00	0.40	5	3	0	1	0	2	4	0	
IPJ	82	10	52	0	5.20	1.50	5	3	0	1	1	2	4	0	
CPG	57	14	55	0	3.10	0.40	5	3	0	1	0	2	3	1	
CPG	57	14	55	0	6.00	0.40	5	3	0	1	1	2	3	1	
HRG	50	13	49	0	14.70	1.20	5	3	0	1	1	2	3	1	
ERM	54	12	49	0	3.00	0.30	5	3	0	1	0	2	4	0	
JCC	44	12	0	1	15.40	0.90	5	1	1	1	0	2	1	0	
MCP	42	13	42	0	5.10	1.00	5	3	0	1	0	2	3	1	
CSR	41	14	41	0	6.80	1.20	5	3	0	1	0	2	3	1	
RGR	49	15	47	0	4.30	0.60	5	2	0	1	0	2	3	0	
EWZ	45	11	0	1	4.00	0.70	5	1	1	1	0	2	1	0	
DGN	55	13	48	0	3.50	0.00	5	3	6	1	0	2	4	0	
AGL	60	13	53	0	14.00	0.60	5	3	0	1	1	2	4	0	
HPP	55	12	49	0	3.60	0.70	5	3	0	1	0	2	4	0	
PUR	51	13	50	0	4.00	0.60	5	3	0	1	0	2	4	1	
PUR	51	13	50	0	18.00	0.40	5	3	0	1	1	2	1	1	
HJY	67	14	50	0	7.80	0.00	5	3	0	1	1	2	4	0	
TJY	27	14	27	0	3.00	0.30	5	3	0	1	0	2	4	1	
AYR	44	14	44	0	5.10	0.60	5	3	0	1	0	2	3	1	
CCG	55	13	47	0	3.60	0.30	5	3	0	1	0	2	4	0	
AHS	27	12	27	0	2.50	0.20	5	3	0	1	0	2	3	1	
FMU	42	13	42	0	7.50	0.30	5	3	0	1	0	2	4	1	

- Serie Tumoral. Muestras basales postoperatorias

		VARIA XI																									
		C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	C ₁₅	C ₁₆	C ₁₇	C ₁₈	C ₁₉	C ₂₀	C ₂₁	C ₂₂	C ₂₃	C ₂₄	C ₂₅	
ACV	25	11	0	2	-1.00	-1.00	0	1	1	3	0	1	2	0	9.40	8.90	16.80	13.60	7.60	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
BSA	67	16	42	0	-1.00	-1.00	0	3	0	3	0	1	4	0	3.90	-1.00	10.50	6.30	4.20	1.00	1.00	-1.00	0.00	1.30	1.50	0.80	
CCM	50	15	50	0	-1.00	-1.00	0	2	0	3	0	1	2	0	6.40	-1.00	18.00	24.00	7.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
CCG	46	14	0	1	-1.00	-1.00	0	1	3	0	1	1	0	7.30	-1.00	21.00	27.30	7.80	1.10	1.00	-1.00	-1.00	8.70	1.40	0.90		
CNS	28	13	0	1	-1.00	-1.00	0	1	3	0	1	1	0	7.80	-1.00	21.50	27.30	7.80	0.50	-1.00	-1.00	6.60	3.60	0.90	0.00		
CPB	57	13	51	0	-1.00	-1.00	0	3	0	3	0	1	3	0	4.70	-1.00	12.10	17.80	2.60	0.00	-1.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
CFO	31	12	0	1	-1.00	-1.00	0	1	3	0	1	1	0	7.00	-1.00	26.00	30.00	8.50	1.30	-1.00	-1.00	1.60	1.60	1.40	1.00		
DHP	47	13	44	0	-1.00	-1.00	0	2	0	3	0	1	4	0	6.80	-1.00	15.20	16.30	6.30	0.90	-1.00	-1.00	2.60	1.40	0.90		
DND	55	12	0	2	-1.00	-1.00	0	2	0	3	0	1	1	0	8.50	-1.00	38.00	45.00	8.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
EGA	48	13	48	0	-1.00	-1.00	0	2	0	3	0	1	3	0	8.90	-1.00	12.00	18.00	8.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
ESR	48	13	48	0	-1.00	-1.00	0	2	0	3	0	1	3	0	8.90	-1.00	39.40	45.00	8.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
FGS	36	13	0	1	-1.00	-1.00	0	1	3	0	1	1	2	0	8.90	-1.00	16.30	28.40	9.40	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
GAC	63	14	51	0	-1.00	-1.00	0	3	0	3	0	1	4	0	15.70	-1.00	26.30	28.30	17.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
GES	72	13	44	0	-1.00	-1.00	0	3	0	3	0	1	4	0	6.50	-1.00	14.00	9.00	3.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
IGT	61	12	48	0	-1.00	-1.00	0	1	3	0	1	1	0	3.60	-1.00	11.50	12.60	3.90	0.20	-1.00	-1.00	0.20	0.30	0.10	0.00		
JLC	20	12	0	2	-1.00	-1.00	0	3	0	3	0	1	4	0	22.00	-1.00	30.00	24.00	3.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
JOD	36	12	0	1	-1.00	-1.00	0	2	0	3	0	1	3	0	5.00	-1.00	36.00	40.00	20.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
JQC	44	14	44	0	-1.00	-1.00	0	2	0	3	0	1	3	0	4.40	-1.00	13.40	14.00	3.00	0.60	-1.00	-1.00	3.90	3.20	0.60		
JSD	46	13	0	1	-1.00	-1.00	0	2	0	3	0	1	2	0	14.00	-1.00	15.00	26.00	14.50	1.10	-1.00	-1.00	2.20	2.60	0.90		
NEP	24	12	0	1	-1.00	-1.00	0	1	3	0	1	1	2	0	8.50	-1.00	14.00	24.00	9.60	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
NPT	37	14	0	2	-1.00	-1.00	0	1	3	0	1	2	0	5.20	-1.00	10.00	13.10	15.70	3.60	0.30	-1.00	-1.00	2.50	0.70	0.30		
RDT	56	15	52	0	-1.00	-1.00	0	3	0	3	0	1	3	0	5.20	-1.00	16.30	18.40	7.80	1.00	-1.00	-1.00	1.40	1.90	1.00		
RGC	53	14	47	0	-1.00	-1.00	0	3	0	3	0	1	3	0	7.80	-1.00	14.20	15.70	8.40	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
HGG	30	12	0	2	-1.00	-1.00	0	1	3	0	1	1	0	22.30	-1.00	13.10	42.10	47.30	18.90	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
HGM	35	14	0	2	-1.00	-1.00	0	1	3	0	1	2	0	8.50	-1.00	20.00	25.00	7.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
HGV	15	12	0	2	-1.00	-1.00	0	1	3	0	1	2	0	9.20	-1.00	12.30	14.30	19.40	8.70	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
HNC	62	13	44	0	-1.00	-1.00	0	3	0	3	0	1	4	0	4.00	-1.00	20.00	20.00	4.00	0.60	-1.00	-1.00	2.50	1.20	0.70		
HPC	50	14	0	2	-1.00	-1.00	0	2	0	3	0	1	3	0	10.50	-1.00	15.20	23.60	8.40	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
HRC	50	14	47	0	-1.00	-1.00	0	2	0	3	0	1	3	0	7.80	-1.00	17.40	12.00	8.40	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
HVG	15	10	45	0	-1.00	-1.00	0	1	3	0	1	1	0	7.00	-1.00	12.00	20.00	6.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
NCA	73	14	0	2	-1.00	-1.00	0	1	3	0	1	4	0	9.00	-1.00	29.00	34.00	8.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
PSG	43	13	0	2	-1.00	-1.00	0	1	3	0	1	4	0	16.80	-1.00	26.30	27.30	13.00	1.60	-1.00	-1.00	5.30	2.60	1.00	0.00		
RLM	54	14	50	0	-1.00	-1.00	0	2	0	3	0	1	4	0	2.80	-1.00	13.10	13.10	2.30	1.50	-1.00	-1.00	4.90	3.40	1.50		
RHL	43	13	27	0	-1.00	-1.00	0	3	0	3	0	1	3	1	18.90	-1.00	21.00	32.60	15.70	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
RJA	37	12	0	1	-1.00	-1.00	0	1	3	0	1	1	0	10.20	-1.00	20.00	21.00	10.20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
SJA	58	17	50	0	-1.00	-1.00	0	3	0	3	0	1	4	0	7.00	-1.00	8.00	7.00	6.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
TVJ	49	12	47	0	-1.00	-1.00	0	2	0	3	0	1	3	0	4.20	-1.00	16.30	22.10	6.80	0.20	-1.00	-1.00	9.90	5.60	0.30		

fisiológica de esta serie ha sido establecida en 48 ± 3 años. Entre las postmenopáusicas 7 lo eran por haber sufrido castración quirúrgica o radioterápica como parte del tratamiento del tumor primitivo.

En esta serie se han estudiado 19 enfermas con función menstrual y 31 sin élla, con edades medias de 45 ± 4 y 58 ± 10 años, sin incluir en este cálculo una enferma de 28 años ovariectomizada una semana antes del ingreso en nuestro servicio. De las 19 pacientes con función menstrual 11 se consideraron en fase folicular y 8 en fase luteal, presentando unas edades medias de 45 ± 3 y 44 ± 5 años, respectivamente.

Según el estado sexual se han estudiado 13 mujeres fértiles, 11 climatéricas y 26 postmenopáusicas, con medias de edad de 42 ± 2 , 53 ± 7 y 60 ± 10 años.

Respecto al frotis vaginal la serie tumoral comprende 8 enfermas con frotis estrogénico, 12 con frotis estrogénico débil, 14 con frotis intermedio y 16 con frotis atrófico de la postmenopausia; la edad media para estos grupos se ha calculado en 45 ± 5 , 45 ± 3 , 52 ± 6 y 63 ± 10 años, respectivamente.

Ordenadas según el estadio tumoral la serie comprende 9 enfermas en estadio I, 6 en estadio II, 26 en estadio III y 13 en estadio IV.

Agrupadas según el criterio evolutivo se han estudiado 15 mujeres tras la extirpación del tumor primitivo, a partir de los seis meses de la intervención, lo que permite comprobar la posible modificación del ritmo nictameral en presencia o ausencia de una masa tumoral activa. En este grupo se incluye la serie de mujeres estudiadas respecto a la reproductibilidad del ritmo, lo que se ha realizado en 4 controles y una enferma con tumor en período de remisión, durante dos días sucesivos y durante la misma fase del ciclo.

Los valores y datos individuales para las mujeres con tumor de mama se resume en la Tabla XII.

12C). Serie del antígeno carcinoembrionario.

Comprende un grupo inicial de 40 controles, 20 hombres y 20 mujeres, de edades comprendidas entre los 20 y 80 años y con una media de 45 ± 10 . (Tabla XIII).

En segundo lugar se estudia una población escogida de tumores digestivos para valorar la reproductibilidad del ensayo, formada por 18 pacientes con carcinomas colorrectales, 7 con carcinomas gástricos, en distintos estadios evolutivos, y 8 pacientes con tumores metastásicos clínicamente comprobados (Tabla XIV).

La serie específica del tumor de mama está formada por 57 pacientes en las que se determinó el ACE durante el preoperatorio (Tabla XV). De ellas 18 fueron clasificadas en estadio I-II, 26 en estadio III y 13 en estadio IV. Veinticuatro enfermas fueron reevaluadas tras la extirpación del tumor (Tabla XVI), y 4 de ellas pudieron ser controladas durante el preoperatorio, postoperatorio libre de metástasis y período de enfermedad generalizada o metastásico. En estas 57 pacientes se determinó la PRLh y el ACE durante el primer ingreso, evaluándose durante el postoperatorio 33 pacientes (Tabla XVII), tanto en remisión clínica como con metástasis activas, excluyéndose dos enfermas que en el momento de la toma de las muestras se encontraban bajo tratamiento hormonal.

12D). Mastopatía fibroquística.

Comprende 11 mujeres, en las que se obtuvo el diagnóstico tras la realización de una biopsia peroperatoria por tumoración de mama, con una edad media de 41 ± 8 años. Sus valores individuales se recogen en la Tabla XVIII.

TABLA XII

C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	C ₁₅	C ₁₆	C ₁₇	C ₁₈	C ₁₉	C ₂₀	C ₂₁	C ₂₂	C ₂₃	C ₂₄	C ₂₅		
AAB	80	13	50	0	-1.00	-1.00	3	3	0	1	0	1	0	1	4	0	2.30	3.60	6.00	10.50	5.50	0.10	-1.00	3.80	1.00	0.10
ACF	54	12	51	0	-1.00	-1.00	3	3	0	1	1	1	1	1	4	0	3.50	-1.00	30.00	50.00	6.40	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
AHH	40	12	0	2	-1.00	-1.00	4	1	1	1	1	1	1	1	1	0	14.20	10.50	18.90	47.30	13.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
ALC	53	15	51	0	-1.00	-1.00	3	3	0	1	1	1	1	1	3	0	8.40	-1.00	15.20	20.50	5.70	0.10	-1.00	0.00	0.00	0.10
AMC	43	14	0	1	-1.00	-1.00	4	1	1	1	1	1	1	1	2	0	5.70	-1.00	12.10	24.20	6.30	0.30	-1.00	8.00	4.00	0.30
CAG	45	14	0	2	-1.00	-1.00	4	1	1	1	1	1	1	1	1	0	17.00	-1.00	36.00	40.00	14.70	0.30	-1.00	3.20	1.50	0.20
CHA	48	14	0	1	-1.00	-1.00	4	2	1	1	1	1	1	1	2	0	21.00	-1.00	37.00	65.00	19.00	0.80	-1.00	1.70	1.40	0.90
CNH	51	13	49	0	-1.00	-1.00	2	2	0	1	0	1	0	1	3	0	6.00	-1.00	21.00	25.00	7.50	2.50	-1.00	2.80	3.30	2.00
CMS	67	13	49	0	-1.00	-1.00	2	3	0	1	0	1	0	1	3	0	7.80	7.30	11.50	14.20	7.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D8B	52	12	50	0	-1.00	-1.00	3	3	0	1	0	1	0	1	3	0	6.80	7.40	13.80	13.60	5.70	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
DHC	54	12	45	0	-1.00	-1.00	3	3	0	1	0	1	0	1	4	1	6.00	-1.00	20.50	19.80	4.70	0.30	-1.00	1.50	0.70	0.20
DHG	68	14	50	0	-1.00	-1.00	3	3	0	1	0	1	0	1	4	1	7.30	3.20	8.90	15.70	6.00	0.60	-1.00	9.60	2.10	0.40
DRM	50	15	45	0	-1.00	-1.00	4	3	0	1	1	1	1	1	2	0	7.30	-1.00	21.00	14.70	14.70	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
ENC	44	12	0	1	-1.00	-1.00	3	1	1	1	1	1	1	1	1	0	4.00	-1.00	18.00	25.00	3.70	0.00	-1.00	3.10	1.00	0.60
ENA	54	13	47	0	-1.00	-1.00	1	1	1	1	0	1	0	1	2	0	6.80	3.40	14.20	23.60	5.80	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
ESS	42	13	0	2	-1.00	-1.00	3	1	1	1	1	1	1	1	1	0	8.50	-1.00	15.00	60.00	9.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
FAS	51	16	0	2	-1.00	-1.00	4	2	1	1	1	1	1	1	1	0	17.00	-1.00	45.00	24.00	14.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
FLI	49	13	48	0	-1.00	-1.00	3	2	0	1	1	1	1	1	3	0	11.50	-1.00	37.00	16.00	8.50	0.50	-1.00	0.00	0.00	0.00
FLM	51	12	44	0	-1.00	-1.00	3	3	0	1	0	1	0	1	3	0	13.50	-1.00	30.00	36.00	10.00	0.90	-1.00	1.40	1.60	0.70
GPR	56	12	40	0	-1.00	-1.00	4	3	0	1	1	1	1	1	4	0	7.30	-1.00	12.20	14.40	7.80	0.00	0.00	2.10	1.30	1.10
GTH	46	12	0	1	-1.00	-1.00	4	3	1	1	1	1	1	1	2	0	7.50	-1.00	14.00	12.00	6.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
H8C	46	13	0	1	-1.00	-1.00	4	1	1	1	1	1	1	1	2	0	9.50	-1.00	12.00	18.00	8.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
IGH	55	13	51	0	-1.00	-1.00	4	3	0	1	1	1	1	1	3	1	11.50	6.50	14.40	18.40	12.60	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
IPG	40	14	0	2	-1.00	-1.00	3	1	1	1	1	1	1	1	1	0	28.00	-1.00	55.00	60.00	24.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
JBR	69	14	45	0	-1.00	-1.00	1	1	1	1	0	1	0	1	4	0	5.70	5.70	14.40	13.10	7.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
JMC	39	12	0	1	-1.00	-1.00	1	1	1	1	1	1	1	1	2	0	8.00	-1.00	15.00	36.00	10.00	0.60	-1.00	3.00	1.20	0.50
JHV	61	13	45	0	-1.00	-1.00	3	3	0	1	0	1	0	1	4	0	5.50	-1.00	16.00	18.00	4.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
JRR	40	13	0	2	-1.00	-1.00	3	1	1	1	1	1	1	1	1	0	27.00	-1.00	40.00	40.00	23.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
LCH	54	13	49	0	-1.00	-1.00	3	3	0	1	0	1	0	1	4	0	5.30	-1.00	13.10	10.00	4.40	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
LJM	58	16	52	0	-1.00	-1.00	3	3	0	1	0	1	0	1	4	0	8.20	-1.00	12.30	19.70	7.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
LJT	58	15	51	0	-1.00	-1.00	3	3	0	1	0	1	0	1	4	0	5.00	-1.00	17.00	19.00	7.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
LRS	51	13	49	0	-1.00	-1.00	2	2	0	1	0	1	0	1	3	0	4.00	-1.15.00	4.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
MAC	41	18	0	1	-1.00	-1.00	2	1	1	1	1	1	1	1	2	0	6.00	-1.00	19.40	5.20	1.00	-1.00	7.00	1.50	0.90	
MLR	44	13	40	0	-1.00	-1.00	4	3	0	1	1	1	1	1	4	1	15.00	-1.00	50.00	30.00	12.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
MMA	43	15	0	2	-1.00	-1.00	3	1	1	1	1	1	1	1	1	0	19.80	3.00	12.60	18.40	6.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
MMS	43	15	0	1	-1.00	-1.00	3	1	1	1	1	1	1	1	1	0	10.00	-1.00	13.00	35.00	11.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
MRJ	49	13	0	1	-1.00	-1.00	2	1	1	1	1	1	1	1	1	0	16.00	-1.00	19.00	20.00	15.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
MTG	48	13	43	0	-1.00	-1.00	4	3	0	1	1	1	1	1	4	1	16.00	-1.00	37.00	83.00	18.50	3.00	-1.00	3.60	0.60	2.50
RHD	29	16	49	0	-1.00	-1.00	4	3	0	1	1	1	1	1	3	0	5.20	-1.00	10.00	15.70	3.60	0.40	-1.00	3.00	0.80	0.20
RHC	49	18	49	0	-1.00	-1.00	4	3	0	1	1	1	1	1	3	0	13.20	-1.00	16.00	18.40	9.80	4.00	-1.00	3.60	4.90	3.00
FSR	52	14	49	0	-1.00	-1.00	2	2	0	1	0	1	0	1	4	0	8.40	-1.00	12.60	14.70	5.70	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
PVG	70	13	50	0	-1.00	-1.00	3	2	0	1	0	1	0	1	4	0	8.40	-1.00	20.50	25.70	8.60	0.30	-1.00	8.90	1.30	0.90
PVM	51	13	0	2	-1.00	-1.00	2	1	1	1	1	1	1	1	1	0	5.50	7.30	8.30	16.00	5.00	1.30	-1.00	1.60	1.40	1.50
RRM	48	13	0	1	-1.00	-1.00	4	3	0	1	0	1	0	1	4	0	8.00	-1.00	16.00	15.00	9.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
SGB	73	14	52	0	-1.00	-1.00	3	3	0	1	0	1	0	1	4	0	6.10	8.70	15.80	12.30	7.40	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
SML	60	14	48	0	-1.00	-1.00	3	3	0	1	0	1	0	1	4	0	2.80	-1.00	10.50	10.50	3.00	1.50	-1.00	9.50	3.10	0.90
TSC	68	11	45	0	-1.00	-1.00	3	3	0	1	0	1	0	1	4	0	8.40	2.60	13.10	16.80	6.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
VSB	40	12	40	0	-1.00	-1.00	4	3	0	1	1	1	1	1	3	1	10.00	3.60	13.60	15.70	10.60	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
VSD	50	17	0	1	-1.00	-1.00	3	2	1	1	1	1	1	1	2	0	7.00	-1.00	30.00	30.00	5.50	0.70	-1.00	1.10	1.20	1.00

T itmo nictameral

TABLA XIIIACE CONTROLES

<u>MUESTRA</u>	<u>HOMBRES</u>	<u>MUESTRA</u>	<u>MUJERES</u>
1	2,5	1	0.90
2	2.25	2	2.25
3	2.75	3	2
4	1.8	4	1.5
5	2	5	2
6	1.5	6	1.5
7	2.5	7	2.25
8	1.9	8	1.55
9	2.4	9	1.5
10	2.5	10	2
11	3	11	1.25
12	2.25	12	2.25
13	2.5	13	1.5
14	2	14	3.75
15	2.5	15	1.25
16	1.5	16	2.6
17	2	17	1.5
18	1.5	18	2
19	1.5	19	1.75
20	2.5	20	1.45

TABLA XIV

ACE TUMORES DIGESTIVOS*

<u><2,5</u>	<u>2,5 - 5</u>	<u>>5</u>
1.3(B)	3.2(V.B)	15(C)
1.6(C)	5.1(III)	38(C)
1.95(B)	3.3(C)	5.7(III)
2.9(C)	4 (C)	6.6(III)
2.6(B)	5 (B)	71.5(III)
1.5(B)	3.5(A)	24 (IV)
1.95(B)	3.75(A)	56.6(D)
	4.9(B)	21 (II)
	5 (C)	26.9(Met. Hepática)
		7.4(D) (3 veces)
		6.1 (Páncreas)
		50 (D)
		34 (C)
		>100 (D)
		15 (C)
		7.5(C)
		8.5 (Met. Óseas).

*Valores ordenados respecto al límite de positividad (2,5-5 ng/ml). Los tumores de colon y recto se clasifican según DUKES, y los de estómago según BORRMAN.

TABLA XV

ACE EN CARCINOMA DE MAMACorrelación PRLh-ACEPREOPERATORIO

<u>PRLh</u>	<u>ACE</u>	<u>ESTADIO TUMORAL</u>
5.5	7	III
15	6	IV
10	4.5	II
17	8.5	IV
4	5.5	I
8.5	7	III
16	13	IV
5	10	III
7.3	1.8	I
5.7	2.4	I
7.3	25	III
5.7	1.7	I
8.4	1.45-2	III
6	2.5	II
6	7.5	III
15.7	147	IV
5.2	2.1	I
2.3	2.2	III
7.3	2.4	III
8.6	3.8	III
14.2	11.6	IV
8.4	1.6	II
6.8	1	II
7.8	2.2	II
27	6	II
25	2.2	I
9.5	1.10	IV
28	7	III

(Continúa)

TABLA XV (Continuación)

ACE EN CARCINOMA DE MAMACorrelación PRLh-ACEPREOPERATORIO

<u>PRLh</u>	<u>ACE</u>	<u>ESTADIO TUMORAL</u>
21	63.5	IV
21	120	IV
13.5	4	III
11.5	5	III
6	3	I
18	2.5	I
17	4	III
13.2	12,9	III
15	25	IV
8.3	4.1	III
9.7	2.8	III
8.8	2.6	I
6.4	1.7	II
5.3	2.5	III
16.2	3.9	III
7.6	3.4	II
24.7	3.6	III
18	2.2	III
4	2.2	III
9	6	III
18	6.3	IV
10	5.5	III
6	63.3	IV
17	1.8	I
14	6	III
21	8.1	III
12	150	IV
3	5	III

TABLA XVI

ACE en Pre y Postoperatorio

<u>PREOPERATORIO</u>	<u>F. T.</u>	<u>POSTOPERATORIO</u>	<u>METASTASIS</u>
7	III	3.2	NO
4.5	II	3.2	NO
8.5	IV	1.4	NO
5.5	I	3.3	NO
7	III	61.2	SI
10	III	1.5	NO
1.8	I	2	NO
2.4	I	2.6	NO
1.7	I	6.2	SI
7.5	III	2	NO
147	IV	140	SI
2.1	I	2	NO
2.2	III	2.1	NO
2.4	III	2.6	NO
3.8	III	1.4	NO
11.6	IV	13.2	SI
1	II	5.7	SI
6	II	2.3	NO
2.6	I	2.4	NO
63.3	IV	2.5	NO
120	IV	54.6	SI
2.5	I	2	NO
4	III	1.5	NO
12.9	IV	7.5	SI

TABLA XVIIACE EN CARCINOMA DE MAMACorrelación PRLh-ACEPostoperatorio

<u>PRLh</u>	<u>ACE</u>	<u>METASTASIS</u>
10.3	3.2	NO
6.9	1.4	NO
10.9	3.3	NO
13.2	61.2	SI
10.4	1.3	NO
14.2	2.6	NO
12	6.2	SI
42	140	SI
9.9	2	NO
12.6	2.1	NO
8	2.6	NO
11.7	13.2	SI
28	5.7	SI
8.5	2.3	NO
10.9	2.4	NO
6.3	2.5	NO
23	54.6	SI
3	2	NO
3	1.5	NO
12.6	7.5	SI
42	139.8	SI
7	2.7	NO
3.5	2.6	NO
4	2.5	NO
2	3.2	NO
7	1.7	NO
4	2.3	NO
19.3	8.3	SI
20.2	1.8	NO
16.8	1.4	NO
14.8	1.8	NO

TABLA XVIII

C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	C ₁₅	C ₁₆	C ₁₇	C ₁₈	C ₁₉	C ₂₀
IJA	49	13	47	0	-1	-1	6	2	0	2	0	1	3	0	6.3	4.7	14.2	27.6	7.8
CRC	37	13	0	1	-1	-1	6	1	1	2	0	1	2	0	4.4	5	7.8	13.6	4.4
MTL	26	13	0	1	-1	-1	5	1	1	2	0	1	1	0	13.6	12.6	25.2	26.3	10
MTS	36	13	0	1	-1	-1	6	1	1	2	0	1	2	0	7.3	6.3	18.9	26.3	6.8
CLS	36	13	0	1	-1	-1	6	1	1	2	0	1	2	0	4.7	7.3	13.1	17.8	3.9
JSC	44	14	0	1	-1	-1	6	1	1	2	0	1	2	0	13.6	7.8	16.8	21	11
JPL	33	12	0	2	-1	-1	6	1	1	2	0	1	1	0	16	1	20	36	14.8
CAC	34	14	50	0	-1	-1	6	2	0	2	0	1	3	0	7	1	16	21	7
MAB	50	16	0	2	-1	-1	6	2	1	2	0	1	1	0	13	1	26	30	14.1
MEG	46	13	0	2	-1	-1	6	2	1	2	0	1	1	0	15.2	1	32	38.7	14
JRB	40	13	0	2	-1	-1	6	1	1	2	0	1	1	0	27	1	40	40	23.5

-Mastopatía, Fibroquistica. Ritmo nictameral

2122

C A P I T U L O S E X T O
=====

CAPITULO SEXTO

13. METODOS

13 A) SELECCION DE PACIENTES Y EXTRACCION DE MUESTRAS

Como ya he referido todas las pacientes procedían del servicio de Cirugía General II (Prof. P. Gómez Fernández) de la Ciudad Sanitaria Provincial. Tanto las pacientes de los grupos control como las afectas de tumor mamario fueron seleccionadas mediante el siguiente criterio:

a). Nunca se realizó la extracción inmediatamente después del ingreso, considerándose fundamental un intervalo de acondicionamiento de la paciente al nuevo ambiente; con éllo se pretende evitar las modificaciones inducidas por stress psíquico.

b). Durante este período, que fue de unos 4 días, se realizaron los estudios analítico rutinarios con el fin de poder descartar aquellas mujeres que presentaran:

- enfermedades metabólicas, especialmente diabetes, no incluyéndose tampoco aquellas pacientes con sobrepeso superior al 15% del peso ideal para su edad y talla.

- alteraciones de la función hepática, previa valoración de colemia, pruebas de floculación, GOT, GPT, LHD, fosfatasa alcalina y proteinograma con espectro electroforético; en las afectas de procesos metastásicos se valoró, además, el grado de extensión hepática mediante hepatograma y/o TAC.

- alteraciones de la función renal, previa determinación del volumen de diuresis, análisis rutinario de orina, BUN y, en casos de necesidad o duda, aclaramientos de urea y creatinina.

Se valoró también la posible existencia de patología endocrina, especialmente de la función tiroidea (mediante determinación

de PBI, T₃, T₄ y TSH por RIA) o suprarrenal (previa determinación sistemática de 17 OH y 17 K basales, e ionograma).

No he incluido tampoco en este estudio cualquier enferma que estuviese sometida a terapéuticas farmacológicas de las que teóricamente podrían alterar la secreción de PRL, especialmente drogas psicótropas o antidepresivas, hipotensores o glicósidos digitálicos. En caso de requerir alguna medicación banal ésta se suspendió 24 horas antes de la extracción de las muestras.

c). Las enfermas eran mantenidas en regimen de vida normal con libre deambulacion. Aquellas en las que se determinó la concentración plasmática basal acudieron al laboratorio donde antes de la extracción eran sometidas a un periodo de reposo de 30-45 minutos; en aquellas en las que se determinó la secreción nocturna fueron acostadas a las 22-23 horas permaneciendo en cama durante todo el periodo de extracción de muestras.

d). Todas las enfermas siguieron el mismo regimen diético.

e). Las enfermas con función menstrual fueron consideradas en fase folicular o luteal previa valoración de la duración de sus ciclos tras lo que se calculó el tiempo teórico del mismo. En las enfermas que ya habían presentado la hemorragia menstrual la extracción se realizó en la semana siguiente de la terminación (días 4 a 12 del periodo preovular), y para las consideradas teóricamente en fase postovular se retrasó la extracción hasta la semana antes de su inicio teórico (días 20-28 del ciclo).

Las citaciones para las muestras postoperatorias se realizaron siempre de acuerdo con este esquema, de forma que ambas extracciones correspondieran a la misma fase teórica del ciclo. Aquellas pacientes con cáncer sometidas a terapéutica con quimioterapia fueron estudiadas antes y después de la terminación del protocolo,

aproximadamente entre los 3 y 12 meses, o más, de la intervención. No se incluyeron aquellas enfermas sometidas a terapéuticas con antiestrógenos, o cuando se consideró que la supresión temporal de la medicación complementaria podía ejercer algún efecto perjudicial para la evolución de la enfermedad.

f). La valoración del estadio tumoral, especialmente respecto a la presencia o ausencia de ganglios metastásicos, se realizó siempre tras la comprobación del estudio anatomopatológico, considerándose como N1 aquellas pacientes con menos de 5 ganglios afectados y N2 cuando esta cifra era superada.

g). La división del grupo postoperatorio frente a la presencia o ausencia de metastasis se realizó tras la consecución del protocolo de despistaje sistematizado en el servicio, y en el que se incluye estudios inmunológicos, enzimáticos, metabólicos (especialmente del metabolismo del calcio), rastreo con pirofosfato de tecnecio, hepatograma si es necesario, y radiología de tórax.

Metódica de extracción

13 A-1) Determinaciones basales

Paciente en ayunas. A las 08,30 horas de la mañana se coloca una palomilla en una vena periférica extrayéndose 5 ml de sangre, considerados como muestra 0. Lavado del cateter con suero fisiológico heparinizado (10 cc con 0,1 de heparina al 1%) y fijación del mismo. A los 30 minutos (09,00 horas) extracción de 10 ml, previo lavado del cateter con suero fisiológico, despreciándose los 3 cc iniciales, obtenidos en una muestra independiente con el fin de evitar una dilución por el líquido del lavado. El valor medio de las dos extracciones ha sido el que he tenido en cuenta en este trabajo, siempre que no existiera una diferencia superior al 15% en alguna de las muestras.

13 A-2) Determinaciones nocturnas.

Tras extracción de la primera muestra basal como en el caso anterior, la enferma era sometida a un régimen de vida normal, realizando una segunda toma a las 13 horas, antes de la comida. Por la noche se inició el protocolo de extracción, siempre por las mismas enfermeras, a partir de las 2 horas de reposo nocturno, con tomas de 10 ml a las 01,05 y 09,00 horas (segunda basal), anotándose en cada extracción la profundidad del sueño aunque no se determinó el ritmo electroencefalográficamente. En caso de vigilia no se realizó ninguna extracción.

Todas las muestras fueron practicadas con jeringuillas de un sólo uso, sin heparina, depositándose el contenido en tubos de centrifugación que se dejan coagular en nevera a 4°C. Una vez observada la presencia de coágulo estable se procede a la centrifugación rutinaria (800 rpm/15 minutos) obteniéndose una media de 7 a 8 ml de suero que son pipeteados a tubos de polietileno de 4 ml, en alicuotas de 1,5 ml, siendo congelados hasta su procesamiento a -20°C. Este se realizó siempre antes de los 15 días de almacenamiento.

Una vez finalizado el protocolo de extracción las enfermas acudían a la sección de citología para la toma de muestras para la realización del frotis vaginal.

13 B) TECNICAS DE LABORATORIO

13 B-1) Aspectos conceptuales del radioinmunoanálisis (RIA)

13 B-1a) Principios generales. Entre los últimos frutos de las técnicas finas de determinación bioquímica, la radioinmunología, creada en 1960 por YALOW y BEPSON, ha permitido efectuar determinaciones de sustancias biológicas a concentraciones del orden de nanograma y hasta de picograma por litro de muestra (10^{-9} a 10^{-12} g/l) (SPECTOR 1973 ; REUTER, KETELSLEGERS, HENDRIK y FRANCHIMON 1978). Este método añade a la sensibilidad de detección de la radioactividad la precisión específica y rigurosa de la reacción antígeno-anticuerpo.

Se basa en la inhibición competitiva por el compuesto antigénico a valorar de una reacción entre el anticuerpo y un antígeno idéntico al precedente pero radioactivo, y de concentración conocida con tanta precisión como sea posible. Es en esencia una dilución isotópica.

Se efectúa, a título de testigo, la reacción sin producto para determinar:

$Ag^* + Ac \rightleftharpoons Ag^*Ac$, siendo Ag^* el Antígeno marcado y Ac el Anticuerpo específico.

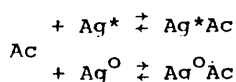
Esta reacción, reversible, se salda por equilibrio entre las formas ligada y libre del antígeno marcado:

$$\frac{\{Ag^*Ac\}}{\{Ag^*Ac\} + \{Ag^*\}} = \frac{B}{T}$$

siendo B la cantidad de antígeno radioactivo ligado al anticuerpo y T la cantidad total de antígeno radioactivo.

Esta relación B/T puede medirse separando, mediante una técnica apropiada, el complejo Ag^*Ac y comparando la radioactividad de este complejo con la radioactividad total del antígeno marcado.

Cuando una cantidad variable del antígeno no radiactivo (Aq^O) que quiere determinarse se encuentra en el medio reactivo, se produce una competencia perfecta entre ambas formas isotópicas del antígeno.



Las constantes de equilibrio de estas dos reacciones son las mismas, aunque el marcaje del antígeno no cambie en nada sus propiedades; en estas condiciones, la cantidad de antígeno marcado ligada al anticuerpo depende directamente de la cantidad de antígeno no marcado presente en el medio.

De la misma manera, la relación B/T disminuye directamente en función de la cantidad de antígeno libre presente en el medio y permite, pues, la determinación de éste por comparación con una curva resultado de la medida realizada con una gama de diluciones variadas de una solución de concentración conocida de antígeno no marcado.

Se efectúa después la misma reacción que los testigos y la medida en gammas en presencia de la solución desconocida; se compara, pues, la extensión de la inhibición competitiva determinada en una muestra desconocida con aquella obtenida en una solución estándar conocida.

La relación B/T así obtenida permite determinar la concentración desconocida del antígeno gracias a la curva que se obtiene con la medición de las distintas diluciones del antígeno de concentración conocida.

13 B-1b) Problemas técnicos. Los problemas planteados por la práctica de esta técnica son de todos los órdenes.

a) Producción del anticuerpo específico.

Para la mayoría de los péptidos o de las proteínas la producción de tal anticuerpo es técnicamente sencilla, y el anticuer-

po obtenido es de una especificidad bastante riquosa. Para las moléculas más pequeñas es necesario ligarlas previamente a proteínas para obtener un conjunto con propiedades antigénicas específicas. Las proteínas utilizadas para estas ligaduras son o proteínas transportadoras específicas, proteínas transportadoras poco específicas (seroalbúmina) o, por último, proteínas a las que se liga el compuesto a investigar por métodos químicos.

La obtención de tal inmunógeno requiere la unión de ambas moléculas por enlaces covalentes. Existen varios grupos funcionales en las proteínas portadoras, o polioaminoácido portador, que permiten estos enlaces. Los grupos más fácilmente aprovechables son el ϵ -amino de lisina, los grupos α -amino, la porción fenólica de la tirosina, los grupos carboxi de los aminoácidos dicarboxílicos, el grupo hidroxil de la serina, los grupos sulfidril de la cisteína y el anillo imidazol de la histidina; puede también substituirse por diazotización el anillo de la tirosina, triptófano o histidina. De las sustancias empleadas para ligar haptenos a proteína una de las más difundidas son las carbodiimidas solubles en agua, y se ha comunicado, así mismo, la obtención de anticuerpos para arginina-vasopresina no conjugada, glucagon comercial con coadyuvante de Freund y hormonas nativas.

Para la inmunización se emplea la mayoría de las preparaciones comerciales de hormona o fracciones de baja pureza hormonal, pues parece que la utilización de fracciones altamente purificadas no presentan una mayor ventaja, máxime si se tiene en cuenta que la presencia de impurezas no interfiere en el ensayo.

Para la inmunización contra la mayoría de las hormonas peptídicas humanas, porcinas o bovinas, parece ser que el conejillo de indias es superior al conejo, quizás porque las hormonas de aquél se encuentran menos relacionadas antigénicamente con los antígenos de los mamíferos empleados.

El antígeno a utilizar puede ser disuelto en solución salina fisiológica haciéndose una suspensión en coadyuvante de Freund. La inoculación se realiza más fácilmente en el dorso de la pata

trasera, inyectándose intracutáneamente 0,25-0,5 ml de la suspensión, conteniendo aproximadamente 0,25 mg de hormona emulsionada. El regimen de inmunización suele hacerse a intervalos de 2-3 semanas, aunque en ocasiones puede durar varios meses, pero siempre teniendo presente el inyectar las dosis mínimas de Ag que produzcan una respuesta inmune mensurable.

b) Obtención del Antígeno Especifico

La determinación radioinmunológica reclama dos formas del antígeno a concentración conocida; antígeno puro (Ag^0) y antígeno marcado (Ag^*). El antígeno purificado se obtiene por los métodos propios de su estructura particular, y se purifica todo lo posible. Tal Ag purificado (hormona) formará el estandar en el método de RIA a utilizar. La hormona de este estandar debe de ser inmuquímicamente igual a la hormona de la muestra testigo, aunque no es imprescindible que sean química o biológicamente idénticas.

Lo que se requiere para poder comparar los resultados entre distintos laboratorios es que los estandares comunes de referencia puedan ser de uso general; cuando tales preparaciones estandar de referencia no son aprovechables un extracto crudo de la glándula, o una muestra de plasma conteniendo una alta concentración de la hormona, permite una evaluación de la concentración relativa de hormona en las muestras problema.

Es importante que los materiales usados como estandar sean evaluados respecto a su estabilidad. La solución stock usadas como estandar se preparan corrientemente a alta concentración (concentraciones de 20 mcg/ml a 1 mcg/ml) y se almacenan a $-20^{\circ}C$, añadiéndose una proteína "carrier" para prevenir la adsorción de la hormona a los recipientes de plástico o cristal. Por otra parte, los nuevos bloques de estandar deben de compararse con los existentes para asegurar la continuidad de la estandarización. En los casos de heterogeneidad hormonal es necesario fraccionar los estandares y las muestras problema.

Para obtener el antígeno marcado, para el que se precisa una radioactividad específica muy intensa, puede recurrirse o a la síntesis química o biológica a partir de una molécula marcada de un isótopo con radioactividad muy alta, o añadiendo un átomo marcado en el antígeno purificado (yodinación con yodo 125, cambio de tritium, fijación de radicales marcados en funciones libres de la proteína). El método de oxidación con cloramina T introducido por HUNTER y GREENWOOD en 1962 ha sido el más ampliamente utilizado; se emplea Metabísulfito de sodio para reducir cualquier yodo oxidado que no se haya introducido dentro de la hormona marcada. Recientemente el método ha sido modificado con ventajas técnicas por BERSON y YALOW (1976).

La utilización de estos métodos de marcaje isotópico que modifican algo la naturaleza química del antígeno, obliga a efectuar una verificación de la relación B/T obtenida con cantidades iguales del antígeno marcado y no marcado. Por otra parte, el rendimiento de tales marcajes es variable y existe de todos modos heterogeneidad de las moléculas marcadas, ya que el número de átomos de yodo fijados por molécula proteica depende del azar: se intentará, pues, aislar por el método adecuado moléculas marcadas de modo tan homogéneo como sea posible, y se calculará para esta fracción el rendimiento de la yodinación y la actividad específica media obtenida.

La purificación de la hormona marcada para separarla del yodo residual, o de los componentes dañados por el método, puede hacerse por distintas técnicas entre las que destacan:

- Adsorción y purificación en columna de celulosa.
- Gránulos de QUSO-G-32
- Purificación en electroforesis de gel de almidón.
- Purificación por gel de Sefadex
- Purificación por ligadura de la hormona marcada con Anticuerpo sin ligar o ligado a una fase sólida (Sefadex, sefarosa, Polistirene, o cualquier otro material insoluble).

c) Preparación e incubación de los medios

Prácticamente la reproductibilidad de los resultados exige que las cantidades de muestra de anticuerpo y de antígeno radiactivo puestos en presencia sean medidos rigurosamente. Esta precisión de medida se obtiene habitualmente mediante cadenas de pipetas automáticas que aseguran la toma y dilución de los diferentes constituyentes de modo tan reproductible como se desee.

d) Separación del complejo antígeno-anticuerpo

En varias ocasiones la precipitación espontánea del complejo AgAc ha permitido la separación directa del Ag libre marcado por simple centrifugación sin la intervención de otras maniobras (como ha ocurrido por ejemplo con el Ag Australia). En el caso de las hormonas plasmáticas el complejo permanece generalmente en solución por lo que ha sido necesario aplicar varias técnicas de separación que se resumen en la Tabla XIX. Teóricamente los sistemas más ampliamente aplicados son los que dependen de la precipitación del complejo Hormona-Anticuerpo con un anticuerpo dirigido contra el anticuerpo antihormona (técnica del Doble Anticuerpo), o aquéllos que utilizan la adsorción del anticuerpo a una fase sólida.

- Adsorción del antígeno

Entre las sustancias empleadas para la adsorción del antígeno libre el carbón de leña parece ser la más versátil. Se admite que para prevenir la adsorción del complejo AgAc, aún permitiéndose la adsorción del antígeno libre, el carbón debe de ser recubierto con moléculas de tamaño apropiado para dejar "agujeros" lo bastante grandes que permitan el acceso de la hormona libre, pero lo suficientemente pequeños para excluir el complejo antígeno-anticuerpo.

En general, varios son los principios que se aplican a todas las técnicas de adsorción antigénica:

TABLA XIX

I). Adsorción del Antígeno libre a una fase sólida.

a). Celulosa:

Cromatoelectroforesis en papel
Adsorción en el tubo con tiras de papel
Adsorción en columna de celulosa
Adsorción por apilamiento de polvo de celulosa.

b). Almidón:

Almidón no recubierto
Almidón recubierto de Dextrano, Albúmina, etc.

c). Silicatos:

Polvo de talco
QUSO
Acido silícico y otros silicatos

d). Resina cambia-iones:

Resinas aniónicas
Resinas catiónicas

II). Precipitación del complejo Antígeno-Anticuerpo.

a). Técnica de Doble Anticuerpo

b). Solventes orgánicos

Alcohol
Dioxano

III). Adsorción o acoplamiento del anticuerpo a un material sólido.

a). Adsorción a tubos de plástico

b). Acoplamiento a Dextrano

IV). Otros:

a). Tamiz de separación

b). Separación electroforética en tiras de papel.

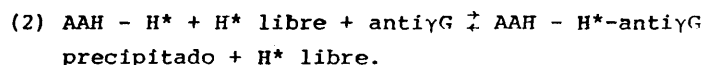
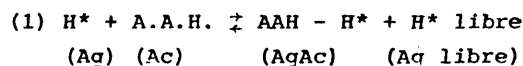
a). Dependiendo de la naturaleza del adsorbente tanto el Ag libre como el complejo AgAc pueden ser adsorbidos si hay suficiente cantidad de proteína transportadora que compita con éxito contra la ligadura del complejo; así, el carbón, la celulosa y los silicatos adsorben de forma efectiva γ -globulina y hormonas peptídicas.

b). Cuando la concentración de proteínas plasmáticas es alta el adsorbente queda realmente saturado y la fracción γ -globulina adsorbida es pequeña. La mayor afinidad del adsorbente por hormonas peptídicas en presencia de proteínas plasmáticas permite, sin embargo, la casi total adsorción de la primera aún en presencia de plasma virtualmente no diluido. Por tanto, para cada sistema debe de existir una concentración proteica óptima (o una óptima dilución del plasma) para una cantidad dada de adsorbente en el volumen de la mezcla a ensayar, lo cual permite la casi total adsorción del Ag libre y la virtualmente completa exclusión del complejo AgAc.

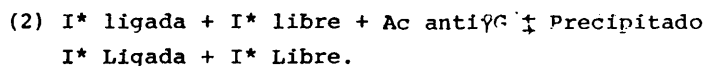
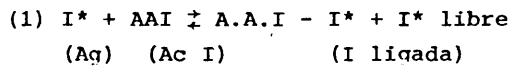
Habitualmente en la práctica los métodos más empleados son los "Tubos Test" y la cromato-electroforesis en tira de papel.

- Técnica de Doble Anticuerpo

La técnica se basa en el uso de una reacción entre la hormona marcada (H^*) y el anticuerpo anti-hormona (A.A.H) más la utilización, en segundo lugar, de otro anticuerpo para separar el complejo soluble del AAH de la mezcla que todavía contiene H^* libre:



En otros términos, y para mayor claridad, supongamos que realizamos el método con una hormona proteica, por ejemplo, insulina:



El objetivo, pues, de la segunda reacción es obtener una precipitación de la hormona marcada ligada a su anticuerpo que permite la separación completa del resto de la hormona libre mediante técnicas físicas: centrifugación o filtración. El método presupone la necesidad de utilizar un anticuerpo precipitante dirigido contra la fracción γG del anticuerpo antihormona. El complejo así precipitado puede hacerse visible, o puede permanecer invisible, pero siempre separable del resto de hormona libre.

Se consideran como factores críticos del método:

- El asegurar una completa precipitación del complejo hormona marcada-anticuerpo.

- Evitar el atrapamiento de la hormona libre.

- Presencia en el plasma de inhibidores que afectan la reacción entre el complejo soluble y el Ac-anti γG ; tal inhibidor parece ser el complemento que sería neutralizado añadiendo 0,01 M de EDTA.

- Técnicas de fase sólida

Los métodos de RIA en fase sólida emplean formas insolubles del anticuerpo específico para la incubación con hormona marcada, muestras de plasma o estandar. Cantidades trazadoras de hormona que se combinan con el anticuerpo durante el periodo de inmunorreacción son simultáneamente ligadas a la fase sólida insoluble y pueden ser

separadas del trazador libre por simple lavado del Ac en fase sólida al final del período de incubación. De este modo el empleo de anticuerpo en fase sólida facilita la separación del trazador ligado y libre, y la hormona ligada puede ser cuantificada por conteo de la fase sólida después de haber terminado el período de lavado. Además de su simplicidad el método se caracteriza por su rapidez y potencial automatización.

Su aplicación fué originalmente realizada con Ac ligado a polímeros reactivos insolubles, tipo poliestirene o dextrano, habiéndose extendido posteriormente a otros reactivos de fase sólida entre los que destacan:

- a). Ligadura Covalente a Polímeros
 - Partículas (Isotiocianato de Teflón-Poliestirene o Isotiacianato-Sefadex).
 - Discos (Isotiocianato de Teflón-Poliestirene).
- b). Adsorción a Polímeros
 - Tubos (Poliestirene, Polipropilene, Polietilene).
 - Partículas (Bentonina).
 - Discos (Polipropilene).
- c). Antisuero Polimerizado
- e) Recuento y Expresión de los resultados

El recuento de las fracciones obtenidas después de esta separación se realiza según el isótopo marcador, ya directamente o en centelleo líquido, con ayuda de un espectrómetro apropiado (rayos β δ γ).

Los recuentos obtenidos permiten el cálculo de la relación B/T de la manera siguiente:

$$\frac{C_{pm} - C_{pm_0}}{C_{pm_T} - C_{pm_0}}$$

siendo Cpm las cuentas del tubo problema, Cpm_T las de la actividad total y Cpm_0 las cuentas de fondo.

Esta serie de porcentajes conduce a establecer la curva de referencia en función de las concentraciones conocidas de los tubos del estandar. Las muestras a valorar dan lugar al mismo cálculo, extrapolándose su valor sobre la curva de referencia.

También puede realizarse, como luego comentaré, mediante estudio computarizado siguiendo las normas de transformación logística publicadas por RODBARD y LEWALD (1970).

13 B-1c) Especificidad del Radioinmunoanálisis. Al igual que otras reacciones inmunológicas el RIA presenta un alto grado de especificidad pero la presencia de reacciones cruzadas con otros antígenos estrechamente relacionados, o con fragmentos hormonales, se observa con alguna frecuencia. Al igual que en otras reacciones químicas puede apreciarse influencia por la naturaleza y composición del medio, y por la presencia de otras sustancias que puedan reaccionar con el Ag ó Ac; además, la separación de la hormona libre puede ser afectada por sustancias extrañas presentes en los medios de incubación.

De un modo genérico estos tipos de interferencias pueden dividirse en:

a). Reactividad cruzada hormonal:

- Estandar con hormona heteróloga.
- Hormonas diferentes pero inmunológicamente relacionadas.
- Heterogeneidad hormonal en estandar y suero problema.

b). Reactividad no hormonal:

- pH; medio iónico.
- anticoagulantes.
- Daños de la hormona marcada.
- Efectos de la temperatura.

Por todo ello se ha desarrollado, al mismo tiempo que el propia RIA, una serie de test encaminados a comprobar cualitativa y cuantitativamente la especificidad del método. De aquí derivan tres principios básicos a tener presentes ante toda determinación por RIA:

a). En orden a establecer que cantidad de hormona reacciona de la misma manera que el estandar, la muestra desconocida a ensayar debe de hacerse en diluciones múltiples para comprobar que la concentración aparente de hormona determinada es una función lineal del factor de dilución. Esta condición es necesaria, pero no suficiente, para establecer que la hormona del suero problema y la del estandar son inmunológicamente idénticas.

b). La hormona exógena añadida al plasma, o a otro líquido biológico, debe de poder ser recuperada cuantitativamente en el RIA

c). El método debe de permitir comprobar la ausencia de hormona, en forma de hormona no medible, en los plasmas problema procedentes de pacientes en los que se conoce la existencia clínica de deficiencia hormonal. Por el contrario, en pacientes con enfermedad endocrinas deben apreciarse los cambios en la concentración hormona inducidos con estimulantes o supresores conocidos.

13 B-2) Material General de Radioinmunoanálisis Empleado en este trabajo.

Aunque al describir la técnica para cada hormona indicaré el material específico, apuntaremos aquí el material general, fungible y no fungible utilizado:

- a). Tubos de centrifugación de 10 ml.
- b). Tubos de polietileno de 4 ml
- c). Pipetas automáticas, tipo ML de punta desechable
- d). Jeringa automática para el lavado de las muestras.
- e). Papel tipo "Parafilm" para cubrir los tubos, y papel absorbente.
- f). Agitador magnético para preparación de soluciones.
- g). Mezclador tipo Vortex.
- h). Mezclador rotatorio de velocidad constante (20-30 rpm).
- i). Bomba de aspiración de agua.
- j). Contador gamma tipo ABBOTT-Autologit, para 100 muestras, con eficiencia de conteo para I-125 de 10.000 c/mcg Ci/sg, linealidad desde 0,1 a 1 mcgCi de I-125 menor de 1% y fondo para 20 mcgCi de 50 cpm.
- k). Centrifuga modelo Sorvall
- l). Computadora modelo Hewlet-Packard WP 9.100 B y Texas SR 56 de mesa, autoprogramable mediante teclado.

TECNICAS DE RIA UTILIZADAS EN ESTE TRABAJO

13 B-3) Determinación de Hormona de Crecimiento.

Se ha realizado mediante la técnica de MOLINATTI y col. (1969) con el material proporcionado por SORIN BIOMEDICA, Vercelli, Italia. Por cada 50 muestras problema se necesitan los siguientes reactivos:

1ª). HCh de Wilhelmi (HS986C) altamente purificada para la realización de la curva estandar. Se suministra en un frasco que contiene 20 ng de hormona pura liofilizada procedente de hipófisis humana, preservada con albúmina bovina. En el momento de su utilización se reconstruye con 2 ml de agua destilada. La solución resultante contiene 10 ng/ml que puede conservarse a -10°C aunque es aconsejable su utilización inmediata.

2ª). HCh-I-125 obtenida por yodación electrolítica, en cantidad suficiente para 50 determinaciones por duplicado, liofilizada y preservada con albúmina bovina. La radioactividad aproximada es de 1.5 μCi /muestra. En el momento de su utilización se reconstruye con 10 ml de agua destilada.

3ª). Suero anti-HCh, en cantidad suficiente para 50 determinaciones por duplicado, obtenido de la cabra por inmunización con hormona de RABEN (A-19), liofilizado y preservado con albúmina bovina; en el momento de su uso se reconstruye con 10 ml de agua destilada, pudiendo conservarse el exceso no utilizado a -10°C . La capacidad de ligazón de HCh se encuentra entre el 30 y el 50% de la dosis de hormona administrada. Conviene recordar aquí que en la reconstitución se tenga gran cuidado en evitar la formación de espuma, que puede hacer dificultosa la calibración del pipeteo en los últimos tubos, por lo que es conveniente no pipetear mientras existan gotas de espuma adheridas a la pared del recipiente.

4ª). Segundo anticuerpo, anti-gamma G de conejo, en cantidad suficiente para la realización del ensayo, liofilizado y preservado con albúmina bovina. En el momento de su utilización se reconstruye con 10 ml de agua destilada pudiendo guardarse el sobrante a -10°C .

5ª). Seroalbúmina bovina liofilizada, que se reconstruye en el momento de su utilización con 10 ml de agua destilada.

6ª). Tampón borato desecado, que se disuelve en 200 ml de agua destilada obteniéndose una solución 0.13M a pH 8.4. Dada su escasa estabilidad es aconsejable utilizarlo en el momento de la preparación o en las 48 horas siguientes, manteniéndolo en nevera a 4°C .

- Metódica.

Mantener los reactivos a temperatura ambiente antes de iniciar el ensayo.

1ª). Preparación del estandar.

Una vez diluido el liofilizado de hormona estandar se obtiene una solución que contiene 10 ng/ml (2 ml) de hormona pura. Partiendo de ella y por diluciones progresivas con el tampón borato se preparan 5 tubos:

Tubo 1:	Solución estandar inicial (2 ml)....	10 ng/ml
Tubo 2:	1 ml del tubo + 1 ml de tampón.....	5 ng/ml
Tubo 3:	1 ml del tubo 2 + 1 ml de tampón....	2,5 ng/ml
Tubo 4:	1 ml del tubo 3 + 1 ml de tampón....	1,25 ng/ml
Tubo 5:	1 ml del tubo 4 + 1,5 ml de tampón..	0,5 ng/ml

2ª). Procesado de las muestras problema.

Una gradilla de 100 tubos de polietileno de 4 ml, se numera correlativamente del 1 al 100, dividiéndolos en 4 grupos para cada una de las partes de que consta el ensayo:

Tubos 1-2 para determinar la actividad total.

Tubos 3-4 para determinar el porcentaje de unión a una concentración de 0 ng/ml.

Tubos 5-14 para el cálculo del estandar

Tubos 15-100 para el proceso de las muestras problema.

Desde aquí se procede como sigue:

- Pipetear 0.1 ml de seroalbúmina bovina a todos los tubos excepto al 1-2 que por estar destinados a medir la cantidad total de la hormona marcada sólo deben de contener la alícuota correspondiente de ésta.

- Pipetear, a continuación, 0.1 ml de cada uno de los correspondientes tubos de estandar a los tubos 5 al 14, 0.1 ml de tampón a los tubos 3 y 4, y 0.1 ml de la muestra problema a todos los tubos a partir del número 15 hasta el último correspondiente a la última muestra a testar. Mezclar bien el contenido de todos los tubos mediante un pase de 2-3 sg por el mezclador Vortex.

- Pipetear en todos los tubos, excepto en los que contendrán la actividad total, 0.1 ml de antisuero anti-HCh y mezclar nuevamente el contenido como en el paso anterior. Tapar todos los tubos e incubar en baño maría a 37°C durante 6 horas.

- Transcurrido este tiempo pipetear 0.1 ml de ^hhormona marcada a todos los tubos incluyendo los números 1 y 2. Mezclar

cuidadosamente el contenido, tapar nuevamente todos los tubos, e incubar durante 18 horas en las mismas condiciones del paso anterior.

- Finalizado este segundo período de incubación añadir a todos los tubos, excepto a los número 1 y 2, 0.1 ml del segundo anticuerpo (anticuerpo precipitante), mezclar cuidadosamente el contenido e incubar nuevamente, en las mismas condiciones durante una hora.

- Finalizada esta tercera incubación centrifugar todos los tubos, excepto el 1 y 2, durante 10 minutos a 1.500-2.000 g, lo que dá lugar a una pastilla de precipitado y a un sobrenadante claro. Decantar éste cuidadosamente mediante aspiración suave con bomba de agua evitando aspirar el contenido del precipitado.

- Añadir a cada tubo 0.5 ml de tampón borato, excepto al 1-2, centrifugar nuevamente 10 minutos a 1.500-2.000 g y decantar el sobrenadante con el mismo cuidado que en el paso anterior.

- Contar la radioactividad de cada tubo, empezando con los que contienen la actividad total que son posteriormente retirados para evitar contaminaciones que pueden alterar el contaje. El tiempo de contaje depende de la eficacia del contar utilizado, habiéndose empleado sistemáticamente en este trabajo un tiempo de 100 sg.

Para realizar el cálculo de los resultados se controla, en primer lugar, la capacidad de unión del sistema, utilizando para ello las cuentas correspondientes a los tubos 3 y 4, que por contener sólo antígeno marcado y anticuerpo específico van a expresar el % de captación del ensayo:

$$B/T \% = \frac{\text{cpm del estandar cero}}{\text{cpm Actividad total}} \times 100$$

Su valor debe de estar comprendido entre el 30 y el 50%.

A continuación se determinan los valores de unión del estandar para construir la curva de referencia, y los de los tubos problema según la fórmula:

$$B/T_o \% = \frac{\text{cpm de cada estandar o problema}}{\text{cpm estandar 0}} \times 100$$

Puesto que todas las muestras se realizan por duplicado las cpm a tabular corresponden a la media de las dos determinaciones, excepto en el caso de que entre ambas exista una diferencia superior al 15%. Puede, además, introducirse como control la determinación de una muestra conocida, aunque he podido comprobar que la presencia de unos valores del estandar en el rango previamente establecido es suficiente para asegurar la validez del método.

La curva de referencia se construye colocando en el eje de las X la concentración de cada estandar y en el de las Y el tanto % de unión, leyéndose por extrapolación los valores correspondientes a cada muestra problema, y teniendo en cuenta para la expresión de los resultados definitivos que el valor leído corresponde a 0.1 ml de suero problema diluido 1:3 en los diferentes pasos del método, por lo que el valor exacto es:

$$\text{ng/tubo} \times 3 = \text{ng/ml}$$

En la figura 14 se representa la curva estandar con los valores medios y la desviación típica realizada con las muestras de 10 ensayos diferentes y la transformación Logit-Log. En las Tablas XXa, b, c, d y e se representan los valores y coeficientes de variación para cada uno de los estandares empleados.

El método se ha mostrado específico valorado respecto a la reacción cruzada con PRL, PLh, FSH, LH, GCh y TSH; su sensibilidad mínima, calculada mediante estudios computarizados se ha cifrado alrededor de 0.02 ng/ml.

FIGURA 14

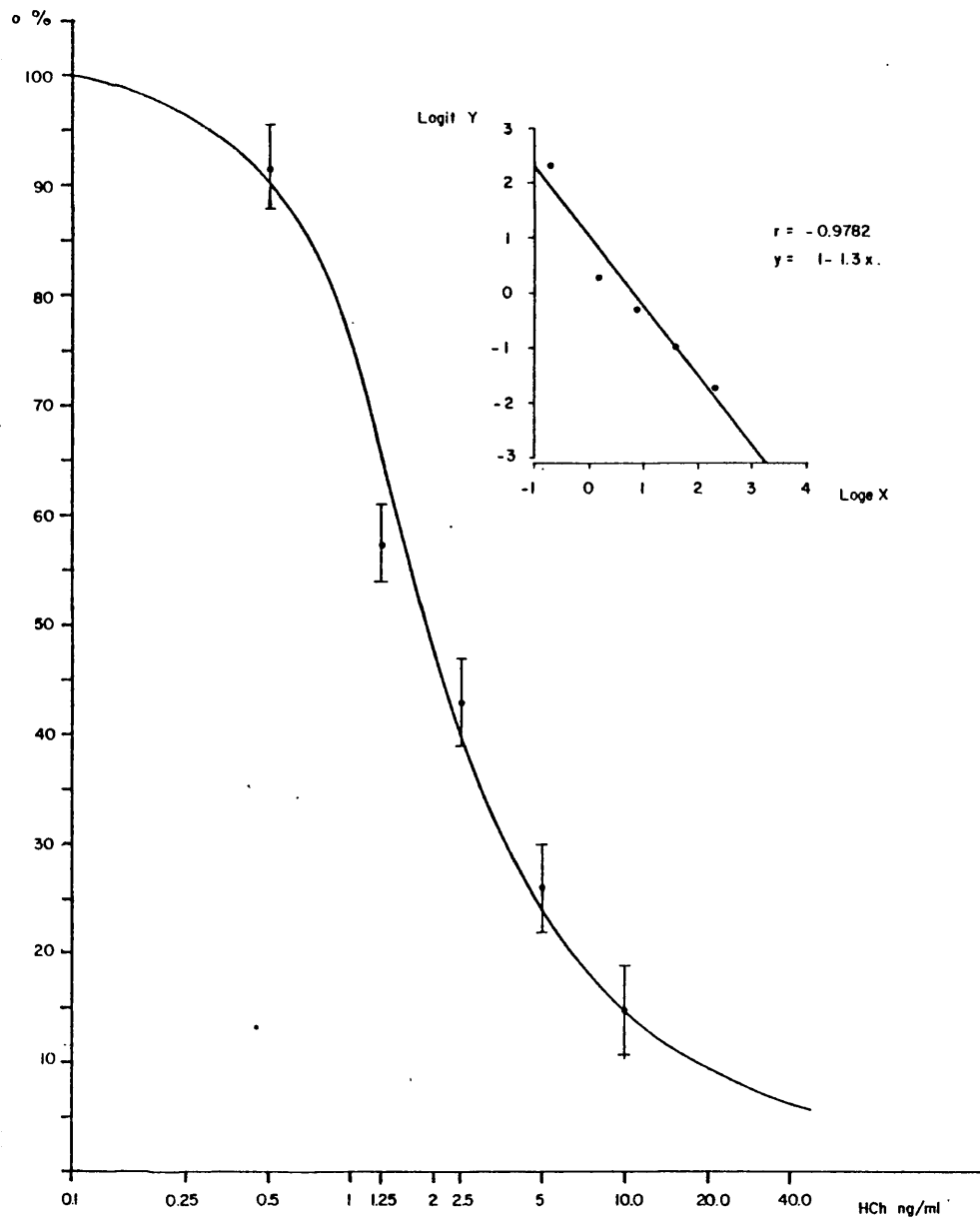


TABLA XXa
0.5 ng

<u>N° ENSAYO</u>	<u>t (sg)</u>	<u>cpm Ong(Bo)</u>	<u>AcT(I)</u>	<u>Bo/T</u> <u>% Unión</u>	<u>cpm 0.5 ng(B)</u>	<u>Bo/T</u> <u>% Unión 0.5 ng</u>
1	100	4.291	13.171	32.57	4.182	97.45
2	100	3.963	11.505	34.44	3.787	95.55
3	100	4.611	12.724	36.23	4.013	87.03
4	100	4.376	12.908	33.87	4.131	94.40
5	100	4.265	11.203	38.07	3.893	91.27
6	100	4.008	12.245	32.73	3.503	87.40
7	100	4.488	11.755	38.17	4.149	92.44
8	100	4.070	11.909	34.17	3.440	84.52
9	100	4.089	12.174	33.58	3.781	92.46
10	100	4.917	13.400	36.69	4.644	94.44
TOTAL		4.307±301	12.299±731.9	35.05±2	3952±354	91.69±4.16
(M±DS)						
C.V%		6.88	5.95	5.95	8.96	4.53

Logit Y=2.31

TABLA XXb
1.25 ng

N° ENSAYO	t (sg)	cpm 0ng(Bo)	AcT(T)	Bo/T % Unión	cpm 1.25ng(B)	Bo/T % Unión 1.25 ng
1	100	4.291	13.171	32.57	2.421	56.42
2	100	3.963	11.505	34.44	2.288	57.75
3	100	4.611	12.724	36.23	2.428	52.65
4	100	4.376	12.908	33.87	2.526	57.72
5	100	4.265	11.203	38.07	2.538	59.50
6	100	4.008	12.245	32.73	2.405	60
7	100	4.488	11.755	38.17	2.514	56.01
8	100	4.070	11.909	34.17	2.039	50.09
9	100	4.089	12.174	33.58	2.485	60.77
10	100	4.917	13.400	36.69	3.133	63.71
TOTAL		4.307±301	12.299±731.9	35.05±2	2.477±274	57.46±3.96

(M±DS)

C.V%

6.98

5.95

11.06

6.89

Logit Y=0.28

TABLA XXC
2.5 ng

Nº ENSAYO	t (sg)	cpm Ong(Bo)	Act(I)	Bo/T % Unión	cpm 2.5 ng(B)	Bo/T % Unión 2.5 ng
1	100	4.291	13.171	32.57	2.095	48.82
2	100	3.963	11.505	34.44	1.770	44.66
3	100	4.611	12.724	36.23	1.782	38.64
4	100	4.376	12.908	33.87	2.100	47.98
5	100	4.265	11.203	38.07	1.824	42.76
6	100	4.008	12.245	32.73	1.696	42.31
7	100	4.488	11.755	38.17	1.566	34.89
8	100	4.070	11.909	34.17	1.679	41.25
9	100	4.089	12.174	33.58	1.901	46.59
10	100	4.917	13.400	36.69	2.034	41.36
TOTAL		4.307±301	12.299±731.9	35.05±2	1.844±183	42.92±4.2
(M±DS)						
C.V%		6.98	5.95	5.95	9.96	9.98

Logit Y=0.32

TABLA XXd
5 ng

Nº ENSAYO	t (sg)	cpm Ong(Bo)	Act(T)	Bo/T % Unión	cpm 5 ng(B)	Bo/T % Unión 5 ng
1	100	4.291	13.171	32.57	909	21.18
2	100	3.963	11.505	34.44	1.267	31.97
3	100	4.611	12.724	36.23	1.201	26.04
4	100	4.376	12.908	33.87	1.224	27.97
5	100	4.265	11.203	38.07	1.275	29.89
6	100	4.008	12.245	32.73	975	24.32
7	100	4.488	11.755	38.17	1.163	23.91
8	100	4.070	11.909	34.17	910	22.35
9	100	4.089	12.174	33.58	1.210	29.65
10	100	4.917	13.400	36.69	995	29.25
TOTAL		4.307±301	12.299±731.9	35.05±2	1.112±148	25.9±3.9

(M±DS)

C.V%

6.98

5.95

13.3

15

Logit Y = -1

TABLA XXe
10 ng

Nº ENSAYO	t (sg)	cpm 0ng(Bo)	AcT(I)	Bo/T % Unión	cpm 10 ng(B)	Bo/T % Unión 10 ng
1	100	4.291	13.171	32.57	521	12.14
2	100	3.963	11.505	34.44	446	11.25
3	100	4.611	12.724	36.23	987	21.40
4	100	4.376	12.908	33.87	542	12.38
5	100	4.265	11.203	38.07	562	13.17
6	100	4.008	12.245	32.73	466	11.62
7	100	4.488	11.755	38.17	537	11.96
8	100	4.070	11.909	34.17	845	20.76
9	100	4.089	12.174	33.58	636	15.58
10	100	4.917	13.400	36.69	895	18.20
TOTAL (M±DS)		4.307±301	12.299±731.9	35.05±2	643±193	14.8±3.9
C.V%		6.98	5.95	5.95	30	26.3

Logit Y= -1.8

13 B-4) Determinación de Prolactina.

13 B-4a) Método de REUTER y col. (1975). Hasta 1978 he utilizado para la cuantificación de PRL en plasma la técnica publicada por REUTER, KENNES, GEVAET y FRANCHIMONT (1975) con el material proporcionado por SORIN BIOMEDICA, Vercelli, Italia. Por cada 50 muestras problema se utilizan los siguientes reactivos:

1ª). PRL humana (MRC 71/222) para la realización de la curva estándar de referencia. Se suministra en un frasco que contiene 8.000 U de hormona humana de origen hipofisario, liofilizada y mantenida a 4°C al igual que el resto del material biológico del ensayo. En el momento de su utilización se reconstruye con 2 ml de tampón fosfato dando una solución que contiene 4.000 U/ml. Las características de la hormona de referencia corresponde a: 1 mg PRL NIH (NIH-V-L-S# 1) = 40 U.I. MRC de actividad inmunológica.

2ª). PRL humana marcada con I-125, liofilizada, con una radioactividad por frasco de 1,5 μ Ci. El marcaje es realizado con 5 μ g de PRLh (Calbiochem) y 2 mCi de I-125 utilizando la técnica de GREENWOOD, con una concentración de cloramina T de 10 μ g por cada 5 μ g de hormona. Tras el marcaje se separan las fracciones de PRL, yodo residual y restos alterados mediante filtración en Sephadex G 75, en columna de 90/1 cm, utilizando como tampón buffer de Sorensen 0.05 M conteniendo 1% de albúmina bovina y 0.05% de azide sódico a pH 7.5. En el momento de su empleo se reconstruye con 10 ml de tampón fosfato, con una concentración de radioactividad final de aproximadamente 150 nCi/ml.

3ª). Anticuerpo anti-PRLh, liofilizado, obtenido del conejo. En el momento del empleo se reconstruye con 10 ml de tampón fosfato. Al igual que en la preparación de la hormona marcada es aconsejable realizar la disolución lentamente, con agitación manual, para evitar la formación de espuma que

restaría una pequeña cantidad de material para los tubos finales del ensayo.

4^a). Segundo anticuerpo, anti-gamma-G de conejo, liofilizado y fijado sobre celulosa activada según el método de WIDE (Acta Endocrinológica. Vol 63, sup. 142, p 204, 1969). En el momento de su empleo se reconstruye el contenido con 50 ml de tampón fosfato adicionado de Tween 20; dada la capacidad de adherencia del Tween es aconsejable realizar la disolución bajo agitación magnética continua, previo calentamiento del Tween a 37°C en baño maría, que no altera su estructura y facilita el manejo.

5^a). Tampón fosfato. Se suministra en una bolsa desecada, preparándose en el momento de su empleo con 400 ml de agua destilada bajo agitación magnética continua, debiendo de esperar a que se produzca la total disolución del polvo y de la espuma que inevitablemente se forma. Dado que su actividad es muy prolongada puede conservarse en nevera a 4°C.

Ninguno de los reactivos de ensayo puede ser conservado tras su preparación a excepción del tampón fosfato. Es también recomendable utilizar en todo el ensayo material plástico dado que existe el peligro de adsorción de la hormona a las paredes del cristal. En caso de necesidad, si fuera necesario utilizar cristal, su interior debe de estar siliconado.

- Metódica

Al igual que en el ensayo anterior, mantener los reactivos durante unos minutos a temperatura ambiente antes de comenzar la prueba.

Descongelar los tubos de las muestras problemas a temperatura ambiente, homogeneizando el contenido mediante un pase de 2-3 sg por el Vortex. En caso de sospechar el procesamiento de una

muestra con alto contenido de hormona es aconsejable la realización de una dilución a distintas concentraciones (por ejemplo 1/2, 1/4, 1/8...) con tampón fosfato, realizándose posteriormente un estudio de correlación y teniendo presente el factor de dilución en el momento de la lectura.

1ª). Preparación del estandar.

La reconstitución del estandar con 2 ml de tampón fosfato permite obtener una concentración inicial de 4.000 U/ml (estandar 1) del que se parte para preparar 7 tubos en diluciones progresivas:

Tubo 1:	1 ml de estandar	1.....	4.000 U/ml
Tubo 2:	1 ml de estandar	1+1 ml de tampón.....	2.000 U/ml
Tubo 3:	1 ml de estandar	2+1 ml de tampón.....	1.000 U/ml
Tubo 4:	1 ml de estandar	3+1 ml de tampón.....	500 U/ml
Tubo 5:	1 ml de estandar	4+1,5 ml de tampón.....	200 U/ml
Tubo 6:	1 ml de estandar	5+1 ml de tampón.....	100 U/ml
Tubo 7:	1 ml de estandar	6+1 ml de tampón.....	50 U/ml

2ª). Procesado de las muestras problema.

Una gradilla de 100 tubos de polietileno de 4 ml se enumera correlativamente del 1 al 100, dividiéndose en 4 grupos para cada una de las partes de que consta el ensayo:

- Tubos 1 - 2 para determinar la actividad total.
- Tubos 3 - 4 para determinar el porcentaje de unión a una concentración de 0 U/ml.
- Tubos 5 -18 para el cálculo del estandar.
- Tubos 19-100 para el procesado de las muestras problema.

Desde aquí se procede como sigue:

- Tapar con un tapón de plástico, para evitar confusiones, los tubos 1 y 2 en los que sólo se pipeteará una alicuota de hormona marcada. Pipetear 0.15 ml de tampón fosfato en los tubos 3-4, 0.05 ml en los tubos 5 al 18 y 0.1 ml en todos los correspondientes a las muestras problema.

- Pipetear a continuación 0.1 ml, por duplicado, de cada uno de los estándar en los tubos 5-18, y 0.05 ml de las muestras problema en el resto de los tubos.

- Pipetear 0.1 ml de hormona marcada, equivalente a 0.2 ng, en todos los tubos incluyendo los números 1 y 2 y, en paso separado, 0.1 ml de anticuerpo anti-PRLh (1/30.000) en todos los tubos excepto en los correspondientes a la actividad total. Mezclar bien el contenido de los pipeteos sucesivos durante 2-3 sg en el mezclador Vortex y tapar herméticamente todos los tubos. Colocarlos, excepto el 1-2, en el agitador rotativo, para realizar la primera incubación durante 48 horas a temperatura ambiente.

- Finalizado el primer período de incubación añadir a todos los tubos 0.5 ml de la suspensión de celulosa que contiene el anticuerpo precipitante, tapar nuevamente cada tubo e incubarlo, bajo rotación, durante 5 horas a temperatura ambiente. Durante el período del pipeteo, para poder mantener homogénea la suspensión de celulosa activada, es aconsejable realizar agitación constante mediante sistema magnético.

- Finalizada la segunda incubación centrifugar todos los tubos durante 10 minutos a 2.500 g. Aspirar el sobrenadante, que en esta ocasión plantea pocos problemas dada la relativa consistencia del precipitado, y añadir 2-2.5 ml de tampón fosfato adicionado de Tween 20 (0.5 ml de Tween por 100 ml de tampón), mantenido también bajo agitación magnética. Mezclar el contenido, centrifugar nuevamente 10 minutos a 2.500 g, aspirar el sobrenadante y contar.

- El tiempo de contaje ha sido también de 100 sq por tubo, empezando por los de actividad total que son posteriormente retirados. No utilizar, y por tanto repetir, aquellas muestras cuyas diferencias sean superiores al 15% entre las dos determinaciones. Calcular la media de las dos muestras de cada ensayo y realizar el control de la capacidad de unión con los tubos de OU, que por contener sólo antígeno y anticuerpo representa el 100% de unión, cuyo resultado debe de encontrarse entre el 15 y 30%. Para ello calcular el porcentaje de la fracción B_o/T :

$$B_o/T \% = \frac{\text{cpm del estandar } 0}{\text{cpm actividad total}} \times 100$$

Construir la curva estandar, expresada en términos de tanto por ciento de unión respecto a cada concentración de estandar, siguiendo la fórmula:

$$B/B_o = \frac{\text{media por cada estandar}}{\text{media para estandar } 0} \times 100$$

Para calcular el tanto por ciento de unión de las muestras problema sustituir el numerador por la media de cada muestra, extra polando el resultado directamente en la curva estandar, que lleva en el eje de las X la concentración hormonal.

El resultado queda expresado en U/ml, que dividido por 19 se transforma en ng/ml.

En la Figura 15 se representa la curva estandar y la transformación Logit-Log con los valores medios obtenidos en 5 ensayos diferentes, y en las Tablas XXIIa, b, c, d, e, f y g se resumen los valores y coeficientes de variación para cada uno de los estandar empleados.

13 B-4h) Método de Friesen y col. (1972). (Modificado). Desde 1978 he utilizado para la cuantificación de la PRL circulante un método basado en la técnica de FRIESEN, ya revisada en sus aspectos fundamentales en la primera parte de esta tesis. El material necesario

FIGURA 15

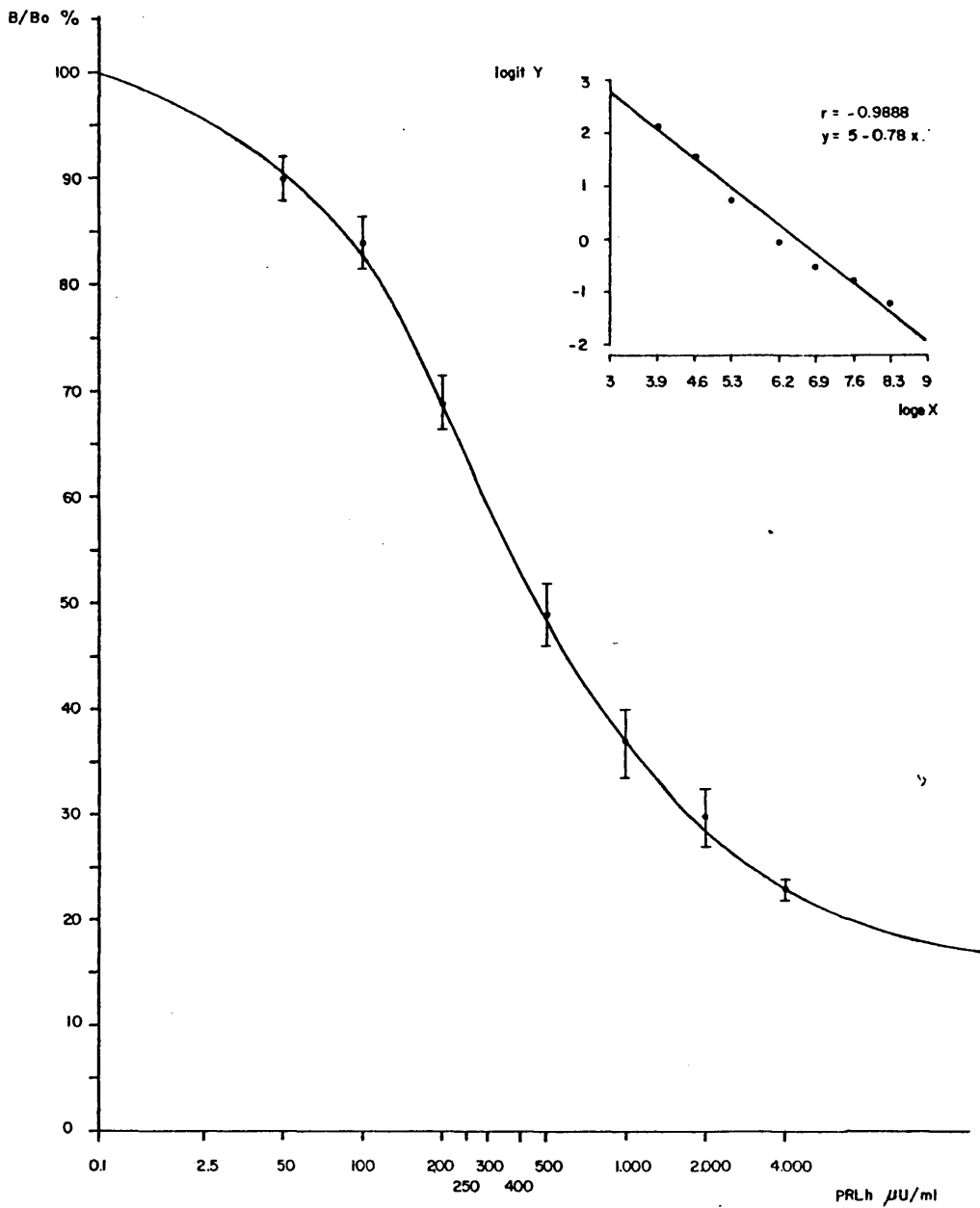


TABLA XXIa

50 µU/ml

N° ENSAYO	t (seg)	50 µU/ml		Act	Bo/T		B/Bo
		cdm 0µU/ml	%Unión		cdm 50 µU/ml	%Unión 50 µU/ml	
1	100	5.045	24.64	20.471	4.651	92.2	
2	100	5.502	27.93	19.697	4.908	89.2	
3	100	4.918	25.64	19.176	4.509	91.68	
4	100	5.081	25.83	19.666	4.469	87.96	
5	100	5.198	24.44	21.260	4.534	87.22	

Logit Y=2.15

4.614±177

25.7±1.38

20.054±818

5.148±221

TOTAL

(M±DS)

C.V%

2.46

3.83

5.36

4.07

4.29

TABLA XXIB

100 µU/ml

N° ENSAYO	t (sa)	100 µU/ml		AcT	B0/T		cpm 100 µU/ml	B/Bo	
		cpm 0µU/ml	%Unión		%Unión	%Unión 100 µU/ml			
1	100	5.045	24.64	20.471	4.065	80.2			
2	100	5.502	27.93	19.697	4.765	86.62			
3	100	4.918	25.64	19.176	4.190	85.2			
4	100	5.081	25.83	19.666	4.235	83.36			
5	100	5.198	24.44	21.260	4.374	84.15			

Logit Y= 1.58

83.9±2.4

4.325±269

25.7±1.38

20.054±818

5.148±221

(M±DS)

C.V%

4.29

4.07

5.36

6.2

2.86

TABLA XXIC

200 μ U/ml

N° ENSAYO	t (seg)	cpm 0 μ U/ml	Act	Bo/T %Unión	cpm 200 μ U/ml	B/Bo %Unión 200 μ U/ml
1	100	5.045	20.471	24.64	3.533	70
2	100	5.502	19.697	27.93	3.885	70.62
3	100	4.918	19.176	25.64	3.491	71
4	100	5.081	19.666	25.83	3.453	67.96
5	100	5.198	21.260	24.44	3.336	64.19

Logit Y= 0.75

68.7 \pm 2.8

25.7 \pm 1.38

20.054 \pm 818

5.148 \pm 221

TOTAL

(M \pm DS)

C.V%

4.29

4.07

5.36

5.8%

4%

TABLA XXId

500 µU/ml

N° ENSAYO	t(seg)	Bo/T		B/Bc		
		cpm 0µU/ml	AcT	%Unión	cpm 500µU/ml	%Unión 500 µU/ml
1	100	5.045	20.471	24.64	2.564	50.82
2	100	5.502	19.697	27.93	2.555	46.45
3	100	4.918	19.176	25.64	2.601	52.9
4	100	5.081	19.666	25.83	2.425	47.73
5	100	5.198	21.260	24.44	2.559	49.23

311

Logit Y= -0.04

49.36±2.6

2.540±67

25.7±1.38

20.054±818

5.148±221

TOTAL
(M±DS)

5.2

2.64

5.36

4.07

4.29

C.V%

TABLA XXIIe

1.000 $\mu\text{U/ml}$

N° ENSAYO	t (seg)	cpm 0 $\mu\text{U/ml}$	AcT	%Unión	cpm 1000 $\mu\text{U/ml}$	%Unión 1000 $\mu\text{U/ml}$
1	100	5.045	20.471	24.64	1.853	36.70
2	100	5.502	19.697	27.93	1.845	33.53
3	100	4.918	19.176	25.64	1.889	38.40
4	100	5.081	19.666	25.83	2.057	40.5
5	100	5.198	21.260	24.44	1.966	37.83
TOTAL		5.148 \pm 221	20.054 \pm 818	25.7 \pm 1.38	1.923 \pm 87.5	37.4 \pm 2.5
(M \pm DS)						Logit Y= -0.53
C.V%		4.29	4.07	5.36	4.5	6.8

TABLA XXII F

2.000 $\mu\text{U}/\text{ml}$

N° ENSAYO	t (seg)	2.000 $\mu\text{U}/\text{ml}$		AcT	B/T		B/Bo
		cpm 0 $\mu\text{U}/\text{ml}$	%Unión		cpm 2000 $\mu\text{U}/\text{ml}$	%Unión 2000 $\mu\text{U}/\text{ml}$	
1	100	5.045	24.64	20.471	1.420	28.19	
2	100	5.502	27.93	19.697	1.570	28.55	
3	100	4.918	25.64	19.176	1.718	34.93	
4	100	5.081	25.83	19.666	1.463	28.8	
5	100	5.198	24.44	21.260	1.561	30	

Logit Y= -0.84

30 \pm 2.7

1.546 \pm 115

TOTAL

5.148 \pm 221

25.7 \pm 1.38

30 \pm 2.7

1.546 \pm 115

Logit Y= -0.84

(M \pm DS)

4.29

5.36

7.45

9.2

C.V%

TABLA XXIX

4.000 µU/ml

N° ENSAYO	t(sq)	com 0µU/ml	Act	Bo/T %Unión	cpm 4000µU/ml	B/Bo %Unión 4000 µU/ml
1	100	5.045	20.471	24.64	1.165	23
2	100	5.502	19.697	27.93	1.205	21.91
3	100	4.918	19.176	25.64	1.161	23.62
4	100	5.081	19.666	25.83	1.080	21.27
5	100	5.198	21.260	24.44	1.272	24.48

Logit Y= -1.20

22.8±1.28

1.176±70

25.7±1.38

20.054±818

5.148±221

TOTAL
(M±DS)

C.V%

4.07

4.29

5.36

5.95

5.6

ha sido proporcionado por los laboratorios ABBOTT (Madrid) y está constituido, para el procesado de 50 muestras problema por dupli cado, por:

1ª). PRL humana, correspondiente a la fracción caracterizada por Friesen, dividida en alicuotas de 1 ml con 5, 10, 20, 40, 80 y 160 nq/ml, suspendida en tampón fosfato 0.1 M conteniendo 2,5% de seroalbúmina bovina y 0.1% de azide sódico como preservativo. Se conserva a 4°C y no necesita reconstitución antes de su uso.

2ª). PRL humana marcada con I-125 (5 ml) en tampón fosfato 0.1 M conteniendo la misma dosis de preservativo y seroalbúmina que la alicuota de hormona de referencia. La radioactividad aproximada es de 0,1 μ Ci/ml.

3ª). Antisuero anti-PRLh (5 ml) obtenido del conejo y sus pendido en la misma composición del estandar.

4ª). Segundo anticuerpo (5 ml) anti-gamma G de conejo obtenido de la cabra, suspendido en la solución estandar.

5ª). Tampón fosfato (5 ml) 0.1 M con 2.5% de seroalbúmina bovina y 0.1% de azide sódico. Puede conservarse en "stock" a 4°C, y en caso de necesidad puede prepararse como en el método de REUTER, salvo que el volumen de agua destilada a ajustar es de medio litro.

6ª). Solución salina fisiológica mantenida hasta el momento de su empleo entre 2 y 8°C.

Todos los reactivos se conservan a 4°C debiendo de ser consumidos una vez abiertos y no deben de ser expuestos a la luz inne cesariamente.

- Metódica.

Al igual que en los ensayos anteriores mantener todos los reactivos a temperatura ambiente ante su utilización; descongelar las muestras problema con las normas ya referidas. Si se sospecha concentraciones muy altas de alguna muestra procesarla previa realización de diluciones progresivas con 0.1 ml de tampón fosfato.

1ª). Preparación del estandar.

Para preparar el estandar sólo se necesita pipetear la alícuota correspondiente al tubo de la gradilla de ensayo, que previamente será numerada y dividida de acuerdo con las diversas partes del mismo:

Tubos 1-2 destinados a medir la actividad total.

Tubos 3-4 para determinar el porcentaje de unión a una concentración hormonal de 0 ng/ml.

Tubos 5-16 para pipetear los estandares.

Tubos 17-100 para las muestras problema por duplicado.

2ª). Procesado de las muestras problema.

- Pipetear 0.05 ml de tampón a los tubos 3-4 del estandar 0.

- Pipetear 0.5 ml de cada estandar de PRL en sus correspondientes tubos.

- Pipetear 0.05 ml de las muestras problema a procesar.

- Pipetear 0.1 ml de PRLh-I-125 en todos los tubos, tapando el 1 y 2 que contienen la alícuota para la actividad total.

- Pipetear 0.1 ml de anticuerpo-anti-PRLh en todos los tubos excepto el 1-2. Mezclar en el Vortex con cuidado de no formar espuma, tapar todos los tubos con papel "parafilm" e incubar a temperatura ambiente (18-30°C) durante 18-24 horas.

- Tras la primera incubación añadir 0.1 ml del segundo anticuerpo a todos los tubos excepto el 1-2, mezclar el contenido cuidadosa pero vigorosamente, cubrir con "parafilm" e incubar a temperatura ambiente de 4 a 8 horas.

- Finalizada esta segunda incubación parar la reacción del segundo anticuerpo pipeteando 1 ml de suero salino frío (2-8°C), mezclar en el Vortex y centrifugar durante 30 minutos a 3.000 g.

- Finalizada la centrifugación decantar el sobrenadante, quizás el paso más difícil del ensayo debido a la poca consistencia del precipitado. Debe de tenerse gran cuidado en la extracción de los tubos de la centrífuga y en su transporte a la mesa de laboratorio dado que un movimiento excesivo puede resuspender parte del precipitado. Aspirar el mayor volumen de sobrenadante mediante bomba de agua a baja presión, sin mover el tubo, para lo que resulta cómodo la colocación de un tope en la punta del aspirador que evite su excesiva penetración, lo que evita el riesgo de aspirar el precipitado. El pequeño volumen que queda puede ser decantado mediante un papel absorbente o una pipeta capilar complementada con una pequeña pera de vacío.

- Finalizada la decantación proceder al contaje, habiendo seguido utilizando un tiempo de 100 sg, empezando por la actividad total que es retirada a continuación. Calcular la media de contaje para cada muestra, desechando las que presenten una diferencia superior al 15%, y construir la curva estandar previa determinación del porcentaje de unión de cada uno de ellos:

$$\% \text{ de unión} = \frac{\text{cpm estandar o problema}}{\text{actividad total}} \times 100$$

Extrapolar los valores correspondientes de las muestras problema, leyéndose el resultado directamente sobre el eje de las X en ng/ml.

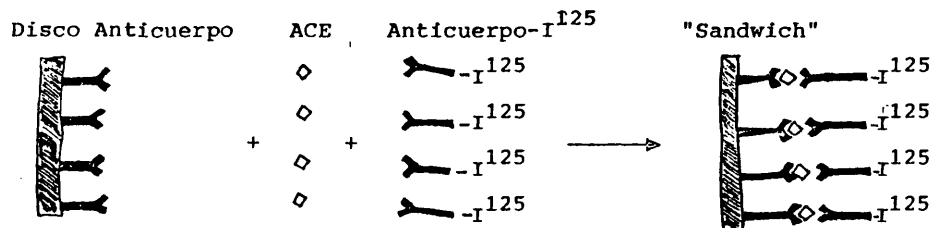
La especificidad el anticuerpo anti-PRLh ha sido comprobada frente a TSH, FSH, LH, MCh y ACTh no presentando reactividad cruzada. La sensibilidad del método se ha cifrado, siguiendo la técnica descrita por RODBOAR y LEWALD en alrededor de 2 ng/ml. La variación intraensayo para tres muestras de concentraciones baja, media y alta, repetidas 5 veces, ha oscilado entre 5 y 6% de coeficiente de variación, y las variaciones interensayo para las primeras muestras han variado entre un 3.8 y 4.1%, respectivamente.

En la Figura 16 se representa la curva estandar y transformación Logit-Log con los valores medios de 10 ensayos diferentes, y en las Tablas XXIIa, b, c, d, e y f se resumen los valores y coeficientes de variación para cada uno de ellos.

13 B-5) Determinación del Antígeno Carcinoembrionario (ACE).

La determinación del ACE la he realizado según la técnica de HIRAI (1977) con el material proporcionado por los laboratorios ABBOTT (Madrid).

En resumen, se trata de un RIA en fase sólida en el cual el anticuerpo anti-ACE se encuentra acoplado a un disco de papel de filtro, en un método conocido como técnica "Sandwich" y utilizando previamente por CESKA y LUNDKVIST en 1972 para la determinación de IqE. El ACE se une al anticuerpo en el disco y, en un paso posterior, a un nuevo anticuerpo anti-ACE marcado con I-125:



Para el procesado de quince muestras problema se necesita el siguiente material:

FIGURA 16

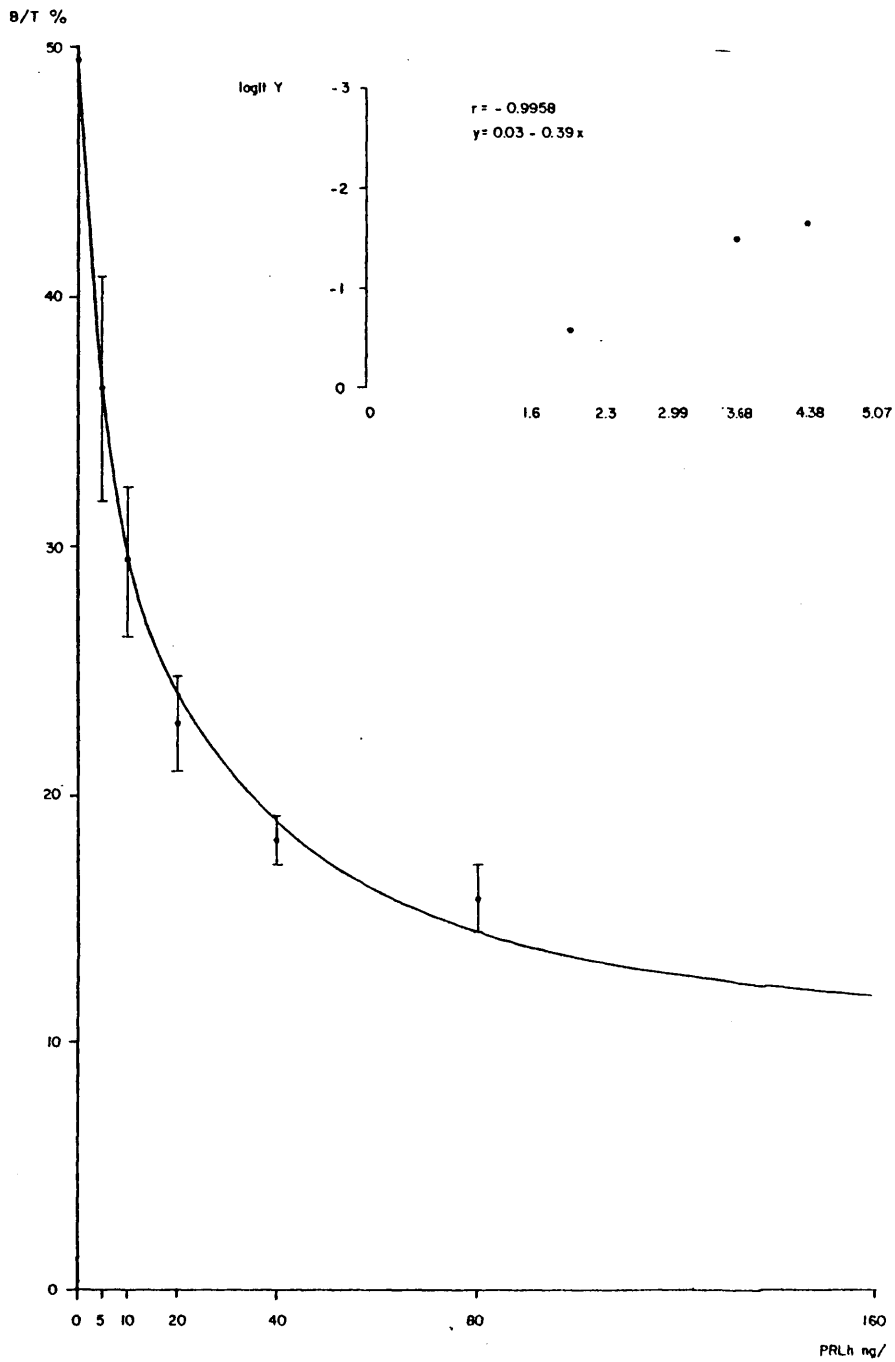


TABLA XXIIa
5 ng/ml

Nº ENSAYO	t (sg)	cpm 0 ng/ml		Bo/T		cpm 5 ng/ml		B/T	
		cpm 0	ng/ml	% Unión	Bo/T	cpm 5	ng/ml	% Unión	ng/ml
1	100	3.054		6.243	48.91	2.182		34.95	
2	100	2.927		7.025	41.66	2.159		30.73	
3	100	3.478		6.009	57.87	2.463		40.98	
4	100	3.197		5.841	54.73	2.463		42.16	
5	100	3.385		5.922	57.15	2.517		42.5	
6	100	2.988		6.739	44.33	2.109		31.29	
7	100	2.812		6.526	43.15	2.127		32.64	
8	100	3.534		6.611	53.45	2.556		38.66	
9	100	3.111		6.422	48.44	2.405		37.44	
10	100	2.895		6.303	45.93	1.972		31.28	
TOTAL		3.168±299		6.363±376	49.5±59	2.295±206		36.3±4.6	
(M±DS)									
C.V%		9,44		5,92	11,9	9		12,9	

320

Logit Y= -0.57

TABLA XXIIb
10 ng/ml

Nº ENSAYO	t (seg)	cpm 0 ng/ml	AcT(I)	Bo/T % Unión	cpm 10 ng/ml	B/T % Unión 10 ng/ml
1	100	3.054	6.243	48.91	1.779	28.49
2	100	2.927	7.025	41.66	1.886	26.84
3	100	3.478	6.009	57.87	1.923	32
4	100	3.197	5.841	54.73	1.986	34
5	100	3.385	5.922	57.15	1.996	33.7
6	100	2.988	6.739	44.33	1.879	27.88
7	100	2.812	6.526	43.15	1.769	27.14
8	100	3.534	6.611	53.45	1.998	30.22
9	100	3.111	6.422	48.44	1.919	29.88
10	100	2.895	6.303	45.93	1.545	24.51
TOTAL		3.168±299	6.363±376	49.5±59	1.868±139	29.4±3
(M±DS)						
C.V%		9,44	5,92	11,9	7,4	10,4

TABLA XXIIIC
20 ng/ml

Nº ENSAYO	t (sg)	cpm 0 ng/ml		cpm 20 ng/ml		B/T	
		AcI(T)	% Unión	AcI(T)	% Unión	% Unión 20 ng/ml	B/T
1	100	3.054	48.91	1.363	21.83		
2	100	2.927	41.66	1.539	21.90		
3	100	3.478	57.87	1.509	25.11		
4	100	3.197	54.73	1.572	26.91		
5	100	3.385	57.15	1.479	24.97		
6	100	2.988	44.33	1.434	21.27		
7	100	2.812	43.15	1.393	21.37		
8	100	3.534	53.45	1.495	22.61		
9	100	3.111	48.44	1.446	22.51		
10	100	2.895	45.93	1.342	21.29		
TOTAL		3.168±299	49.5±59	1.457±75	22.9±1.9		
(M±DS)		6.363±376	49.5±59	1.457±75	22.9±1.9		
C.V%		9.44	11.9	5.1	8.6		

Logit Y= -1.2

322

TABLA XXIId
40 ng/ml

Nº ENSAYO	t (sg)	Bo/T		B/T		
		cpm 0 ng/ml	AcT(T)	% Unión	cpm 40 ng/ml	% Unión 40 ng/ml
1	100	3.054	6.243	48.91	1.023	16.38
2	100	2.927	7.025	41.66	1.265	18
3	100	3.478	6.009	57.87	1.090	18.13
4	100	3.197	5.841	54.73	1.171	20
5	100	3.385	5.922	57.15	1.081	18.25
6	100	2.988	6.739	44.33	1.202	17.83
7	100	2.812	6.526	43.15	1.255	19.26
8	100	3.534	6.611	53.45	1.128	17.06
9	100	3.111	6.422	48.44	1.169	18.2
10	100	2.895	6.303	45.93	1.224	19.41
TOTAL		3.168±299	6.363±376	49.5±59	1.160±79	18.2±1
(M±DS)						
C.V%		9,44	5,92	11,9	6,8	5,9

Logit Y= -1.5

TABLA XXIie
80 ng/ml

Nº ENSAYO	t (sg)	cpm 0 ng/ml	Act(T)	Bo/T		B/T	
				% Unión	cpm 80 ng/ml	% Unión 80 ng/ml	cpm 80 ng/ml
1	100	3.054	6.243	48.91	794	12.71	12.71
2	100	2.927	7.025	41.66	1.084	15.43	15.43
3	100	3.478	6.009	57.87	952	15.84	15.84
4	100	3.197	5.841	54.73	1.063	18.19	18.19
5	100	3.385	5.922	57.15	875	14.77	14.77
6	100	2.988	6.739	44.33	1.126	16.7	16.7
7	100	2.812	6.526	43.15	1.077	16.52	16.52
8	100	3.534	6.611	53.45	1.062	16.06	16.06
9	100	3.111	6.422	48.44	1.062	16.53	16.53
10	100	2.895	6.303	45.93	1.010	16.02	16.02
TOTAL		3.168±299	6.363±376	49.5±59	1.010±105	15.8±1.4	15.8±1.4
(M±DS)							
C.V%		9,44	5,92	11,9	10,4	9	9

Logit Y = -1.65

TABLA XXIIIf
160 ng/ml

Nº ENSAYO	t (sg)	cpm 9 ng/ml	AcI(T)	Bo/T		cpm	ng/ml	B/T	
				% Unión	% Unión			% Unión	ng/ml
1	100	3.054	6.243	48.91	682			10.92	
2	100	2.927	7.025	41.66	877			12.48	
3	100	3.478	6.009	57.87	609			10.13	
4	100	3.197	5.841	54.73	796			13.62	
5	100	3.385	5.922	57.15	681			11.49	
6	100	2.988	6.739	44.33	850			12.61	
7	100	2.812	6.516	43.15	832			12.76	
8	100	3.534	6.611	53.45	672			10.16	
9	100	3.111	6.422	48.44	691			10.75	
10	100	2.895	6.303	45.93	793			12.58	
TOTAL		3.168±299	6.363±376	49.5±59	748±102			11.9±1.5	
(M±DS)									
C.V%		9,44	5,92	11,9	13,48			13,23	

Logit Y= -1.99

1°) ACE puro para la construcción del estandar, que se su ministra en 6 viales con concentraciones de 0.1, 2.5, 5, 20 y 100 ng/ml, en tampón acetato 0.1 M, a pH 5, que contiene 0.1% de seroalbúmina bovina y 0.01% de timerosal como preservativo.

El ACE fué obtenido de las metástasis hepáticas de un paciente con carcinoma de colon siguiendo la técnica clásica de KRUYEY y col. (1972). El homogeneizado en suero fisiológico de la metastasis se trata con ácido perclórico 2M (1 vol: 1 vol) y un volumen de este primer tratamiento se neutraliza con TRIS en polvo, añadiéndose seguidamente dos volúmenes de alcohol etílico. El precipitado es suspendido en suero fisiológico al que se añade suero de caballo previamente inmunizado con ACE, incubándose a 37% durante 30 minutos. De esta forma se obtiene un complejo Ag-Ac que es resuspendido en suero fisiológico y nuevamente tratado con ácido perclórico 1M para precipitar las proteínas anticuerpo existentes de forma libre, con lo que queda el ACE en el sobrenadante. El ácido residual es neutralizado con TRIS, pasándose la preparación por una columna de sefarosa 6B, recogándose en ACE purificado en la segunda fracción de elución.

2°) Anti-ACE acoplado a un disco de papel de filtro, mantenido en una solución de bicarbonato sódico 0.1M con 0.01% de timerosal.

El anticuerpo, obtenido de la oveja, se una covalentemente al papel de filtro previamente activado con CBrN, pero no en forma de anticuerpo purificado sino que se utiliza para el recubrimiento del disco la fracción gamma-G completa; aunque este método presenta una menor capacidad para ligar antígenos permite la cuantificación del ACE entre 1 y 100 ng/ml.

3°) Anti-ACE-I-125. Anticuerpo obtenido del caballo, marcado según la técnica de la cloramina T, y mantenido en tampón borato 0.5 M conteniendo 5% de suero equino y 0.01% de timerosal.

La radioactividad total es algo menor de 2 $\mu\text{Ci/ml}$.

4°) Tampón acetato 0.2 M a pH5, para la extracción del ACE en las muestras problema.

5°) Suero control, que contiene alrededor de 5 ng/ml de ACE, que puede sustituirse por un suero patrón previamente conocido.

6°) Una placa con pozos individuales para la realización técnica.

Como único equipo específico para el procesado de las muestras se necesita un agitador horizontal capaz de proporcionar 100-200 vibraciones por minuto, de una amplitud de 1-1.2 mm, a una aceleración de 5-7.8 g, que nos ha sido generosamente proporcionada por los laboratorios ABBOTT.

- Método:

1. Extracción del ACE de las muestras problema.

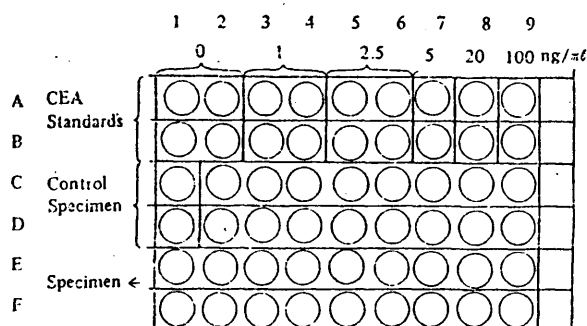
- Tras descongelar los tubos, y homogeneizar el contenido en el Vortex, se pipetea 0.5 ml de suero en tubos de centrifugación de cristal, previamente numerados. A continuación se pipetea 0.5 ml de tampón acetato con una relación final Vol: Vol de 1:1.

- Incubar 10 minutos a $85\pm 5^\circ\text{C}$.

- Realizada la incubación mezclar el contenido en el Vortex lo que deja una suspensión de color lechoso en cada tubo. En ocasiones este color puede variar siendo el más frecuente el amarillento (en plasmas procedentes de muestra con alto contenido en lípidos) o el verde amarillento (en muestras de pacientes con ictericia).

- Centrifugar 10 minutos a 2.500 g con lo que se obtiene una pastilla de precipitado y un sobrenadante claro en el que se encuentra el ACE.

- Poner todos los reactivos a temperatura ambiente y numerar los pocillos de la placa siguiendo el orden de filas y columnas, para la realización del estandar y la identificación de las muestras problema, como se refleja en el esquema adjunto.



- Pipetear 0.1 ml de los correspondientes estandar en cada uno de los pocillos: por cuatriplicado para los de 0, 1 y 2.5 ng, y por duplicado para los de 5, 20 y 100 y para los correspondientes sueros problema.

- Pipetear 0.1 ml de la muestra control y de cada uno de los sobrenadante problema postcentrifugación del paso de extracción.

- Extraer todos los discos sobre un papel de filtro secando el exceso de tampón y depositar, mediante una pinza, un disco en cada pocillo, cubrir la placa con papel adherente y colocarla en el agitador horizontal para realizar la primera incubación durante 24 horas a temperatura ambiente.

- Finalizada la incubación aspirar el contenido de cada pocillo y lavarlos tres o cuatro veces con 0.5 ml de suero fisiológico.

- Pipetear 0.1 ml de anti-ACE-I-125 en cada pocillo, cubrir nuevamente la placa y realizar una segunda incubación en las mismas condiciones que la primera.

- Al final de la segunda incubación aspirar el contenido de cada pocillo y lavarlos como en el paso anterior. Extraer los discos y colocarlos por orden en los tubos de contaje, previo cálculo de la actividad total en una alicuota de anticuerpo-anti-ACE-I-125 y conteo de las cpm de fondo del aparato.

- Existe otra forma de procesado que he utilizado para la obtención del valor medio normal de la población control. La extracción del ACE se realiza de la misma manera, diferenciándose en que tan sólo se realiza un paso que constá del pipeteo sucesivo de 0.1 ml de estandar, suero control y muestra desconocida, y 0.1 ml de anti-ACE-I-125 más el disco con anti-ACE seguido de una incubación única de 24 horas a temperatura ambiente, sin modificarse el resto del ensayo.

- Construir la curva estandar que en el método original se realiza mediante cpm netas en el eje de la Y y concentración del estandar en el eje de la X, y que nosotros realizamos mediante porcentaje de radioactividad ligada según la fórmula:

$$B/T\% = \frac{\text{cpm} - \text{cpm } 0 \text{ ng/ml}}{\text{ACT}} \times 100, \text{ para técnica de un sólo pa-}$$

so, y:

$$B/T\% = \frac{\text{cpm}}{\text{ACT}} \times 100 \text{ en método de dos pasos.}$$

En la Figura 17 se representa la curva de referencia realizada con los estandar de 10 ensayos, construída respecto al porcentaje de unión y al porcentaje neto, y en las Tablas XXIIIa, b, c, d, e y f se resumen las características de ensayo de los estandar y de las muestras testigo.

FIGURA 17

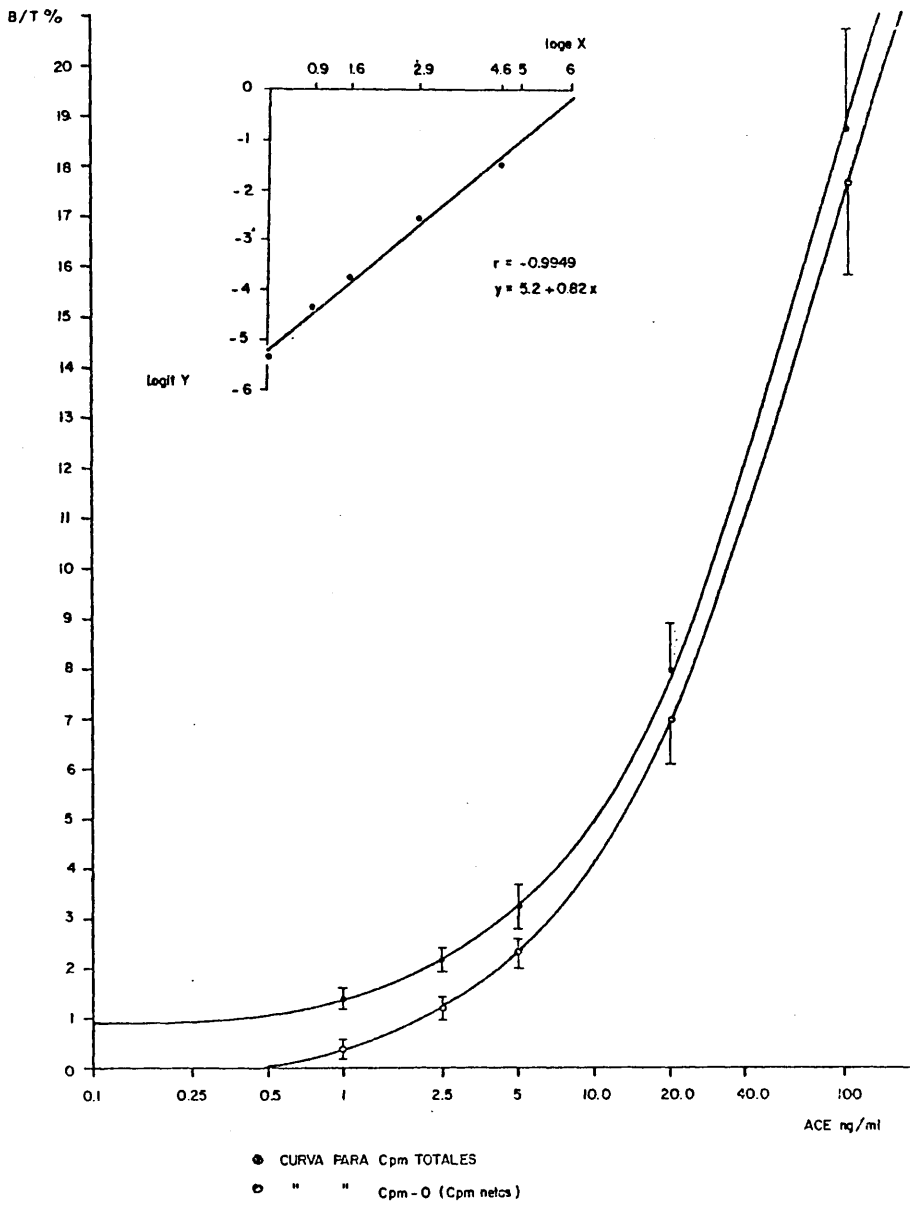


TABLA XXIIIa
ing

N° ENSAYO	t(ss)	Bo cpm 0.0ng/ml	B cpm 1 ng/ml	Net-cpm cpm-0	Act	%para cpmt 1 ng/ml	B/T	%para Net-cpm 1 ng/ml	B/T
1	100	1.937	2.362	625	158.886	1.61.		0.39	
2	100	1.203	1.970	767	145.762	1.35		0.52	
3	100	1.672	2.750	1.078	166.521	1.65		0.64	
4	100	1.480	1.892	412	153.063	1.23		0.26	
5	100	1.477	2.154	677	159.493	1.35		0.42	
6	100	1.476	2.712	1.236	154.909	1.75		0.79	
7	100	1.240	1.992	752	147.510	1.35		0.50	
8	100	1.569	1.954	385	153.063	1.27		0.25	
9	100	1.462	2.335	873	173.520	1.34		0.50	
10	100	1.899	2.511	612	147.314	1.70		0.41	
TOTAL		1.541±241	2.283±332	741±267	156004±8875	1.46±0.19		0.46±0.16	

(M±DS)

C.V% 15.6

14.5

36

5.6

13

34

Logit Y = -4.21

Logit Y = -5.37

TABLA XXIIIb
25 ng

N° ENSAYO	t (seg)	B cpm (0ng/ml)	B cpm 2.5ng/ml	Net-cpm cpm-0	AqT	B/T %para cpm 2.5 ng/ml	B/T %para-Net-cpm 2.5 ng/ml
1	100	1.937	3.800	1.863	158.886	2.39	1.10
2	100	1.203	3.638	2.435	145.762	2.49	1.67
3	100	1.672	4.284	2.612	166.521	2.57	1.56
4	100	1.480	2.731	1.251	153.063	1.78	0.81
5	100	1.477	3.483	2.006	159.493	2.18	1.25
6	100	1.476	3.057	1.581	154.909	1.97	1.02
7	100	1.240	2.886	1.646	147.510	1.95	1.11
8	100	1.569	3.216	1.647	153.063	2.10	1.07
9	100	1.462	3.618	2.156	173.520	2.08	1.24
10	100	1.899	3.672	1.773	147.314	2.49	1.20
TOTAL		1.541±241	3.438±468	1897±413	156004±8875	2.2±0.27	1.2±0.25

(M±DS)

C.V% 15.6 13.6 21.7 5.6 12.2 20.8
Logit Y = -3.79 Logit Y' = -4.41

TABLA XXIIIC
5 ng

N° ENSAYO	t(sq)	Bo cpm 0.0ng/ml	B cpm 5 ng/ml	Net-cpm cpm-0	AgT	B/T %para cpmt 5	B/T %para-Net-cpm 5 ng/ml
1	100	1.937	5.831	3.894	158.886	3.66	2.45
2	100	1.203	5.230	4.027	145.762	3.58	2.76
3	100	1.672	5.458	3.786	166.521	3.27	2.27
4	100	1.480	4.250	2.770	153.063	2.77	1.80
5	100	1.477	5.308	3.831	159.493	3.32	2.40
6	100	1.476	4.736	3.260	154.909	3.05	2.10
7	100	1.240	4.218	2.978	147.510	2.85	2.01
8	100	1.569	5.311	3.742	153.063	3.47	2.44
9	100	1.462	5.103	3.641	173.520	2.94	2.09
10	100	1.899	5.315	4.479	147.314	4.32	3.03
TOTAL		1.541±241	5.076±520	3640±508	156004±8875	3.3±0.46	2.3±0.36
(M±DS)							
C.V%	15.6	10.2	13.9	5.6	13.9	15.6	15.6
					Logit Y = -3.37		Logit Y = -3.74

33
33

TABLA XXIIId

20 ng

N° ENSAYO	t(sg)	Bo cpm 00ng/ml	B cpm 20 ng/ml	Net-cpm cpm-0	AdT	%para cpmt 20 ng/ml	B/T	%para-Net-cpm 20 ng/ml	B/T
1	100	1.937	13.727	11.790	158.886	8.63	7.42		
2	100	1.203	12.733	11.530	145.762	8.73	7.91		
3	100	1.672	13.290	11.618	166.521	7.98	6.97		
4	100	1.480	10.951	9.471	153.063	7.19	6.10		
5	100	1.477	10.840	9.363	159.493	6.79	5.87		
6	100	1.476	12.979	11.503	154.909	8.37	7.42		
7	100	1.240	9.404	8.164	147.510	7.08	5.53		
8	100	1.569	12.780	11.211	153.063	8.34	7.32		
9	100	1.462	12.289	10.827	173.520	7.08	6.23		
10	100	1.899	14.556	12.657	147.314	9.88	8.5		
TOTAL		1.541±241	12.354±1.538	10813±1377156004±8875		8±0.97	7±0.96		

(M±DS)

C.V% 15.6

12.4

12.7

5.6

12.1

13.7

Logit Y = -2.44

Logit Y = -2.58

TABLA XXIIIe
100 ng

N° ENSAYO	t(sa)	Bo cpm 00ng/ml	B cpm 100ng/ml	Net-cpm cpm-0	AgT	B/T %para cpm 100 ng/ml	B/T %para-Net-cpm 100 ng/ml
1	100	1.937	34.957	33.020	158.886	22.00	20.70
2	100	1.203	30.155	28.957	145.762	20.69	19.86
3	100	1.672	30.120	28.448	166.521	18.08	17.03
4	100	1.480	26.842	25.362	153.063	17.53	16.04
5	100	1.477	25.110	23.633	159.493	15.7	14.81
6	100	1.476	28.188	26.712	154.909	18.19	17.24
7	100	1.240	23.882	22.642	147.510	16.19	15.34
8	100	1.569	30.225	28.656	153.063	19.74	18.72
9	100	1.462	31.574	30.112	173.520	18.19	17.35
10	100	1.899	29.464	27.565	147.314	21.00	18.71
TOTAL		1.541±241	29.052±3.215	27512±3081	156004±8875	1.871±2	17,6±1.8

335

(M±DS)

C.V% 15.6

11

11.1

5.6

10.6

10.2

Logit Y = -1.46

Logit Y = -1.54

TABLA XXIIIIf

CONTROL

N° ENSAYO	t (sg)	cpm-0ng	cpm-Cont.	Net-cpm cpmt-0	ACT	B/T %para cpm Cont.	B/T % para Net- cpm. Cont.	ng cpm Cont.	ng Net. cpm Cont.
1	100	1.937	6.071	4.134	158.886	3.82	2.60	4.25	4.25
2	100	1.203	5.907	4.704	145.762	4.05	3.22	5.75	6.5
3	100	1.672	5.724	4.052	166.521	3.43	2.43	3.5	3.25
4	100	1.480	4.320	2.840	153.063	2.82	1.85	5.5	5.75
5	100	1.477	4.837	3.360	159.493	3.03	2.10	5	5.5
6	100	1.476	5.434	3.958	154.909	3.50	2.55	5.5	5.75
7	100	1.240	4.860	3.620	147.510	3.29	2.45	5.75	6
8	100	1.569	5.140	3.571	153.063	3.35	2.33	5	4.75
9	100	1.462	5.202	3.740	173.520	2.99	2.15	5	5.25
10	100	1.899	5.226	3.327	147.314	3.64	2.45	4	4.1
TOTAL		1541±241	5272±533	3730±516	15600±8875	3.3±0.3	2.3±0.3	5.1±0.6	5.2±0.7

(M±DS)

C.V. %

15.6 10.1 13.8 5.6 9 13 11 13.4

336

No he observado modificaciones por almacenamiento de las muestras durante 3 meses a -20°C , y la sensibilidad del ensayo se ha cifrado mediante la técnica RODBOAR y LEWALD en aproximadamente 0.5 ng/ml. Las variaciones intraensayo en tres muestras conocidas a título bajo, límite y alto ha resultado del 5.2%, 5.8% y 3.2% de coeficiente de variación. El valor del suero control realizado por los dos procedimientos ha mostrado un resultado similar (5.1 ± 0.7 ng/ml) con una variación interensayo del 11 y 13.4%, respectivamente.

En caso de obtener resultados superiores a 100 ng/ml es aconsejable repetir la determinación con diluciones progresivas en solución salina, teniendo presente el tipo de dilución para los controles sucesivos en el mismo paciente.

13 B-6) Método computarizado de resultados. Transformación Logit-Log.

Tomando como base el trabajo de RODBARD y LEWALD (1970), desde 1978 he procesado todas las muestras mediante programa para computadora Hewlett-Packard, modelo WP 9100B, para la transformación logística del conteo de cada ensayo.

Para ello he calculado el porcentaje de unión inicial según la relación:

$$B/T = \frac{B_0 - N}{T - N} \times 100 \quad (1)$$

donde B_0 son las cpm en ausencia de hormona sin marcar (estandar de 0ng/ml), N las cuentas inespecíficas, prácticamente despreciables en nuestro caso, y T la actividad total. Para cada estandar o ensayo se ha utilizado el valor de las cuentas leídas, y la actividad total o las cuentas para 0ng según las características de cada uno de ellos. De esta forma la ecuación (1) queda transformada en:

$$Y = B/B_0 \quad \text{o} \quad B/T \quad (2)$$

Transformando la ecuación (2) y el valor del estandar X a un modelo Logit-Log se obtiene la relación de linealidad característica de la transformación, que permite, directamente, la extrapolación de cualquier resultado y su lectura computarizada:

$$X' = \log_e X$$

$$Y' = \text{Logit } Y = \log_e \left(\frac{Y}{1-Y} \right)$$

13C). METODOS ESTADISTICOS

Los métodos estadísticos que he empleado han seguido la normativa, en cuanto a criterio de selección de test, previamente fijada por TORRES HUERTAS (tesis Doctoral Madrid 1976), constando de estadística paramétrica y no paramétrica según la distribución de la muestra estudiada respecto a un test de ajuste a la población normal.

13C-1) Test de ajuste a una población normal.

Lo he realizado según la prueba de Kolmogorov-Smirnof mediante programa para computadora IBM-WSPC16, habiendo sido necesario la construcción de dicho programa, que resumiremos al final del apartado.

Desde el punto de vista teórico la prueba consiste en saber si la muestra a estudiar procede de una población normal de media \underline{m} y variante σ^2 :

$$\bar{X} \in N(m; \sigma^2) \quad (1)$$

Supongamos una muestra de \underline{n} elementos. Se calculan los percentiles, es decir la distribución de los porcentajes acumulados (L_i, P_i). La distribución de la variable \underline{X} observada en la muestra, denominada distribución observada, tendrá una media \bar{X} y una varianza σ^2 que son las que se comprobarán respecto a la

distribución teórica normal. Para verificar la hipótesis se calculan las diferencias D_i que hay entre los porcentajes acumulados P_i correspondientes a los valores X_i del carácter observado en la muestra y los porcentajes acumulados S_i correspondientes al mismo valor X_i en el supuesto de que dicha muestra siguiera una ley normal. Estas diferencias $d_i = P_i - S_i$ son un índice de diferencia entre la distribución observada y la distribución teórica, y serán, en valor absoluto, tanto mayores cuanto mayor sea la discrepancia entre ambas distribuciones.

Se conoce la ley de probabilidad de las diferencias $D_i = (P_i - S_i)/100$ cuando las muestras proceden de una ley normal $N(\mu; \sigma^2)$. La tabla de Massey da los valores límites de estas diferencias para riesgos $\alpha = 0.05$ y 0.01 y distintos tamaños de la muestra.

Cuando se desconocen los parámetros μ y σ^2 de la ley normal se utilizan la media \bar{X} y la varianza s^2 observada en la muestra problema como estimación de los parámetros μ y σ^2 de la población. En este caso se conoce la ley de probabilidad de las diferencias D_i máximas cuando las muestras proceden de una población normal, cuyos parámetros han sido estimados a partir de la media y varianza de la muestra a estudiar. La tabla de Lilliefords da los valores límites de estas diferencias en función del tamaño de la muestra para riesgos $\alpha = 0.05$ y 0.01 .

Para la realización práctica de la prueba se procede de la siguiente manera:

0) Construcción de una tabla que comprende:

Columna 1) Cálculo de los intervalos de clase y construcción del histograma de frecuencias respecto al número de intervalos considerados, que deben de ser los máximos de acuerdo con la tabla:

<u>Tamaño de muestra</u>	<u>Número mínimo de Intervalos</u>
8	4
16	5
32	6
64	7
128	8
256	9
⋮	
$n \times 2$	$I + 1$

Se designa como n_i

Columna 2) Cálculo del número de efectivos de la muestra que se encuentran dentro de cada intervalo, y que viene representado por la altura de cada columna del histograma.

Columna 3) Cálculo de los efectivos acumulados.

Columna 4) Cálculo de los porcentajes acumulados, que se obtienen dividiendo cada efectivo acumulado por el total de la muestra $\times 100$.

Columna 5) Límite superior de los intervalos de clase obtenidos en la columna 1.

Columna 6) Obtención de la diferencia entre el límite superior de cada intervalo de clase de la columna 5 y la media, previamente calculada, de la serie a estudiar, preocupándose por el signo + ó - observado, que representa si el valor del intervalo es superior o inferior a la media.

Columna 7) Anotar el valor del área o probabilidad (Pz_i), en %, correspondiente a los valores Z_i de la ley normal reducida. Se trata de una tabla de doble entrada que en la primera columna indica el valor y la primera décima del valor Z_i , y en la primera fila la centésima para Z_i . De esta forma suponiendo un valor $Z_i = 2.37$ se escoge el valor 2.3 en la primera columna izquierda y el valor 0.07 en la primera fila; la intersección de ambos (0.0089) de el valor bajo el área normal reducida; multiplicarlo por 100.

Columna 8). Cálculo del porcentaje acumulado (S_i) correspondiente a la ley normal con la media y desviación tipo calculada en la serie estudiada. Si el signo de la columna 6 es negativo se conserva el valor Pz_i de la columna 7, y si es positivo se resta de 100 el valor Pz_i anteriormente obtenido.

Columna 9). Se obtiene la diferencia $D_i = P_i - S_i$ entre el porcentaje acumulado de la distribución observada y los de la distribución teórica. Dividir por 100 y mirar el máximo valor D_i obtenido en la tabla de Lilliefords para n elementos y riesgo α 0.05. Si el valor de la tabla es mayor que nuestro máximo D_i se acepta la normalidad de la población con el riesgo α prefijado.

En la página 351 se representa el desarrollo en IBM de una prueba de Kolmogorov, y en las páginas 352 y 353 las características del programa.

- Una vez fijada la normalidad de la población he utilizado estadística paramétrica o no paramétrica según la población fuera normal o no lo fuera:

- Población normal: Contraste de medias según "T test" previo estudio de Varianza.

- Población no normal: U de Mann-Whitney.

Ambos test se han estudiado con la computadora IBM-WSPC 16, y con la calculadora de mesa Texas SR-56, por lo que paso a describir las fórmulas y sistemática desarrolladas.

13 C-2) "T test" para datos independientes.

La obtención de los valores a manejar se ha realizado mediante programación por teclado en la calculadora Texas SR-56. Proceder de la siguiente manera:

- Introducción del programa, que no viene especificado en el libro de instrucciones de la calculadora, y que al haber sido desarrollado por mí, creo conveniente resumirlo aquí:

Teclear por orden sucesivo:

- 1) LRN. Aparece en la pantalla 00.00
- 2) STD
- 3) 1
- 4) RCL
- 5) 1
- 6) 2nd
- 7) LRN en doble función f (n) para obtener
- 8) $\Sigma+$, que equivale a tecleo en $n^{\circ} 4$
- 9) R/S
- 10) RST
- 11) LRN; desaparece el número de factores introducidos y aparece 0 en la pantalla.
- 12) Introducción del primer valor numérico de la muestra a estudiar
- 13) RST
- 14) RS
- 15) Introducción del segundo valor numérico
- 16) RS, y así sucesivamente.

Para borrar los niveles de memoria al finalizar la operación con una serie de datos teclear:

- 1) CLR. Borra la pantalla
- 2) 2nd
- 3) STO en doble función, equivalente a CMS
- 4) RST

tras lo que se puede introducir una nueva serie de valores:

- 1) Primer valor numérico
- 2) RS, y así sucesivamente

- Obtención de parámetros

Con este programa obtener los siguientes valores:

\underline{n} = número de elementos de la muestra. Se almacena en RCL7

\underline{m} = Media

\underline{DS} = Desviación Estandar

\underline{V} = Varianza = $(DS)^2$

$\underline{S_x^2}$ = Cuadrado de los errores típicos de la media; equivale a la varianza/n-1

$\underline{\Sigma x}$ = Suma de los valores individuales. Se almacena en RCL 5

$(\underline{\Sigma x})^2$ = Cuadrado de la suma de los \underline{n} elementos de la serie.

$\underline{\Sigma x^2}$ = Suma de los cuadrado de cada valor independiente. Se almacenan en nivel 6 (RCL6).

$\underline{\Sigma x^2}$. Se obtiene desarrollando la fórmula:

$$\Sigma x^2 - \frac{(\Sigma x)^2}{n}$$

o directamente por la calculadora tecleando:

- 1) RCL
- 2) 5
- 3) x^2
- 4) \div
- 5) RCL
- 6) 7
- 8) -
- 9) RCL
- 10) 6
- 11) .=

Se obtiene con signo - por lo que ha de hacerse el cambio de signo tecleando después del paso 11 la tecla +/-

1/n:

se obtiene dividiendo 1/RCL 7

Una vez obtenidos todos los datos para el desarrollo de las fórmulas realizar el Estudio de Varianza (Ley de Snedecor) como selección previa de realización del "T test".

Dividir la varianza mayor entre la varianza menor. El valor F obtenido se mira a la tabla de Snedecor. Si el valor de F hallado es menor que el correspondiente para $p = 0.05$ en la tabla, para $v_1 = n_1$ y $v_2 = n_2$ grados de libertad se realiza la comparación de las medias de las muestras a estudiar, pues se acepta que las varianzas son homogéneas.

Si F es mayor que el correspondiente para $p = 0.05$ no puede aceptarse la homogeneidad de las varianzas obteniendo el valor t de Student por un procedimiento distinto que el de comparación de las medias.

A) "T Test" para $F < p = 0.05$

El valor t viene dado por la fórmula:

$$t = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\frac{\sum x_1^2 + \sum x_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \times \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}}$$

siendo el denominador el error típico de la diferencia de medias. El valor obtenido se mira en la tabla de Student para $n_1 + n_2 - 2$ grados de libertad y riesgo $0.05 \rightarrow 0.001$. Si el valor obtenido es mayor que el fijado para el riesgo 0.05 se acepta la significación estadística de los distintos valores de las medias estudiadas al nivel dado por la tabla.

B) "T Test" para $F > p = 0.05$

El valor t viene dado por la fórmula:

$$t = \frac{S\bar{x}_1^{-2} \times t \frac{n_1-1}{0.05+0.001} + S\bar{x}_2^{-2} \times t \frac{n_2-1}{0.05+0.001}}{S\bar{x}_1^{-2} + S\bar{x}_2^{-2}}$$

siendo t 0.05+0.001 el valor de la tabla de Student (según el grado de significación escogido) para $n-1$ elementos de la muestra.

La interpretación de la prueba es igual que en el caso anterior.

En la página 354 se representa el desarrollo en IBM de un "T test" previo estudio de varianza, y en las páginas 355-56-57 las características del programa.

13 C-3) U de Mann-Whitney

La he utilizado para la valoración estadística de dos series en las cuales alguna, o las dos, no cumplen la ley normal.

Se trata de una prueba no paramétrica que estudia las diferencias entre la tendencia central de las poblaciones origen de las dos muestras, pero que no es capaz de descubrir diferencias entre las dispersiones. La hipótesis nula supone que ambas poblaciones tienen la misma distribución, y la hipótesis alternativa es que una población es estadísticamente mayor que la otra.

Su realización es sencilla. Sean dos grupos A y B de tamaño n_1 y n_2 en las que se ha medido una variable aleatoria cuantitativa, que es transformada en ordinal asignándole el número que ocupa su lugar de colocación una vez ordenados de menor a mayor todos los elementos de los grupos a estudiar (los casos ex-quo se determinan sumando los correspondientes números de orden y dividiéndolos entre 2).

Sumando todos los números de orden de ambas series se obtienen dos valores R_1 y R_2 con los que se determina el valor U que define la prueba:

$$U_A = n_1 \times n_2 + n_1 (n_1+1)/2 - R_1$$

$$U_B = n_1 \times n_2 + n_2 (n_2+1)/2 - R_2$$

El valor \underline{U} mínimo es comprobado en la tabla de Mann-Whitney para \underline{n}_1 y \underline{n}_2 grado de libertad; si es menor que el valor de la tabla se acepta la significación estadística de las diferencias entre ambas series.

Para muestras mayores de 20 elementos por grupo (ya se cumple para \underline{n} mayor de 10) la distribución sigue una ley normal caracterizada por media $\frac{n_1 n_2}{2}$ y varianza $\frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 + 1)}{12}$, con lo que el cálculo varía hacia la determinación de la variable normal reducida:

$$Z = \frac{U \text{ mínima} - n_1 n_2 / 2}{\sqrt{n_1 n_2 (n_1 + n_2 + 1) / 12}}$$

El valor \underline{Z} obtenido se mira en la tabla de la ley normal con riesgo α 0.05, aceptándose la hipótesis nula cuando es menor que el de la tabla; o rechazándose, al nivel de significación correspondiente, cuando es mayor que el de aquella.

En la página 358 se representa el desarrollo en IBM de un "U test" y las características del programa.

13 C-4) Análisis de Correlación (Estadística de dos variables).

La obtención del coeficiente \underline{r} de Pearson y de la recta de regresión $\underline{y=a+bx}$ se ha obtenido directamente mediante los correspondientes programas de los dos modelos de computadoras utilizados.

Para el cálculo no computarizado se puede emplear la fórmula:

$$r = \frac{N \sum xy - (\sum x) (\sum y)}{\sqrt{\{N \sum x^2 - (\sum x)^2\} \{N \sum y^2 - (\sum y)^2\}}}$$

que se compara con el valor de la tabla para α 0.05.

Todos los valores, excepto ΣXY , se han obtenido previamente al realizar la búsqueda de los elementos de la fórmula de la "t de Student". ΣXY se calcula sumando el producto de los términos homólogos a correlacionar, y N representa el número de pares de valores.

La recta de regresión, simplificada de ordenada en función de abscisa ($y=a+bx$) se calcula mediante las siguiente fórmula:

$$b = \frac{\Sigma XY - \{(\Sigma X)(\Sigma Y)/N\}}{\Sigma X^2 - \{(\Sigma X)^2/N\}}$$

$$a = \bar{y} - b\bar{x}$$

siendo \bar{x} e \bar{y} las medias correspondientes de las dos series.

13 C-5) Comparación de Datos Apareados

Se ha utilizado en aquellos casos en los que el mismo enfermo ha sido valorado en más de una ocasión, utilizando la primera de terminación como control de partida, y evitando así la variabilidad individual. El ejemplo más típico es el estudio del perfil evolutivo pre y postoperatorio de PRLh y HCh.

Tres son los test que han sido más utilizados:

- a) "T Test" apareado
- b) Estudio de Varianza para datos apareados
- c) Test de Wilcoxon, para poblaciones no normales o cuando las muestras han sido demasiado pequeñas para realizar estadística paramétrica.

13 C-5a) "T Test" Apareado. La prueba se basa en el estudio de las diferencias para los dos datos considerados, en distribuciones normales.

Tras obtener el valor de la diferencia, con su signo

correspondiente, se calcula la media de la diferencia (\bar{M}) y su varianza S_M^2 con el programa del "T Test". El valor t se obtiene mediante la fórmula:

$$t = \bar{M} / \sqrt{S_M^2/n}$$

siendo n el número de diferencias. El valor se estudia en la tabla de Student para $n-1$ grados de libertad. Si n es mayor de 30 elementos el valor t se sustituye por el valor normal reducido Z , tabulando el valor obtenido en la tabla de la ley normal para α 0.05.

13 C-5b) Estudio de Varianza para Datos Apareados. La medida en un mismo individuo de dos caracteres cuantitativos puede estar relacionada respecto al valor del coeficiente r de Pearson. Conocidas las varianzas V_1 y V_2 de ambas series, y el coeficiente de correlación para los correspondientes pares de valores, se puede obtener el valor t de Student mediante la fórmula:

$$t = \frac{V_1 - V_2}{\sqrt{4 \times V_1 \times V_2 (1-r^2)/n-2}}$$

que se compara con el valor de la tabla de Student para un riesgo α 0.05 y $n-2$ grados de libertad.

13 C-5c) Test de Wilcoxon. Su utilización básica es en el estudio de datos apareados en series no normales con muestras pequeñas, estudiando la tendencia central de las poblaciones origen.

Se realiza de la siguiente manera:

Tras calcular la diferencia de los n pares de valores, se ordenan de menor a mayor, teniendo en cuenta el signo de cada diferencia, asignándoles el número de orden que ocupan en la serie (los casos ex-aequo se calculan como en la U de Mann-Whitney). Separando los números de orden de las muestras afectadas por el signo menos frecuente y sumándolas se obtiene el valor T que se mira en la

tabla de Wilcoxon; si el valor es menor que el de la tabla se rechaza la hipótesis nula con riesgo α 0.05, o el fijado previamente.

Para muestras mayores de 20 elementos se calcula la variable normal reducida mediante la fórmula:

$$z = \frac{T - n(n+1)/4}{\sqrt{n(n+1)(2n+1)/24}}$$

tabulándose en la tabla de la Ley Normal para α 0.05.

13 C-6) Estudio de Población. Test del χ^2 y Estudio de Proporciones

Ambos test se han empleado en el estudio de distribución de los ritmos nictamerales respecto a distintos criterios de ordenamiento.

Dado lo corriente de la determinación de χ^2 no voy a entrar en su descripción, que sí lo hago para el estudio de porcentajes, utilizado para las comparaciones entre proporciones cuando no se puede emplear el χ^2 (presencia de $n=0$ en alguna de las distribuciones observadas).

- Comparación de dos proporciones

Sean A y B dos series con n_1 y n_2 elementos en el intervalo que se estudia. Se calcula el porcentaje p_1 (n_1/A) y p_2 (n_2/B) de cada serie, y si su diferencia se encuentra en el intervalo $\pm Z_{\alpha/2} \sigma_d$ se acepta la hipótesis nula de igualdad de las proporciones, y si se encuentra fuera del intervalo se rechaza con el riesgo α prefijado, que en esta tesis ha sido para el 95% de seguridad.

La proporción p de elementos en el intervalo de las poblaciones origen de las muestras se calcula mediante la fórmula:

$$p = \frac{n_{p_1} + n_{p_2}}{A+B}$$

Llamando q a la proporción de elementos que no se contienen en el intervalo ($q=1-p$) puede calcularse la variable normal reducida mediante la fórmula:

$$Z = \frac{p_1 - p_2}{\sqrt{pq/n_1 + pq/n_2}}$$

Si Z es menor que el valor de la tabla para α 0.05 se acepta la hipótesis nula (ambas proporciones no son significativas), y si es mayor se rechaza la hipótesis nula con un riesgo α 0.05 (ambas proporciones son estadísticamente significativas).

Las tablas, y el desarrollo y consulta de los métodos estadísticos se han realizado en la obra Bioestadística de Domenech (Editorial Herder. Barcelona 1977), y en el libro Tablas Científicas de Documenta Geigy (Basilea 1965).

SERIE CONTROL. PRL GLOBAL . D.N.

7 DESCRIPTION NIC:53

A DESCRIPTIVE ANALYSIS ON THE INPUT DATA VECTOR YIELDS THE FOLLOWING
 MAXIMUM 15.3
 MINIMUM 2.2
 AVERAGE 7.6667
 STD. V 3.7293
 RANGE 13.1
 NO. OBS 35

ENTER UPPER AND LOWER LIMITS IN VECTOR FORM.
 IF THE COMPUTED MAX AND MIN ARE DESIRED ,ENTER 0
 0:

FREQUENCY HISTOGRAM : EACH STAR = 1 PERCENT

LOWER	UPPER	NO.	REL.FREQUENCY IN PERCENT
2.20	4.27	9	*****
4.27	6.37	8	*****
6.37	8.46	7	*****
8.46	10.54	5	*****
10.54	12.63	1	***
12.63	14.71	2	*****
14.71	16.80	2	*****

THE MEDIAN IS 6.5
 THE MODE IS 4.2857 7.4143
 THE GEOMETRIC MEAN IS 6.1958
 THE HARMONIC MEAN IS 5.4007

DO YOU WANT A CUMULATIVE HISTOGRAM? Y/N
 N

	HI	PI	LI	ZI	SI	PI-SI
*	9	25.00	4.27	7.75	72.76	2.21 *
*	8	37.22	6.37	7.19	82.60	4.83 *
*	7	72.22	8.46	6.37	84.56	7.87 *
*	5	86.11	10.54	5.93	82.47	3.64 *
*	1	88.87	12.63	5.47	81.23	4.34 *
*	2	94.44	14.71	5.05	88.00	3.55 *
*	2	100.00	16.80	4.61	89.55	4.42 *

FUNCIONES
 INPUT DESCRIPTION X:A;B;CHECK;CUMFREQ;FREQ;H:L;MAX;MAXREQ;MIN;MODEX;MX;N;P;S;SIZE;SUM;YEAR;Z;NCELLS
 THIS PROGRAM PERFORMS A DESCRIPTIVE ANALYSIS ON A VECTOR OF DATA.
 THE LEFT ARGUMENT IS EITHER THE NUMBER OF CELLS, DESIRED IN THE HISTOGRAM,
 THAT WILL BE GENERATED, OR THE SIZE (LENGTH) OF THE CELL
 TO INDICATE SIZE USE A 2 ELEMENT VECTOR, AS FOLLOWS:
 AT THE FIRST (RIGHT) ELEMENT IS IMMATERIAL, THE SECOND CONTAINS THE SIZE
 OF THE RIGHT ARGUMENT IS THE DATA VECTOR.
 A DESCRIPTIVE ANALYSIS ON THE INPUT DATA VECTOR YIELDS THE FOLLOWING
 STATISTICS X

```

STATISTICS X;R;OPP
OPP←S
'MAXIMUM ',MAX+I/X
'MINIMUM ',MIN+L/X
'AVERAGE ',XBAR+(+X)/N+PX
'STD.DEV ',S+((+/(X-XBAR)*2)+((PX)-1))*0.5
'RANGE ',R+MAX-MIN
'NO. OBS ',N

INPUT HISTOGRAM X;R;I;2;PP;MX
MAX+I/X
MIN+L/X
'ENTER UPPER AND LOWER LIMITS IN VECTOR FORM.'
'IF THE COMPUTED MAX AND MIN ARE DESIRED ,ENTER 0'
+(1-P,MX+I)/START
MAX+I/MX
MIN+L/MX
START:R+MAX-MIN
*(1-P,INPUT)/NCELLS+R+NCELLS+INPUT'
*(2-P,INPUT)/NCELLS+R+SIZE-INPUT[2]'
'FREQUENCY HISTOGRAM ; EACH STAR = 1 PERCENT'
(6P', 'LOWER', (6P', 'UPPER', (8P', 'NO', (5P', 'REL.FREQUENCY IN PERCENT'
I+1
B+MIN+SIZE×0, NCELLS
FREQ+CUMFREQ-0, 1+CUMFREQ++IX, SB
FREQ[2]+FREQ[2]+1+FREQ
UP:→((1+NCELLS)←I+1)/DONE
  
```

```

SUM←FREQ[I]
(11 2 ▽B[I-1],B[I]),(11 0 ▽SUM),(5p' ');(1(0,5+SUM×P+100÷pX))p' *'
+UP
DONE:←(0=1+MX)/0
*
'THE FOLLOWING ARE PERCENT AND NUMBER OUTSIDE INDICATED LIMITS'
SUM←X+<MIN
(11 2 ▽MIN,PP),(11 0 ▽SUM),(5p' ');(1(0,5+PP+SUM×P))p' *'
(11 2 ▽MAX,PP),(11 0 ▽SUM),(5p' ');(1(0,5+PP+P×SUM←X+>MAX))p' *'
*
MEDIAN
MODE
GEOMETRIC X
HARMONIC X
2 1 p' '
'DO YOU WANT A CUMULATIVE HISTOGRAM? Y/N'
*( 'Y'=1+M)/'CUMULATIVE'
FFREQ←2+FFREQ
FFREQ←1+FFREQ
SUM←+(FREQ:pX)
LI←1+B
ZI←(LI-XBAR)+S
PZI←DTR ZI
DIF←SUM-PZI
1p' '
63p' *'
NI ' ' PI ' ' LI ' ' ZI ' ' SI ' ' PI-SI '
63p' *'
*
TABL←FFREQ,(100×SUM),LI,ZI,(100×PZI),[1,5](100×DIF)
*' ,(10 0 10 2 10 2 10 2 10 2 10 2 ▽TABL[:16]),(INPUT,2)p' *'
63p' *'

```

)LOAD 980102 TE
SAVED 12:53:16 09/04/79
PRUEBA

12.97 22.84 8 TTEST 21.61 204.2 8

FIRST THE F TEST IS PERFORMED TO TEST EQUALITY OF VARIANCES .
THE HYPOTHESIS OF EQUALITY OF VARIANCES IS REJECTED
THE COMPUTED FRATIO OF 0.112 HAS A PROBABILITY OF OCCURRENCE OF 0.006
NOW THE T TEST FOLLOWS WITH APPROPRIATE DF
THERE IS NOT SUFFICIENT EVIDENCE TO REJECT THE NULL HYPOTHESIS
THE ABSOLUTE VALUE OF THE COMPUTED T IS 1.622
THE THEORETICAL VALUE OF T AT GIVEN LEVEL IS 2.145
TO EXPRESS ABOVE IN A CONFIDENCE INTERVAL

P(-20.069 < TRUE MEAN < 2.789)= 0.95

```

VTTESTC0J*
  * SAMPLE1 TTEST SAMPLE2;MEANS;VARS;SIZES;DA;DATA;SP;PR;DF
  * THIS PROGRAM PERFORMS THE 'T' TEST.(E.G. TESTS THE NULL HYPOTHESIS
  * ON THE DIFFERENCE OF TWO NORMAL MEANS.WHEN THE VARIANCES ARE UNKNOWN.
  * THE LEFT ARGUMENT CONSISTS OF THE SAMPLE MEAN,VARIANCE AND SIZE OF SAMPLE 1.
  * THE RIGHT ARGUMENT IS IDENTICAL FOR SAMPLE 2.
C1J MEANS+SAMPLE1C1J,SAMPLE2C1J
C2J VARS+SAMPLE1C2J,SAMPLE2C2J
C3J SIZES+SAMPLE1C3J,SAMPLE2C3J
C4J DA+(+/DF+SIZES-1)
C5J 'FIRST THE F TEST IS PERFORMED TO TEST EQUALITY OF VARIANCES.'
C6J PR+VARS FPOOT SIZES
C7J +('FR)/EQUAL
C8J SP+(((+/DF+VARS)+DA)x+/+SIZES)*0.5
C9J +TEST
C10J EQUAL:SP+((+/VARS+SIZES)*0.5
C11J TEST:DATA+(/MEANS
C12J DA+(+/SIZES)-1
C13J 'NOW THE T TEST FOLLOWS WITH APPROPRIATE DF'
C14J (0,SP) TFOT(DATA,DA,1)

```

```

*FFOTODJ*
* PR+VARS FROT SIZES;DF;FC;ALF;PROB
THIS PROGRAM TESTS THE NULL HYPOTHESIS OF EQUAL POPULATION VARIANCES BY COMPUTING
THE PROBABILITY OF OCCURRENCE OF THE COMPUTED FRATIO.HO IS REJECTED IF THIS PROBABILITY
IS EITHER <ALPHA OR > 1-ALPHA.
*THE LEFT ARGUMENT CONSISTS OF THE SAMPLE VARIANCES,THE RIGHT OF THE CORRESPONDING
SAMPLE SIZES.
DF+SIZE-1
FC+VARS
*TYPE IN ALPHA'
ALF+0
PROB+DF FDIR FC
*(PR+(PROB<ALF)* (PROB>1-ALF))/REJECT
*THE HYPOTHESIS OF EQUALITY OF VARIANCES IS ACCEPTED'
+PROBA
REJECT:'THE HYPOTHESIS OF EQUALITY OF VARIANCES IS REJECTED '
PROBA:(*THE COMPUTED FRATIO OF '),(*FC ROUND 3),(* HAS A PROBABILITY OF OCCURRENCE OF '),(*PROB ROUND 3

```

```

[1]  >TFOTC0J>
[2]  >PARAMS TFOT DATA;F;Z;ALF;TAILS;GAMMA;DF;Z;LOW;HI
[3]  THIS IS THE NULL HYPOTHESIS ON THE POPULATION MEAN, USING THE T DISTRIBUTION.
[4]  THIS PROGRAM TEST THE NULL HYPOTHESIS WHEN SIGMA IS UNKNOWN
[5]  AT THE LEFT ARGUMENT CONSISTS OF MU, THE UNKNOWN HYPOTHESIZED POPULATION MEAN, AND S THE SAMPLE STD. DEV.
[6]  AT THE RIGHT ARGUMENT CONSISTS OF THE COMPUTED AVERAGE AND THE SAMPLE SIZE RESPECTIVELY.
[7]  F+PARAMS;C2]
[8]  +(3=0DATA)/FORMT
[9]  F+F+DATA;C2]*0.5
[10] FORMT;Z+1<DATA;C1]-PARAMS;C1])÷F
[11] 'TYPE IN ALPHA'
[12] ALF÷0
[13] 'TYPE IN 1 OR 2 FOR NUMBER OF TAILS'
[14] TAILS÷0
[15] GAMMA÷1-ALF÷TAILS
[16] DF÷DATA;C2]-1
[17] Z÷DF STUDENT GAMMA
[18] TEST:÷(Z;Z)/FALSE
[19] 'THERE IS NOT SUFFICIENT EVIDENCE TO REJECT THE NULL HYPOTHESIS'
[20] →OUTPUT
[21] FALSE:(*)THE NULL HYPOTHESIS IS REJECTED AT THE ',(GAMMA),*' LEVEL'
[22] OUTPUT:(*)THE ABSOLUTE VALUE OF THE COMPUTED T IS ',Z ROUND 3
[23] (*)THE THEORETICAL VALUE OF T AT GIVEN LEVEL IS ',Z ROUND 3
[24] +(TAILS#2)/0
[25] 'TO EXPRESS ABOVE IN A CONFIDENCE INTERVAL'
[26] '
[27] LOW+(DATA;C1]-ZXF) ROUND 3
[28] HI+(DATA;C1]+ZXF) ROUND 3
[29] (*) F( ',(LOW),(*) < TRUE MEAN < '),(*HI),(*) = '),*1-ALF
[30] >

```

CONCIR2P UTEST CANCIR2P

U STATISTIC : 875.000
 STANDARDIZED NORMAL Z : .429
 PROBABILITY OF OCCURRENCE: .33381

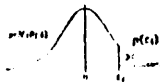
```

VUTEST10J
V X UTEST Y;RA;N1;N2;U;T;S;CE;R
MANN-WHITNEY UTEST TO TEST IF 2 INDEPENDENT GROUPS
ARE FROM THE SAME POPULATION.(NONPARAMETRIC T TEST).
RA=RANKS R+R1+R+X,Y
S++/RACR1Y
U=(N2XN1+PX)+(0.5XN2X1+N2+PY)-S
U+UL(N1XN2)-U
T+/(CE*3)-CE)+12
S+(((N1XN2)+RXR-1)X((R*3)-R+N1+N2)+12)-T)*0.5
T+(U-0.5XN1XN2)+S
U STATISTIC : , 8 3 *U
STANDARDIZED NORMAL Z : , 8 3 *T
PROBABILITY OF OCCURRENCE: , 8 5 *NDTR T
*(N2+15)/''THE Z SCORE IS NOT ACCURATE,USE TABLES,IF AVAILABLE,FOR U'''
    
```


Significación del valor D_{\max} de la prueba de Kolmogorov

Tamaño de la muestra n	Massey		Lilliefors	
	$\alpha = 0,05$	$\alpha = 0,01$	$\alpha = 0,05$	$\alpha = 0,01$
1	0,975	0,995	—	—
2	0,842	0,929	—	—
3	0,708	0,828	—	—
4	0,624	0,733	0,381	0,417
5	0,565	0,669	0,337	0,405
6	0,521	0,618	0,319	0,364
7	0,486	0,577	0,300	0,348
8	0,457	0,543	0,285	0,331
9	0,432	0,514	0,271	0,311
10	0,410	0,490	0,258	0,294
11	0,391	0,468	0,249	0,284
12	0,375	0,450	0,242	0,275
13	0,361	0,433	0,234	0,268
14	0,349	0,418	0,227	0,261
15	0,338	0,404	0,220	0,257
16	0,328	0,392	0,213	0,250
17	0,318	0,381	0,206	0,245
18	0,309	0,371	0,200	0,239
19	0,301	0,363	0,195	0,235
20	0,294	0,356	0,190	0,231
25	0,27	0,32	0,180	0,203
30	0,24	0,29	0,161	0,187
35	0,23	0,27		
sup. a 35	$\frac{1,36}{\sqrt{n}}$	$\frac{1,63}{\sqrt{n}}$	$\frac{0,886}{\sqrt{n}}$	$\frac{1,031}{\sqrt{n}}$

Ley normal



z _i	.00	.01	.02	.03	.04	.05	.06	.07	.08	.09
0.0	.5000	.4960	.4920	.4880	.4840	.4801	.4761	.4721	.4681	.4641
0.1	.4602	.4562	.4522	.4483	.4443	.4404	.4364	.4325	.4286	.4247
0.2	.4207	.4168	.4129	.4090	.4052	.4013	.3974	.3936	.3897	.3859
0.3	.3821	.3783	.3745	.3707	.3669	.3632	.3594	.3557	.3520	.3483
0.4	.3446	.3409	.3372	.3336	.3300	.3264	.3228	.3192	.3156	.3121
0.5	.3085	.3050	.3015	.2981	.2946	.2912	.2877	.2843	.2810	.2776
0.6	.2743	.2709	.2676	.2643	.2611	.2578	.2546	.2514	.2483	.2451
0.7	.2420	.2389	.2358	.2327	.2296	.2266	.2236	.2206	.2177	.2148
0.8	.2119	.2090	.2061	.2033	.2005	.1977	.1949	.1922	.1894	.1867
0.9	.1841	.1814	.1788	.1762	.1736	.1711	.1685	.1660	.1635	.1611
1.0	.1587	.1562	.1539	.1515	.1492	.1469	.1446	.1423	.1401	.1379
1.1	.1357	.1335	.1314	.1292	.1271	.1251	.1230	.1210	.1190	.1170
1.2	.1151	.1131	.1112	.1093	.1075	.1056	.1038	.1020	.1003	.0985
1.3	.0968	.0951	.0934	.0918	.0901	.0885	.0869	.0853	.0838	.0823
1.4	.0808	.0793	.0778	.0764	.0749	.0735	.0721	.0708	.0694	.0681
1.5	.0668	.0655	.0643	.0630	.0618	.0606	.0594	.0582	.0571	.0559
1.6	.0548	.0537	.0526	.0516	.0505	.0495	.0485	.0475	.0465	.0455
1.7	.0446	.0436	.0427	.0418	.0409	.0401	.0392	.0384	.0375	.0367
1.8	.0359	.0351	.0344	.0336	.0329	.0322	.0314	.0307	.0301	.0294
1.9	.0287	.0281	.0274	.0268	.0262	.0256	.0250	.0244	.0239	.0233
2.0	.0228	.0222	.0217	.0212	.0207	.0202	.0197	.0192	.0188	.0183
2.1	.0179	.0174	.0170	.0166	.0162	.0158	.0154	.0150	.0146	.0143
2.2	.0139	.0136	.0132	.0129	.0125	.0122	.0119	.0116	.0113	.0110
2.3	.0107	.0104	.0102	.0099	.0096	.0094	.0091	.0089	.0087	.0084
2.4	.0082	.0080	.0078	.0075	.0073	.0071	.0069	.0068	.0066	.0064
2.5	.0062	.0060	.0059	.0057	.0055	.0054	.0052	.0051	.0049	.0048
2.6	.0047	.0045	.0044	.0043	.0041	.0040	.0039	.0038	.0037	.0036
2.7	.0035	.0034	.0033	.0032	.0031	.0030	.0029	.0028	.0027	.0026
2.8	.0026	.0025	.0024	.0023	.0023	.0022	.0021	.0021	.0020	.0019
2.9	.0019	.0018	.0018	.0017	.0016	.0016	.0015	.0015	.0014	.0014
3.0	.0013	.0013	.0013	.0012	.0012	.0011	.0011	.0011	.0010	.0010
3.1	.0010	.0009	.0009	.0009	.0008	.0008	.0008	.0008	.0007	.0007

Ley normal reducida

Significación del índice U de la prueba de Mann-Whitney

$n_2 \backslash n_1$	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
2	—	—	—	—	0	0	0	0	1	1	1	1	1	2	2	2	2
3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	0	1	2	3	4	4	5	6	7	8	9	10	11	11	12	13	13
5	1	2	3	5	6	7	8	9	11	12	13	14	15	17	18	19	20
6	2	3	5	6	8	10	11	13	14	16	17	19	21	22	24	25	27
7	3	5	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	32	34
8	4	6	8	10	13	15	17	19	22	24	26	29	31	34	36	38	41
9	5	7	10	12	15	17	20	23	26	28	31	34	37	39	42	45	48
10	6	9	13	16	19	23	26	30	33	37	40	44	47	51	56	58	62
11	7	11	14	18	22	26	29	33	37	41	45	49	53	57	61	65	69
12	8	12	16	20	24	28	33	37	41	45	50	54	59	63	67	72	76
13	9	13	17	22	26	31	36	40	45	50	55	59	64	67	74	78	83
14	10	14	19	24	29	34	39	44	49	54	59	64	70	75	80	85	90
15	11	15	21	26	31	37	42	47	53	59	64	70	75	81	86	92	98
16	12	16	22	28	34	39	45	51	57	63	67	75	81	87	93	99	105
17	13	17	23	29	36	42	48	55	61	67	74	80	86	93	99	106	112
18	14	18	24	30	36	42	48	55	61	67	74	80	86	93	99	106	112
19	15	19	25	32	38	45	52	58	65	72	78	85	92	99	106	113	119
20	16	20	27	34	41	48	55	62	69	76	83	90	98	105	112	119	127
20	8	13	18	24	30	36	42	48	54	60	67	73	79	86	92	99	105

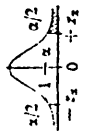
Las cifras en caracteres finos corresponden a un riesgo $\alpha = 0.05$
 Las cifras en caracteres gruesos corresponden a un riesgo $\alpha = 0.01$

Ley normal



RIESGO α	0.20	0.10	0.05	0.02	0.01	0.002	0.001
DESVIÓ z_x	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576	3.090	3.291

Tabla E2



RIESGO α	0.10	0.05	0.01	0.001
DESVIÓ z_x	1.65	1.96	2.58	3.29
P. BILATERAL				
DESVIÓ z_x	1.25	1.65	2.33	3.09
P. UNILATERAL				



Significación del índice T de la prueba de Wilcoxon

$n \backslash \alpha$.05	.02	.01
6	0	—	—
7	2	0	—
8	4	2	0
9	6	3	2
10	8	5	3
11	11	7	5
12	14	10	7
13	17	13	10
14	21	16	13
15	25	20	16
16	30	24	20
17	35	28	23
18	40	33	28
19	46	38	32
20	52	43	38
21	59	49	43
22	66	56	49
23	73	62	55
24	81	69	61
25	89	77	68

00-00

C A P I T U L O

S E P T I M O

CAPITULO SEPTIMO

14) RESULTADOS

14 A) Basales serie control

14 A-1) Valores globales

Para PRLh las muestras correspondientes a los 26 controles estudiados, con valor máximo de 16,8 ng/ml y mínimo de 2.2 ng/ml y distribución normal, se ha obtenido un valor medio de 7.06 ± 3.72 ng/ml con un rango de 14.6 ng/ml (Figura 23).

Para HCh los 36 valores estudiados, con máximo de 2.3 ng/ml y mínimo de 0.1 ng/ml, se distribuyen según la ley normal con un valor medio de 0.88 ± 0.47 ng/ml y rango de 2.2 ng/ml (Figura 24).

14 A-2) Valores con y sin ciclo menstrual

Para PRLh las 18 muestras estudiadas, con máximo de 16.8 ng/ml y mínimo de 5 ng/ml, muestran una distribución normal siendo el valor medio de 9.1 ± 3.79 ng/ml con un rango de 11.8 ng/ml. Para las enfermas sin ciclo menstrual, bajo distribución normal, el valor medio ha sido de 5.02 ± 2.31 ng/ml con rango de 6.8 ng/ml. Comparadas entre sí ambas medias muestran una clara diferencia estadísticamente significativa (t 3.901; $p < 0.001$), pudiendo establecerse que las mujeres con función ovárica activa presentan cifras basales de PRL mayores que las mujeres con función ovárica abolida. (Tabla XXIV).

Para la hormona de crecimiento los 18 valores estudiados en cada grupo, distribuidos según la ley normal, muestran una media de 1.08 ± 0.5 ng/ml para las enfermas con ciclo menstrual y 0.68 ± 0.36 ng/ml para las enfermas sin ciclo menstrual, con rangos de 1.8 y 1.4 ng/ml respectivamente. Ambas medias muestran también una clara diferencia estadísticamente significativa (t 2.757; $p < 0.005$) (Tabla XXIV).

TABLA XXIV

SERIE CONTROL. VALORES CON Y SIN CICLO MENSTRUAL

	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Min</u>	<u>M</u>	<u>DS</u>	<u>R</u>	<u>DIS</u>
PRLh con ciclo menstrual	18	16,8	5	9,1	3,79	11,8	DN.
PRLh sin ciclo menstrual	18	9	2,2	5,02	2,31	6,8	DN.
HCh con ciclo menstrual	18	2,3	0,5	1,08	0,5	1,8	DN.
HCh sin ciclo menstrual	18	1,5	0,1	0,68	0,36	1,4	DN.

365

ESTUDIO ESTADISTICO

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>P</u>
PRLh con-sin c. menstrual	2,694	>0,05	3,901	<0,001
HCh con-sin c. menstrual	1,938	<0,05	2,757	<0,005

De las mujeres con ciclo menstrual las 10 consideradas en fase folicular mostraron un valor medio de PRL de 8.5 ± 2.83 ng/ml, y las 8 consideradas en fase luteal 9.86 ± 4.84 ng/ml, con rangos de 9 y 11,6 ng/ml respectivamente, distribuyéndose ambas poblaciones según la ley normal. El estudio estadístico no muestra diferencias significativas ($t 0.704$; p NS) (Tabla XXV).

Para HCh, con el mismo número de elementos que PRLh, los valores medios fueron de 1.23 ± 0.57 ng/ml para las enfermas en fase folicular y 0.9 ± 0.34 ng/ml para las enfermas en fase luteal, con rangos de 1.7 y 1 ng/ml respectivamente y distribuciones normales. Ambas medias no han mostrado diferencias estadísticamente significativas ($t 1.512$; p NS) (Tabla XXV).

14 A-3) Valores según estadio sexual

Para PRLh, el grupo de mujeres fértiles ha presentado un valor medio de 8.5 ± 3.67 ng/ml, las climatéricas 8.23 ± 4.51 ng/ml y las postmenopáusicas 5.22 ± 2.47 ng/ml, con rangos de 11.7, 13.9 y 6.8 ng/ml respectivamente y distribución normal de las 3 poblaciones (Tabla XXVI).

El estudio estadístico comparativo ha demostrado que las postmenopáusicas presentan una cifra de PRLh circulante menor, estadísticamente significativa, que las enfermas fértiles ($t 2.647$; $p < 0.02$) y climatéricas ($t 2.126$; $p < 0.05$) (Tabla XXVI).

Para HCh los valores medios han sido de 1.11 ± 0.59 ng/ml para el grupo fértil, 0.9 ± 0.35 ng/ml para el climatérico y 0.68 ± 0.35 ng/ml para el postmenopáusicos, con rangos de 1.8, 1.2 y 1.4 ng/ml respectivamente, mostrando las tres series una distribución normal (Tabla XXVI).

El estudio estadístico ha demostrado que tan solo existen diferencias significativas entre las enfermas fértiles y postmenopáusicas ($t 2.371$; $p < 0.05$) (Tabla XXVI).

TABLA XXV

SERIE CONTROL. VALORES SEGUN FASE CICLO MENSTRUAL

	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Min.</u>	<u>M</u>	<u>DS</u>	<u>R</u>	<u>DIS.</u>
PRLH fase folicular	10	14	5	8,5	2,83	9	DN
PRLH fase luteal	8	16,8	5,2	9,86	4,84	11,6	DN
HCh fase folicular	10	2,3	0,6	1,23	0,57	1,7	DN
HCh fase luteal	8	1,5	0,5	0,9	0,34	1	DN

367

ESTUDIO ESTADISTICO

	<u>F</u>	<u>P</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
PRLH folicular-luteal	0,342	< 0,05	0,704	N.S.
HCh folicular-luteal	2,821	< 0,05	1,512	N.S.

TABLA XXVI

SERIE CONTROL. VALORES SEGUN ESTADIO SEXUAL

	N	Max.	Min.	M	DS	R	DIS.
PRLh fértiles	12	16,7	5	8,5	3,67	11,7	DN
PRLh climatéricas	9	16,8	2,9	8,23	4,51	13,9	DN
PRLh postmenopáusicas	15	9	2,2	5,22	2,47	6,8	DN
HCh fértiles	12	2,3	0,5	1,11	0,59	1,8	DN
HCh climatéricas	9	1,5	0,3	0,9	0,35	1,2	DN
HCh postmenopáusicas	15	1,5	0,1	0,68	0,35	1,4	DN

368

ESTUDIO ESTADISTICO

	F	P	t	P
PRLh fert-clim.	0,666	<0,05	0,147	N.S.
PRLh fert-postm.	2,22	<0,05	2,647	<0,02
PRLh clim-postm.	3,334	>0,05	2,126	<0,05
HCh fert-clim.	2,917	<0,05	1,019	N.S.
HCh fert-postm.	2,917	>0,05	2,361	<0,05
HCh clim-postm.	1	<0,05	1,506	N.S.

14 A-4) Valores respecto al frotis vaginal

Para PRLh se observa una disminución progresiva desde el agrupamiento según frotis estrogénico hasta el frotis atrófico con valores medios de 11.58 ± 3.81 ng/ml para el grupo con frotis estrogénico, 6.62 ± 1.47 ng/ml para el grupo con frotis estrogénicos débil, 5.26 ± 2.23 ng/ml para el grupo con frotis intermedio y 4.93 ± 2.43 ng/ml para el grupo con frotis atrófico. Las cuatro series distribuyen según la ley normal mostrando unos rangos de 9.3, 4.6, 6 y 6.8 ng/ml respectivamente (Tabla XXVII).

El estudio estadístico ha demostrado una diferencia significativa para el grupo con frotis estrogénico respecto al grupo con frotis estrogénico débil (t 5.757; $p < 0.001$), respecto al grupo con frotis intermedio (t 5.167; $p < 0.001$) y respecto al grupo con frotis atrófico (t 6.801; $p < 0.001$) (Tabla XXVII).

Para HCh los valores medios han sido de 1.16 ± 0.47 ng/ml para el grupo con frotis estrogénico, 1 ± 0.54 ng/ml para el grupo con frotis estrogénico débil, 0.78 ± 0.37 ng/ml para el grupo con frotis intermedio y 0.64 ± 0.36 ng/ml para el grupo con frotis atrófico, con rangos de 1.5, 1.7, 0.9 y 1.4 ng/ml respectivamente y distribuyéndose todos los grupos según la ley normal (Tabla XXVII)

De todos ellos tan solo han mostrado una diferencia estadísticamente significativa el grupo con frotis estrogénico respecto al grupo con frotis atrófico (t 2.802; $p < 0.01$) (Tabla XXVII).

14 A-5) Estudio de correlación PRLh-HCh

El estudio de correlación entre la prolactina y la hormona de crecimiento, para cada uno de los grupos estudiados, no revela ningún dato de dependencia entre ellas, aunque la serie global muestra una significación estadística ($p < 0.01$) poco valorable dado lo bajo del coeficiente de correlación y la clara tendencia a la dispersión de la nube de representación. Algo similar ocurre para los

TABLA XXVII

SERIE CONTROL. VALORES SEGUN FROTIS VAGINAL

	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Min.</u>	<u>M</u>	<u>DS</u>	<u>R</u>	<u>DIS.</u>
PRLh F. estrogénico	9	16,8	7,5	11,58	3,81	9,3	DN
PTLh F. est. débil	9	9,6	5	6,62	1,47	4,6	DN
PRLh F. intermedio	5	8,9	2,9	5,26	2,23	6	DN
PRLh F. atrofico	13	9	2,2	4,93	2,43	6,8	DN
HCh F. estrogénico	9	2,3	0,8	1,16	0,47	1,5	DN
HCh F. est. débil	9	2,2	0,5	1	0,54	1,7	DN
HCh F. intermedio	5	1,2	0,3	0,78	0,37	0,9	DN
HCh F. atrofico	13	1,5	0,1	0,64	0,36	1,4	DN

ESTUDIO ESTADISTICO

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
PRLh est-est. débil	6,682	>0,05	5,757	<0,001
PRLh est-inter.	2,903	<0,05	5,167	<0,001
PRLh est-atrof.	2,458	<0,05	6,801	<0,001
PRLh est. déb-inter.	0,435	<0,05	1,224	N.S.
PRLh est. déb-atrof.	0,366	<0,05	1,786	N.S.
PRLh inter-atrof.	0,842	<0,05	0,274	N.S.
HCh est-est. déb.	0,757	<0,05	0,672	N.S.
HCh est-inter.	1,571	<0,05	1,659	N.S.
HCh est-atrof.	1,692	<0,05	2,802	<0,01
HCh est déb-inter.	2,071	<0,05	0,896	N.S.
HCh est déb-atrof.	2,231	<0,05	1,666	N.S.
HCh inter-atrof.	1,077	<0,05	0,718	N.S.

pares de valores de la fase luteal, cuya correlación puede establecerse en base a la tendencia al agrupamiento de los valores hacia los niveles menores, tendiendo a la dispersión para los mayores niveles de PRLh (Tabla XXVIII; Figuras 18, 19, 20, 21 y 22).

TABLA XXVIII

SERIE CONTROL. ESTUDIO DE CORRELACION PRLh-HCh

	<u>r</u>	<u>p</u>	<u>Y = a + bx</u>
1) - Serie global	0,4543	<0,01	3,9 +0,35x
2) - Con ciclo menstrual	0,3528	N.S.	6,2 +0,26x
a) F. folicular	0,2766	N.S.	6,8 +0,13x
b) F. luteal	0,8138	<0,01	-0,49+1,15x
Sin ciclo menstrual	0,1428	N.S.	4,39+0,09x
3) - Fértil	0,3605	N.S.	6 +0,22x
Climatéricas	0,6657	N.S.	0,66+0,84x
Postmenopáusicas	0,1145	N.S.	4,6 +0,07x
4) - F. estrogénico	0,3384	N.S.	8,4 +0,27x
F. est. débil	0,4593	N.S.	5,4 +0,12x
F. intermedio	0,4612	N.S.	3 +0,27x
F. atrófico	0,0326	N.S.	4,8 +0,02x

FIGURA 18

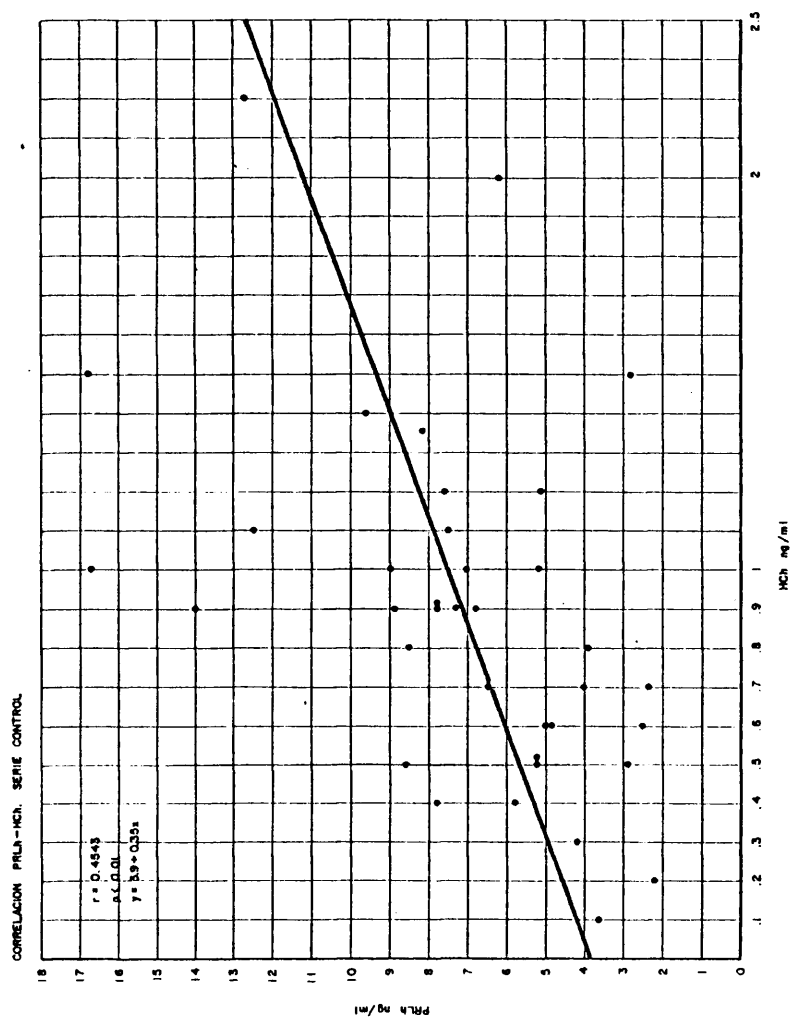


FIGURA 19

CORRELACION PRLA-HCH SERIE CONTROL CON Y SIN CICLO MENSTRUAL.

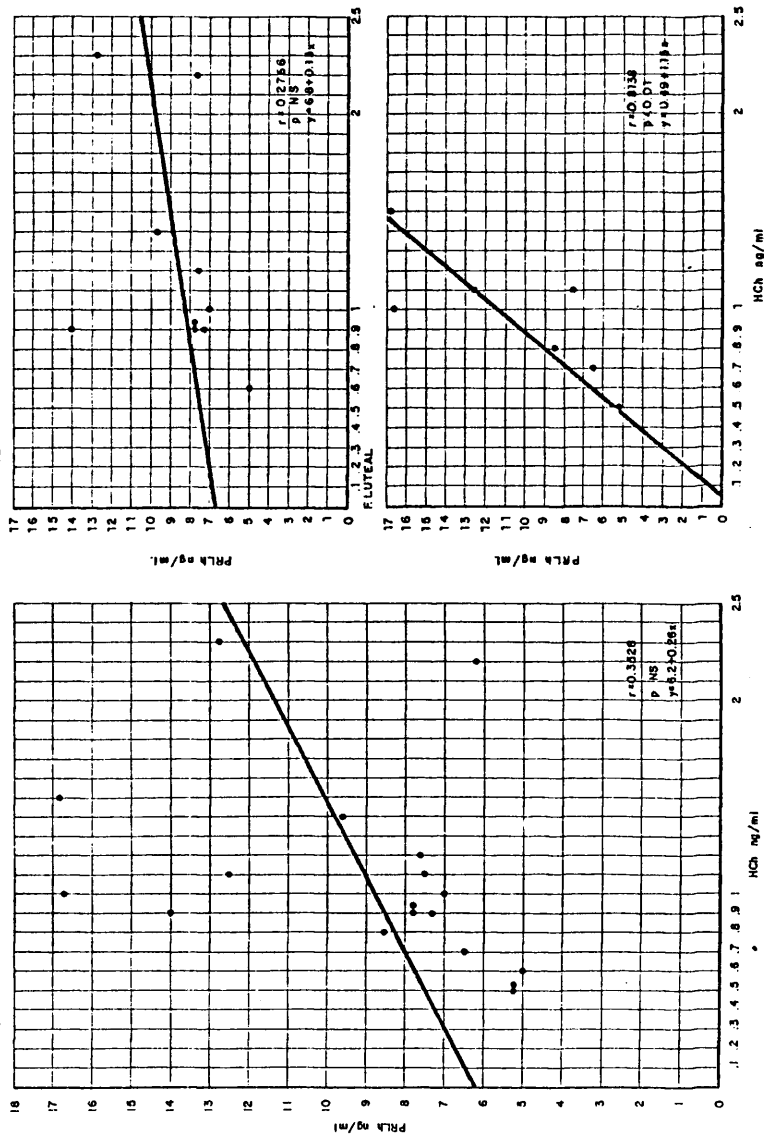


FIGURA 20

CORRELACION PRLH-HCh. SERIE CONTROL SIN CICLO MENSTRUAL

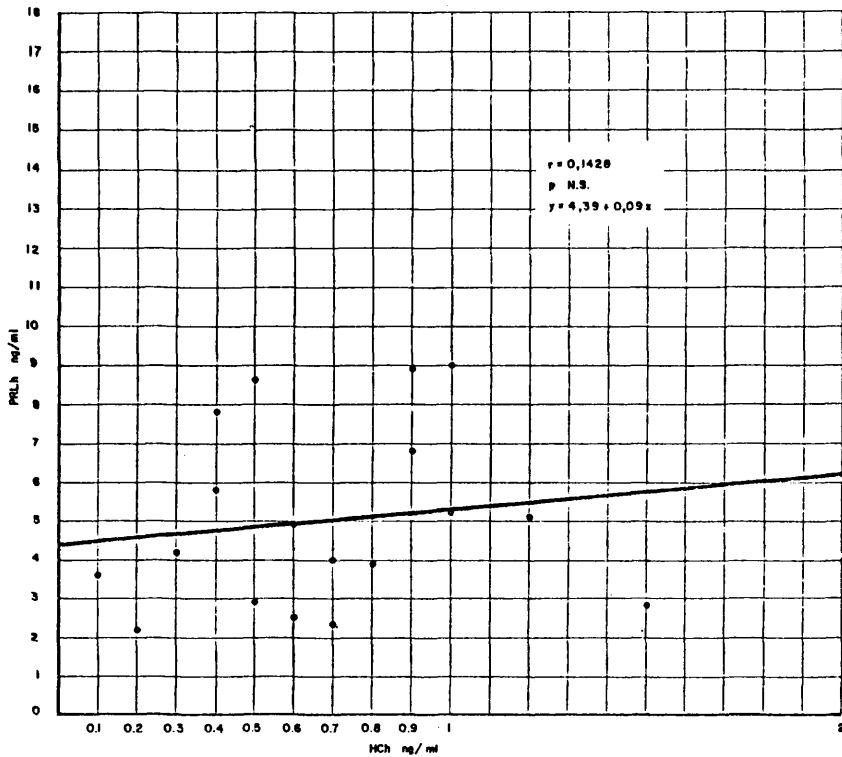


FIGURA 21

CORRELACION PRLh-HCh. SERIE CONTROL SEGUN PERIODO SEXUAL

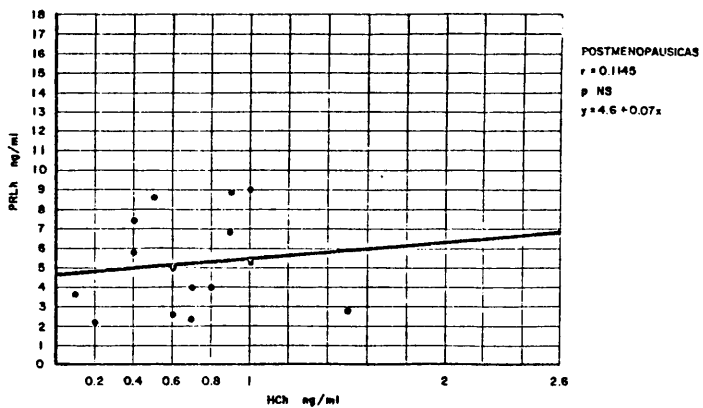
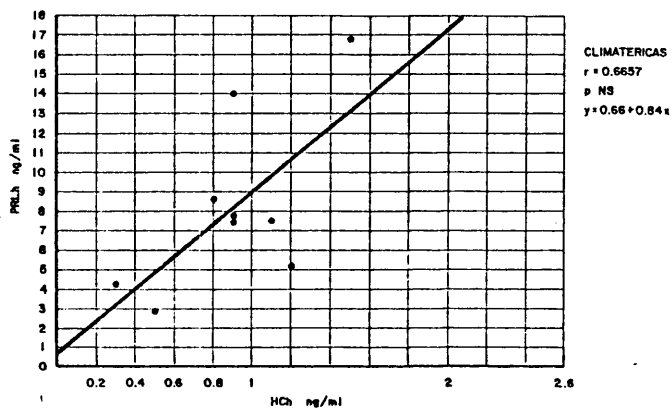
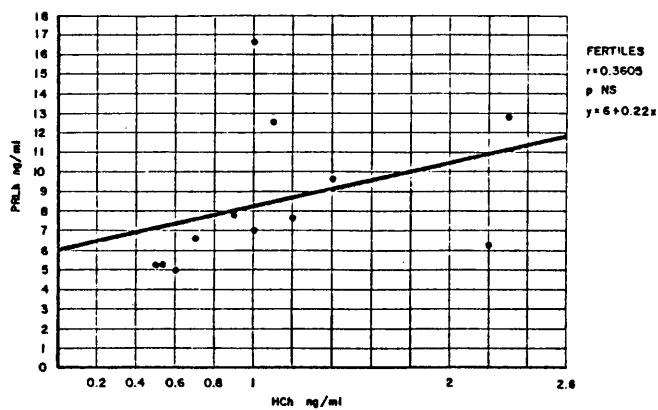
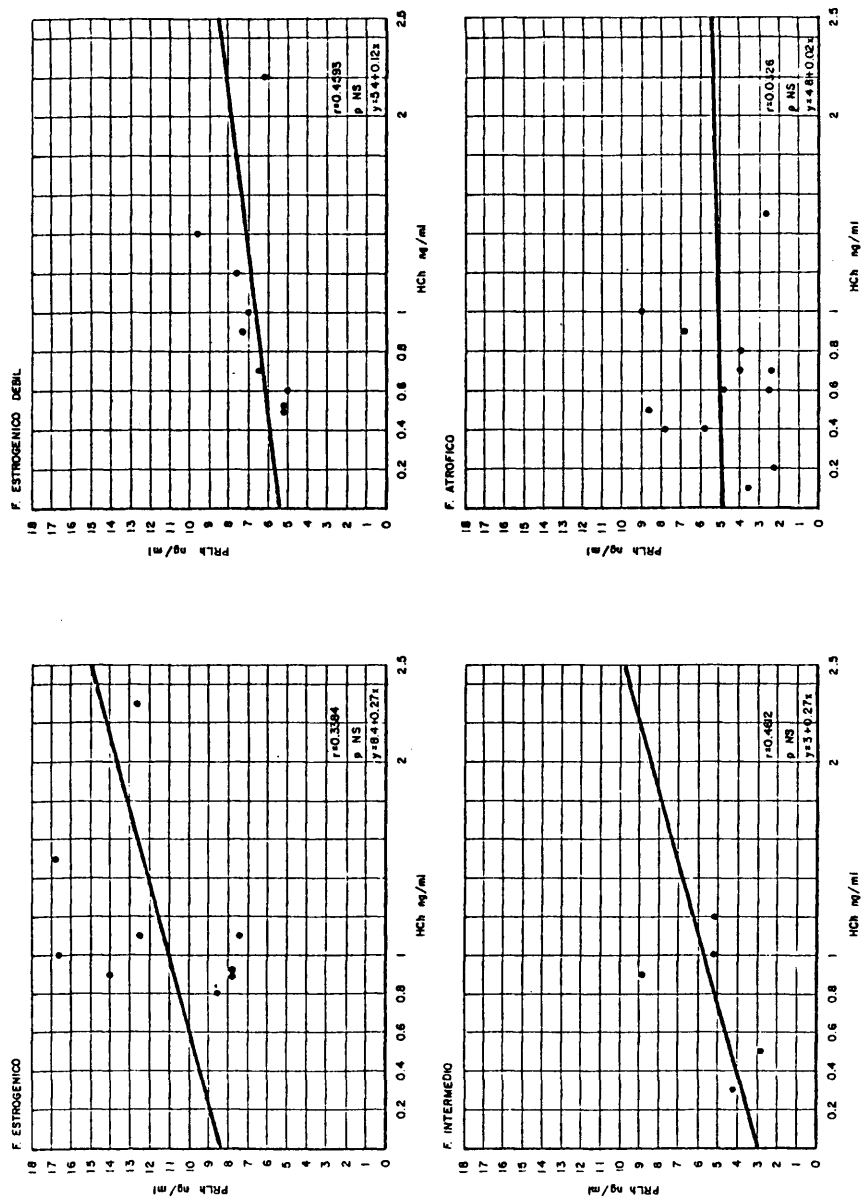


FIGURA 22

CORRELACION PRLH-HCh. CONTROLES SEGUN PROTIS VAGINAL



14 B) Serie Tumoral. Basales preoperatorias

14 B-1) Serie Global

El valor medio de PRLh para la serie global es de 12.19 ± 9.19 ng/ml, con un rango de 35 ng/ml claramente superior al de la población control (14.6 ng/ml) (Figura 23). Sin embargo, es de destacar la amplitud de la variación estándar lo que condiciona la distribución no normal de la serie y justifica la necesidad de subdividirla en grupos teóricamente más homogéneos.

Comparada respecto a la serie control se observa una diferencia claramente significativa ($z 2.915$; $p < 0.002$) aunque no todos los valores de la serie tumoral se encuentra por encima del rango de normalidad (Figura 23).

Para HCh el valor medio es de 1 ± 0.83 ng/ml, con un rango de 4.7 ng/ml y distribución normal. Comparado respecto al valor control no se observa diferencia estadísticamente significativa ($t 0.324$; p NS), aunque se aprecia una clara heterogeneidad del muestreo como se derivan del estudio de varianza ($F 3.186$; $p > 0.05$) (Figura 24).

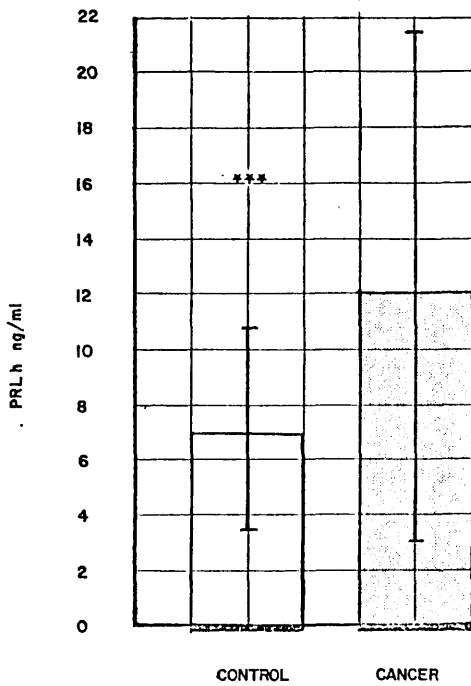
14 B-2) Valores con y sin ciclo menstrual

Para PRLh el valor medio para las enfermas con ciclo menstrual es de 16.13 ± 11.62 ng/ml, con distribución normal y rango de 32.6 ng/ml. Para la serie sin ciclo menstrual el valor de PRLh se ha cifrado en 9.46 ± 5.87 ng/ml, con distribución normal y rango de 22.9 ng/ml, valor medio estadísticamente menor que el del grupo con función menstrual ($t 2.509$; $p < 0.01$) (Tabla XXIX).

Para la HCh la serie con ciclo menstrual muestra un valor medio de 1.29 ± 1.11 ng/ml y la serie sin ciclo menstrual $0.75 \pm$

FIGURA 23

PRL.h SERIES	GLOBALES	CONTROL	-	CANCER	PREOPERATORIO	
	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
CONTROL	36	16.8	2.2	7.06	3.72	14.6
CANCER	4.4	37.1	2.1	12.19	9.19	35

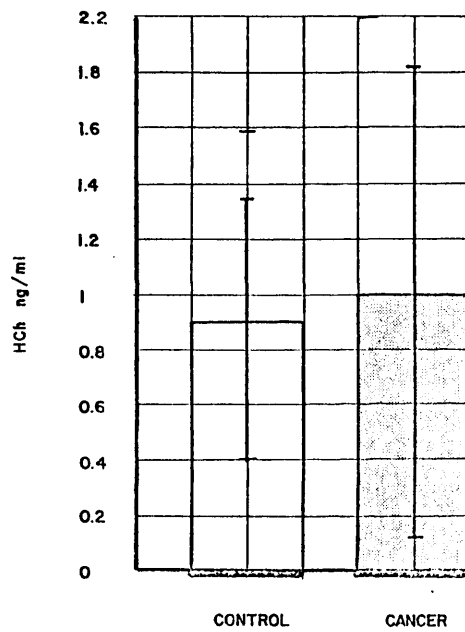


Z = 2,915

P < 0.002

FIGURA 24

HCh SERIES	GBALES	CONTROL - CANCER PREOPERATORIO				
	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
CONTROL	36	2.3	0.1	0.88	0.47	2.2
CANCER	35	4.8	0.1	1	0.83	4.7



T = 0.324 F. 3.186

P. NS P > 0,05

TABLA XXIX

SERIE TUMORAL . PREOPERATORIO CON Y SIN CICLO MENSTRUAL

	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Min.</u>	<u>M</u>	<u>DS</u>	<u>R</u>	<u>DIS.</u>
PRLh con ciclo menstrual	18	37,1	4,5	16,13	11,62	32,6	DN
PRLh sin ciclo menstrual	26	25	2,1	9,46	5,87	22,9	DN
HCh con ciclo menstrual	16	4,8	0,3	1,29	1,11	4,5	DN
HCh sin ciclo menstrual	19	1,5	0,1	0,75	0,39	1,4	DN

381

ESTUDIO ESTADISTICO

	<u>F</u>	<u>P</u>	<u>t</u>	<u>P</u>
PRLh con ciclo-sin ciclo	3,918	>0,05	2,509	<0,01
HCh con ciclo-sin ciclo	8,2	>0,01	1,988	N.S.

± 0.39 ng/ml, valores no significativos ($t 1.988$; p NS) pero muy heterogéneos ($F 8.2$; $p > 0.01$), sobre todo a expensas de la primera serie quien muestra una desviación estandard muy próxima al valor de la media y un rango claramente mayor que el grupo sin ciclo menstrual, como queda reflejado en la Tabla XXIX.

Comparados respecto a sus controles (Tabla XXX; Figura 25) los valores medios de PRLh en las enfermas con cancer son claramente más elevados para ambos grupos (con ciclo menstrual: $t 3.201$; $p < 0.005$. Sin ciclo menstrual: $t 3.041$; $p < 0.005$) mostrando, además, una clara heterogeneidad en el estudio de varianza ($F 9.402$ para el primero y $F 6.457$ para el segundo; $p > 0.01$) (Tabla XXX).

Para la HCh no se observan diferencias estadísticamente significativas (con ciclo menstrual $t 0.726$; p NS; sin ciclo menstrual: $t 0.58$; p NS) como puede observarse en la Tabla XXX y en la Figura 26.

Para las enfermas con ciclo menstrual en fase folicular el valor medio de PRLh (11.49 ± 9.42 ng/ml, distribuido según la ley normal) es estadísticamente menor ($t 2.292$; $p < 0.05$) que el obtenido en fase luteal (23.42 ± 11.54 ng/ml, distribuido según la ley normal) aunque muestran unos rangos muy similares (28.1 y 28.5 ng/ml respectivamente) (Tabla XXXI).

Para la HCh los valores son muy semejantes (1.40 ± 1.41 ng/ml en fase folicular y 1.15 ± 0.62 ng/ml en fase luteal) y no significativos estadísticamente ($t 0.436$; p NS). Ambas series se distribuyen según la ley normal, y aunque presentan rangos muy dispares (4.5 ng/ml en fase folicular y 1.7 ng/ml en fase luteal) el estudio de varianza no muestra diferencias significativas ($F 5.211$; $p < 0.05$) quizás como consecuencia del número relativamente pequeño de elementos de la muestra. Los valores comentados se resumen en la Tabla XXXI.

TABLA XXX

ESTUDIO ESTADISTICO

SERIE CONTROL.-SERIE TUMORAL PREOPERATORIO CON Y SIN CICLO MENSTRUAL

	F	p	t	p
PRLh con ciclo menstrual	9,402	>0,01	3,201	<0,005
PRLh sin ciclo menstrual	6,457	>0,01	3,041	<0,005
HCh con ciclo menstrual	4,928	>0,01	0,726	N.S.
HCh sin ciclo menstrual	1,173	<0,05	0,58	N.S.

FIGURA 25

PRLh CON Y SIN PERIODO . CONTROL - CANCER PREOPERATORIO

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
CON PERIODO						
CONTROL	18	16.8	5	9.10	3.79	11.8
CANCER	18	37.1	4.5	16.13	11.62	32.6
SIN PERIODO						
CONTROL	18	9	2.2	5.02	2.31	6.8
CANCER	26	25	2.1	9.46	5.87	22.9

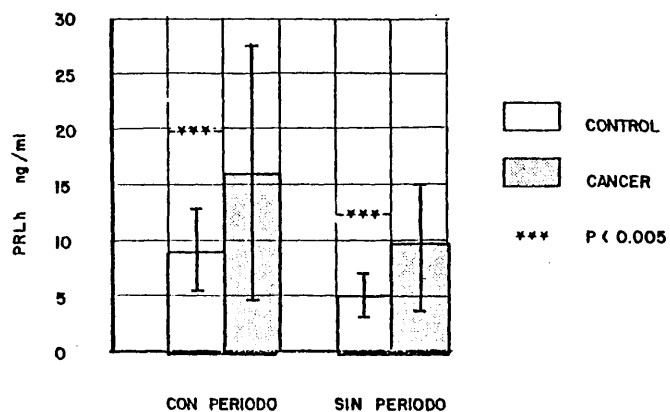


FIGURA 26

HCh CON Y SIN PERIODO. CONTROL -CANCER PREOPERATORIO						
	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
CON PERIODO						
CONTROL	18	2.3	0.5	1.08	0.5	1.8
CANCER	16	4.8	0.3	1.29	1.11	4.5
SIN PERIODO						
CONTROL	18	1.5	0.1	0.68	0.36	1.4
CANCER	19	1.5	0.1	0.75	0.39	1.4

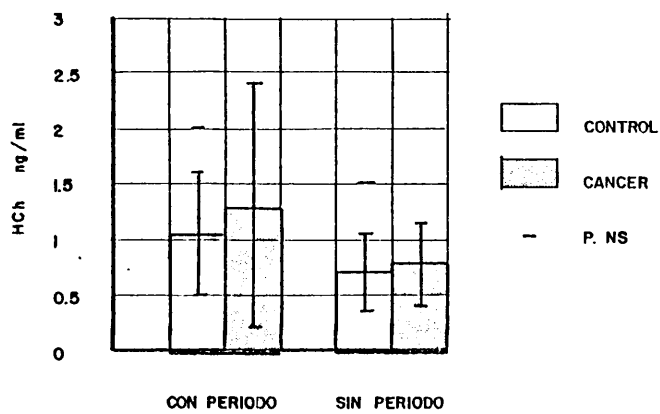


TABLA XXXI

SERIE TUMORAL - PREOPERATORIO SEGUN FASE CICLO MENSTRUAL

	N	Máx.	Min.	M	DS.	R	DIS.
PRlh Fase follicular	11	32,6	4,5	11,49	9,42	28,1	DN
PRlh Fase luteal	7	37,1	8,6	23,42	11,54	28,5	DN
HCh Fase follicular	9	4,8	0,3	1,4	1,41	4,5	DN
HCh Fase luteal	7	2	0,3	1,15	0,62	1,7	DN

386

ESTUDIO ESTADISTICO

	F	P	t	P
PRlh Follicular-luteal	1,500	<0,05	2,292	<0,05
HCh Follicular-luteal	5,211	<0,05	0,436	N.S.

Para PRLh, cuando se comparan los valores con sus respectivos controles como queda representado en la Figura 27, se observa la no existencia de diferencias significativas para el grupo en fase folicular (t 0.963; p NS), mientras que las pacientes con cáncer en fase luteal muestran una cifra media claramente superior (t 6.184; $p < 0.001$), con marcada heterogeneidad de las varianzas (F 11.07; $p > 0.01$ para la fase folicular y F 5.684; $p > 0.05$ para la fase luteal), como queda expresado en la Tabla XXXII.

Para la hormona de crecimiento no se observa ninguna diferencia estadísticamente significativa (t 0.353; p NS para fase folicular y t 0.958; p NS para fase luteal) (Tabla XXXII; Figura 28).

14 B-3) Valores según estadio sexual

En la Tabla XXXIII se resumen los valores de PRLh y HCh para los grupos fértil, climatérico y postmenopáusico. Todos ellos presentan una distribución que sigue la ley normal.

Para PRLh los valores medios de cada grupo descienden desde el período fértil hasta el postmenopáusico (17.22 ± 11.89 ng/ml para fértiles, 14.72 ± 7.63 ng/ml para climatéricas y 8.16 ± 4.61 ng/ml para postmenopáusicas) con rangos mayores para las primeras (32.6 ng/ml) y menor, y muy similar, para climatéricas (18.8 ng/ml) y postmenopáusicas (14.7 ng/ml) (Tabla XXXIII). Estadísticamente solo existen diferencias para los valores entre fértiles y postmenopáusicas (t 3.328; $p < 0.005$); las climatéricas se comportan como un grupo heterogéneo que puede aproximarse a cualquiera de los otros dos dependiendo del número de elementos de la muestra que puedan considerarse como premenopáusicas o menopáusicas, por lo que es difícil obtener conclusiones que permitan razonamientos fisiopatológicos.

Para la HCh se observa un comportamiento similar al de PRLh con valores mayores para fértiles (1.38 ± 1.15 ng/ml; rango 4.5 ng/ml) que para climatéricas y postmenopáusicas (0.86 ± 0.41 ng/ml y

FIGURA 27

PRLh SEGUN FASE CICLO MENSTRUAL . CONTROL - CANCER PREOPERATORIO

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
FASE FOLICULAR						
CONTROL	10	14	5	8.50	2.83	9
CANCER	11	32.6	4.5	11.49	9.42	28.1
FASE LUTEAL						
CONTROL	8	16.8	5.2	9.86	4.84	11.6
CANCER	7	37.1	8.6	23.42	11.54	28.5

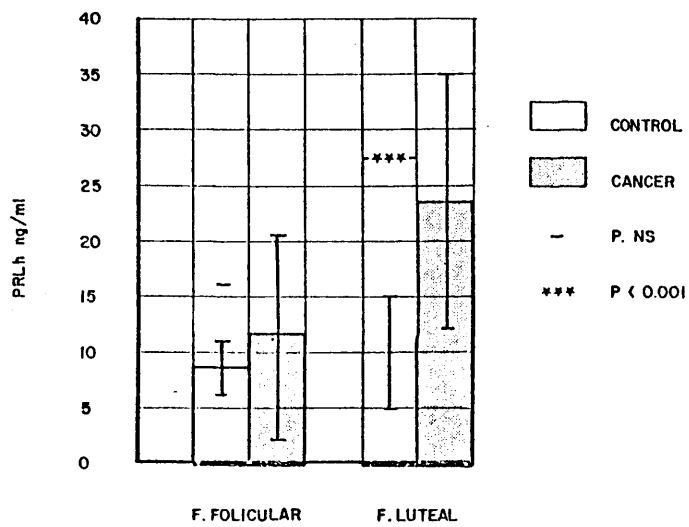


TABLA XXXII

ESTUDIO ESTADISTICO

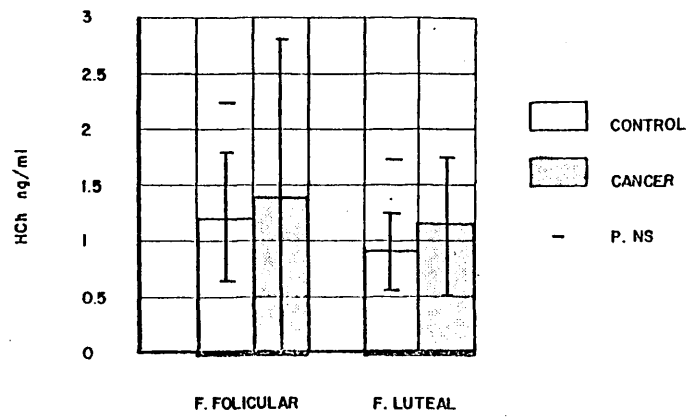
SERIE CONTROL - SERIE TUMORAL PREOPERATORIO SEGUN FASE CICLO MENSTRUAL

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>P</u>
PRLh F. Follicular	11,07	>0,01	0,963	N.S.
PRLh F. Luteal	5,684	>0,05	6,184	<0,001
HCh F. Follicular	6,119	>0,01	0,353	N.S.
HCh F. Luteal	3,325	<0,05	0,958	N.S.

FIGURA 28

HCh SEGUN FASE CICLO MENSTRUAL.. CONTROL -CANCER PREOPERATORIO.

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
FASE FOLICULAR						
CONTROL	10	2.3	0.6	1.23	0.57	1.7
CANCER	9	4.8	0.3	1.40	1.41	4.5
FASE LUTEAL						
CONTROL	8	1.5	0.5	0.9	0.34	1
CANCER	7	2	0.3	1.15	0.52	1.7



SERIE TUMORAL. PREOPERATORIO SEGUN ESTADIO SEXUAL

	N	Máx.	Min.	M	DS	R	DIS.
PRLh Fértiles	16	37,1	4,5	17,22	11,89	32,6	DN
PRLh Climatericas	5	25	6,2	14,62	7,63	18,8	DN
PRLh Postmenopausicas	23	16,8	2,1	8,16	4,61	14,7	DN
HCh Fértiles	14	4,8	0,3	1,38	1,15	4,5	DN
HCh Climatericas	5	1,5	0,4	0,86	0,41	1,1	DN
HCh Postmenopausicas	16	1,5	0,1	0,71	0,38	1,4	DN

391

ESTUDIO ESTADISTICO

	F	P	t	P
PRLh fert-clim.	2,427	<0,05	0,575	N.S.
PRLh fert-postm.	6,649	>0,01	3,328	<0,005
PRLh clim-postm.	2,741	>0,05	1,822	N.S.
HCh fert-clim.	8,25	>0,01	0,975	N.S.
HCh fert-postm.	9,429	>0,01	2,207	<0,05
HCh clim-postm.	1,143	<0,05	0,743	N.S.

0.71 ± 0.38 ng/ml) quienes presentan, además, rangos muy similares (1.1 y 1.4 ng/ml) respectivamente) (Tabla XXXIII). Estadísticamente hay que volver a destacar la alta heterogeneidad del grupo fértil, quien, por otra parte, muestra un valor medio estadísticamente superior al de las pacientes postmenopáusicas (t 2.207; p<0.05) (Tabla XXXIII)

Comparados los valores respecto a sus controles, como se resume en la Tabla XXXIV y Figura 29, se observa que en el grupo fértil y postmenopáusico la concentración media de PRLh es estadísticamente superior (t 2.445; p<0.025 para fértiles y t 2.267; p<0.05 para postmenopáusicas) persistiendo la heterogeneidad de ambos grupos (F 10.496; p>0.01 para las primeras y F 3.483; p>0.05 para las segundas). El grupo de enfermas climatéricas, a pesar de la clara diferencia en valores absolutos respecto al grupo control, no muestra significación estadística (t 1.714; p NS) lo que no excluye que su comportamiento sea, en este estudio, más próximo al de enfermas fértiles que al de postmenopáusicas.

Para la HCh (Tabla XXXIV; Figura 30) se aprecia claramente la similitud de todos los valores, destacando únicamente la heterogeneidad estadística de los grupos en estadio fértil (F 3.799; p>0.05).

14 B-4) Valores según frotis vaginal

Para PRLh, bajo una distribución normal, el único grupo que muestra un valor claramente elevado es el que corresponde a una clara función estrogénica. Su valor medio (25.92 ± 9.6 ng/ml) es significativamente superior al de las enfermas con frotis estrogénico débil (9.9 ± 8.02 ng/ml) (t 3.674; p<0.005), frotis intermedio (9.27 ± 6.57 ng/ml) (t 3.898; p<0.005) y frotis atrófico de la postmenopausia (9.55 ± 5.56 ng/ml) (t 5.283; p<0.001) con rangos similares para los dos primeros grupos (28.5 y 28.1 ng/ml para los frotis estrogénicos) y más dispares para los grupos con frotis intermedio y atrófico (22.9 y 16.3 ng/ml) (Tabla XXXV). Los otros tres grupos se comportan de forma muy similar no apreciándose diferencias estadísticas

TABLA XXXIV

ESTUDIO ESTADISTICO

SERIE CONTROL. SERIE TUMORAL PREOPERATORIO SEGUN ESTADIO SEXUAL

	<u>F</u>	<u>P</u>	<u>t</u>	<u>P</u>
PRLh fértiles	10,496	>0,01	2,445	<0,025
PRLh climatericas	2,862	<0,05	1,714	N.S.
PRLh postmenopausicas	3,483	>0,05	2,267	<0,05
HCh fértiles	3,799	>0,05	0,735	N.S.
HCh climatericas	1,372	<0,05	0,188	N.S.
HCh postmenopausicas	1,178	<0,05	0,232	N.S.

FIGURA 29

PRLh SEGUN ESTADIO SEXUAL . CONTROL - CANCER PREOPERATORIO		N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
FERTILES							
CONTROL		12	16.7	5	8.50	3.67	11.7
CANCER		16	37.1	4.5	17.22	11.89	32.6
CLIMATERICAS							
CONTROL		9	16.8	2.9	8.23	4.51	13.9
CANCER		5	25	6.2	14.62	7.63	18.8
POSTMENOPAUSICAS							
CONTROL		15	9	2.2	5.22	2.47	6.8
CANCER		23	16.8	2.1	8.16	4.61	14.7

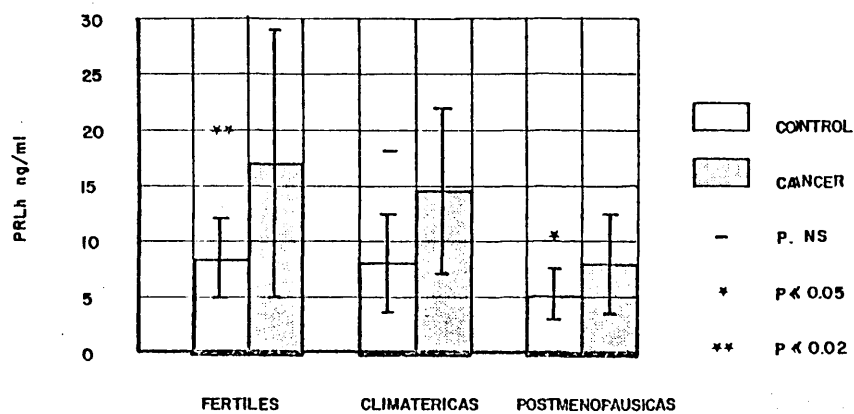


FIGURA 30

HCh SEGUN ESTADIO SEXUAL . CONTROL - CANCER PREOPERATORIO

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
FERTILES						
CONTROL	12	2.3	0.5	1.11	0.59	1.8
CANCER	14	4.8	0.3	1.38	1.15	4.5
CLIMATERICAS						
CONTROL	9	1.5	0.3	0.9	0.35	1.2
CANCER	5	1.5	0.4	0.86	0.41	1.1
POSTMENOPAUSICAS						
CONTROL	15	1.5	0.1	0.68	0.35	1.4
CANCER	16	1.5	0.1	0.71	0.38	1.4

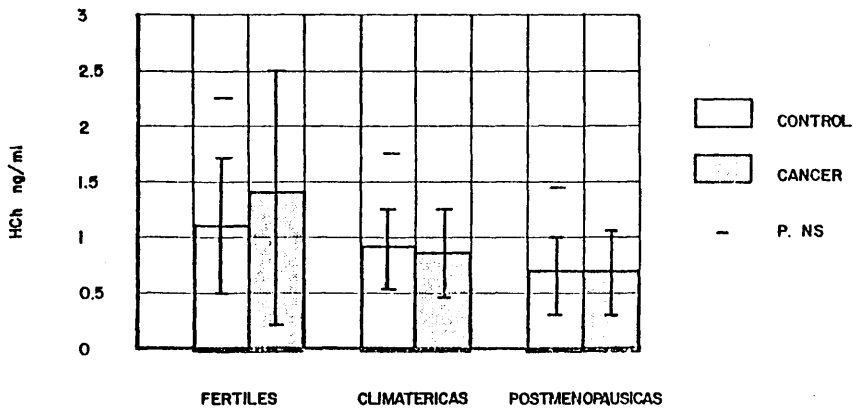


TABLA XXXV

SERIE TUMORAL. PREOPERATORIO SEGUN FROTIS VAGINAL

	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Min.</u>	<u>N</u>	<u>DS</u>	<u>R</u>	<u>DIS.</u>
PRLh F. estrogénico	7	37,1	8,6	25,92	9,6	28,5	DN
PRLh F. est. débil	11	32,6	4,5	9,9	8,02	28,1	DN
PRLh F. intermedio	9	25	2,1	9,27	6,75	22,9	DN
PRLh F. atrofico	17	18,9	2,6	9,55	5,56	16,3	DN
HCh F. estrogénico	7	2	0,3	1,15	0,62	1,7	DN
HCh F. est. débil	9	4,8	0,3	1,4	1,41	4,5	DN
HCh F. intermedio	6	1,5	0,3	0,9	0,5	1,2	DN
HCh F. atrofico	13	1,2	0,1	0,69	0,33	1,1	DN

ESTUDIO ESTADISTICO

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
PRLh est-est. débil	1,433	<0,05	3,674	<0,005
PRLh est-inter.	2,017	<0,05	3,898	<0,005
PRLh est-atrof.	2,982	>0,05	5,283	<0,001
PRLh est déb.-inter.	1,407	<0,05	0,191	N.S.
PRLh est. déb.-atrof.	2,081	<0,05	0,126	N.S.
PRLh inter-atrof.	1,478	<0,05	0,107	N.S.
HCh est-est. déb.	5,171	>0,05	0,436	N.S.
HCh est-inter.	1,537	<0,05	0,807	N.S.
HCh est-atrof.	3,529	>0,05	2,232	<0,05
HCh est. déb-inter.	7,92	>0,01	0,827	N.S.
HCh est. déb-atrof.	19,8	>0,01	1,774	N.S.
HCh inter-atrof.	2,5	<0,05	0,945	N.S.

mente significativas, pudiendo ser considerados matemáticamente como procedentes de una misma población (Tabla XXXV).

La HCh muestra niveles muy similares para el grupo con frotis estrogénico (1.15 ± 0.62 ng/ml), estrogénico débil (1.4 ± 1.41 ng/ml) e intermedio de la postmenopausia (0.9 ± 0.5 ng/ml), variando tan solo el rango del segundo de acuerdo con la gran desviación estandar de la serie. El único valor estadísticamente significativo es el correspondiente al frotis atrófico (0.69 ± 0.33 ng/ml) respecto al valor medio del frotis estrogénico ($t 2.232$; $p < 0.05$) (Tabla XXXV).

Comparados los valores de PRLh respecto a sus controles (Tabla XXXVI; Figura 31) puede apreciarse que solo los correspondientes a frotis estrogénicos y frotis atróficos muestran diferencias significativas ($t 4.116$; $p < 0.005$ para el primero y $t 2.791$; $p < 0.01$ para el segundo). Al igual que ocurría en el grupo de enfermas clínicas. Los valores correspondientes al frotis estrogénico débil e intermedio de la postmenopausia son más elevados en las pacientes con cáncer que en sus respectivos controles, aunque sus diferencias no sean estadísticamente significativas. También es de destacar la constante significación de las varianzas, debido fundamentalmente a las dispersiones de los valores en las enfermas con tumor, siendo mucho más manifiestas en los grupos estrogénico débil e intermedio de la postmenopausia ($F 29.765$; $p > 0.01$ y $F 9.162$; $p > 0.05$) (Tabla XXXVI).

Para la HCh (Tabla XXXVI; Figura 32) ninguno de los valores muestra significación estadística, manteniéndose agrupados en niveles de varianza más homogéneos a excepción del grupo con frotis estrogénico débil ($F 6.817$; $p > 0.01$).

TABLA XXXVI

ESTUDIO ESTADISTICO

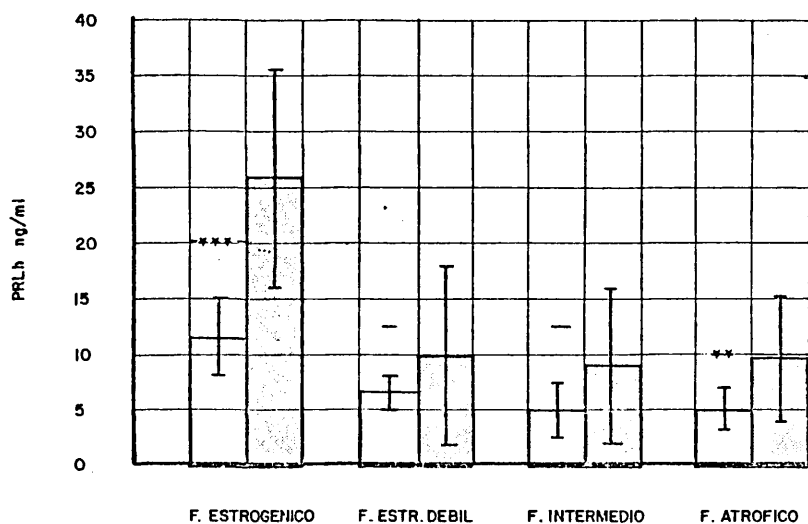
SERIE CONTROL - SERIE TUMORAL PREOPERATORIO SEGUN FROTIS VAGINAL

	F	P	t	P
PRLh F. estrogénico	6,348	>0,05	4,116	<0,005
PRLh F. est. débil	29,765	>0,01	1,205	N.S.
PRLh F. intermedio	9,162	>0,05	1,268	N.S.
PRLh F. atrofico	5,235	>0,01	2,791	<0,01
HCh F. estrogénico	1,224	<0,05	0,036	N.S.
HCh F. est. débil	6,817	>0,01	0,796	N.S.
HCh F. intermedio	1,826	<0,05	0,461	N.S.
HCh F. atrofico	1,2	<0,05	0,384	N.S.

FIGURA 31

PRLh SEGUN FROTIS VAGINAL. CONTROL - CANCER PREOPERATORIO

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
FROTIS ESTROGENICO						
CONTROL	9	16.8	7.5	11.58	3.81	9.3
CANCER	7	37.1	8.6	25.92	9.6	28.5
FROTIS ESTROGENICO DEBIL						
CONTROL	9	9.6	5	6.62	1.47	4.6
CANCER	11	32.6	4.5	9.90	8.02	28.1
FROTIS INTERMEDIO POSTMENOP.						
CONTROL	5	8.9	2.9	5.26	2.23	6
CANCER	9	25	2.1	9.27	6.75	22.9
FROTIS ATROFICO POSTMENOP.						
CONTROL	13	9	2.2	4.93	2.43	6.8
CANCER	17	18.9	2.6	9.55	5.56	16.3

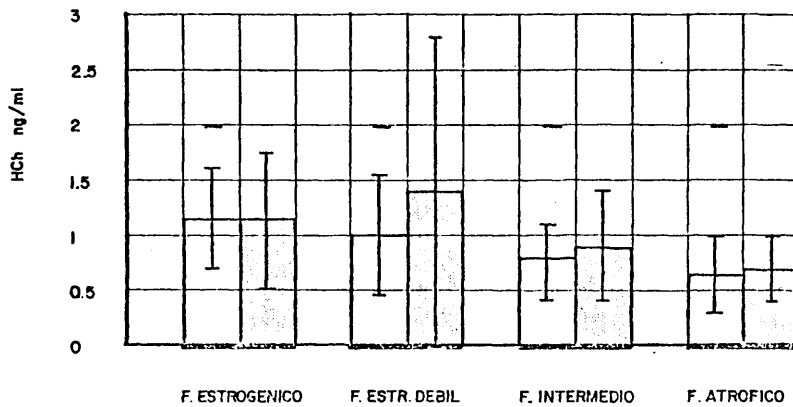


CONTROL
 CANCER
 - P. NS
 ** P < 0.01
 *** P < 0.005

FIGURA 32

HCh SEGUN FROTIS VAGINAL . CONTROL - CANCER PREOPERATORIO

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
FROTIS ESTROGENICO						
CONTROL	9	2.3	0.8	1.16	0.47	1.5
CANCER	7	2	0.3	1.15	0.62	1.7
FROTIS ESTROGENICO DEBIL						
CONTROL	9	2.2	0.5	1	0.54	1.7
CANCER	9	4.8	0.3	1.40	1.41	4.5
FROTIS INTERMEDIO POSTMENOP.						
CONTROL	5	1.2	0.3	0.78	0.37	0.9
CANCER	6	1.5	0.3	0.90	0.50	1.2
FROTIS ATROFICO POSTMENOP.						
CONTROL	13	1.5	0.1	0.64	0.36	1.4
CANCER	13	1.2	0.1	0.69	0.33	1.1



CONTROL
 CANCER
 - P. NS

14 B-5) Valores según el estadio tumoral

Ni la PRLh ni la HCh muestran diferencias significativas cuando se agrupan respecto al estadio tumoral, como se expresa en la Tabla XXXVII.

Para PRLh todos los valores tienden a encontrarse muy por encima del rango de la serie global control (14,6 ng/ml) y con desviaciones estandar sugestivas de grandes discrepancias entre los valores extremos, hasta el punto de que el grupo en estadio 3 pierde su distribución normal.

Algo similar ocurre con los valores de HCh donde la diferencia de valores medios para cada grupo, a pesar de no mostrar significación estadística, ofrece un patrón de valores hormonales más elevados para los estadios precoces (I: 1.30 ± 1.72 ng/ml y II: 1.15 ± 0.62 ng/ml) que para los estadios avanzados (III: 0.78 ± 0.39 ng/ml y IV: 0.9 ± 0.73 ng/ml), con rangos respecto al global de la serie control (2.2 ng/ml) más elevados para los primeros (4.4 ng/ml para estadio I y 2 ng/ml para estadio II) que para los segundos (1.2 ng/ml para estadio III y 1.5 ng/ml para estadio IV) (Tabla XXXVII).

14 B-6) Estudio de correlación PRLh-HCh

La única conclusión válida es la total independencia de los pares de valores estudiados, no apreciándose ninguna modificación con los distintos ordenamientos realizados, pues la significación estadística para el grupo en estadio II carece, en mi opinión, de cualquier significado biológico. En la Tabla XXXVIII y en las Figuras 33, 34, 35, 36, 37 y 38 se resumen los coeficientes de Pearson y la representación gráfica de la recta de regresión.

TABLA XXXVII

SERIE TUMORAL. PREOPERATORIO SEGUN ESTADIO TUMORAL

	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Min.</u>	<u>M</u>	<u>DS</u>	<u>R</u>	<u>DIS.</u>
PRLh T1	7	31	2,1	12,55	11,26	28,9	DN
PRLh T2	13	31,5	5	13,82	9,38	26,5	DN
PRLh T3	17	37,1	2,6	9,47	8,21	34,5	DNN
PRLh T4	7	32,6	5,3	15,4	9,14	27,3.	DN
HCh T1	6	4,8	0,4	1,3	1,72	4,4	DN
HCh T2	11	2,1	0,1	1,15	0,62	2	DN
HCh T3	14	1,5	0,3	0,78	0,39	1,2	DN
HCh T4	4	1,8	0,3	0,9	0,73	1,5	DN

ESTUDIO ESTADISTICO

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
PRLh T1-T2	1,441	<0,05	0,255	N.S.
PRLh T1-T3	U=40	Z =	0,165	N.S.
PRLh T1-T4	1,518	<0,05	0,52	N.S.
PRLh T2-T3	U=55,5	Z =	1,178	N.S.
PRLh T2-T4	1,053	<0,05	0,365	N.S.
PRLh T3-T4	U=9	Z =	2,02	=0,05
HCh T1-T2	7,763	>0,01	0,266	N.S.
HCh T1-T3	19,667	>0,01	1,106	N.S.
HCh T1-T4	5,566	<0,05	0,506	N.S.
HCh T2-T3	2,533	<0,05	1,739	N.S.
HCh T2-T4	0,717	<0,05	0,612	N.S.
HCh T3-T4	0,283	<0,05	0,45	N.S.

TABLA XXXVIII

SERIE TUMORAL. PREOPERATORIO. CORRELACION PRLh-HCh.

	r	p	$Y = a + bx$
1) - Serie global	0,1947	N.S.	11,3+0,22x
2) - Con ciclo menstrual	0,0860	N.S.	16 +0,09x
a) F. Follicular	0,0379	N.S.	12 +0,2 x
b) F. Luteal	0,5395	N.S.	11.8+1 x
- Sin ciclo menstrual	0,1164	N.S.	9,1+0,17x
3) - Fértiles	0,0111	N.S.	18,4+0,01x
- Climatéricas	0,0758	N.S.	13,4+0,13x
- Postmenopáusicas	0,0742	N.S.	8,15+0,08x
4) - F. estrogénico	0,5228	N.S.	16,5+0,8 x
- F. est. débil	0,1312	N.S.	9,3+0,08x
- F. intermedio	-0,0917	N.S.	12,4-0,13x
- F. atrófico	0,2569	N.S.	7,2+0,4 x
5) - Estadio I	-0,3255	N.S.	17 -0,2 x
- Estadio II	0,6550	<0,05	3 +1 x
- Estadio III	0,4379	N.S.	2,6+0.9 x
- Estadio IV	0,7502	N.S.	12 +0.87x

FIGURA 33
CORRELACION PRLH-HCH SERIE TUMORAL PREOPERATORIO

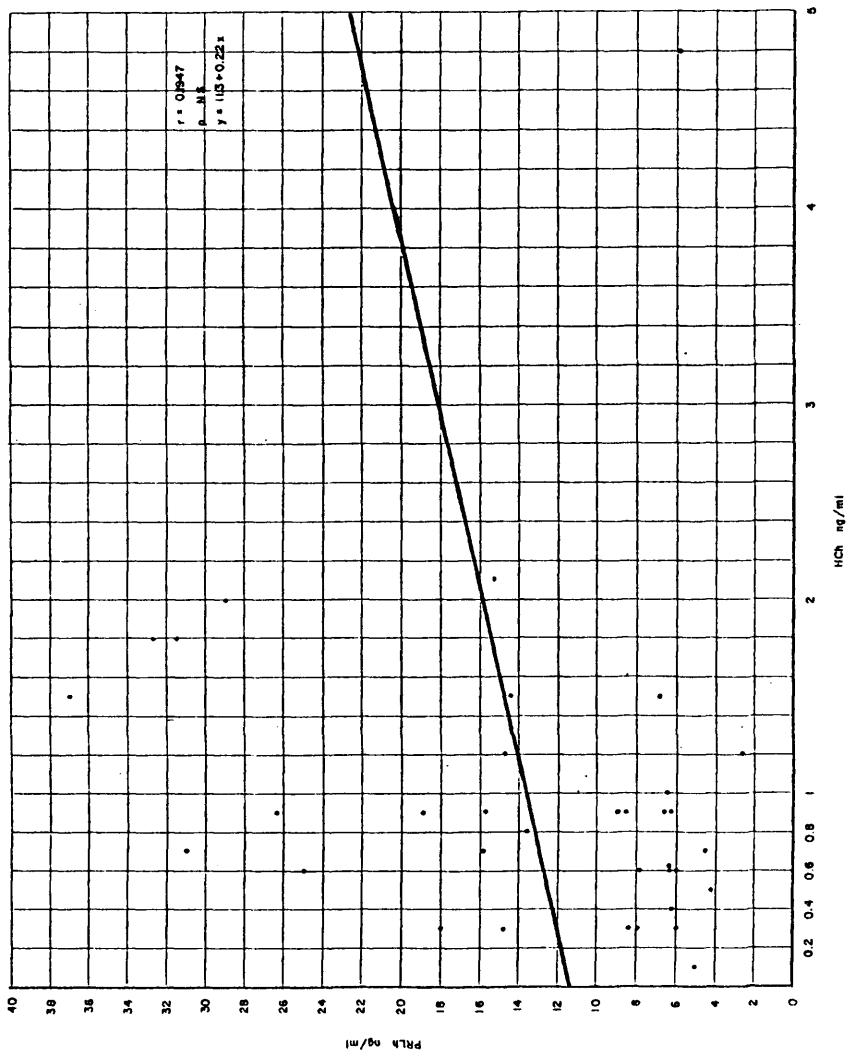


FIGURA 34

CORRELACION PRLH-HCN SERIE TUMORAL PREOPERATORIO CON PERIODO Y FASE CICLO.

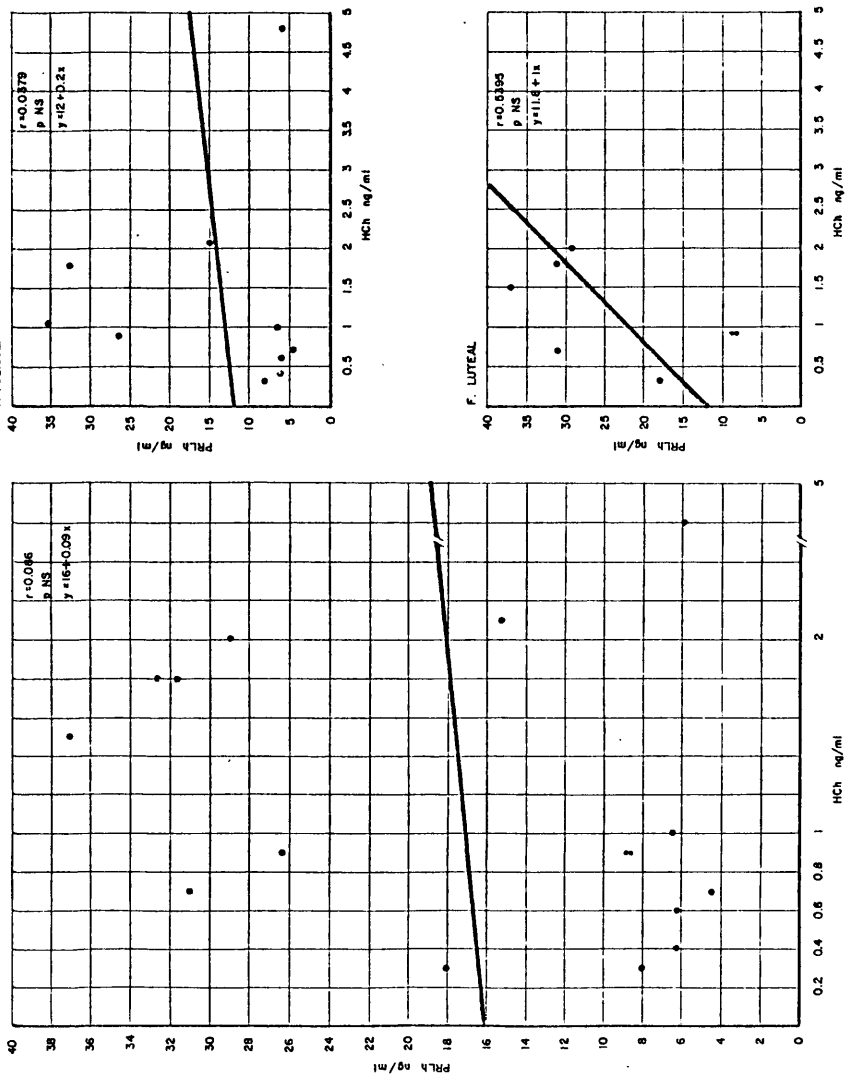


FIGURA 35

CORRELACION PRLh-HCh SERIE TUMORAL PREOPERATORIO SIN PERIODO

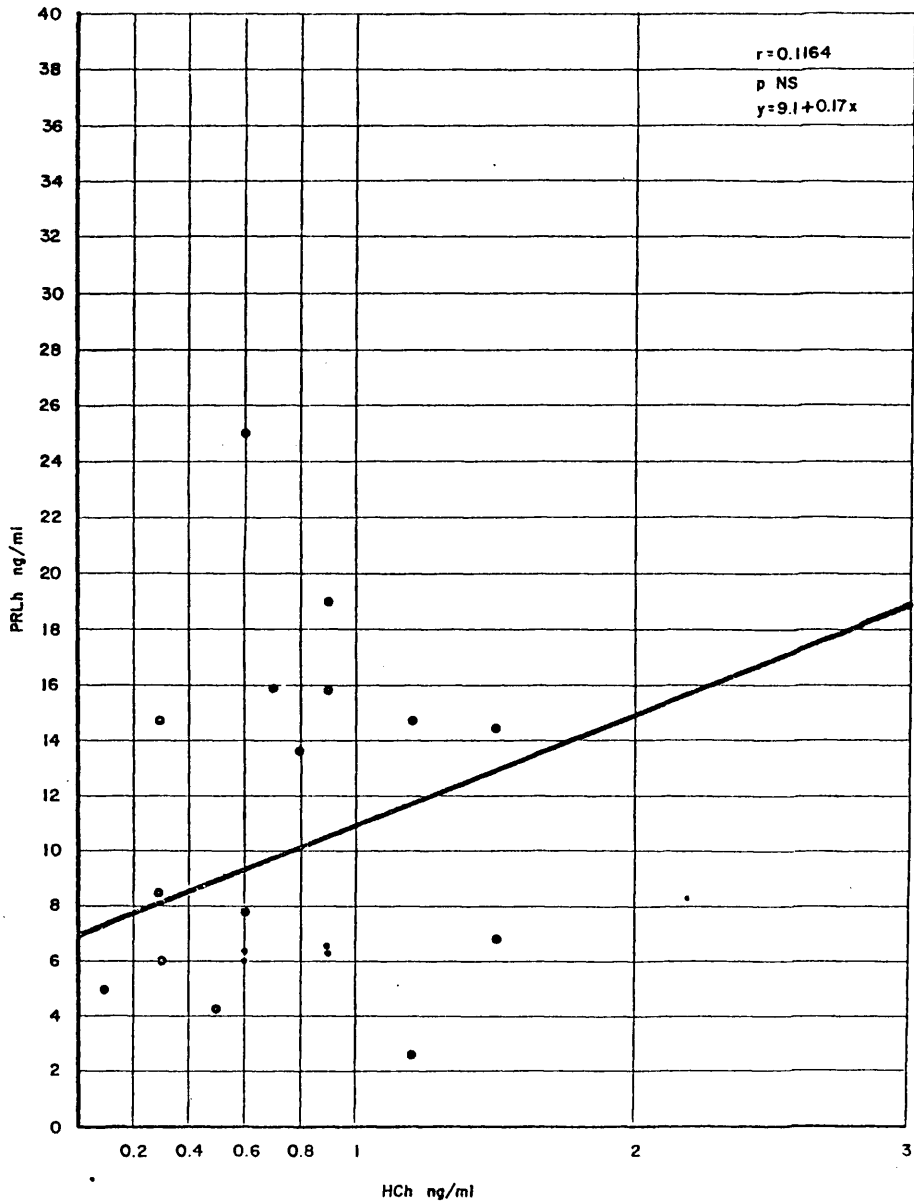


FIGURA 36

CORRELACION PRLh-HCh SERIE TUMORAL PREOPERATORIO ESTADIO SEXUAL

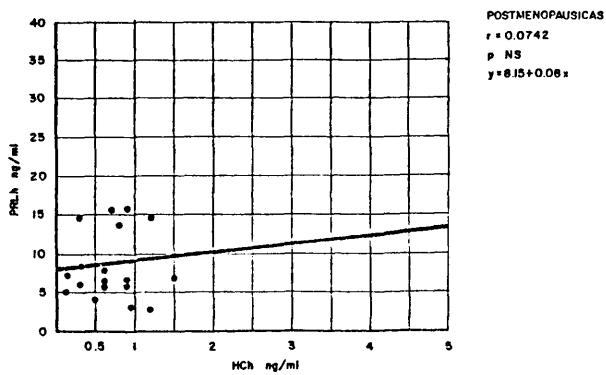
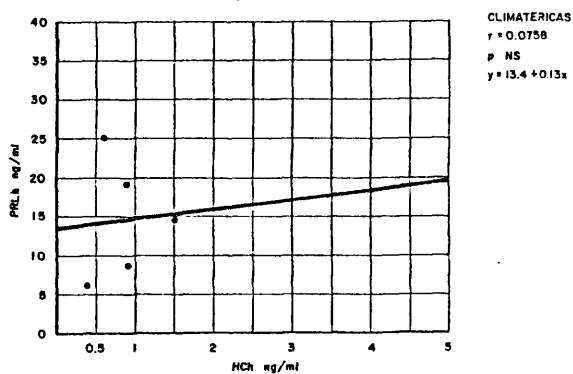
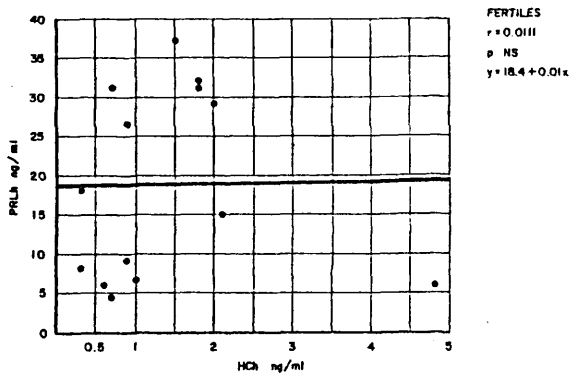
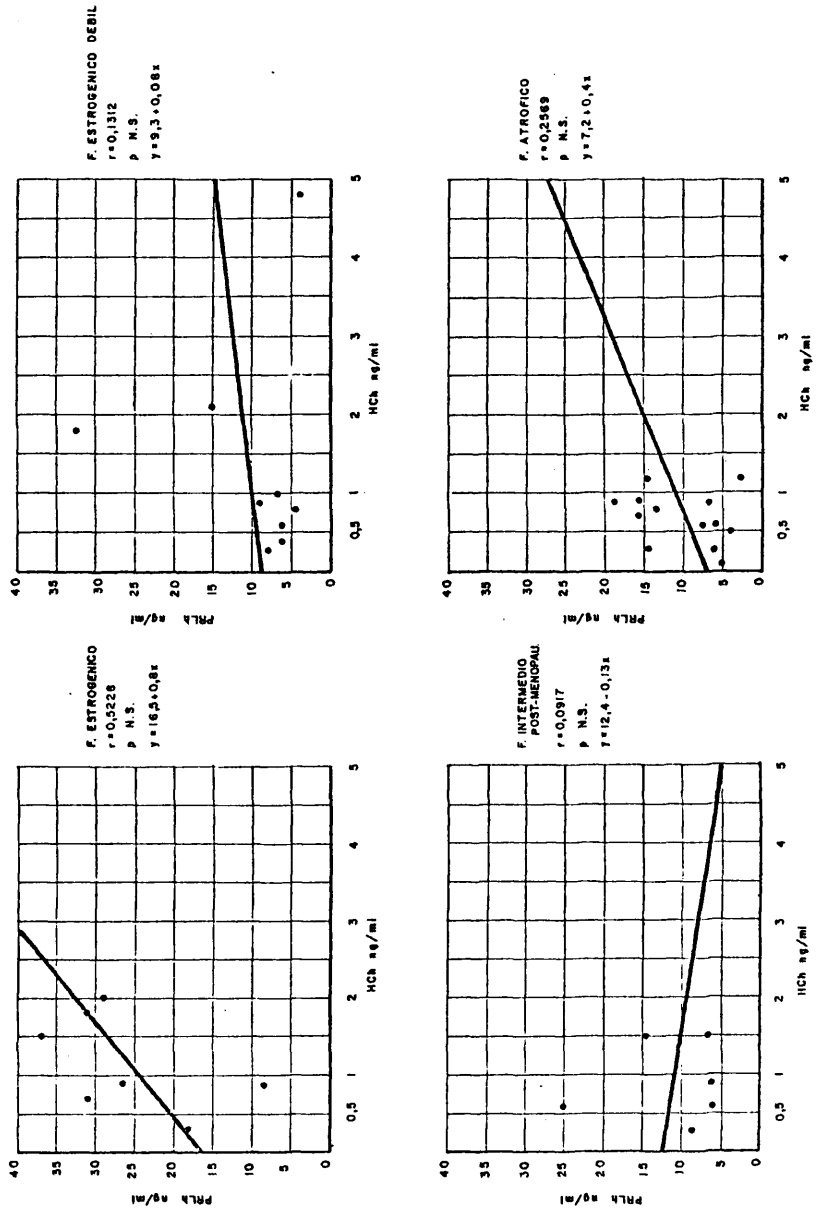
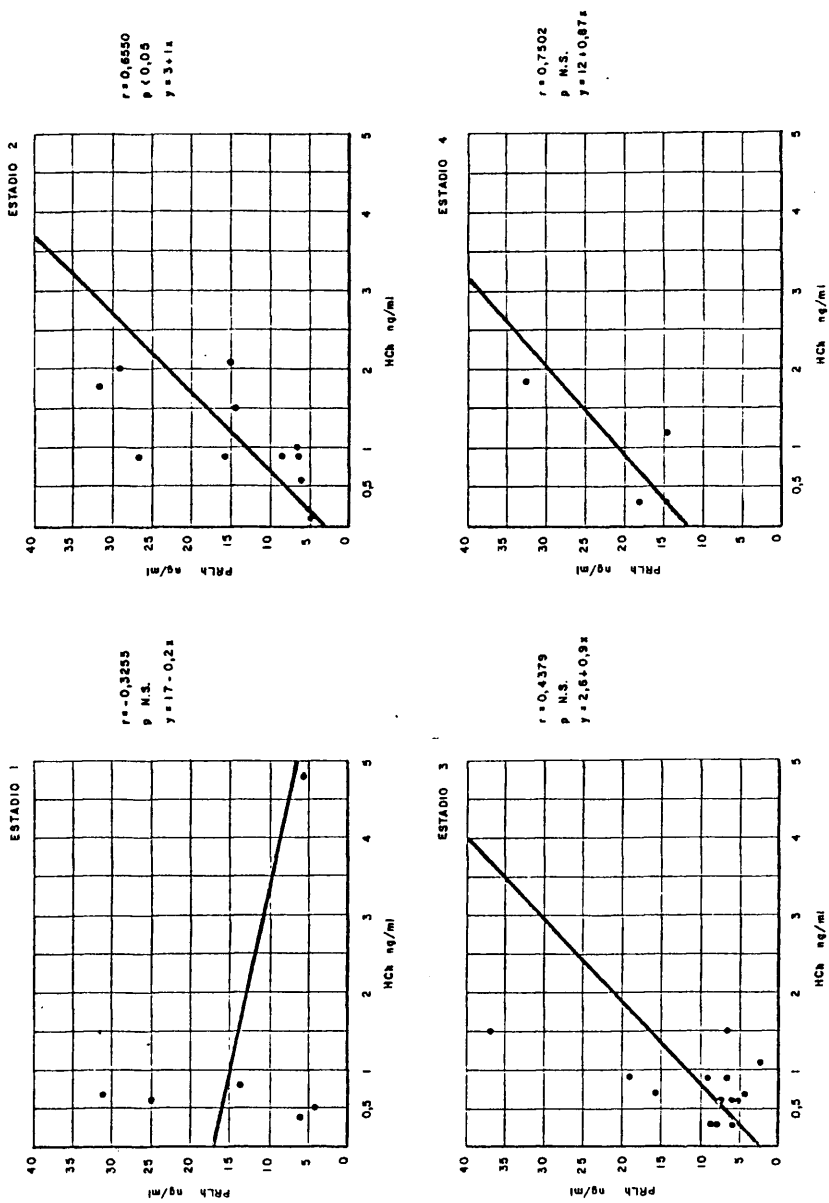


FIGURA 37

CORRELACION PRLH-HCh SERIE TUMORAL PREOPERATORIO SEGUN FROTIS VAGINAL



CORRELACION PRLH-HCh. SERIE TUMORAL. PREOPERATORIO SEGUN ESTADIO TUMORAL



14 C) Serie Tumoral. Basales postoperatorias

14 C-1) Valores globales

En valor global medio para PRLh tras la extirpación del tumor primitivo muestra un descenso a 6.29 ± 4.24 ng/ml, con un rango de 21.9 ng/ml y una distribución normal (Figura 39).

La HCh muestra un valor medio de 0.77 ± 0.48 ng/ml, con un rango de 2.1 ng/ml y distribución no normal (Figura 40).

Cuando se comparan los valores postoperatorios con los preoperatorios y los controles (Figura 39) se aprecia un descenso de la PRLh estadísticamente significativo respecto al primero (z 1.982; $p < 0.05$), que se aproxima al valor medio de la serie control (z 1.427; p NS), aunque el rango permanece discretamente más elevado (14.6 ng/ml en la serie control frente a 21.9 ng/ml en la serie postoperatoria). Por otra parte, se recupera el modelo de distribución normal de la serie perdido durante el preoperatorio.

La HCh presenta también una disminución del valor medio postoperatorio no significativo estadísticamente con el valor preoperatorio (z 0.485; p NS) pero sí con el valor global de la serie control (z 2.312; $p < 0.02$) a pesar de las pequeñas diferencias absolutas y de la semejanza de los rangos (Figura 40). Ello puede ser debido a la pérdida de la distribución normal durante el postoperatorio con un ordenamiento de los valores individuales distinto para ambos grupos como consecuencia de la diferencia de elementos entre ambas series.

14 C-2) Valores postoperatorios con y sin ciclo menstrual

El estudio postoperatorio de estos grupos se ve dificultado por la introducción de técnicas endocrinas ablativas que hacen que la mayor parte de las pacientes se incluyan en los grupos de pacientes sin ciclo menstrual y postmenopáusicas. A pesar de ello, las

FIGURA 39

PRLH SERIE TUMORAL POSTOPERATORIO. VALORES GLOBALES

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO	DISTRIBUCION
							N
CONTROL	36	16.8	2.2	7.06	3.72	14.6	
PREOPERATORIO	44	37.1	2.1	12.19	9.19	35	NN
POSTOPERATORIO	76	23.1	1.2	6.29	4.24	21.9	N

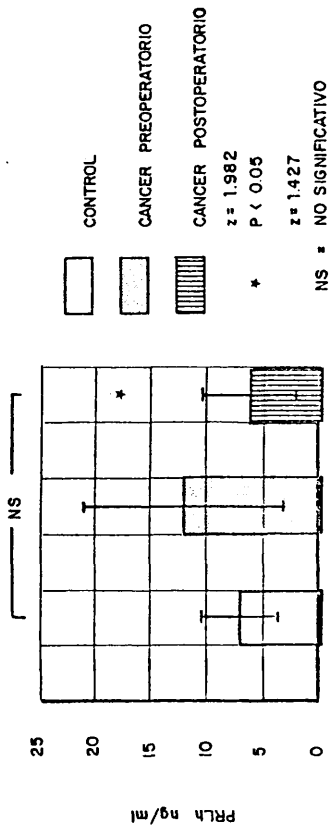
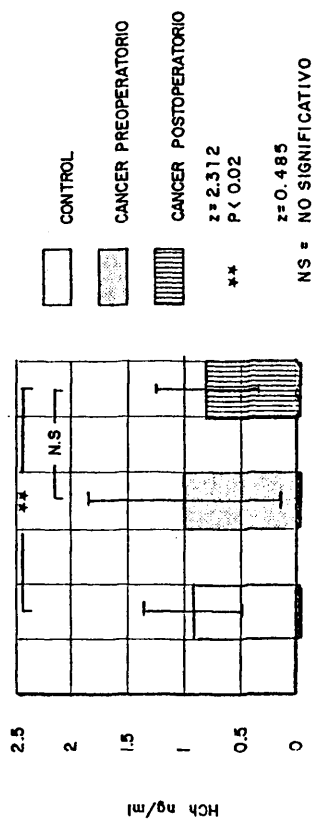


FIGURA 40

HCh SERIE TUMORAL POSTOPERATORIO . VALORES GLOBALES

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO	DISTRIBUCION
CONTROL	36	2.3	0.1	0.88	0.47	2.2	N
PREOPERATORIO	35	4.8	0.1	1	0.83	4.7	N
POSTOPERATORIO	69	2.3	0.2	0.77	0.48	2.1	NN



ocho pacientes con ciclo menstrual de esta serie han mostrado un valor medio para PRLh de 6 ± 4.21 ng/ml con un rango de 13.6 ng/ml y distribución normal, frente a los 6.33 ± 4.27 ng/ml, rango de 21,9 ng/ml y distribución normal, del amplio grupo de pacientes sin ciclo menstrual (Tabla XXXIX). Además de que ambos valores no son estadísticamente significativos (t 0.209; p NS) destaca el rango relativamente alto del grupo sin ciclo menstrual lo que sugiere la persistencia de valores individuales elevados (Tabla XXXIX).

Para la hormona de crecimiento, con medias semejantes (0.77 ± 0.26 ng/ml para las enfermas con ciclo menstrual y 0.77 ± 0.5 ng/ml para las enfermas sin ciclo menstrual), se puede hacer un razonamiento similar al de PRLh, aunque en este caso las enfermas sin ciclo pierden la distribución normal (Tabla XXXIX).

Cuando se comparan los respectivos valores de PRLh y HCh con las series preoperatoria y control se aprecian ciertas diferencias de comportamiento para cada hormona. La PRLh, para enfermas con ciclo menstrual, desciende significativamente respecto al valor preoperatorio (z 2.818; $p < 0.01$) igualándose al valor medio del grupo control (t 1.786; p NS) incluso en el rango de la serie (Tabla XL; Figura 41). En las enfermas sin ciclo menstrual se observa también un claro descenso respecto al valor preoperatorio (t 2.853; $p < 0.01$) quedando discretamente por encima del valor control, aunque sin significación estadística (t 1.25; p NS) y con rangos claramente más elevados (Tabla XL; Figura 41). Puede pues mantenerse la idea de que a pesar del descenso medio persisten en este grupo, al contrario que en el grupo con función menstrual, pacientes con tendencias a mostrar concentraciones plasmáticas elevadas de PRLh. Además, del estudio de varianza puede suponerse una procedencia estadística distinta respecto a la serie control (F 3.414; $p > 0.05$) (Tabla XL).

La HCh muestra un descenso muy discreto en el grupo con ciclos menstruales, siendo tan solo característico la disminución de la desviación estandar y rango a valores incluso más bajos que los

TABLA XXXIX

SERIE TUMORAL. POSTOPERATORIO CON Y SIN CICLO MENSTRUAL

	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Min.</u>	<u>M</u>	<u>DS</u>	<u>R</u>	<u>DIS.</u>
PRLh con ciclo menstrual	8	15,4	1,8	6	4,21	13,6	DN
PRLh sin ciclo menstrual	68	23,1	1,2	6,33	4,27	21,9	DN
HCh con ciclo menstrual	7	1,1	0,3	0,77	0,26	0,8	DN
HCh sin ciclo menstrual	62	2,3	0,2	0,77	0,50	2,1	DNN

414

ESTUDIO ESTADISTICO

	<u>F</u>	<u>P</u>	<u>t</u>	<u>P</u>
PRLh con ciclo-sin ciclo	1,028	<0,05	0,209	N.S.
HCh con ciclo-sin ciclo	U=242	Z =	0,112	p N.S.

TABLA XL

ESTUDIO ESTADISTICO

a) SERIE CONTROL - SERIE TUMORAL POSTOPERATORIO

	F	P	t	P
PRLh con ciclo menstrual	1,234	<0,05	1,786	N.S.
PRLh sin ciclo menstrual	3,414	>0,05	1,25	N.S.
HCh con ciclo menstrual	0,268	<0,05	2,024	N.S.
HCh sin ciclo menstrual	U = 544	Z = 0,163	p = N.S.	

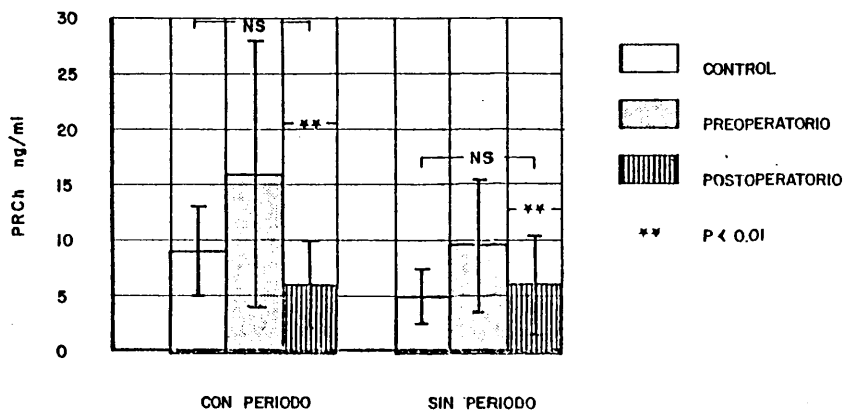
b) SERIE TUMORAL PREOPERATORIO - SERIE TUMORAL POSTOPERATORIO

	F	P	t	P
PRLh con ciclo menstrual	U = 18	Z = 2,818	p <0,01	
PRLh sin ciclo menstrual	0,529	<0,05	2,853	<0,01
HCh con ciclo menstrual	0,054	<0,05	1,209	N.S.
HCh sin ciclo menstrual	U = 331	Z = 0,422	p	N.S.

FIGURA 41

PRLh CON Y SIN PERIODO. SERIE TUMORAL POSTOPERATORIO

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
CON PERIODO						
CONTROL	18	16.8	5	9.1	3.79	11.8
PREOPERATORIO	18	37.1	4.5	16.13	11.62	32.6
POSTOPERATORIO	8	15.4	1.8	6	4.21	13.6
SIN PERIODO						
CONTROL	18	9	2.2	5.02	2.31	6.8
PREOPERATORIO	26	25	2.1	9.46	5.87	22.9
POSTOPERATORIO	68	25.1	1.2	6.33	4.27	21.9



de la población control (Tabla XL; Figura 42). Tampoco se observan diferencias en el grupo sin ciclo menstrual, aunque el rango aumenta en 0.8 ng/ml respecto al valor control (Tabla XL; Figura 42). Puede, pues, resumirse que la ablación del tumor, o el tratamiento efectivo de la enfermedad metastásica no modifica sustancialmente los niveles de HCh.

14 C-3) Valores postoperatorios respecto al estadio sexual

Aunque la mayor parte de la serie se encuentra en el grupo postmenopáusico se ha podido estudiar un mínimo grupo estadístico de 7 fértiles y 7 climatéricas, cuyos valores se representan en la Tabla XLI.

Para PRLh destaca la presencia de unos valores medios prácticamente iguales para los tres grupos (6.42 ± 4.35 ng/ml para fértiles, 6.5 ± 3.66 ng/ml para climatéricas y 5.99 ± 4.28 ng/ml para postmenopáusicas) sin significación estadística al compararlos entre sí, y manteniendo todos ellos una distribución según la ley normal. Tan solo sigue destacando un rango más elevado para el grupo postmenopáusico. Tampoco se observan diferencias significativas en el estudio de varianza (Tabla XLI).

La HCh sigue un comportamiento similar al referido en el apartado anterior, con un marcado agrupamiento respecto a la media de los valores para el grupo fértil (0.85 ± 0.18 ng/ml y rango de 0.5 ng/ml) y una mayor dispersión para las postmenopáusicas (0.77 ± 0.52 ng/ml y rango de 2.1 ng/ml), que pierden la distribución normal (Tabla XLI).

Comparados respecto a los valores postoperatorios y controles (Tabla XLII; Figura 43) la PRLh muestra un marcado descenso, mínimamente significativo respecto al valor preoperatorio para el grupo fértil (t 2.311; $p < 0.05$) y climatérico (t 2.306; $p < 0.05$), siendo menor y quedándose en el límite de la significación para

FIGURA 42

HCh CON Y SIN PERIODO. SERIE TUMORAL POSTOPERATORIO

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
CON PERIODO						
CONTROL	18	2.3	0.5	1.08	0.5	1.8
PREOPERATORIO	16	4.8	0.3	1.29	1.11	4.5
POSTOPERATORIO	7	1.1	0.3	0.77	0.26	0.8
SIN PERIODO						
CONTROL	18	1.5	0.1	0.68	0.36	1.4
PREOPERATORIO	19	1.5	0.1	0.75	0.39	1.4
POSTOPERATORIO	62	2.3	0.2	0.77	0.50	2.1

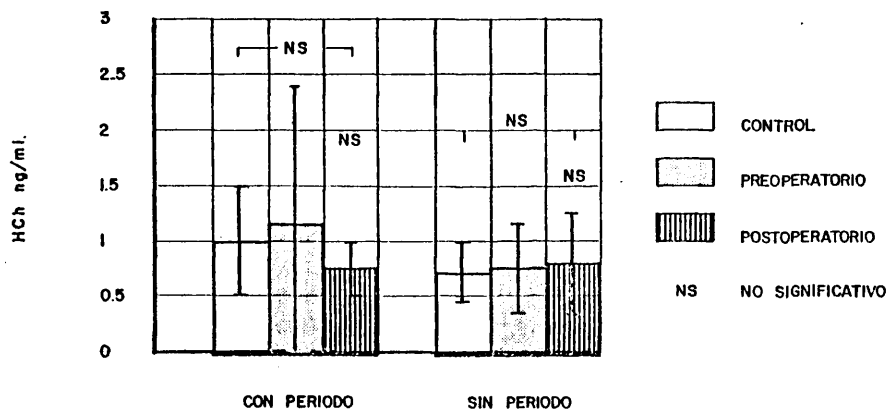


TABLA XLI

SERIE TUMORAL. POSTOPERATORIO SEGUN ESTADIO SEXUAL

	N	Máx.	Min.	M	DS	R	DIS
3a) PRLh Fértiles	7	15,4	1,8	6,42	4,35	13,6	DN
3b) PRLh Climatéricas	7	12	2,3	6,5	3,66	9,7	DN
3c) PRLh Postmenopáusicas	55	23,1	1,2	5,99	4,28	21,9	DN
3d) HCh Fértiles	6	1,1	0,6	0,85	0,18	0,5	DN
3e) HCh Climatéricas	7	1,4	0,2	0,64	0,40	1,2	DN
3f) HCh Postmenopáusicas	55	2,3	0,2	0,77	0,52	2,1	DNN

419

ESTUDIO ESTADISTICO

	F	P	t	P
PRLh fert-clim.	1,412	<0,05	0,037	N.S.
PRLh fert-postm.	1,043	<0,05	0,247	N.S.
PRLh clim-postm.	1,367	<0,05	0,341	N.S.
HCh fert-clim.	0,5	<0,05	0,264	N.S.
HCh fert-postm.	U = 109	Z =	1,369	N.S.
HCh clim-postm.	U = 165	Z =	0,618	N.S.

TABLA XLII

ESTUDIO ESTADISTICO

SERIE TUMORAL PREOPERATORIO - SERIE TUMORAL POSTOPERATORIO

	F	P	t	P
PRLh Fértiles	7,471	>0,01	2,311	<0,05
PRLh Climatéricas	4,345	>0,05	2,306	<0,05
PRLh Postmenopáusicas	0,854	<0,05	1,938	<0,1>0,05
HCh Fértiles	40,817	>0,01	1,107	N.S.
HCh Climatéricas	0,952	<0,05	0,926	N.S.
HCh Postmenopáusicas	U = 435	Z = 0,69		p N.S.

ESTUDIO ESTADISTICO

SERIE CONTROL - SERIE TUMORAL POSTOPERATORIO

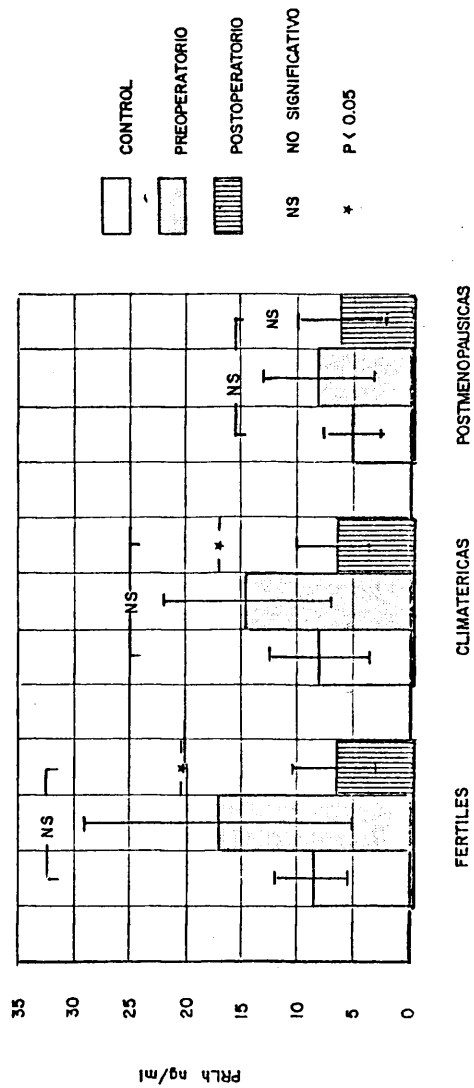
	F	P	t	P
PRLh Fértiles	1,405	<0,05	1,063	N.S.
PRLh Climatéricas	1,518	<0,05	0,847	N.S.
PRLh Postmenopáusicas	3,003	>0,05	0,665	N.S.
HCh Fértiles	10,743	>0,01	1,053	N.S.
HCh Climatéricas	1,306	<0,05	1,367	N.S.
HCh Postmenopáusicas	U = 406,5	Z = 0,087		p N.S.

FIGURA 43

PRLh SEGUN ESTADO SEXUAL . SERIE TUMORAL POSTOPERATORIO

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
FERTILES						
CONTROL	12	16.7	5	8.5	3.67	11.7
PREOPERATORIO	16	37.1	4.5	17.22	11.99	32.6
POSTOPERATORIO	7	15.4	1.8	6.42	4.35	13.6
CLIMATERICAS						
CONTROL	9	16.8	2.9	8.23	4.51	13.9
PREOPERATORIO	5	25	6.2	14.62	7.63	18.8
POSTOPERATORIO	7	12	2.3	6.5	3.66	9.7
POSTMENOPAUSICAS						
CONTROL	15	9	2.2	5.22	2.47	6.8
PREOPERATORIO	23	16.8	2.1	8.16	4.61	14.7
POSTOPERATORIO	55	23.1	1.2	5.99	4.28	21.9

421



las postmenopáusicas (t 1.938; $p < 0.1 > 0.05$) quienes siguen presentando el rango más elevado (21.9 ng/ml). Respecto al grupo control las medias de los tres grupos se igualan, no apreciándose ningún grado de significación estadística. Es también importante destacar que las fértiles y climatéricas muestran una clara diferencia en el estudio de varianza respecto al valor preoperatorio (F 7.471; $p > 0.01$ para fértiles y F 4.345; $p > 0.05$ para climatéricas) mientras que las postmenopáusicas se mantienen con valores no significativos (F 0.854; $p < 0.05$); todo ello sugiere que las dos primeras series proceden de poblaciones distintas de la tercera. Lo contrario ocurrirá cuando se comparan las varianzas respecto al grupo control; fértiles y climatéricas proceden de una población teórica semejante a la control (F 1.405; $p < 0.05$ para fértiles y F 1.518; $p < 0.05$ para climatéricas), mientras que postmenopáusicas proceden de una población estadísticamente diferente (F 3.003; $p > 0.05$) (Tabla XLII).

La hormona de crecimiento desciende discretamente, quedando su media y dispersión central incluida en la control y en la preoperatoria para el grupo fértil, y mostrando una mayor heterogeneidad los grupos climatéricos y postmenopáusicos, especialmente éste último. Ninguna de las medias muestran significación estadística, existiendo una alta heterogeneidad para el grupo fértil en cuanto al estudio de varianza (F 10.793; $p > 0.01$) (Tabla XLII; Figura 44).

14 C-4) Valores postoperatorios respecto al frotis vaginal

Dado que no se ha podido recoger un grupo mínimo de 5 elementos con frotis estrogénico postoperatorio ha sido necesario reagrupar las pacientes y controles con frotis estrogénico y estrogénico débil en un solo grupo, que disminuye la representatividad del primero pero que permite la comparación pre y postoperatoria. Los valores medios para PRLh y HCh se resumen en la Tabla XLIII.

Cuando se comparan los valores de la nueva serie formada para los grupos control, pre y postoperatorio se advierte para PRLh un claro incremento preoperatorio respecto al control ($17.21 \pm$

FIGURA 44

HCh SEGUN ESTADIO SEXUAL . SERIE TUMORAL POSTOPERATORIO

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
FERTILES						
CONTROL	12	2.3	0.5	1.11	0.59	1.8
PREOPERATORIO	14	4.8	0.3	1.38	1.15	4.5
POSTOPERATORIO	6	1.1	0.6	0.85	0.18	0.5
CLIMATERICAS						
CONTROL	9	1.5	0.3	0.9	0.35	1.2
PREOPERATORIO	5	1.5	0.4	0.86	0.41	1.1
POSTOPERATORIO	7	1.4	0.2	0.64	0.40	1.2
POSTMENOPAUSICAS						
CONTROL	15	1.5	0.1	0.68	0.35	1.4
PREOPERATORIO	16	1.5	0.1	0.71	0.38	1.4
POSTOPERATORIO	55	2.3	0.2	0.77	0.52	2.1

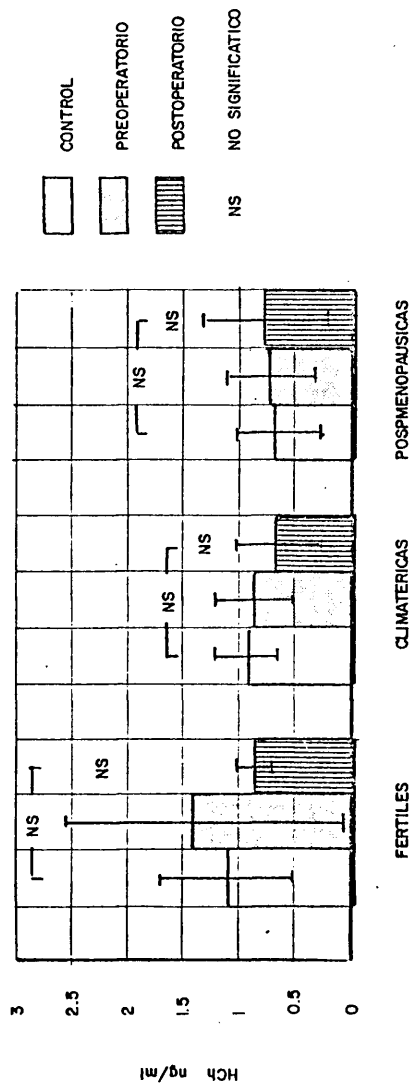


TABLA XLIII

SERIE TUMORAL Y CONTROL. REAGRUPAMIENTO DE LOS FROTIS VAGINALES

	N	Máx.	Min.	M	DS	R	DIS.
PRLh control global	18	16,8	5	9,10	3,79	11,8	DN
est.+ est. débil							
PRLh serie tumoral	16	37,1	4,5	17,21	11,9	32,6	DN
preoperatorio							
est.+est. débil							
PRLh serie tumoral	6	15,4	1,8	6,66	4,72	13,6	DN
postoperatorio							
est.+ est. débil							
PRLh F. intermedio	19	23,1	2,2	8,01	5,02	20,9	DN
PRLh F. atrófico	43	18	1,2	5,18	3,49	16,8	DN
HCh control global	18	2,3	0,5	1,08	0,5	1,8	DN
est.+ est. débil							
HCh serie tumoral	16	4,8	0,3	1,29	1,11	4,5	DN
preoperatorio							
est.+ est. débil							
HCh serie tumoral	6	1,1	0,6	0,85	0,18	0,5	DN
postoperatorio							
est.+ est. débil							
HCh F. intermedio	19	2,3	0,9	0,92	0,66	2,1	DNN
HCh F. atrófico	43	1,8	0,2	0,69	0,41	1,6	DNN

± 11.9 ng/ml para cáncer y 9.10 ± 3.79 ng/ml para control t 2.747; $p < 0.01$) (Tabla XLIV) con alta diferencia de varianzas (F 9.861; $p > 0.01$) (Tabla XLIV) y de rangos (32.6 ng/ml para cáncer y 11,8 ng/ml para controles) (Tabla XLIII), y un marcado descenso para el valor postoperatorio (6.66 ± 4.72 ng/ml t 2.087; $p < 0.05$) (Tablas XLIII y XLIV) con gran significación del estudio de varianza (F 6.357; $p > 0.01$) (Tabla XLIV) y diferencias de rango (32.6 ng/ml en preoperatorio y 13.6 ng/ml en postoperatorio) (Tabla XLIII). Comparados los valores postoperatorios y control se aprecia la no diferencia de sus medias (t 1.149; p NS) (Tabla XLIV), la homogeneidad de sus varianzas (F 1.551; $p < 0.05$) (Tabla XLIV) y la semejanza de sus rangos (Tabla XLIII). Es decir, la PRLh aumenta durante el preoperatorio y disminuye hacia valores semejantes a los controles durante el postoperatorio (Figura 45).

La HCh no muestra ninguna diferencia en los períodos estudiados (Tablas XLIII y XLIV; Figura 46), siendo tan solo característico la gran heterogeneidad de los elementos de la muestra como se deriva del estudio de varianza (F pre-postoperatoria 38.027; $p > 0.01$. F postoperatoria-control 7.761; $p > 0.01$. F preoperatoria-control 4.92 $p > 0.05$) (Tabla XLIV).

Cuando se comparan los valores de la serie con frotis estrogénico más estrogénico débil, intermedio y atrófico de la postmenopausia en el conjunto del grupo postoperatorio (Tabla XLV) se advierte tan solo una diferencia estadísticamente significativa entre los valores de PRLh del frotis intermedio y frotis atrófico (8.01 ± 5.02 ng/ml para frotis intermedio y 5.18 ± 3.49 ng/ml para frotis atrófico t 2.558; $p < 0.02$) (Tablas XLIII y XLV), lo que viene a confirmar la pérdida de potencia del agrupamiento de ambos tipos de frotis estrogénico en uno solo. La HCh no muestra ningún tipo de diferencia salvo la aparición de una distribución no normal en los grupos intermedio y atrófico de la postmenopausia sugestivo de la gran variabilidad de distribución de los elementos del muestreo (Tablas XLIII, XLIV y XLV).

TABLA XLIV
 ESTUDIO ESTADISTICO
 SERIES DE REAGRUPAMIENTO DE LOS FROTIS VAGINALES

	F	p	t	P
PRLh preoperatorio-postoperatorio	6,357	>0,01	2,087	<0,05
PRLh postoperatorio-control	1,551	<0,05	1,149	N.S.
PRLh preoperatorio-control	9,861	>0,01	2,747	<0,01
HCh preoperatorio-postoperatorio	38,027	>0,01	1,09	N.S.
HCh postoperatorio-control	7,716	>0,01	0,953	N.S.
HCh preoperatorio-control	4,92	>0,05	0,726	N.S.

PRLH SEGUN FROTIS VAGINAL. SERIE TUMORAL POSTOPERATORIO

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
FROTIS ESTROGENICO						
CONTROL	18	16.8	5	9.10	2.79	11.8
PREOPERATORIO	16	37.1	4.5	17.21	11.9	32.6
POSTOPERATORIO	6	15.4	1.8	6.66	4.72	13.6
FROTIS INTERMEDIO POSTMENOPAUSIA						
CONTROL	5	8.9	2.9	5.26	2.23	6
PREOPERATORIO	9	25	2.1	9.27	6.75	22.9
POSTOPERATORIO	19	23.1	2.2	8.01	5.02	20.9
FROTIS ATROFICO POSTMENOPAUSIA						
CONTROL	13	9	2.2	4.93	2.43	6.8
PREOPERATORIO	17	18.9	2.6	9.55	5.56	16.3
POSTOPERATORIO	43	18	1.2	5.18	3.49	16.8

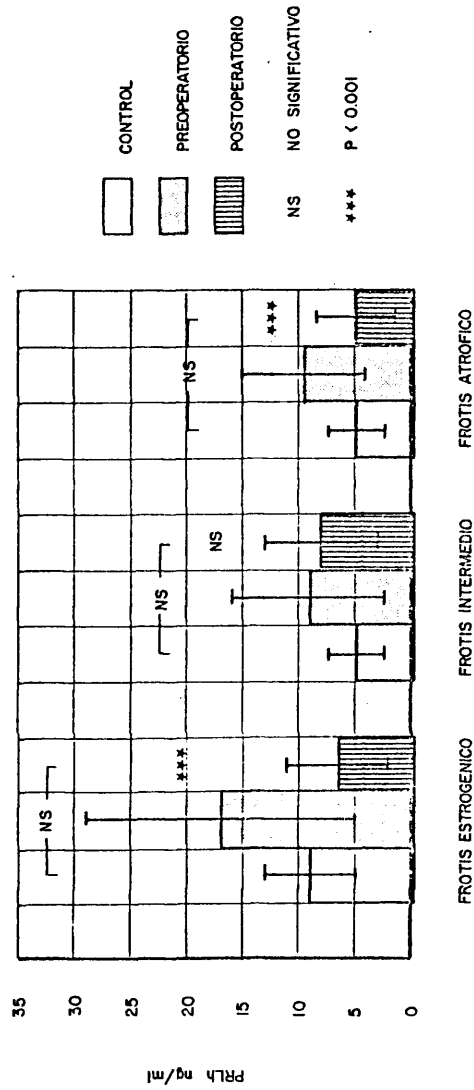
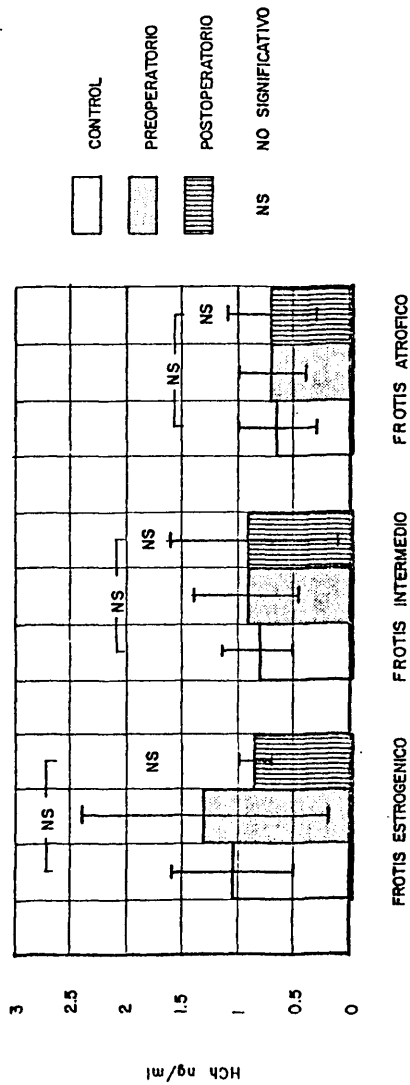


FIGURA 46

HCh SEGUN FROTIS VAGINAL . SERIE TUMORAL POSTOPERATORIO

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
FROTIS ESTROGENICO						
CONTROL	18	2.3	0.5	1.08	0.5	1.8
PREOPERATORIO	16	4.8	0.3	1.29	1.11	4.5
POSTOPERATORIO	6	1.1	0.6	0.55	0.18	0.5
FROTIS INTERMEDIO POSTMENOPAUSIA						
CONTROL	5	1.2	0.3	0.18	0.37	0.9
PREOPERATORIO	6	1.5	0.3	0.9	0.5	1.2
POSTOPERATORIO	19	2.3	0.9	0.92	0.66	2.1
FROTIS ATROFICO POSTMENOPAUSIA						
CONTROL	13	1.5	0.1	0.64	0.36	1.4
PREOPERATORIO	13	1.2	0.1	0.69	0.33	1.1
POSTOPERATORIO	43	1.8	0.2	0.69	0.41	1.6



CONTROL
 PREOPERATORIO
 POSTOPERATORIO
 NS NO SIGNIFICATIVO

TABLA XLV

ESTUDIO ESTADISTICO

SERIE TUMORAL. POSTOPERATORIO SEGUN FROTIS VAGINAL

	F	p	t	p
PRLh E+ED-intermedio	1,131	<0,05	0,601	N.S.
PRLh E+ED-atr6fico	1,818	<0,05	0,74	N.S.
PRLh intermedio-atr6fico	2,057	>0,05	2,558	<0,02
HCh E+ED-intermedio	U = 47	Z =	0,642	p N.S.
HCh E+ED-atr6fico	U = 72,5	Z =	1,740	p N.S.
HCh intermedio-atr6fico	U = 341,5	Z =	1,034	p N.S.

Cuando se comparan los valores de cada frotis vaginal en los estadios pre y postoperatorio frente a los controles (Tabla XLVI; Figura 45) se observa un marcado descenso de los valores postoperatorios de PRLh respecto al obtenido en el preoperatorio, significativo estadísticamente para la comparación de medias y varianzas en los grupos estrogénico y atrófico (t 4.535; $p < 0.001$ y t 3.657; $p < 0.001$). Para varianzas (F 6.356; $p > 0.01$ y F 2.538; $p > 0.05$ respectivamente) no modificándose estadísticamente el grupo con frotis intermedio en el que el descenso postoperatorio es mínimo (t 0.449; p NS). Comparados respecto al valor control se observa sistemáticamente la semejanza de los valores postoperatorio (t 1.182; p NS para frotis estrogénico, t 1.805; p NS para frotis intermedio de la postmenopausia, t 0.291; p NS para frotis atrófico de la postmenopausia) destacando únicamente la positividad del estudio de varianzas para el frotis intermedio (F 5.070; $p > 0.05$).

La HCh, nuevamente, no muestran ninguna diferencia significativa, destacando tan solo la gran tendencia al reagrupamiento de los valores para el grupo con frotis estrogénico, y la tendencia a la dispersión de los grupos con frotis intermedio y atrófico en la postmenopausia justificado por la no normalidad de sus respectivas distribuciones (Tabla XLIII, XLVI; Figura 46).

En resumen, la PRLh desciende significativamente durante el período postoperatorio en los grupos más representativos hasta hacerse igual que los valores medios controles, continuando el grupo con frotis intermedio de la postmenopausia con modificaciones poco constantes que no permite obtener para él conclusiones válidas. Por el contrario, la HCh no muestra ningún tipo de variación significativa.

14 C-5) Correlación postoperatoria entre PRLh y HCh

En la Tabla XLVII se resumen los valores de la r de Pearson y el grado de significación estadística, y en las Figuras 47, 48, 49 y 50 la representación gráfica de la recta de regresión.

ESTUDIO ESTADISTICO

SERIE TUMORAL PREOPERATORIO - SERIE TUMORAL POSTOPERATORIO

	F	P	t	P
PRLh F. E+ED/E	6,356	>0,01	4,535	<0,001
PRLh F. E+ED/ED	0,346	<0,05	1,048	N.S.
PRLh F. intermedio	1,808	<0,05	0,499	N.S.
PRLh F. atrófico	2,538	>0,05	3,657	<0,001
HCh F. E+ED/E	38,027	>0,01	1,145	N.S.
HCh F. E+ED/ED	0,016	<0,05	0,941	N.S.
HCh F. intermedio	U = 53	Z =	0,238	p N.S.
HCh F. atrófico	U = 255	Z =	0,480	p N.S.

ESTUDIO ESTADISTICO

SERIE CONTROL - SERIE TUMORAL POSTOPERATORIO

	F	P	t	P
PRLh F. E+ED/E	1,627	<0,05	1,182	N.S.
PRLh F. intermedio	5,07	>0,05	1,805	N.S.
PRLh F. atrófico	2,064	<0,05	0,291	N.S.
HCh F. E+ED	4,92	>0,05	0,726	N.S.
HCh F. intermedio	U = 45	Z =	0,179	p N.S.
HCh F. atrófico	U = 276	Z =	0,69	p N.S.

TABLA XLVII
 SERIE TUMORAL. POSTOPERATORIO. CORRELACION PRLh-HCh.

	<u>r</u>	<u>P</u>	<u>Y = a + bx</u>
1) - Serie global	0,1390	N.S.	5,3+0,2 x
2) - Con ciclo menstrual	0,4843	N.S.	-3,7+1,2 x
- Sin ciclo menstrual	0,1600	N.S.	5 +0,23x
3) - Fértiles	0,4843	N.S.	-3,7+1,2 x
- Climatéricas	0,5483	N.S.	-3,5+2,2 x
- Postmenopáusicas	0,056	N.S.	5,9+0,04x
4) - F. E+ED	1,4727	N.S.	-3,2+1,2 x
- F. intermedio	0,0616	N.S.	7,6+0,04x
- F. atrófico	0,1343	N.S.	4,9+0,24x

FIGURA 47

CORRELACION PRLh-HCh SERIE GLOBAL POSTOPERATORIA

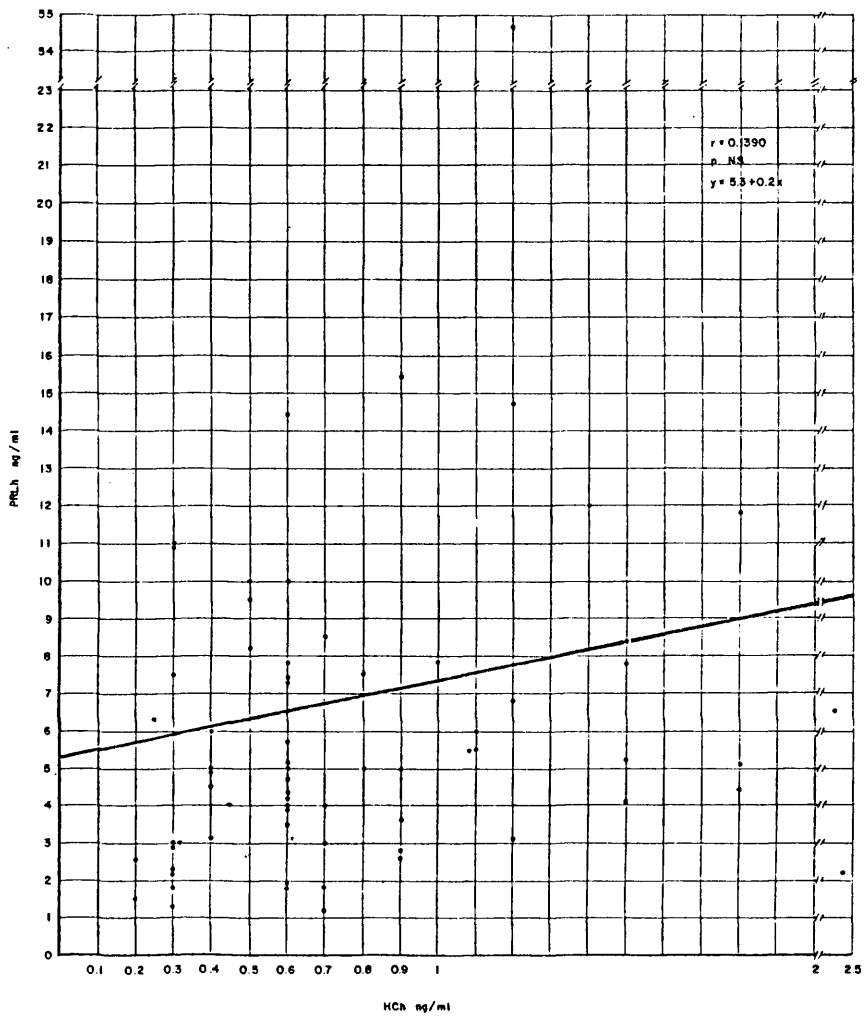
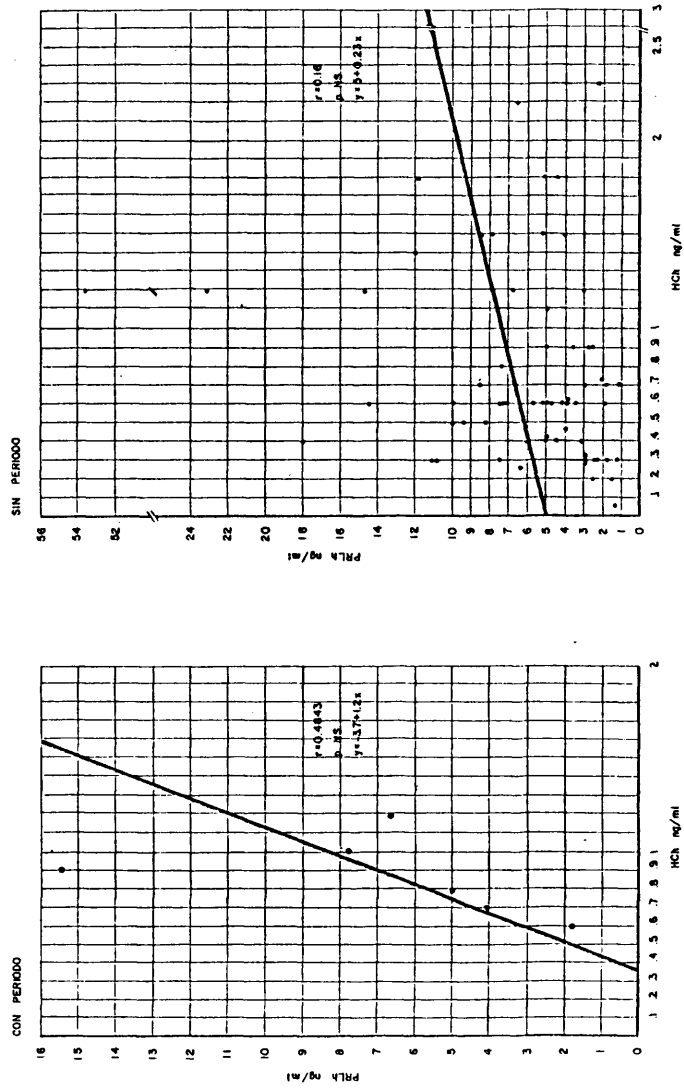


FIGURA 48
 CORRELACION PRLH-HGH RESPECTO A CICLO MENSTRUAL. SERIE TUMORAL POSTOPERATORIO



CORRELACION PRLN-HCH SEGUN ESTADO SEXUAL SERIE TUMORAL POSTOPERATORIO

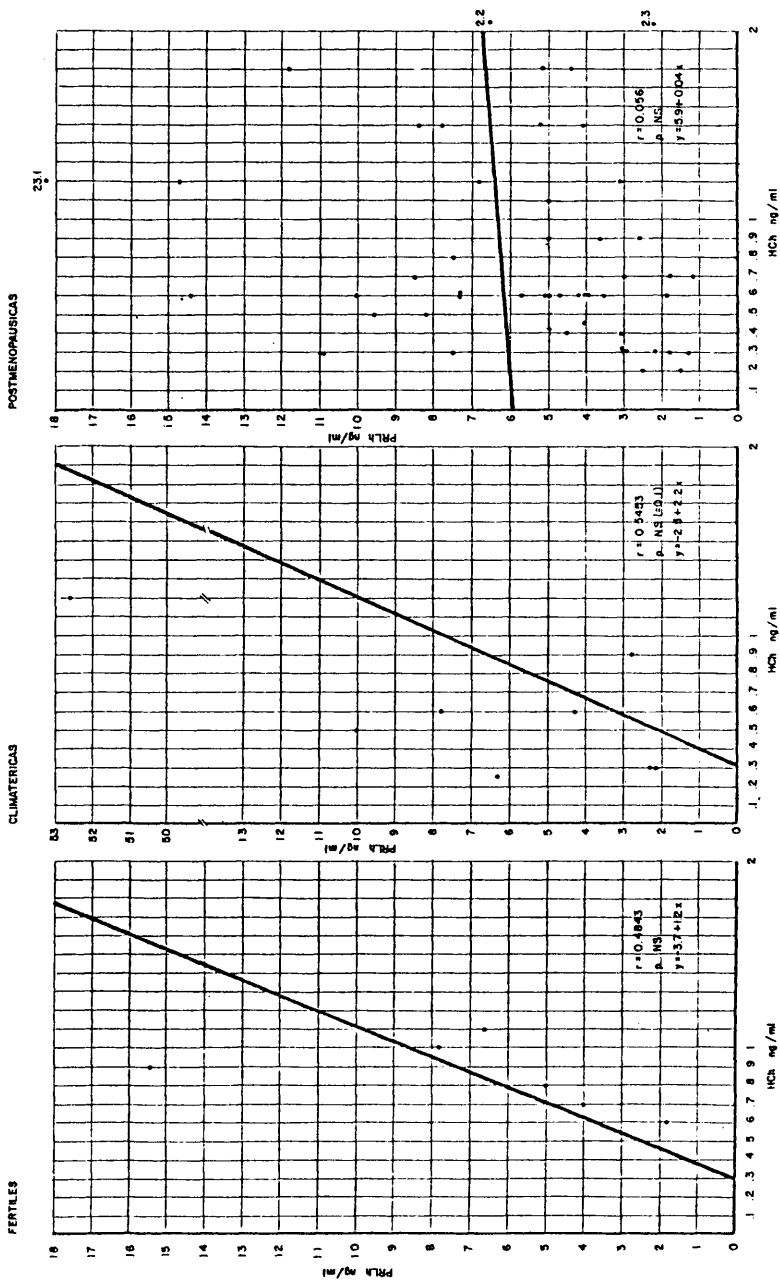
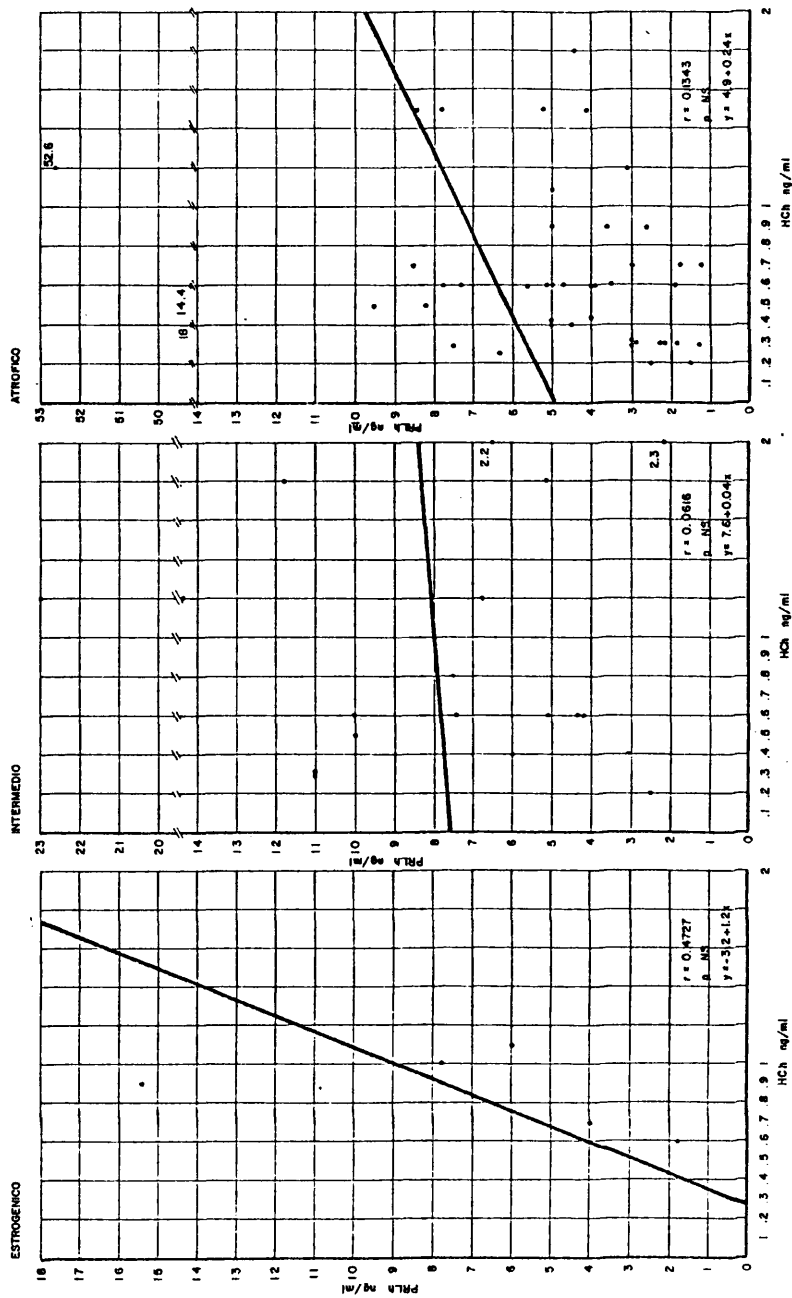


FIGURA 50

CORRELACION PRLH-HCh SEGUN FROTIS VAGINAL. SERIE TUMORIAL POSTOPERATORIO



Como puede observarse no existe ningún tipo de correlación entre los valores de ambas hormonas en los ordenamientos estudiados.

14 C-6) Estudio pre y postoperatorio para datos apareados

La interpretación de los datos que comprende esta parte del trabajo reviste una especial importancia dado que reflejan las modificaciones de PRLh y HCh circulante en los mismos elementos del muestreo, que actuando como controles de sí mismos excluyen el error introducido por las variaciones individuales de otra serie teóricamente control.

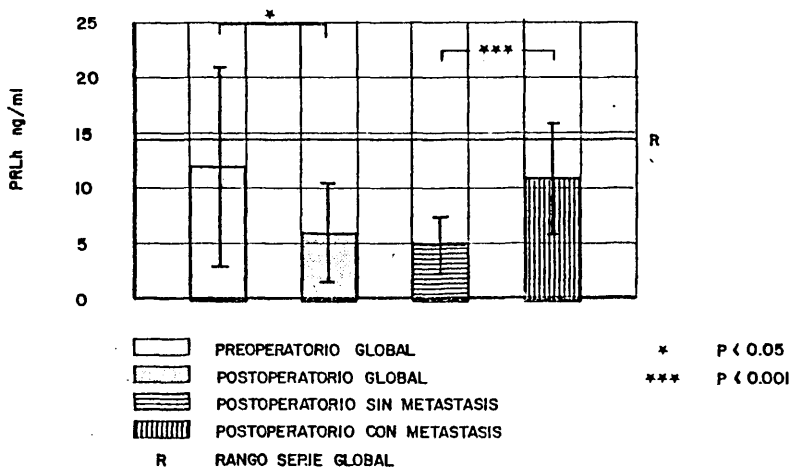
Para PRLh se observa que, cuando se representan juntos los valores de las series globales que hemos considerado hasta ahora, la supresión de la masa tumoral primitiva condiciona un descenso de los niveles de hormona circulante (z 1.982; $p < 0.05$) que se mantiene estable hasta la reaparición del cuadro de diseminación metastásica (t 5.747; $p < 0.001$), como queda representado en la Figura 51.

Cuando se realiza el mismo planteamiento respecto a la subdivisión teórica de presencia o ausencia de función menstrual se aprecia un comportamiento similar pero con valores medios de PRLh diferentes (Figura 52; Tabla XLVIII). Para el grupo con ciclo menstrual los valores medios preoperatorios son más altos (17.55 ± 9.64 ng/ml) que en el grupo sin ciclo menstrual (10.04 ± 6.33 ng/ml) diferencia estadísticamente significativa (t 3.833; $p < 0.001$), aunque sus rangos son prácticamente iguales (26 y 23 ng/ml respectivamente). Durante el período postoperatorio sin metastasis los valores descienden a un nivel similar, sin significación estadística (7.01 ± 3 ng/ml para el grupo con ciclo menstrual y 5.61 ± 2.78 ng/ml para el grupo sin ciclo menstrual. t 0.6097; p NS), presentando un rango superior las primeras que las segundas (14.9 y 8 ng/ml respectivamente). Durante el período metastásico aumentan nuevamente los valores medios de cada grupo a un nivel muy similar (con ciclo menstrual: 19.85 ± 10.72 ng/ml, sin ciclo menstrual 16.79 ± 11.5 ng/ml. t 0.8767; p NS), con

FIGURA 51

COMPARACION SERIES GLOBALES EN CADA GRUPO ESTUDIADO

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
CONTROL	36	16.8	2.2	7.06	3.72	14.6
CANCER PREOPERATORIO	44	37.1	2.1	12.19	9.19	35
CANCER POSTOPERATORIO	76	23.1	1.2	6.29	4.24	21.9
SIN METASTASIS	54	15.4	1.2	4.87	2.83	14.2
CON METASTASIS	14	23.1	5	10.83	5.3	18.1



ESTUDIO ESTADISTICO

PREOP. GL - POSTOP. GL. V = 1.522,5 Z = 1,982 P < 0.05

POSTOP. SIN MET. - POSTOP. CON MET

F = 3,511 P < 0.05 T = 5,747 P < 0.001

FIGURA 52

COMPARACION PRE - POSTOPERATORIO PARA DATOS APAREADOS

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
PREOPERATORIO						
CON PERIODO	18	32.6	6.56	17.55	9.64	26
SIN PERIODO	25	26	3	10.04	6.33	23
POSTOP. SIN METASTASIS						
CON PERIODO	18	17.9	3	7.01	3	14.9
SIN PERIODO	25	11	3	5.61	2.78	8
POSTOP. CON METASTASIS						
CON PERIODO	5	37.4	12	19.85	10.72	25.4
SIN PERIODO	12	42	6	16.79	11.5	36

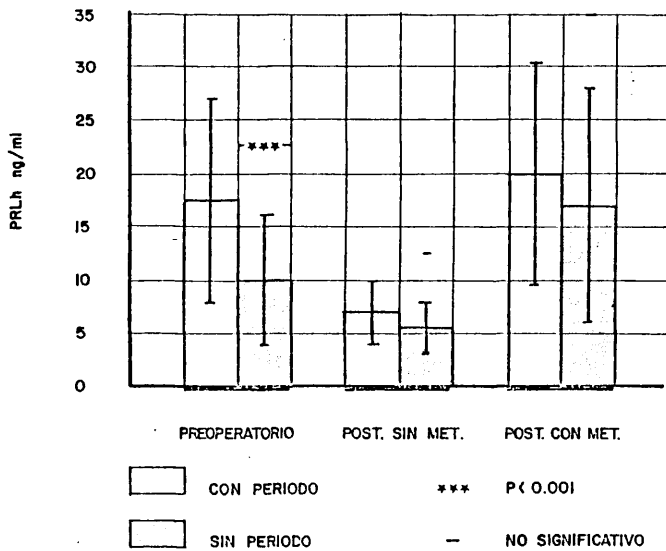


TABLA XLVIII

ESTUDIO ESTADISTICO

COMPARACION PRE-POSTOPERATORIA CON Y SIN METASTASIS RESPECTO A LA
PRESENCIA DE CICLO MENSTRUAL

	<u>F</u>	<u>P</u>	<u>T</u>	<u>P</u>
Preoperatorio con ciclo menst.				
Preoperatorio sin ciclo menst.	2,3167	>0,05	3,8338	<0,001
Postop.sin met.con ciclo menst.				
Postop.sin met.sin ciclo menst.	1,168	<0,05	0,6097	NS
Postop.con met.con ciclo menst.				
Postop.con met.sin ciclo menst.	1,08	<0,05	0,8767	NS

desviaciones estandar relativamente altas y con rangos ahora superiores para el grupo de pacientes sin ciclo menstrual (25.4 y 36 ng/ml respectivamente). En la Figura 53 se representan las modificaciones individuales de cada enferma estudiada, y la significación de los valores apareados para cada período.

El porcentaje de pacientes en cada grupo que puede considerarse que presentan cifras elevadas de PRLh se ha valorado respecto a $M \pm DS$ de la serie control (Tabla XLIX), El 60% de las enfermas con ciclo menstrual presentan cifras superiores al límite máximo establecido, mientras que para el grupo control tan solo el 16.6% sobrepasan este límite (χ^2 7.65; $p < 0.025$). Durante el período postoperatorio sin metastasis solo el 6% de las enfermas del grupo tumoral mantienen cifras por encima del límite, mientras que el 94% se han situado en el intervalo de normalidad, lo que hace que no exista diferencia estadísticamente significativa de estos porcentajes respecto a la población control. Para las enfermas sin ciclo menstrual el 61.3% de las pacientes con tumor sobrepasan el límite normal frente a un 22.2% de los controles (χ^2 17.62; $p < 0.001$); durante el período postoperatorio sin metástasis el 58.6% de las pacientes de este grupo se sitúan en el límite de normalidad frente a un 67.7% en los controles, y aunque no existe diferencia estadísticamente significativa es de destacar que el 41.4% se mantiene con cifras elevadas. De hecho, en la Figura 53 puede apreciarse como alguno de los valores individuales tienden a situarse por encima del límite establecido.

En la Figura 54 se representa el perfil evolutivo de 6 enfermas con ciclo menstrual y 12 sin él, que expresa una modificación de los niveles de PRLh semejantes a los obtenidos en los estudios globales.

En la Figura 55 se resume el estudio de correlación entre las concentraciones pre y postoperatorias de PRLh. Como puede observarse es difícil establecer una predicción del valor postoperatorio en base al preoperatorio, Para las enfermas con ciclo menstrual se

FIGURA 53

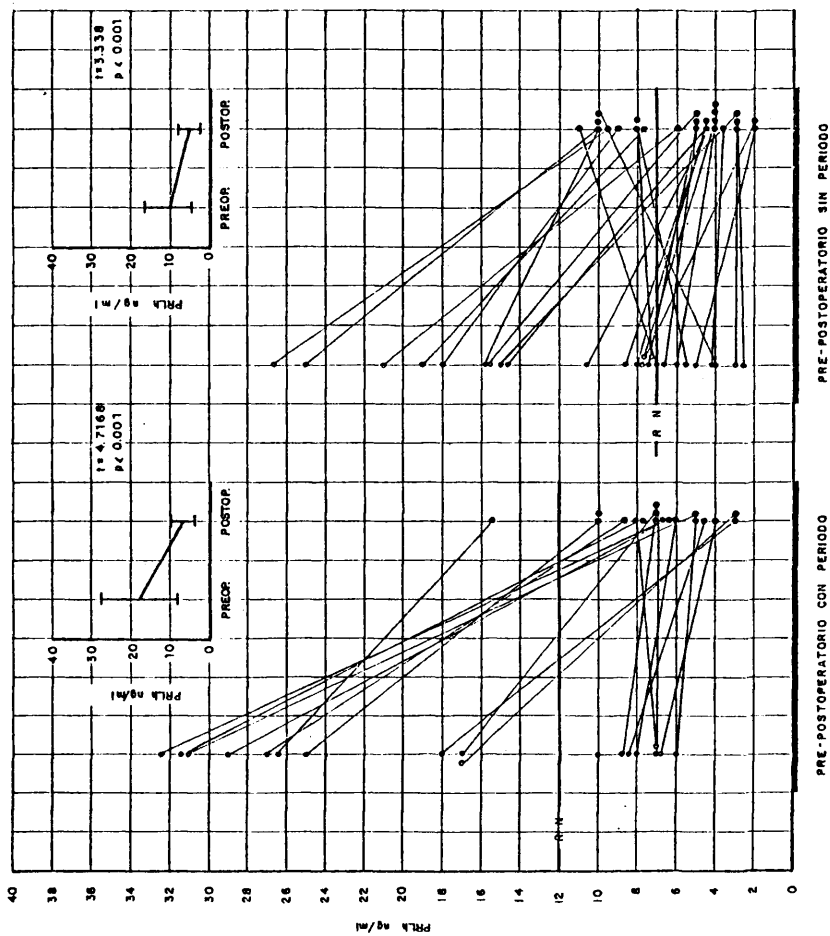


TABLA XLIX

PREOPERATORIO

A) Con ciclo menstrual

	<u>Normales</u>	<u>Elevados</u>	<u>N</u>
Control	15 (83,3%)	3 (16,6%)	18
Cáncer	8 (40%)	12 (60%)	20

$$\chi^2 = 7,65 \quad p < 0,025$$

B) Sin ciclo menstrual

	<u>Normales</u>	<u>Elevados</u>	<u>N</u>
Control	14 (77,7%)	4 (22,2%)	18
Cáncer	12 (38,7%)	19 (61,3%)	31

$$\chi^2 = 17,62 \quad p < 0,001$$

POSTOPERATORIO SIN METASTASIS

A) Con ciclo menstrual

	<u>Normales</u>	<u>Elevados</u>	<u>N</u>
Control	15 (83,3%)	3 (16,6%)	18
Cáncer	17 (94%)	1 (6%)	18

Por no poder realizarse χ^2 se hace estudio de proporciones

Normales Control-Cáncer $Z = 1,1$ $p = N.S.$

Elevados Control-Cáncer $Z = 1$ $p = N.S.$

B) Sin ciclo menstrual

	<u>Normales</u>	<u>Elevados</u>	<u>N</u>
Control	14 (77,7%)	4 (22,2%)	18
Cáncer	17 (58,6%)	12 (41,4%)	29

$$\chi^2 = 1,83 \quad p = N.S.$$

FIGURA 54
 PERFIL EVOLUCION PRLh. DATOS APAREADOS

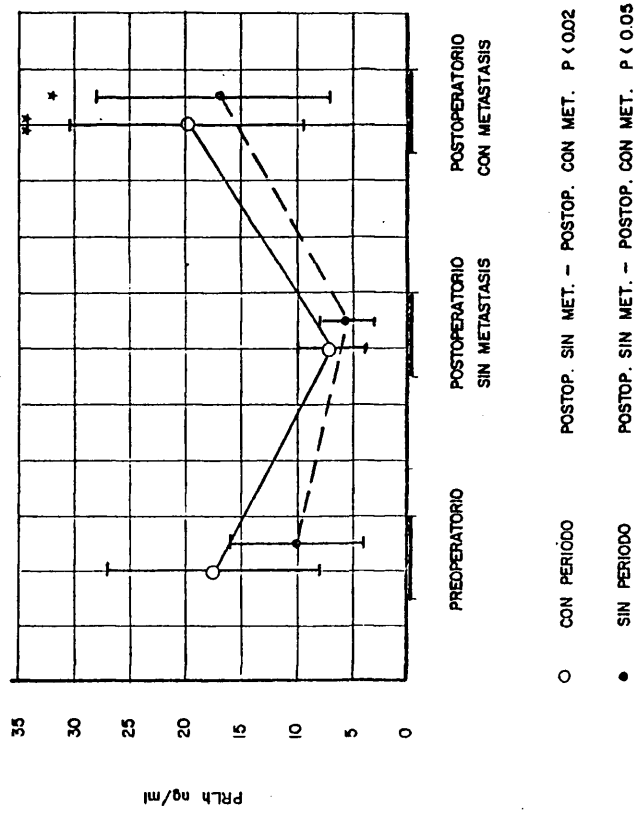
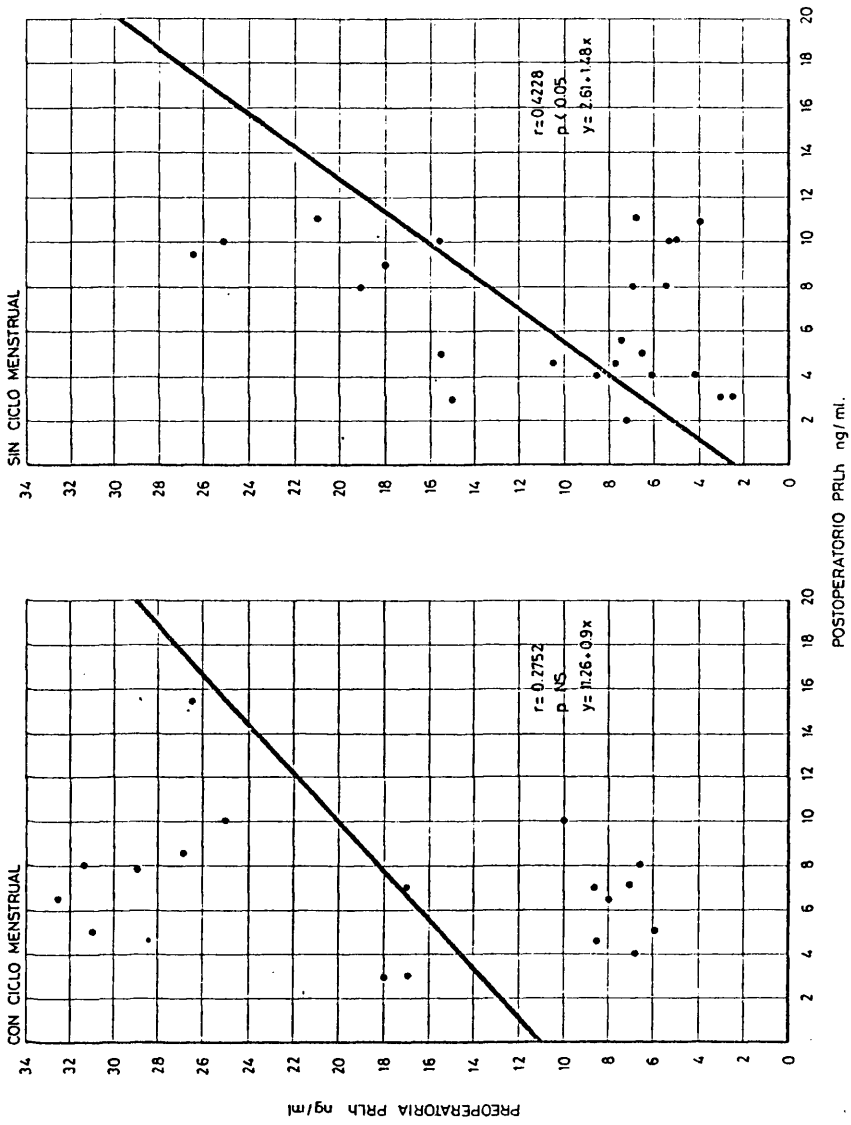


FIGURA 55
 PRlh CORRELACION PRE-POSTOPERATORIA CON Y SIN CICLO MENSTRUAL



observa una falta absoluta de correlación (r 0.2752; p NS), con total independencia de la recta de regresión derivada del descenso a valores normales durante el postoperatorio. Para las enfermas sin ciclo menstrual se aprecia una correlación mínima (r 0.4228; $p < 0.05$) entre ambos valores consecuencia del mayor número de pacientes que tienden a presentar cifras poco elevadas y, por tanto, más parecidas a las consideradas normales,

En resumen, la PRLh elevada inicialmente en un porcentaje importante de pacientes desciende hacia valores normales tras la extirpación del tumor primitivo y parece que se eleva nuevamente, de forma proporcional en mayor grado en pacientes sin función menstrual, tras la reaparición del cuadro tumoral en forma de enfermedad metastásica, pero con ciertas "desviaciones" de casos individuales a este perfil general. Además, estas variaciones no parecen debidas a alteraciones del patrón individual de secreción que se mueve dentro de unos límites muy estables, como se demuestra en cinco controles evaluados diariamente, a la misma hora y durante la misma fase del ciclo, y cuyos valores se representan en la Tabla L.

Para la hormona de crecimiento la realización de un estudio similar al de PRLh no demuestra modificaciones evolutivas semejantes a la de aquella. Cuando se representan las modificaciones de los valores individuales se aprecia, salvo en dos ocasiones, el mantenimiento de los niveles hormonales dentro del rango de la población normal, con descensos mínimos e inconstantes, al igual que cuando se separan en los grupos con y sin ciclo menstrual. En valores absolutos las primeras muestran una cifra de HCh de 1.14 ± 0.65 ng/ml en el preoperatorio frente a 0.99 ± 0.68 ng/ml en el postoperatorio (t 0.66; p NS), mientras que para las segundas los respectivos valores se han cifrado en 0.74 ± 0.78 ng/ml y 0.78 ± 0.51 ng/ml (t 0.7; p NS) con amplias variaciones dentro de las series (Figura 56).

Tampoco existe ninguna correlación entre los valores pre y postoperatorios (Figura 57), con coeficiente de Pearson de 0.4732

TABLA L

REPRODUCTIBILIDAD DEL VALOR BASAL

<u>Control</u>	<u>Día 1</u>	<u>Día 2</u>	<u>Día 3</u>	<u>Día 4</u>	<u>Día 5</u>	<u>M ± DS</u>	<u>C.V. %</u>
1)	18	21	13	18	11	16,2±4	1
2)	21	17	13	11	17	15,8±3,89	0,98
3)	18	21	13	16	11	15,8±3,96	1
4)	24	27	26	31	22	26 ±3,39	0,52
5)	8	10,5	7	9	7,5	8,4 ±1,38	0,66

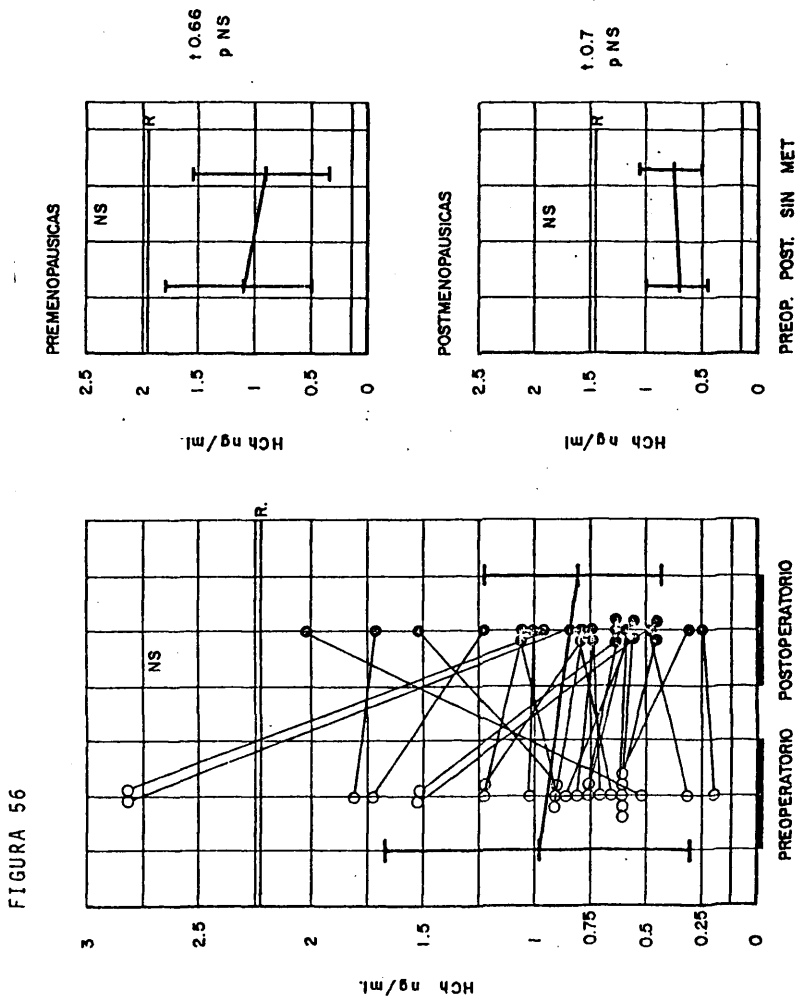
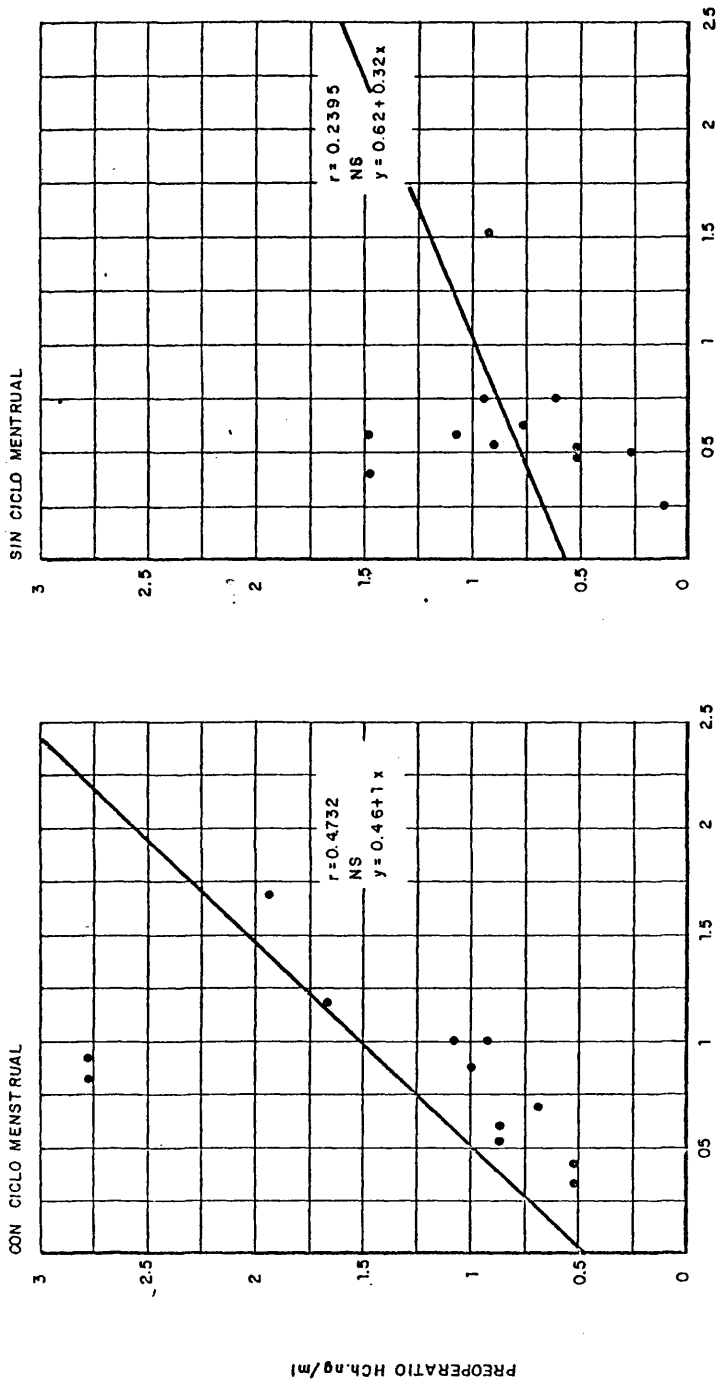


FIGURA 56

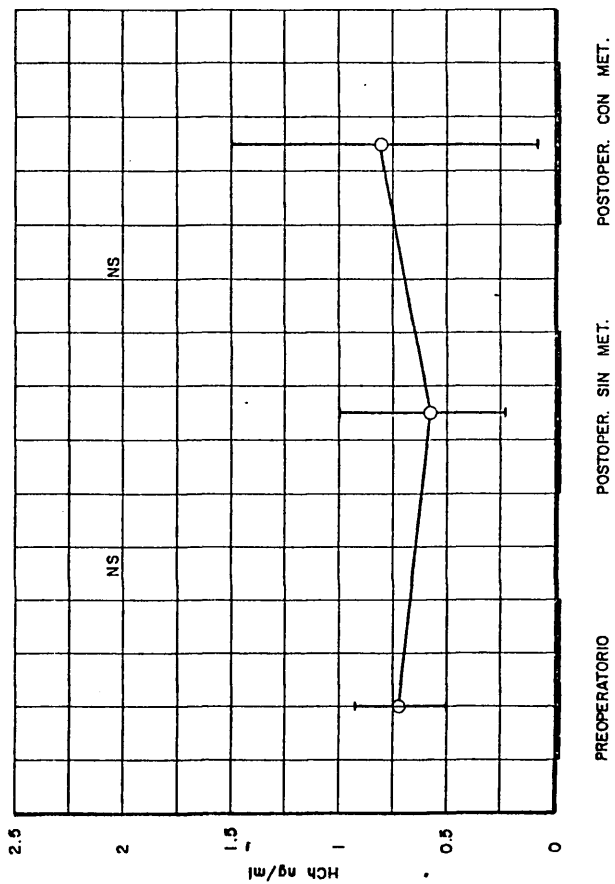
FIGURA 57

HC h. CORRELACION PRE- POSTOPERATORIA CON Y SIN CICLO MENSTRUAL



(p NS) para las pacientes con ciclo menstrual y 0,2395 (p NS) para aquellas que no lo presentan. El perfil evolutivo (Figura 58), realizado para la serie global por no disponerse de datos suficientes para ordenarlos en los dos grupos hasta ahora considerados, tampoco muestra diferencias significativas, destacando tan solo la gran desviación de los valores postoperatorios con metastasis, reflejo de una gran variación de las cifras individuales.

FIGURA 58
PERFIL EVOLUCION HCh DATOS APAREADOS



14 D) Ritmos Nictamerales. Serie control

14 D-1) Serie global

El estudio de los valores de PRLh, en las horas de día y noche consideradas en esta tesis, revela un marcado incremento de las cifras medias a las 01 y 05 horas de la madrugada respecto a los valores basales y al mínimo teórico correspondiente al medio-día, como puede apreciarse en el estudio estadístico de la Tabla LI, en la representación gráfica de la Figura 59.

Pero dentro de este patrón general resaltan dos hechos que se repiten sistemáticamente a lo largo de todo el estudio. En primer lugar, las dos concentraciones basales pueden considerarse similares, tanto en sus valores absolutos (8.82 ± 4.8 ng/ml y 8.32 ± 4.33 ng/ml) como en sus rangos (19,5 y 17.7 ng/ml respectivamente). En segundo lugar, la concentración a las 05 horas es discretamente mayor (23.45 ± 11.4 ng/ml, rango 36.3 ng/ml) que la obtenida a las 01 horas (19.51 ± 8.61 ng/ml, rango 34.1 ng/ml) sin diferencia estadísticamente significativa ($t 1.682$; p NS) (Tabla LI).

La HCh también muestra un ritmo similar al de PRLh pero con características peculiares y distintas de las de aquel (Tabla LII; Figura 60). El máximo valor nocturno se obtiene a las 01 horas (4.03 ± 2.81 ng/ml, rango 9.7 ng/ml), por tanto adelantado respecto al de PRLh. Por otra parte, los dos valores nocturnos muestran claras diferencias estadísticas respecto a los basales, que también son similares (0.92 ± 0.56 ng/ml y 0.81 ± 0.33 ng/ml. $t 0.679$; p NS) pero, considerados entre sí, el pico inicial a las 01 horas es discretamente mayor que el pico a las 05 horas ($t 2.198$; $p < 0.05$) con rangos bastantes dispares entre sí (9.7 ng/ml a las 01 horas y 5.3 ng/ml a las 05 horas). Además, los picos nocturnos muestran una gran variación individual, mucho más acusada que para PRLh en las mismas horas.

TABLA LI

PRLh. RITMO NICTAMERAL. SERIE CONTROL. VALORES GLOBALES

	N	Máx.	Min.	M	D.S.	R	DIS
PRLh 1ª Basal	37	22,3	2,8	8,82	4,8	19,5	D.N.
PRLh 13 horas	11	13,1	3,6	9,08	3,43	9,5	D.N.
PRLh 01 horas	37	42,1	8	19,51	8,61	34,1	D.N.
PRLh 05 horas	37	52,6	6,3	23,45	11,4	46,3	D.N.
PRLh 2ª Basal	37	20	2,3	8,32	4,33	17,7	D.N.

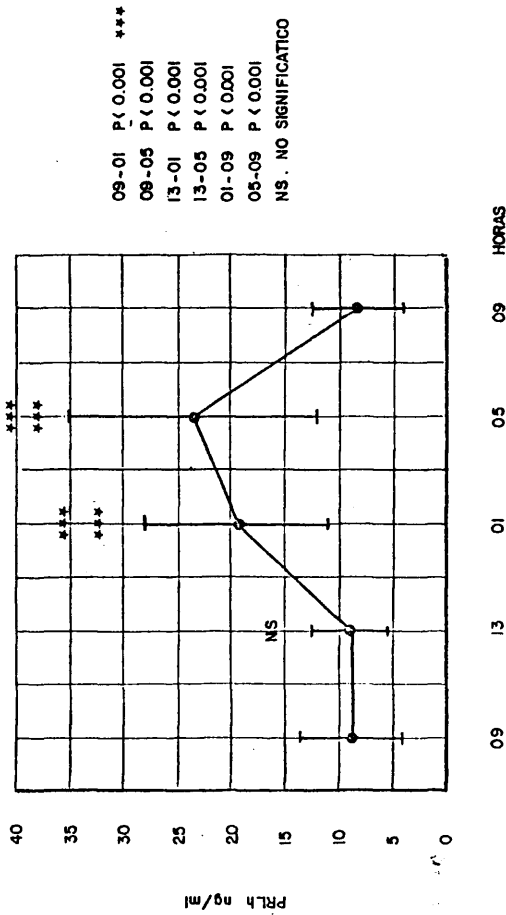
ESTUDIO ESTADISTICO

	F	p	t	P
PRLh 09 - 13 h	1,959	<0,05	0,2	N.S.
PRLh 09 - 01 h	3,2175	>0,01	6,59	<0,001
PRLh 09 - 05 h	5,377	>0,01	7,194	<0,001
PRLh 09 - 09 h	1,229	<0,05	0,47	N.S.
PRLh 13 - 01 h	6,301	>0,01	3,899	<0,001
PRLh 13 - 05 h	11,046	>0,01	4,098	<0,001
PRLh 13 - 09 h	1,593	<0,05	0,605	N.S.
PRLh 01 - 05 h	1,878	<0,05	1,682	N.S.
PRLh 01 - 09 h	3,954	>0,05	7,056	<0,001
PRLh 05 - 09 h	6,932	>0,01	7,547	<0,001

FIGURA 59

PR LH RITMO NICTAMERAL. SERIE CONTROL. VALORES GLOBALES

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
1ª BASAL	27	22.3	2.8	8.82	4.8	19.5
13 HORAS	11	13.1	3.6	9.08	3.43	9.5
01 HORAS	37	42.1	8	19.31	8.61	34.1
05 HORAS	37	52.6	6.3	23.45	11.4	46.3
2ª BASAL	37	20	2.3	8.32	4.33	17.7



HCh. RITMO NICTAMERAL. SERIE CONTROL. VALORES GLOBALES

	N	Máx.	Mín.	M	D.S.	R	DIS
HCh 1ª Basal	16	2,3	0,2	0,92	0,56	2,1	D.N.
HCh 01 horas	16	9,9	0,2	4,03	2,81	9,7	D.N.
HCh 05 horas	16	5,6	0,3	2,31	1,38	5,3	D.N.
HCh 2ª Basal	16	1,5	0,1	0,81	0,33	1,4	D.N. ^s

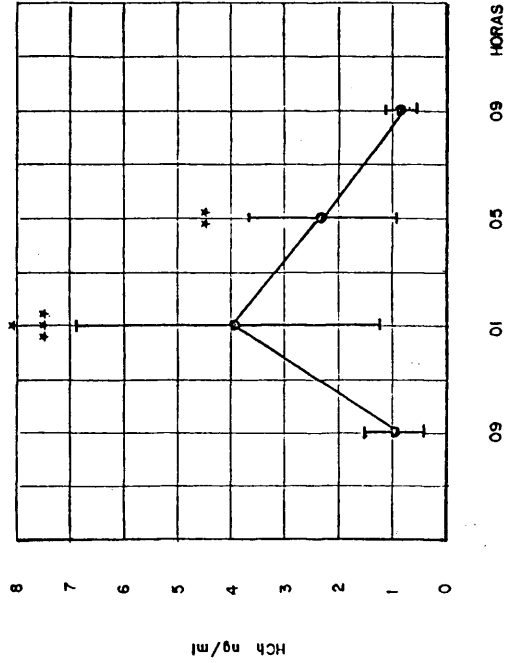
ESTUDIO ESTADISTICO

	F	p	t	p
HCh 09 - 01 h	25,178	>0,01	4,342	<0,001
HCh 09 - 05 h	6,072	>0,01	3,74	<0,01
HCh 09 - 09 h	2,818	>0,05	0,679	N.S.
HCh 01 - 05 h	4,158	>0,01	2,198	<0,05
HCh 01 - 09 h	71,818	>0,01	4,551	<0,001
HCh 05 - 09 h	17,273	>0,01	4,232	<0,001

FIGURA 60

HCh RITMO NICTAMERAL. SERIE CONTROL. VALORES GLOBALES.

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
1ª BASAL	16	2.3	0.2	0.92	0.56	2.1
01 HORAS	16	9.9	0.2	4.03	2.81	9.7
05 HORAS	16	5.6	0.3	2.31	1.38	5.3
2ª BASAL	16	1.5	0.1	0.81	0.33	1.4



09-01 P<0.001 ***
 09-05 P<0.01 **
 05-01 P<0.05 *
 01-09 P<0.001 ***
 05-09 P<0.001 ***

14 D-2) Valores con y sin ciclo menstrual

En la Tabla LIII se resumen los valores de PRLh correspondientes a los dos grupos, en la Figura 61 su representación gráfica, y en la Tabla LIV el estudio estadístico intergrupo. Ambos conservan un perfil semejante al observado en la serie global (que denominaré "perfil patrón"), no apreciándose ninguna desviación en el estudio estadístico.

Comparando entre sí los valores correspondientes a cada hora se aprecia un descenso general en las medias de las enfermas sin ciclo menstrual, aunque solo son significativas las correspondientes a las basales; por otra parte, los rangos se encuentran dentro de límites semejantes excepto el correspondiente a las 05 horas del grupo sin ciclo menstrual, única serie que muestra un valor más amplio. Puede pues resumirse que, en general, las enfermas con y sin ciclo muestran ritmos semejantes, con valores medios sistemáticamente más bajos en el segundo grupo.

La HCh (Tabla LV, Figura 62) muestra un patrón "normal", con máximo incremento a las 01 horas, y siguiendo un esquema de significación estadística semejante al global. Tan solo destaca el exacto paralelismo de los dos grupos, con dispersiones muy amplias a las 01 y 05 horas, hasta el punto de que en este caso se ha prescindido de la comprobación estadística.

Para PRLh, dentro del grupo con ciclo menstrual, se han estudiado 9 mujeres en fase folicular y luteal cuyos valores medios se recogen en la Tabla LVI y se representan en la Figura 63, 63A. Dentro de la distribución normal de todas las horas estudiadas destaca la similitud de valores para cada una de ellas excepto para la 01 horas de la fase folicular quien muestra una cifra media me

TABLA LIII

PRLh. SERIE CONTROL. RITMO NICTAMERAL CON Y SIN CICLO MENSTRUAL

	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Mín.</u>	<u>M</u>	<u>DS.</u>	<u>R</u>	<u>DIS</u>
PRLh con ciclo menstrual							
1ª Basal	18	22,3	5	9,56	4,29	17,3	N
01 horas	18	42,1	12	20,83	8,65	30,1	N
05 horas	18	50	13,6	26,6	10,62	36,4	N
2ª Basal	18	18,9	3,6	8,82	3,83	15,3	N
PRLh sin ciclo menstrual							
1ª Basal	19	18,9	2,8	5,91	2,15	16,1	N
01 horas	19	39,4	8	18,25	8,61	31,4	N
05 horas	19	52,6	6,3	20,46	11,58	46,3	N
2ª Basal	19	15,7	2,3	6,44	3,12	13,4	N

FIGURA 61

PRLh RITMO NICTAMERAL SERIE CONTROL CON Y SIN PERIODO

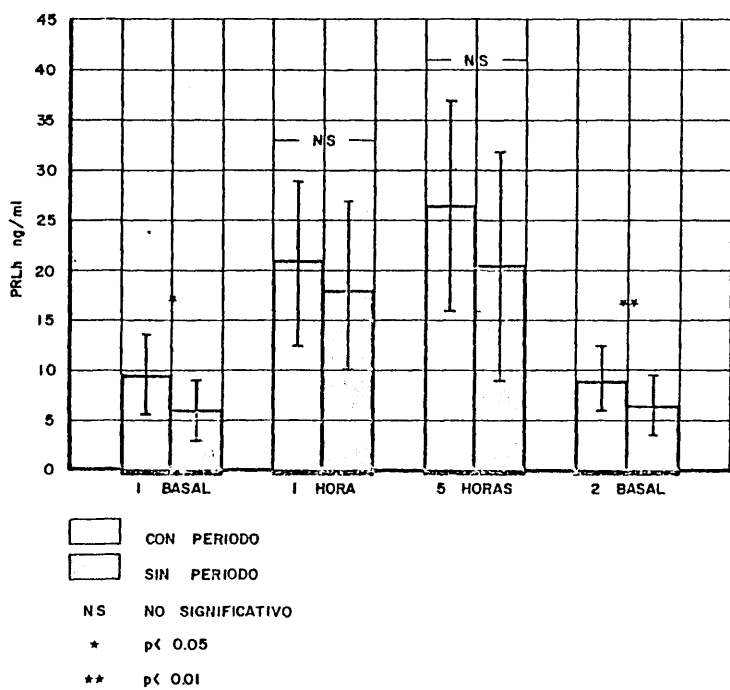
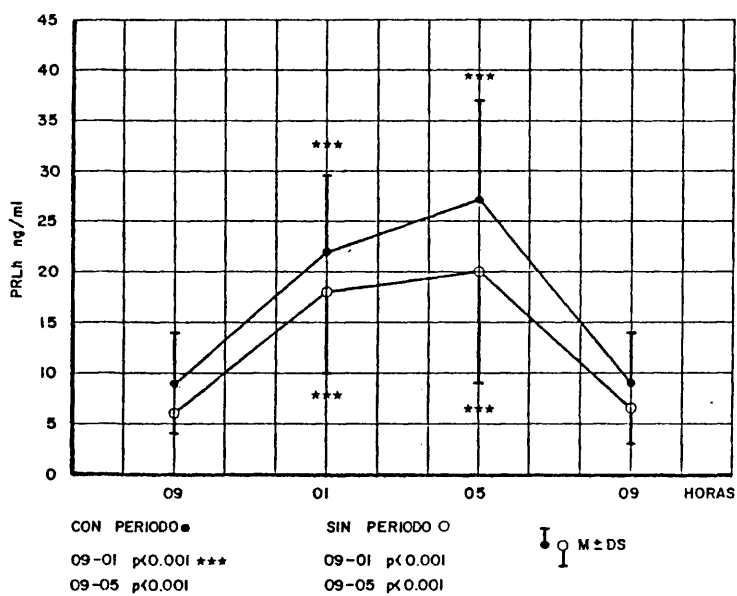


TABLA LIV

ESTUDIO ESTADISTICO

PRLh. SERIE CONTROL. RITMO NICTAMERAL CON Y SIN CICLO MENSTRUAL

	<u>F</u>	<u>P</u>	<u>t</u>	<u>P</u>
PRLh 1ª Basal con ciclo menstrual				
PRLh 1ª Basal sin "	4,128	>0,05	2,0984	<0,05
PRLh 01 horas con ciclo menstrual				
PRLh 01 horas sin "	1,009	<0,05	0,909	N.S.
PRLh 05 horas con ciclo menstrual				
PRLh 05 horas sin "	0,841	<0,05	1,682	N.S.
PRLh 2ª Basal con ciclo menstrual				
PRLh 2ª Basal sin "	1,544	<0,05	2,6271	<0,01

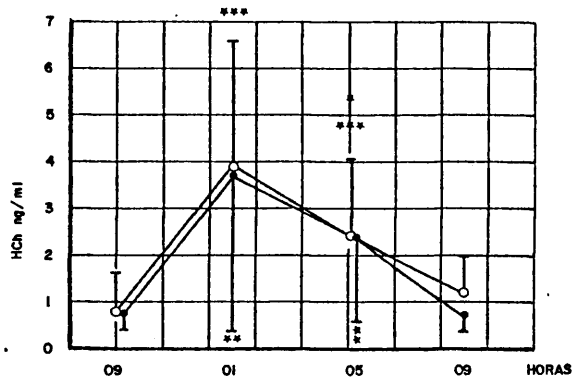
TABLA LV

HCh. SERIE CONTROL. RITMO NICTAMERAL CON Y SIN CICLO MENSTRUAL

	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Mín.</u>	<u>M</u>	<u>DS</u>	<u>R</u>	<u>DIS</u>
HCh con ciclo menstrual							
1ª Basal	8	2,3	0,3	0,93	0,67	2	N
01 horas	8	8,7	1,6	3,9	2,73	7,1	N
05 horas	8	3,6	0,7	2,40	1,17	2,9	N
2ª Basal	8	1,5	0,5	1,22	0,84	1	N
HCh sin ciclo menstrual							
1ª Basal	8	1,6	0,2	0,92	0,46	1,4	N
01 horas	8	9,9	0,2	3,76	3,30	9,7	N
05 horas	8	5,6	0,3	2,30	1,73	5,3	N
2ª Basal	8	1,2	0,1	0,77	0,32	1,1	N

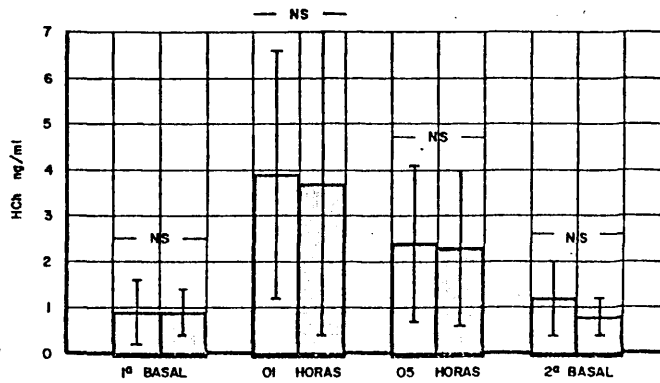
FIGURA 62

HCh RITMO NICTAMERAL SERIE CONTROL CON Y SIN PERIODO



CON PERIODO ○	SIN PERIODO ●
09-01 p > 0.005***	09-01 p > 0.02**
09-05 p > 0.005	09-05 p < 0.05
01-05 p < 0.05*	01-05 p < 0.05

○ M ± DS



□ CON PERIODO
 ■ SIN PERIODO
 NS NO SIGNIFICATIVO

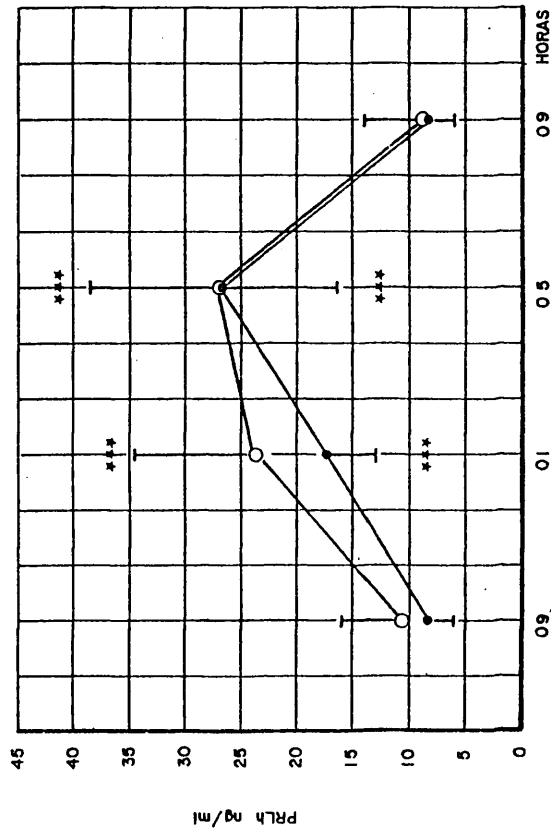
TABLA LVI

PRLh. SERIE CONTROL. RITMO NICTAMERAL SEGUN LA FASE DEL CICLO

	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Mín.</u>	<u>M</u>	<u>D.Ś.</u>	<u>R</u>	<u>DIS</u>
Fase Follicular							
1ª Basal	9	14	5	8,41	2,54	9	D.N.
01 horas	9	26	12	17,68	4,65	14	D.N.
05 horas	9	50	14	26,44	9,95	36	D.N.
2ª Basal	9	14,5	5	8,67	2,70	9,5	D.N.
Fase Luteal							
1ª Basal	9	22,3	5,2	10,71	5,45	17,1	D.N.
01 horas	9	42,1	13,1	23,97	10,74	29	D.N.
05 horas	9	47,3	13,6	26,76	11,86	33,7	D.N.
2ª Basal	9	18,9	3,6	8,96	4,89	15,3	D.N.

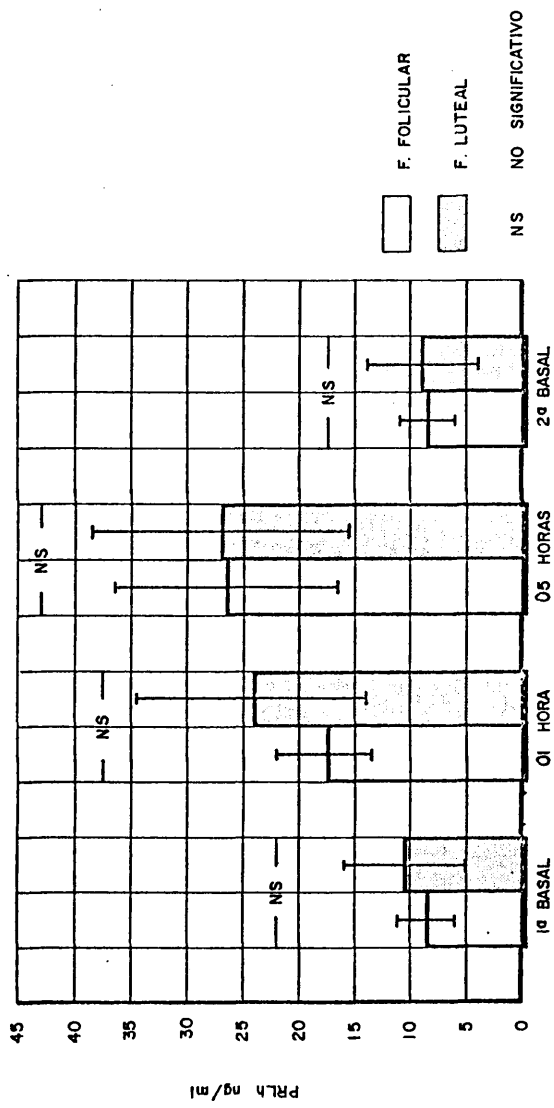
FIGURA 63

PRLh. RITMO NICTAMERAL SERIE CONTROL SEGUN FASE CICLO



F. LUTEALO
 9-1 p<0.005
 9-5 p<0.005
 1-9 p<0.005
 5-9 p<0.001
 F. FOLICULAR ●
 9-1 p<0.001
 9-5 p<0.001
 1-9 p<0.001
 5-9 p<0.001
 O ● M+DS

FIGURA 63A



nor (Figura 63A). El perfil objetiva una distribución estadística semejante al "perfil patrón" (Figura 63) no apreciándose tampoco diferencias significativas cuando se comparan entre sí (Tabla LVI a pesar de la heterogeneidad representada por la significación en el estudio de varianza.

14 D-3) Valores respecto al estadio sexual

En la Tabla LVIII se recogen los valores correspondientes a los grupos fértil, climatérico y postmenopáusico, y en la Figura 64 y 64A su representación gráfica.

Bajo una distribución normal de todos los valores estudiados se observa nuevamente, al igual que ocurría en el estudio con basales, un comportamiento similar para el grupo de fértiles y climatéricas, incluso con rangos muy parecidos para los valores nocturnos. Las postmenopáusicas muestran un perfil de ritmo a niveles medios más bajos que los otros dos grupos, aunque sus diferencias no son estadísticamente significativas, a excepción de las basales como se recoge en la Tabla LIX y Figura 64A, y con una dispersión para el valor del máximo pico nocturno mucho más grande que el observado en fértiles y climatéricas, estadísticamente significativo en el estudio de varianza respecto al primero ($F 2.970; p > 0.05$) (Tabla LIX). Ello hace suponer la existencia junto a valores nocturnos bajos, a priori lógicos en este período, de valores que se encuentran en el rango de aquellos correspondientes al grupo con mayor actividad sexual.

Para la HCh se han podido estudiar los tres grupos con un mínimo de elementos (5 para fértiles y climatéricas y 6 para postmenopáusicas) que no permiten obtener conclusiones totalmente definitivas. Sin embargo, de los valores recogidos en la Tabla LX representados en la Figura 65 y 65A podría concluirse que mientras el grupo fértil y climatérico presentan un ritmo normal, es

TABLA LVII

ESTUDIO ESTADISTICO

PRLh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL SEGUN LA FASE DEL CICLO

	F	P	t	P
PRLh 1ª Basal f. folicular				
PRLh 1ª Basal f. luteal	4,603	>0,05	1,148	N.S.
PRLh 01 horas f. folicular				
PRLh 01 horas f. luteal	5,334	>0,05	1,612	N.S.
PRLh 05 horas f. folicular				
PRLh 05 horas f. luteal	1,420	<0,05	0,062	N.S.
PRLh 2ª Basal f. folicular				
PRLh 2ª Basal f. luteal	3,280	>0,05	0,156	N.S.

TABLA LVIII

PRLh. SERIE CONTROL. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO SEXUAL

	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Mín.</u>	<u>M</u>	<u>D.S.</u>	<u>R</u>	<u>DIS</u>
PRLh Fértiles							
1ª Basal	15	22,3	5	9,48	4,53	17,3	D.N.
01 horas	15	42,1	12	20,06	8,18	30,1	D.N.
05 horas	15	50	13,6	25,37	10,54	36,4	D.N.
2ª Basal	15	18,9	3,6	8,66	3,88	15,3	D.N.
PRLh Climatéricas							
1ª Basal	10	22	2,8	9,11	5,45	19,2	D.N.
01 horas	10	39,4	12	22,28	11,03	27,4	D.N.
05 horas	10	45	12	25,11	10,55	33	D.N.
2ª Basal	10	20	2,3	8,88	4,96	17,7	D.N.
PRLh Postmenopáusicas							
1ª Basal	12	9,9	3,6	5,58	1,87	6,3	D.N.
01 horas	12	29	8	16,50	6,40	21	D.N.
05 horas	12	52,6	6,3	19,66	13,03	46,3	D.N.
2ª Basal	12	8,4	2,6	5,47	2,12	5,8	D.N.

FIGURA 64

PRLh. RITMO NICTAMERAL. SERIE CONTROL SEGUN ESTADIO SEXUAL

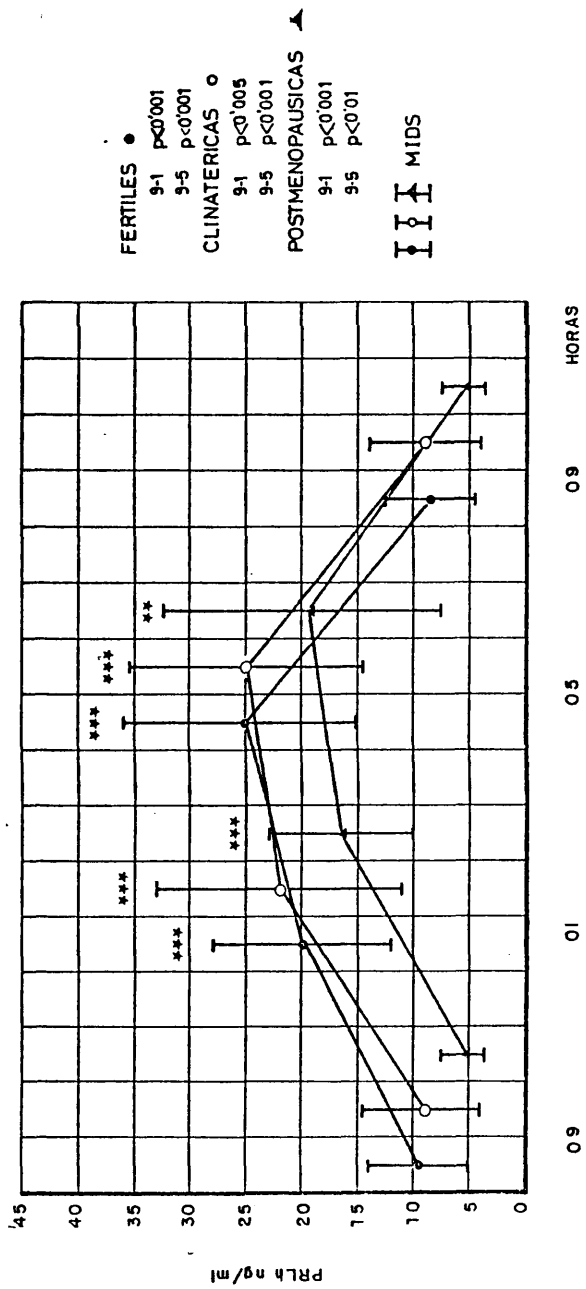
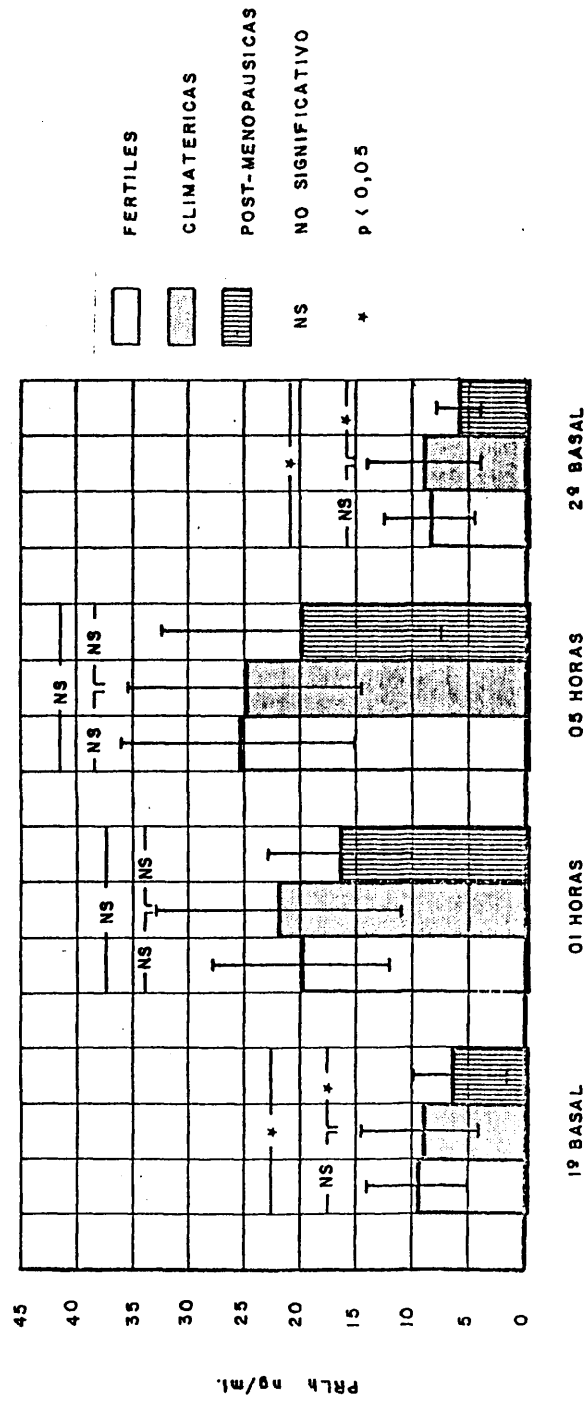


FIGURA 64A

PRLh. RITMO NICTAMERALE SERIE CONTROL SEGUN ESTADO SEXUAL



FERTILES

CLIMATERICAS

POST-MENOPAUSICAS

NO SIGNIFICATIVO

p < 0,05

PRLh ng/ml

TABLA LIX
ESTUDIO ESTADISTICO

PRLh. SERIE CONTROL. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO SEXUAL

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
<u>1^a BASAL</u>				
PRLh fértiles -				
PRLh climatéricas	1,447	<0,05	0,178	N.S.
PRLh fértiles -				
PRLh postmenopáusicas	1,276	<0,05	2,124	<0,05
PRLh climatéricas -				
PRLh postmenopáusicas	1,847	<0,05	2,2936	<0,05
01 HORAS				
RLh fértiles -				
PRLh climatéricas	1,818	<0,05	0,544	N.S.
RLh fértiles -				
PRLh postmenopáusicas	1,633	<0,05	1,269	N.S.
RLh climatéricas -				
PRLh postmenopáusicas	2,970	>0,05	1,536	N.S.
5 HORAS				
RLh fértiles -				
PRLh climatéricas	1,001	<0,05	0,06	N.S.
RLh fértiles -				
PRLh postmenopáusicas	1,528	<0,05	1,23	N.S.
RLh climatéricas				
PRLh postmenopáusicas	1,525	<0,05	1,084	N.S.
<u>a BASAL</u>				
RLh fértiles -				
PRLh climatéricas	1,634	<0,05	0,119	N.S.
h fértiles -				
PRLh postmenopáusicas	1,546	<0,05	2,1458	<0,05
h climatéricas -				
PRLh postmenopáusicas	2,527	<0,05	2,2912	<0,05

TABLA LX

HCh. SERIE CONTROL. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO SEXUAL

	N	Máx.	Mín.	M	D.S.	R	DIS
HCh Fértiles							
1ª Basal	5	2,3	0,3	1	0,8	2	N
01 horas	5	6,6	1,6	3,9	1,9	5	N
05 horas	5	3,6	0,7	2,46	1,3	1,9	N
2ª Basal	5	1,5	0,5	0,9	0,39	1	N
HCh Climatéricas							
1ª Basal	5	1,5	0,2	0,9	0,5	1,3	N
01 horas	5	9,9	2,2	6,36	3,19	7,7	N
05 horas	5	5,6	1,4	3,16	1,65	4,2	N
2ª Basal	5	1,2	0,3	0,83	0,3	0,9	N
HCh Postmenopáusicas							
1ª Basal	6	1,6	0,6	0,88	0,46	1	N
01 horas	6	5,3	0,2	2,21	1,71	5,1	N
05 horas	6	2,6	0,3	1,48	0,76	2,3	N
2ª Basal	6	1	0,1	0,75	0,33	0,9	N

FIGURA 65
HCh. RITMO NICTAMERAL SERIE CONTROL SEGUN ESTADIO SEXUAL

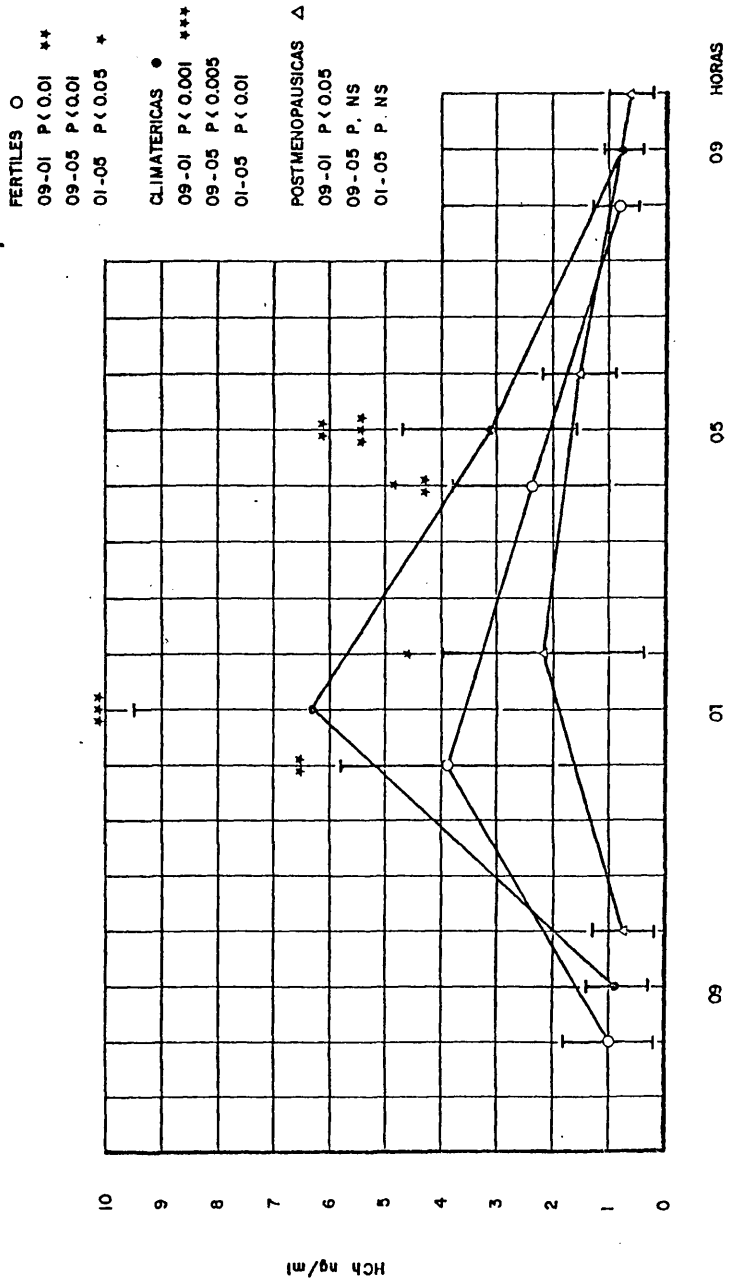
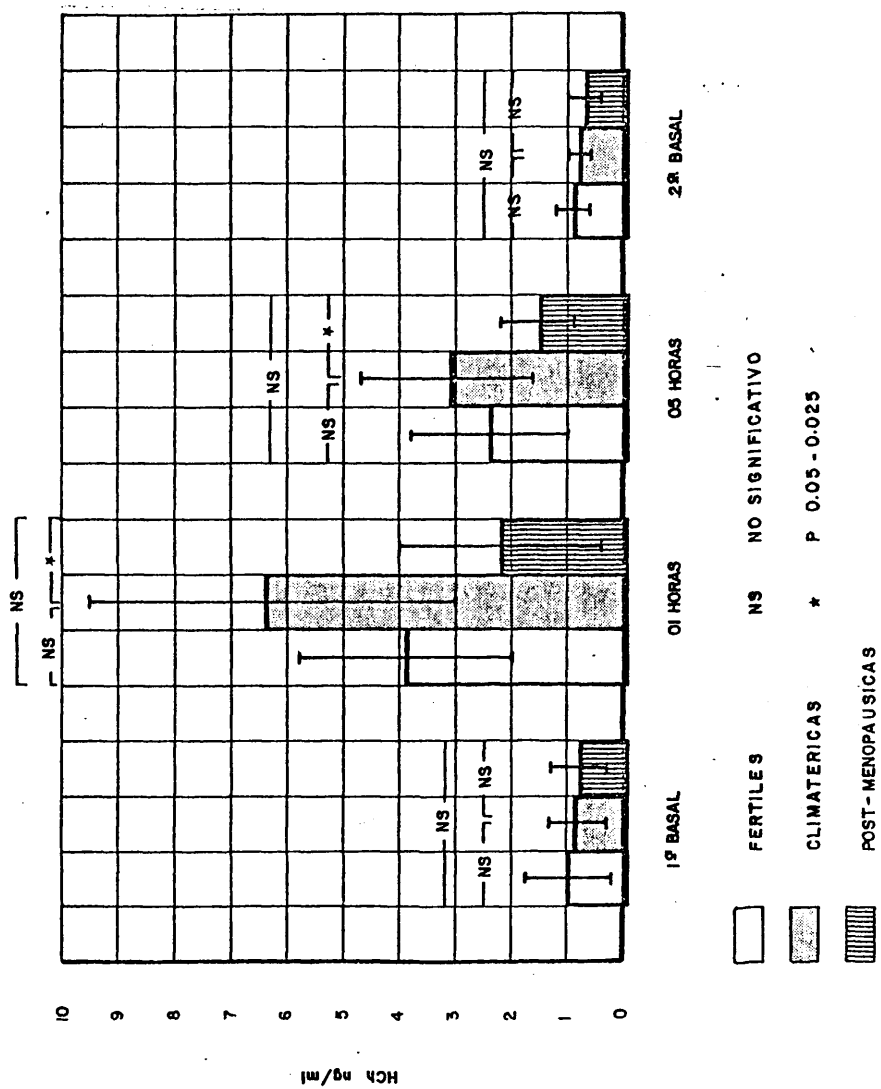


FIGURA 65A
 HCh RITMO NICTAMERAL SÉRIE CONTROL SEGUN ESTADO SEXUAL



FERTILES NS NO SIGNIFICATIVO
 CLIMATERICAS * P 0.05 - 0.025
 POST-MENOPAUSICAS

te último a concentraciones menores aunque no significativas estadísticamente (Tabla LXI), el grupo de postmenopáusicas tienden a mostrar un ritmo casi plano, con un ascenso a las 01 horas que es casi duplica el valor medio basal. Por otra parte, persiste la gran dispersión de la desviación estandar, índice de la heterogeneidad de los valores estudiados. Es esta inconstancia de los valores medios, unido al pequeño número de elementos de las muestras de cada grupo, lo que hace que no puedan obtenerse conclusiones definitivas.

14 D-4) Valores según frotis vaginal

Para PRLh los valores de cada hora, en la forma de agrupamiento que comprende este apartado, revela, junto a una distribución normal de todas las series, el mantenimiento de un ritmo "normal" con medias más elevadas para el grupo con frotis estrogénico y más bajas para el grupo con frotis atrófico (Tabla LXII; Figura 66 y 66A). De todas ellas el más homogéneo, con desviaciones mínimas, es el correspondiente al frotis estrogénico débil mientras que el más heterogéneo corresponde al intermedio de la postmenopausia como puede apreciarse al observar los respectivos rangos de cada grupo (Tabla LXII).

Considerados estadísticamente entre sí (Tabla LXIII, Figura 66A), los únicos valores constantes significativos son los correspondientes a los frotis estrogénicos y atrófico, observándose alguna otra diferencia significativa entre el primero y el frotis estrogénico débil. Todo ello puede estar de acuerdo con la relación estrógenos-PRLh, independientemente de la edad de la mujer estudiada.

La HCh no ha podido ser estudiada en este ordenamiento dada la no existencia de grupos lo suficientemente grandes para obtener conclusiones estadísticas válidas.

TABLA LXI
ESTUDIO ESTADISTICO

HCh. SERIE CONTROL. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO SEXUAL

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
<u>1ª BASAL</u>				
HCh fértiles -				
HCh climatéricas	2,68	<0,05	0,2325	N.S.
HCh fértiles -				
HCh postmenopáusicas	3,190	<0,05	0,3157	N.S.
HCh climatéricas -				
HCh postmenopáusicas	1,190	<0,05	0,0714	N.S.
<u>01 HORAS</u>				
HCh fértiles -				
HCh climatéricas	2,603	<0,05	1,4730	N.S.
HCh fértiles -				
HCh postmenopáusicas	1,267	<0,05	1,5225	N.S.
HCh climatéricas -				
HCh postmenopáusicas	3,300	<0,05	2,7852	<0,025
<u>05 HORAS</u>				
HCh fértiles -				
HCh climatéricas	1,583	<0,05	0,7216	N.S.
HCh fértiles -				
HCh postmenopáusicas	2,982	<0,05	1,5806	N.S.
HCh climatéricas -				
HCh postmenopáusicas	4,724	>0,05	2,2702	<0,05
<u>2ª BASAL</u>				
HCh fértiles -				
HCh climatéricas	1,363	<0,05	0,4518	N.S.
HCh fértiles -				
HCh postmenopáusicas	1,363	<0,05	0,3815	N.S.
HCh climatéricas -				
HCh postmenopáusicas	1	<0,05	0,1752	N.S.

TABLA LXII

PRLh. SERIE CONTROL. RITMO NICTAMERAL SEGUN FROTIS VAGINAL

	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Mín.</u>	<u>M</u>	<u>D.S.</u>	<u>R</u>	<u>DIS</u>
PRLh Frotis estrogénico							
1 ^a Basal	11	22,3	6	10,67	5,07	16,3	D.N.
01 horas	11	42,1	12	24,28	9,49	30,1	D.N.
05 horas	11	50	20	30,8	11,01	30	D.N.
2 ^a Basal	11	18,9	5	10,1	4,22	13,9	D.N.
PRLh Frotis est. débil							
1 ^a Basal	9	9,5	5	7,84	1,8	4,5	D.N.
01 horas	9	20	12	15,32	2,61	8	D.N.
05 horas	9	28,4	13,6	20,23	5,32	14,8	D.N.
2 ^a Basal	9	9,6	3,6	7,02	1,88	6	D.N.
PRLh Frotis intermedio							
1 ^a Basal	8	22	4,2	9,9	6,76	17,8	D.N.
01 horas	8	39,4	12,1	21,16	10,56	27,5	D.N.
05 horas	8	52,6	12	25,27	13,87	40,6	D.N.
2 ^a Basal	8	20	2,6	9,58	5,60	17,4	D.N.
PRLh Frotis atrófico							
1 ^a Basal	9	15,7	2,8	6,58	3,97	12,9	D.N.
01 horas	9	29	8	16,4	7,22	21	D.N.
05 horas	9	34	6,3	16,06	9,28	27,7	D.N.
2 ^a Basal	9	17	2,3	6,32	4,34	14,7	D.N.

FIGURA 66
 PRlh RITMO NICTANERAL SERIE CONTROL SEGUN PROTRIS VAGINAL

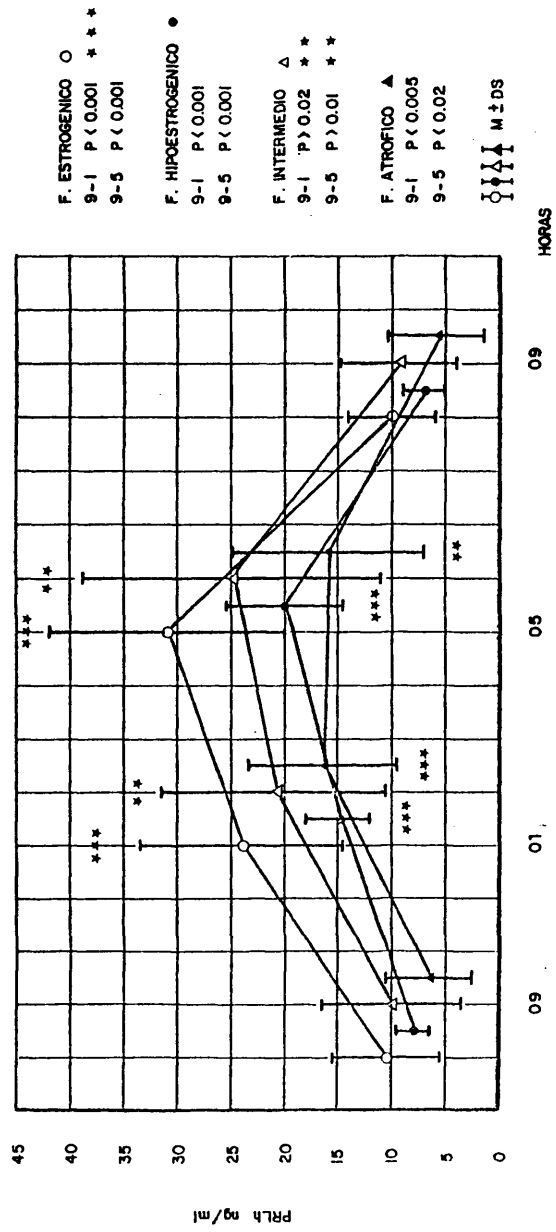


FIGURA 66A

PRLn . RITMO NICTAMERAL SERIE CONTROL SEGUN FROTIS VAGINAL .

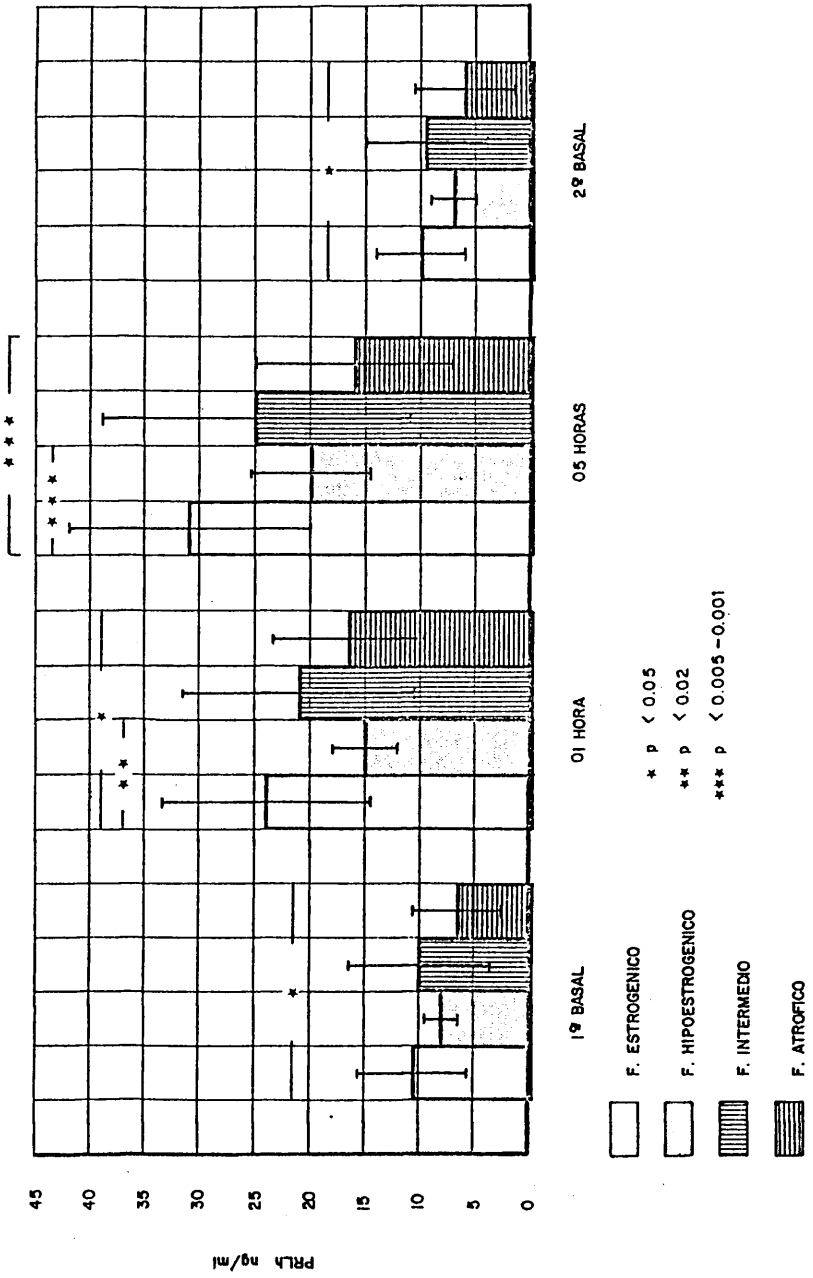


TABLA LXIII

ESTUDIO ESTADISTICO

PRL. SERIE CONTROL. RITMO NICTAMERAL SEGUN FROTIS VAGINAL

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
<u>1a BASAL</u>				
PRLh F. estrogénico -				
PRLh f. est. débil	7,932	>0,01	1,588	N.S.
PRLh f. estrogénico -				
PRLh f. intermedio	1,777	<0,05	0,273	N.S.
PRLh f. estrogénico -				
PRLh f. atrófico	1,631	<0,05	2,023	=0,05
PRLh f. est. débil -				
PRLh f. intermedio	14,104	>0,01	0,89	N.S.
PRLh f. est. débil -				
PRLh f. atrófico	4,864	>0,01	0,867	N.S.
PRLh f. intermedio -				
PRLh f. atrófico	2,548	<0,05	1,224	N.S.
<u>01 HORAS</u>				
PRLh F. estrogenico -				
PRLh f. est. débil	13,225	>0,01	2,737	<0,02
PRLh f. estrogenico -				
PRLh f. intermedio	1,238	<0,05	0,663	N.S.
PRLh f. estrogenico -				
PRLh f. atrófico	1,728	<0,05	2,108	=0,05
PRLh f. est. débil -				
PRLh f. intermedio	16,369	>0,01	1,611	N.S.
PRLh f. est. débil -				
PRLh f. atrófico	7,652	>0,01	0,422	N.S.
PRLh f. intermedio -				
PRL f. atrófico	2,139	<0,05	1,072	N.S.

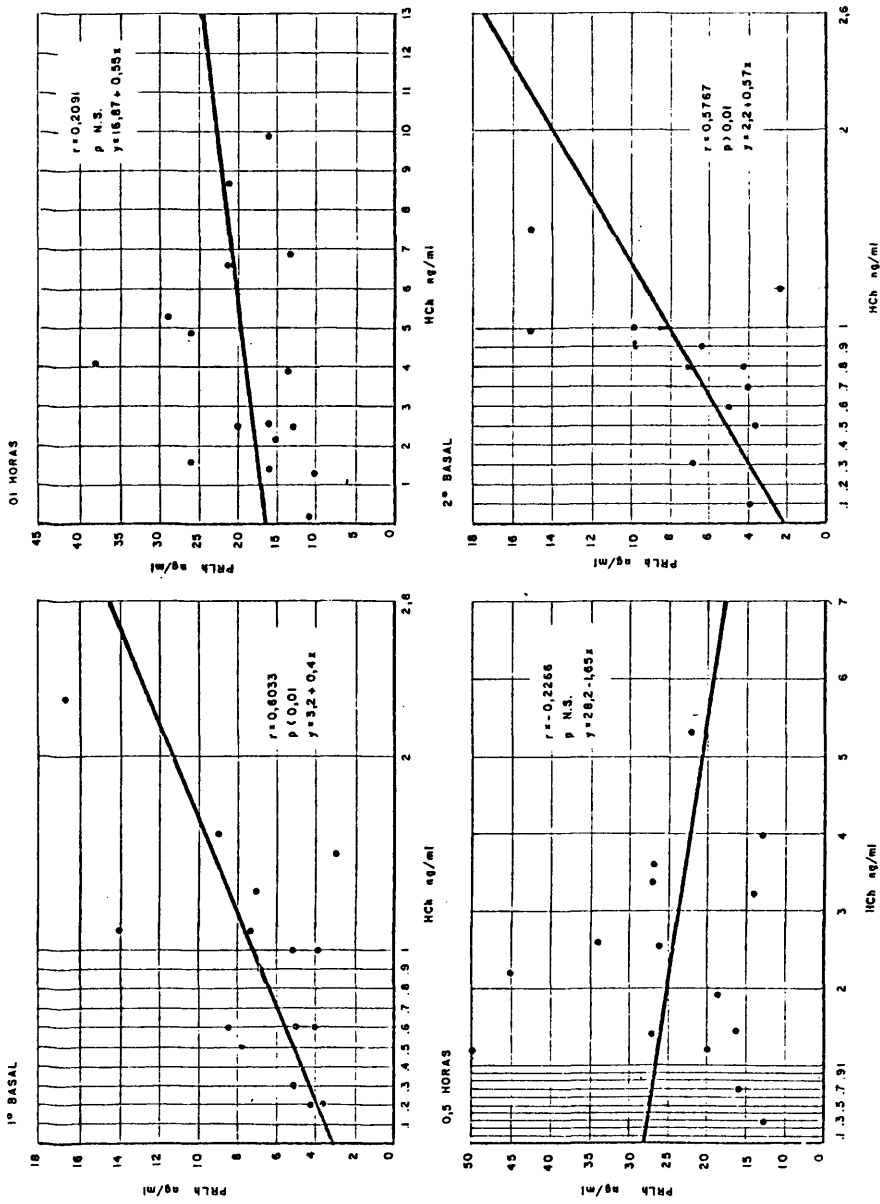
TABLA LXIII (Continuación)

<u>05 HORAS</u>	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
PRLh F. estrogénico - PRLh f. est. débil	4,283	>0,05	2,631	<0,001
PRLh f. estrogénico - PRL f. intermedio	1,587	<0,05	0,934	N.S.
PRLh f. estrogénico - PRLh f. atrófico	1,408	<0,05	3,249	<0,005
PRLh f. est. débil - PRLh f. intermedio	6,797	>0,01	1,013	N.S.
PRLh f. est. débil - PRLh f. atrófico	3,042	<0,05	1,17	N.S.
PRLh f. intermedio - PRLh f. atrófico	2,234	<0,05	1,589	N.S.
<u>2ª BASAL</u>				
PRLh f. estrogénico - PRLh f. est. débil	5,042	>0,05	2,024	<0,1 >0,05
PRLh f. estrogénico - PRLh f. intermedio	1,777	<0,05	0,221	N.S.
PRLh f. estrogénico - PRLh f. atrófico	1,057	<0,05	2,462	<0,05
PRLh f. est. débil - PRLh f. intermedio	8,872	>0,01	1,296	N.S.
PRLh f. est. débil - PRLh f. atrófico	5,706	>0,05	0,444	N.S.
PRLh f. intermedio - PRLh f. atrófico	1,665	<0,05	1,23	N.S.

14 D-5) Correlación PRLh-HCh para cada hora del ritmo

El estudio de correlación revela valores del coeficiente de Pearson inconstantes en cuanto a su significación estadística. Así, al igual que se observó en el estudio con basales las concentraciones a las 09 horas mantienen una aceptable significación (r 0.6063; $p < 0.01$ y r 0.5767; $p < 0.01$) aunque con un ajuste no muy homogéneo en la recta de regresión; es posible que solo sea el resultado de la constancia de los valores de ambas hormonas en ese determinado momento, pues frente al estímulo de descarga que supone el sueño se observa una total independencia de ambas hormonas (r 0.2091; p NS a las 01 horas y r 0.2266; p NS a las 05 horas) (Figura 67).

FIGURA 67
CORRELACION PRLH-HCh RITMO NICTAMERAL SERIE CONTROL



14 E) Ritmo nictameral serie tumoral

14 E-1) Valores globales

Los valores medios para el global de las muestras de la serie tumoral se recogen en la Tabla LXIV (PRLh) y LXV (HCh) junto al estudio estadístico de la comprobación de todos ellos, y la representación gráfica del perfil día-noche se recoge en la Figura 68.

La PRLh muestra un valor mínimo a las 13 horas, estadísticamente significativo respecto al valor basal (9.71 ± 5.69 ng/ml a las 09 horas y 6.65 ± 2.79 ng/ml a las 13 horas. $z 2.135$; $p < 0.05$), y un claro aumento a las 01 y 05 horas (19.58 ± 11.19 ng/ml y 25.21 ± 15.79 ng/ml respectivamente) altamente significativos estadísticamente ($z 5.892$; $p < 0.001$ para las 01 horas y $z 6.940$; $p < 0.001$ para las 05 horas) (Tabla LXIV). Junto a ello se aprecia una gran variación de los valores basales y nocturnos hasta el punto de perder el modelo de distribución según la ley normal, presentando unos rangos muy amplios especialmente para las concentraciones a las 01 y 05 horas (49 y 73 ng/ml respectivamente). Por otra parte, las concentraciones basales a las 09 horas presentan valores y rangos similares (9.71 ± 5.69 ng/ml, rango 25,7 ng/ml para el primer día y 8.95 ± 4.81 ng/ml, rango 21 ng/ml para el segundo día) sin significación estadística ($z 0.562$; p NS) (Tabla LXIV).

La HCh presenta también un claro incremento nocturno a las 01 y 05 horas (0.99 ± 1.03 ng/ml a las 09 horas; 4.04 ± 2.85 ng/ml a las 01 horas y 1.73 ± 1.17 ng/ml a las 05 horas) siendo el valor de esta última cuantitativamente más parecido a la concentración basal que al máximo valor nocturno (Tabla LXV; Figura 68). Estadísticamente los dos valores muestran distinto grado de significación, alto para las 01 horas ($t 4.517$; $p < 0.001$) y mínimo para las 05 horas ($t 2.154$; $p < 0.05$), existiendo entre ambos una marcada diferencia ($t 3.355$; $p < 0.005$). Nuevamente se aprecia una

PRLh. RITMO NICTAMERAL. SERIE TUMORAL. VALORES GLOBALES

	N	Máx.	Mín.	M	D.S.	R	DIS
PRLh 1ª Basal	50	28	2,3	9,71	5,69	25,7	D.N.N.
PRLh 13 horas	18	13,6	2,6	6,65	2,79	11	D.N.
PRLh 01 horas	50	55	6	19,58	11,19	49	D.N.N.
PRLh 05 horas	50	83	10	25,21	15,79	73	D.N.N.
PRLh 2ª Basal	50	24	3	8,95	4,81	21	D.N.N.

ESTUDIO ESTADISTICO

	F	P	t	p
PRLh 09 - 13 h.	U = 296,5	Z = 2,135	P < 0,05	
PRLh 09 - 01 h	U = 395,5	Z = 5,892	P < 0,001	
PRLh 09 - 05 h	U = 243,5	Z = 6,940	P < 0,001	
PRLh 09 - 09 h	U = 1168,5	Z = 0,562	P NS	
PRLh 13 - 01 h	U = 32,5	Z = 5,805	P < 0,001	
PRLh 13 - 05 h	U = 9	Z = 6,132	P < 0,001	
PRLh 13 - 09 h	U = 322,5	Z = 1,774	P NS	
PRLh 01 - 05 h	U = 895,5	Z = 2,445	P > 0,02	
PRLh 01 - 09 h	U = 316,5	Z = 6,437	P < 0,001	
PRLh 05 - 09 h	U = 172,5	Z = 7,429	P < 0,001	

TABLA LXV

HCh. RITMO NICTAMERAL. SERIE TUMORAL. VALORES GLOBALES

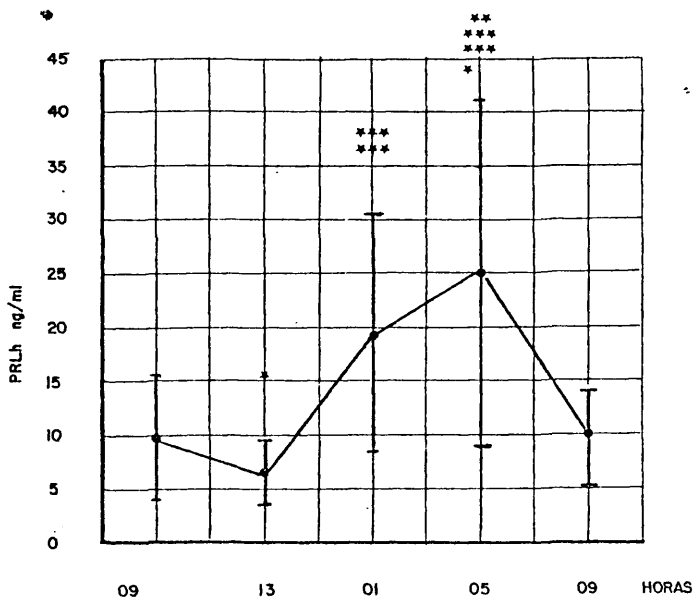
	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Mín.</u>	<u>M</u>	<u>D.S.</u>	<u>R</u>	<u>DIS</u>
HCh 1 ^a Basal	20	4	0,1	0,99	1,03	3,9	D.N.
HCh 01 horas	20	9,6	1,1	4,04	2,85	8,5	D.N.
HCh 05 horas	20	4,9	0,6	1,73	1,17	4,3	D.N.
HCh 2 ^a Basal	20	3	0,1	0,9	0,8	2,9	D.N.

ESTUDIO ESTADISTICO

	<u>F</u>	<u>P</u>	<u>t</u>	<u>P</u>
HCh 09 - 01 h	8,12	>0,01	4,517	<0,001
HCh 09 - 05 h	1,36	<0,05	2,154	<0,05
HCh 09 - 09 h	1,563	<0,05	0,314	N.S.
HCh 01 - 05 h	5,971	>0,01	3,355	<0,005
HCh 01 - 09 h	12,688	>0,01	4,745	<0,001
HCh 05 - 09 h	2,125	=0,05	2,625	<0,02

FIGURA 68

PRLh RITMO NICTAMERAL SERIE TUMOR VALORES GLOBALES



09-13 P < 0.05 *

09-01 P < 0.001 ***

09-05 P < 0.001

13-01 P < 0.001

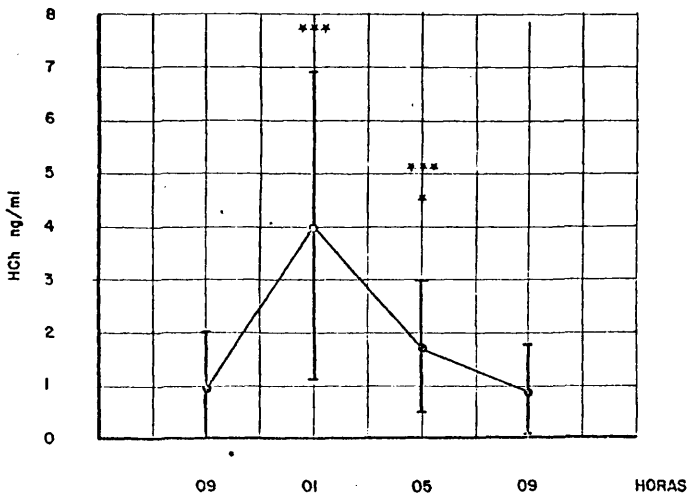
13-05 P < 0.001

01-05 P < 0.02 **

01-09 P < 0.001

05-09 P < 0.001

HCh. RITMO NICTAMERAL SERIE TUMOR VALORES GLOBALES



09-01 P < 0.001 ***

09-05 P < 0.05 *

01-05 P < 0.005 ***

gran dispersión de las medias de cada hora, con rangos muy altos para los pequeños valores absolutos incluidos en la generalidad de cada grupo, consécuencia de la gran heterogeneidad del muestreo (Tabla LXV).

Para PRLh, cuando se comparan los valores globales respecto a sus correspondientes controles destaca una similitud para la cifra media de cada una de las horas establecidas. No solo las basales, como se había comentado en la primera parte de esta tesis, sino que las dos concentraciones nocturnas son prácticamente iguales, aunque con dos diferencias significativas. La primera es la presencia de un rango sistemáticamente más alto en la población tumoral, mucho más acusado para el pico nocturno máximo, y la segunda es la pérdida de la distribución normal en esta serie (Tabla LCVI; Figura 69). Puede, pues, resumirse que aunque los dos ritmos son iguales existen datos que permiten plantear la posibilidad de la presencia de valores extremos, y muy dispares, que definan ritmos diferentes procedentes de una población origen distinta de la población control.

La HCh sigue un patrón similar, con dispersiones muy semejantes para los valores nocturnos y más acusadas para los basales, los únicos que muestran diferencias significativas en el estudio de varianza ($F 3.225$; $p > 0.05$ para el primer día y $F 5.818$; $p > 0.01$ para el segundo día), pero manteniendo ambas series una distribución normal y rangos muy semejantes (Tabla LXVI; Figura 70). Parece, pues, que aunque con diferencias en los valores extremos en algunas de las horas estudiadas las poblaciones origen de las dos series son iguales.

14 E-2) Valores con y sin ciclo menstrual

Los valores de PRLh en el grupo con ciclo menstrual son constantemente más elevados que los apreciados para la misma hora en el grupo sin ciclo menstrual, como se observa en la Tabla LXVII y Figura 71; se conserva el patrón estadístico de la serie global y la heterogeneidad de los valores individuales.

ESTUDIO ESTADISTICO

RITMO NICTAMERAL. SERIE GLOBAL. CONTROL-CANCER

	<u>F</u>	<u>P</u>	<u>t</u>	<u>P</u>
<u>PRLh</u>				
1ª Basal		U = 867,5	Z = 0,494	N.S.
13 horas	4,215	>0,01	2,048	N.S.
01 horas		U = 842	Z = 0,713	N.S.
05 horas		U = 900	Z = 0,215	N.S.
2ª Basal		U = 875	Z = 0,429	N.S.
<u>HCh</u>				
1ª Basal	3,225	>0,05	0,25	N.S.
01 horas	1,027	<0,05	0,111	N.S.
05 horas	1,397	<0,05	1,342	N.S.
2ª Basal	5,818	>0,01	0,421	N.S.

FIGURA 69

PRLh	RITMO	NICTAMERAL	SERIE	TUMORAL	VALORES	GLOBALES		
		N	MAX	MIN	M	DS	RANGO	DIS
1ª BASAL								
	CONTROL	37	22.3	2.8	8.82	4.8	19.5	N
	CANCER	50	28	2.3	9.71	5.69	25.7	NN
13 HORAS								
	CONTROL	11	13.1	3.6	9.08	3.43	9.5	N
	CANCER	18	13.6	2.6	6.65	2.79	11	N
01 HORAS								
	CONTROL	37	42.1	8	19.51	8.61	34.1	N
	CANCER	50	55	6	19.58	11.19	49	NN
05 HORAS								
	CONTROL	37	52.6	6.3	23.45	11.4	46.3	N
	CANCER	50	63	10	25.21	15.79	73	NN
2ª BASAL								
	CONTROL	37	20	2.3	8.32	4.33	17.7	N
	CANCER	50	24	3	8.95	4.81	21	NN

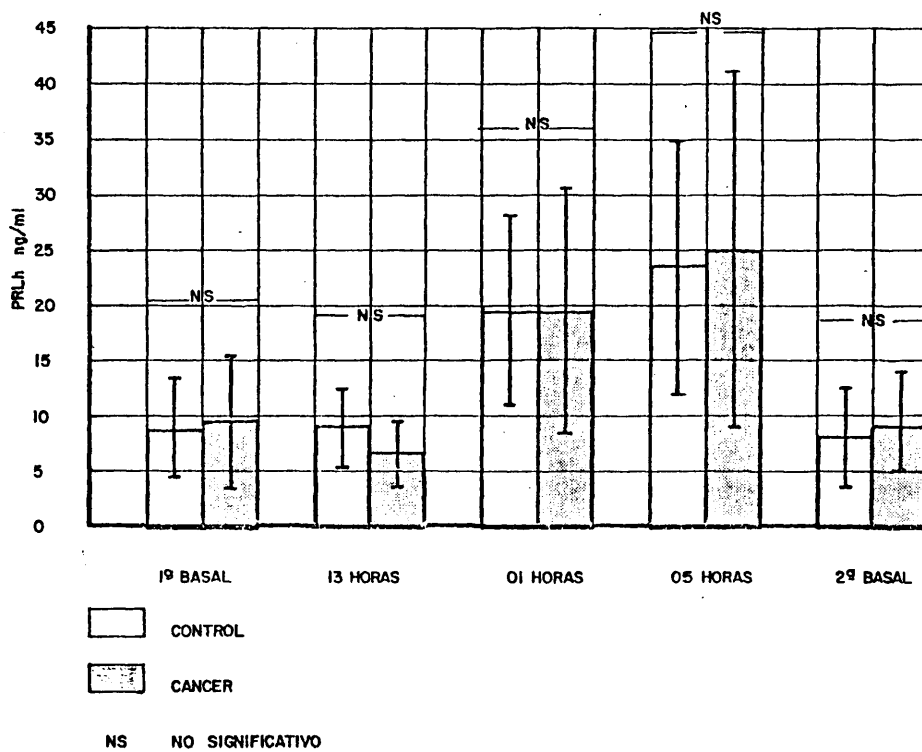
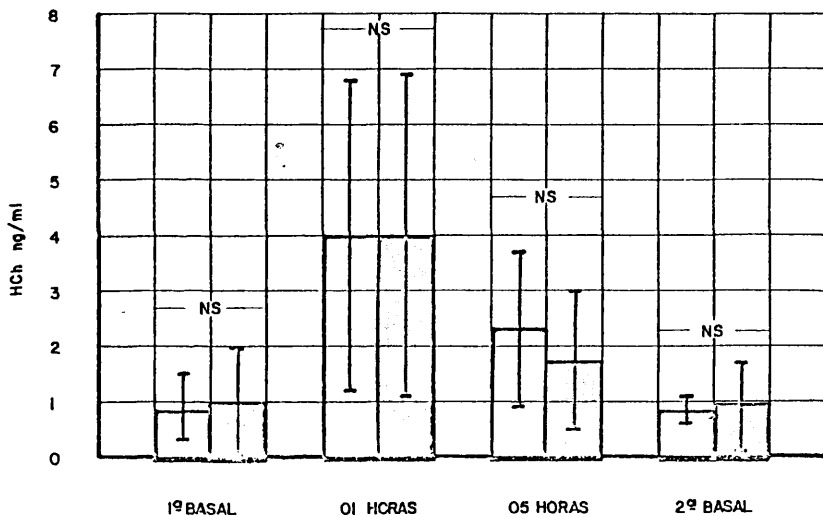


FIGURA 70

HCh	RITMO NICTAMERAL	SERIE TUMORAL	VALORES GLOBALES						
			N	MAX	MIN	M	DS	RANGO	DIS
I BASAL									
	CONTROL		16	2.3	0.2	0.92	0.56	2.1	N
	CANCER		20	4	0.1	0.99	1.03	3.9	N
01 HORAS									
	CONTROL		16	9.9	0.2	4.03	2.81	9.1	N
	CANCER		20	9.6	1.1	4.04	2.85	8.5	N
05 HORAS									
	CONTROL		16	5.6	0.3	2.31	1.38	5.3	N
	CANCER		20	4.9	0.6	1.73	1.17	4.3	N
09 HORAS									
	CONTROL		16	1.5	0.1	0.81	0.33	1.4	N
	CANCER		20	3	0.1	0.9	0.8	2.9	N



CONTROL
 CANCER
 N.S. NO SIGNIFICATIVO

TABLA LXVII

PRLh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL CON Y SIN CICLO MENSTRUAL

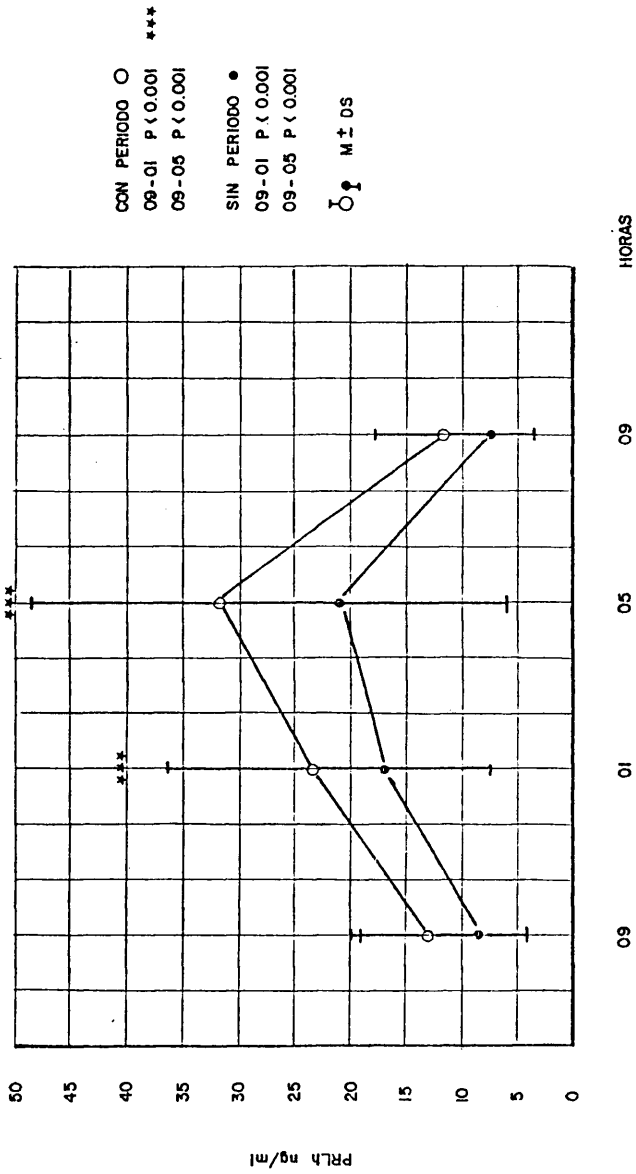
	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Mín.</u>	<u>M</u>	<u>D.S.</u>	<u>R</u>	<u>DIS</u>
PRLh CON CICLO MENSTRUAL							
1 ^a Basal	19	28	8,6	13,05	6,90	19,4	D.N.N
01 horas	19	55	12	23,51	12,97	43	D.N.
05 horas	19	65	12	32,08	16,43	53	D.N.
2 ^a Basal	19	24	5,2	11,90	6,10	18,8	D.N.
PRLh SIN CICLO MENSTRUAL							
1 ^a Basal	31	21	2,3	8,44	4,35	18,7	D.N.N
01 horas	31	50	6	17,18	9,37	44	D.N.N.
05 horas	31	83	10	21	14	73	D.N.N.
2 ^a Basal	31	18,5	3	7,69	3,7	15,5	D.N.

ESTUDIO ESTADISTICO

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
CON CICLO MENSTRUAL				
PRLh 09 - 01 h		U = 62	Z = 3,461	p <0,001
PRLh 09 - 05 h		U = 33	Z = 4,307	p <0,001
PRLh 09 - 09 h		U = 176	Z = 0,131	p N.S
PRLh 01 - 05 h	1,612	<0,05	1,782	N.S.
PRLh 01 - 09 h	5,071	>0,01	3,839	<0,001
PRLh 05 - 09 h	8,178	>0,01	5,264	<0,001
SIN CICLO MENSTRUAL				
PRLh 09 - 01 h		U = 134	Z = 4,880	p <0,001
PRLh 09 - 05 h		U = 75,5	Z = 5,740	p <0,001
PRLh 09 - 09 h		U = 433,5	Z = 0,662	p N.S.
PRLh 01 - 05 h		U = 436,5	Z = 1,887	p N.S.
PRLh 01 - 09 h		U = 96	Z = 5,415	p <0,001
PRLh 05 - 09 h		U = 48	Z = 6,091	p <0,001

FIGURA 71

PRlh. RITMO NICTAMERALE SERIE TUMORAL CON Y SIN CICLO MENSTRUAL.



Comparados entre sí se confirma la persistencia de esta elevación si bien para la primera basal y 01 horas los límites de significación se establecen al nivel mínimo del 95% de fiabilidad fijado en este estudio (z 1.89; $p < 0.1 > 0.05$ y z 1.88; $p < 0.1 > 0.05$) (Tabla LXVIII y Figura 72).

La HCh se mueve con un patrón similar al de la serie global, con rangos muy parecidos para los valores nocturnos (7.8 y 8.2 ng/ml a las 01 horas, y 3 y 4.3 ng/ml para las 05 horas) e inconstancia del significado estadístico para los valores a las 05 horas tanto respecto al valor basal como para el valor a las 01 horas (Tabla LXIX y Figura 73). Puede, pues, establecerse que, al igual que ocurre con los controles, no existe una persistencia de concentraciones nocturnas elevadas y si un pico secretor, muy variable en cuanto a su valor cuantitativo, durante las etapas iniciales del sueño o las primeras horas de la madrugada.

Comparados entre sí los valores de ambos grupos no se observa ningún tipo de diferencia estadísticamente significativa como se refleja en la Tabla LXX y Figura 74.

Cuando se comparan con sus respectivos controles la PRLh no muestra nada más que diferencias significativas para los valores de la primera basal, tanto en el grupo con ciclo menstrual como en el grupo sin él (Tabla LXXI; Figura 75 y 75A), mientras que los valores nocturnos se mueven dentro de límites muy semejantes. Puede, pues, resumirse que los valores diurnos siguen siendo diferentes, mientras que los nocturnos, especialmente en las enfermas con ciclo menstrual, ofrecen una tendencia a presentar cifras individuales más elevadas como muestra el valor de los rangos (01 horas: 30.1 ng/ml para controles con ciclo menstrual y 43 ng/ml para pacientes con cáncer; 05 horas: 36.4 ng/ml para con

TABLA LXVIII

ESTUDIO ESTADISTICO

PRLh SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL CON Y SIN CICLO MENSTRUAL

	<u>F</u>	<u>P</u>	<u>t</u>	<u>P</u>
PRLh 1 ^a Basal con ciclo menstrual				
PRLh 1 ^a Basal sin ciclo menstrual	U = 200	Z = 1,89	P	<0,05
PRLh 01 horas con ciclo menstrual				495
PRLh 01 horas sin ciclo menstrual	U = 200,5	Z = 1,88	P	<0,05
PRLh 05 horas con ciclo menstrual				
PRLh 05 horas sin ciclo menstrual	U = 158,5	Z = 2,720	P	<0,002
PRLh 2 ^a Basal con ciclo menstrual				
PRLh 2 ^a Basal sin ciclo menstrual	3,521	>0,05	2,662	<0,01

FIGURA 72
 PRL-H. RITMO NICTAMERALE SERIE TUMORAL CON Y SIN CICLO MENSTRUAL.

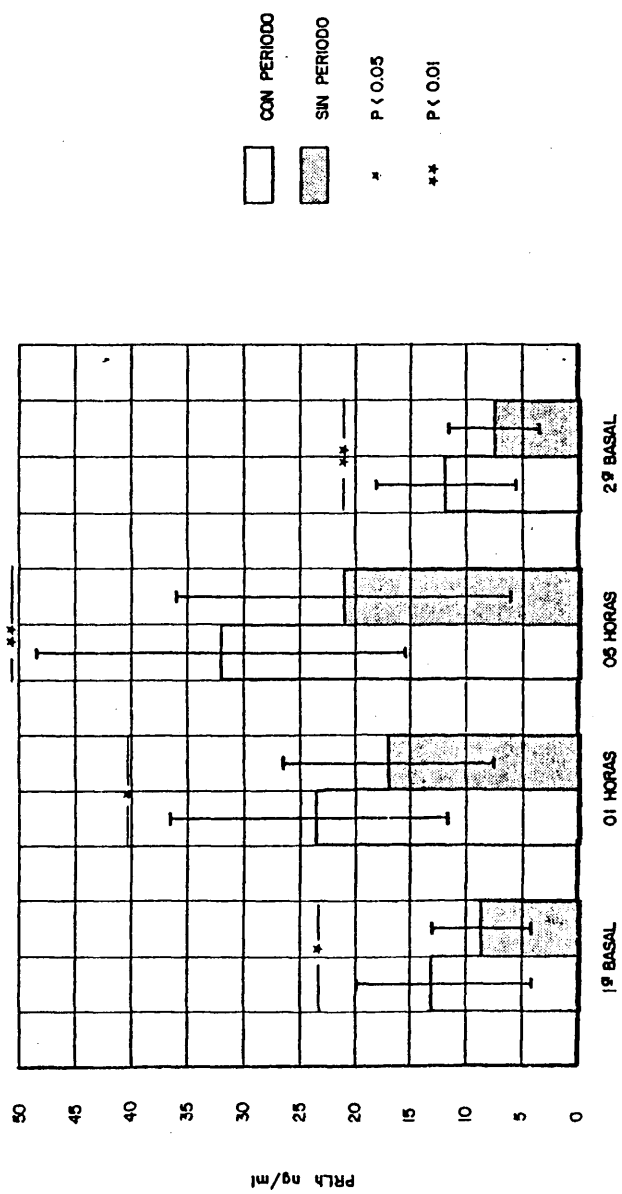


TABLA LXIX

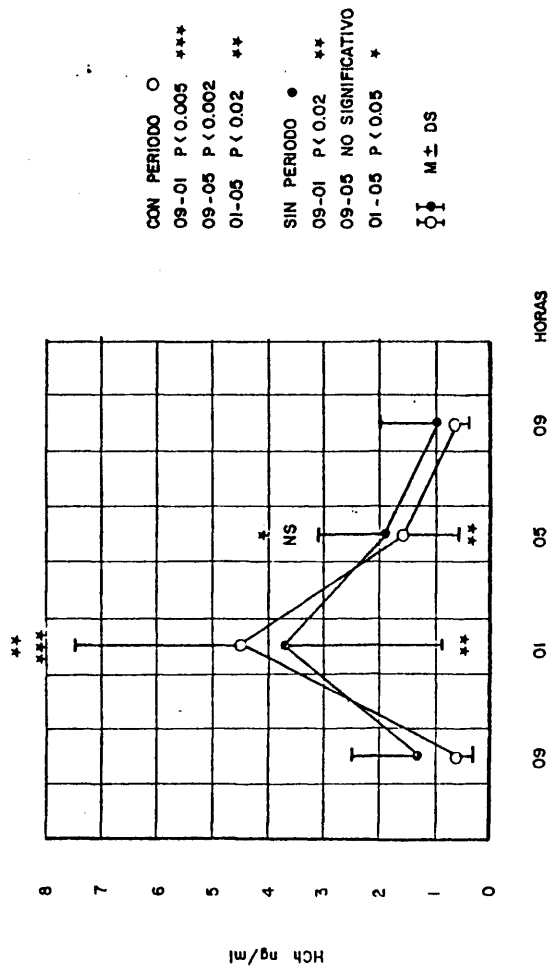
HCh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMEPAL CON Y SIN CICLO MENSTRUAL

	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Mín.</u>	<u>M</u>	<u>D.S.</u>	<u>R</u>	<u>DIS</u>
HCh CON CICLO MENSTRUAL							
1 ^a Basal	8	1	0,3	0,57	0,26	0,7	D.N.
01 horas	8	8,9	1,1	4,5	3	7,8	D.N.
05 horas	8	4	1	1,6	0,96	3	D.N.N.
2 ^a Basal	8	1	0,2	0,66	0,30	0,8	D.N.
HCh SIN CICLO MENSTRUAL							
1 ^a Basal	12	4	0,1	1,26	1,26	3,9	D.N.
01 horas	12	9,6	1,4	3,74	2,83	8,2	D.N.
05 horas	12	4,9	0,6	1,79	1,33	4,3	D.N.
2 ^a Basal	12	3	0,1	1,05	0,99	2,9	D.N.

ESTUDIO ESTADISTICO

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
HCh CON CICLO MENSTRUAL				
HCh 09 - 01 h	133,136	>0,01	3,692	<0,005
HCh 09 - 05 h	U = 0,5	Z =	3,328	p <0,002
HCh 09 - 09 h	1,331	<0,05	0,642	N.S.
HCh 01 - 05 h	U = 11	Z =	2,209	p >0,02
HCh 01 - 09 h	100,00	>0,01	3,602	<0,005
HCh 05 - 09 h	U = 0,5	Z =	3,325	p <0,001
HCh SIN CICLO MENSTRUAL				
HCh 09 - 01 h	5,044	>0,01	2,776	<0,02
HCh 09 - 05 h	1,114	<0,05	1,005	N.S.
HCh 09 - 09 h	1,612	<0,05	0,455	N.S.
HCh 01 - 05 h	4,545	>0,01	2,162	<0,05
HCh 01 - 09 h	8,163	>0,01	3,11	=0,005
HCh 05 - 09 h	1,796	<0,05	1,549	N.S.

FIGURA 73
 HCh. RITMO NICTAMERAL SERIE TUMORAL CON Y SIN CICLO MENSTRUAL

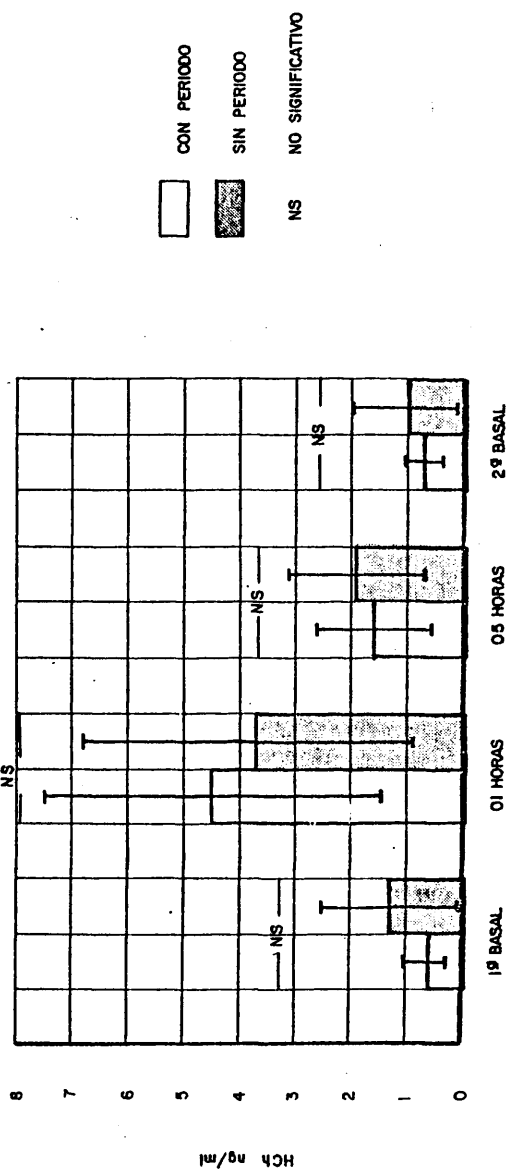


ESTUDIO ESTADISTICO

HCh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL CON Y SIN CICLO MENSTRUAL

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
HCh 1 ^a Basal con ciclo menstrual				
HCh 1 ^a Basal sin ciclo menstrual	23,485	>0,01	1,518	N.S.
HCh 01 horas con ciclo menstrual				
HCh 01 horas sin ciclo menstrual	1,125	<0,05	0,568	N.S.
HCh 05 horas con ciclo menstrual				
HCh 05 horas sin ciclo menstrual	U =	44,5	Z = 0,271	p N.S.
HCh 2 ^a Basal con ciclo menstrual				
HCh 2 ^a Basal sin ciclo menstrual	10,890	>0,01	1,073	N.S.

FIGURA 74
HCH. RITMO NICTAMÉRAL SERIE TUMORAL CON Y SIN CICLO MENSTRUAL.



ESTUDIO ESTADISTICO

PRlh. RITMO NICTAMERAL SEGUN CICLO MENSTRUAL. CONTROL-CANCER

	<u>F</u>	<u>P</u>	<u>t</u>	<u>P</u>
PRlh CON CICLO MENSTRUAL				
1ª Basal	U = 187	Z =	1,992	<0,05
01 horas	0,445	<0,05	0,743	N.S.
05 horas	0,416	<0,05	1,195	N.S.
2ª Basal	0,442	<0,05	1,354	N.S.
PRlh SIN CICLO MENSTRUAL				
1ª Basal	U = 295,5	Z =	2,105	<0,05
01 horas	U = 266,5	Z =	0,560	N.S.
05 horas	U = 292	Z =	0,05	N.S.
2ª Basal	2,455	<0,05	1,755	N.S.

FIGURA 75

PRLh RITMO NICTAMERAL CON Y SIN CICLO MENSTRUAL . CONTROL - CANCER .

CON PERIODO

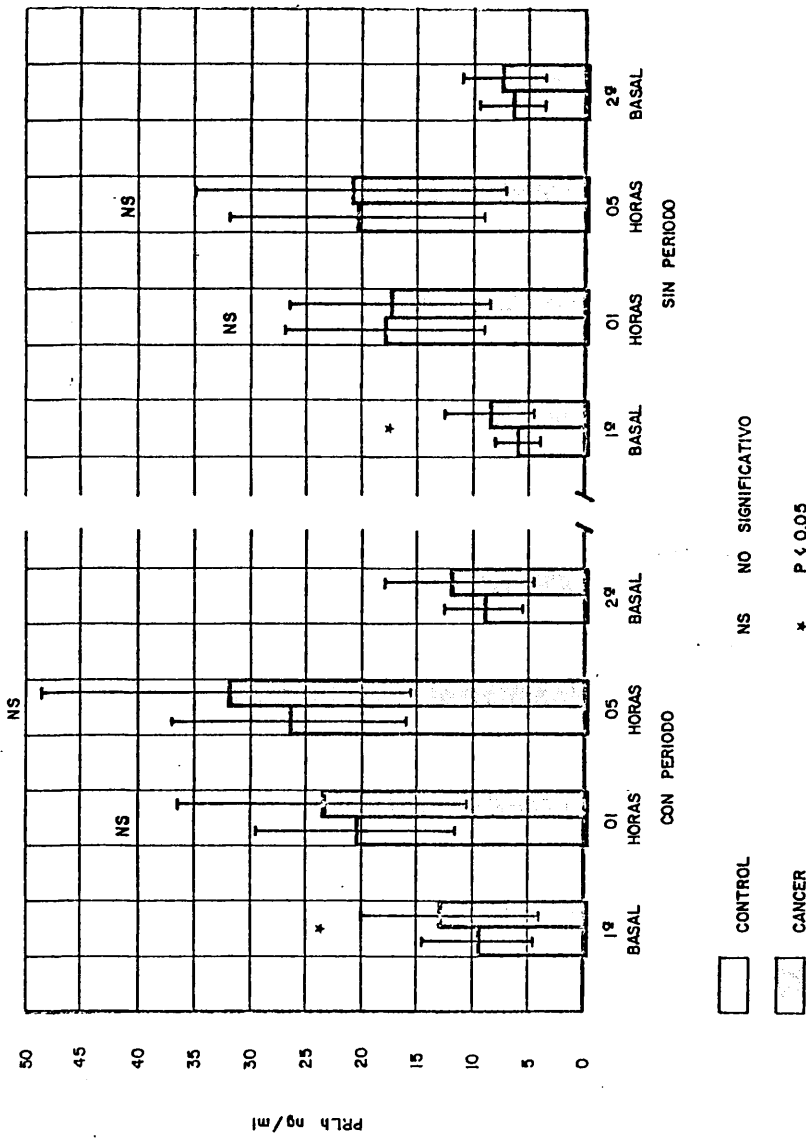
	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
1º BASAL						
CONTROL	18	22.3	5	9.56	4.29	17.3
CANCER	19	28	8.6	13.05	6.90	19.4
01 HORAS						
CONTROL	18	42.1	12.	20.83	8.65	30.1
CANCER	19	55	12	23.51	12.97	43
05 HORAS						
CONTROL	18	50	13.6	26.6	10.62	36.8
CANCER	19	65	12	32.08	16.43	53
2º BASAL						
CONTROL	18	18.9	3.6	8.82	3.83	15.3
CANCER	19	24	5.2	11.90	6.10	18.8

SIN PERIODO

1º BASAL						
CONTROL	19	18.9	2.8	5.91	2.15	16.1
CANCER	31	21	2.3	8.44	4.35	18.7
01 HORAS						
CONTROL	19	39.4	8	18.25	8.61	31.4
CANCER	31	50	6	17.18	9.37	47
05 HORAS						
CONTROL	19	52.6	6.3	20.46	11.58	46.3
CANCER	31	83	10	21	14	73
2º BASAL						
CONTROL	19	15.7	2.3	6.44	3.12	13.4
CANCER	31	18.5	3	7.69	3.7	15.5

FIGURA 75A

PRLh RITMO NICTAMERAL CON Y SIN CICLO MENSTRUAL. CONTROL - CANCER



troles con ciclo menstrual y 53 ng/ml para pacientes con cáncer; 01 horas: 31.4 ng/ml para controles sin ciclo menstrual y 44 ng/ml para pacientes con cancer; 05 horas: 46.3 ng/ml para controles sin ciclo menstrual y 73 ng/ml para pacientes con cáncer (Figura 75).

La HCh, como se resume en la Tabla LXXII y Figura 76 y 76A, no presenta respecto a sus controles un patrón estable de modificación a lo largo del día. Mientras que las concentraciones basales son discretamente menores (aunque no significativas) para el grupo con ciclo menstrual, en el grupo sin ciclo para cifras medias muy similares se aprecian desviaciones extremas, con rangos mucho mayores (1.4 y 3.9 ng/ml y 1.1 y 2.9 ng/ml), mostrando concentraciones nocturnas medias y desviaciones muy semejantes que no permiten obtener conclusiones definitivas, aunque puede suponerse la presencia de casos aislados que ofrecen concentraciones constantemente mayores.

Para el grupo con ciclo menstrual y en lo que a PRLh concierne, se ha podido estudiar 11 pacientes en fase folicular y 8 en fase luteal, cuyos valores y representación gráfica se resumen en la Tabla LXXIII y en la Figura 77. Puede apreciarse claramente como, dentro de una distribución normal de los valores de cada hora, existe una persistente elevación media durante la segunda fase del ciclo respecto a la primera, conservando ambos grupos unos perfiles normales con rangos muy similares.

Esta diferencia, estadísticamente significativa para todas las horas, se aprecia claramente al comparar entre sí los valores de cada grupo, quienes mantienen, además, una homogeneidad en el origen de sus poblaciones como se deriva de la no significación del estudio de varianza (Tabla LXXIV; Figura 78). Puede, pues, resumirse que, de forma constante, las pacientes con cancer en fase luteal presentan cifras medias de PRLh más elevadas que las pacientes en fase folicular.

TABLA LXXII

ESTUDIO ESTADISTICO

HCh. RITMO NICTAMERAL SEGUN CICLO MENSTRUAL. CONTROL-CANCER

	F	P	t	P
HCh CON CICLO MENSTRUAL				
1ª BASAL	6,640	>0,01	1,084	N.S.
01 horas	1,234	<0,05	1,154	N.S.
05 horas	U = 345,8 Z = 1,407		1,407	N.S.
2ª BASAL	7,84	>0,01	1,848	<0,1 >0,05
HCh SIN CICLO MENSTRUAL				
1ª BASAL	7,502	>0,01	1,369	N.S.
01 horas	1,389	<0,05	1,005	N.S.
05 horas	1,691	<0,05	1,284	N.S.
2ª BASAL	9,571	>0,01	1,363	N.S.

FIGURA 76

HCH RITMO NICTAMERAL CON Y SIN CICLO MENSTRUAL. CONTROL - CANCER.

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
CON PERIODO						
1º BASAL						
CONTROL	8	2.3	0.3	0.93	0.67	2
CANCER	8	1	0.3	0.57	0.26	0.7
01 HORAS						
CONTROL	8	8.7	1.6	3.90	2.73	7.1
CANCER	8	8.9	1.1	4.50	3	7.8
05 HORAS						
CONTROL	8	3.6	0.7	2.40	1.17	2.9
CANCER	8	4	1	1.60	0.96	3
2º BASAL						
CONTROL	8	1.5	0.5	1.22	0.84	1
CANCER	8	1	0.2	0.66	0.30	0.8
SIN PERIODO						
1º BASAL						
CONTROL	8	1.6	0.2	0.92	0.46	1.4
CANCER	12	4	0.1	1.26	1.26	3.9
01 HORAS						
CONTROL	8	9.9	0.2	3.76	3.30	9.7
CANCER	12	9.6	1.4	3.74	2.83	8.2
05 HORAS						
CONTROL	8	5.6	0.3	2.30	1.73	5.3
CANCER	12	4.9	0.6	1.79	1.33	4.3
2º BASAL						
CONTROL	8	1.2	0.1	0.77	0.32	1.1
CANCER	12	3	0.1	1.05	0.99	2.9

FIGURA 76A

HCR. RITMO NICTAMERAM CON Y SIN CICLO MENSTRUAL. CONTROL - CANCER

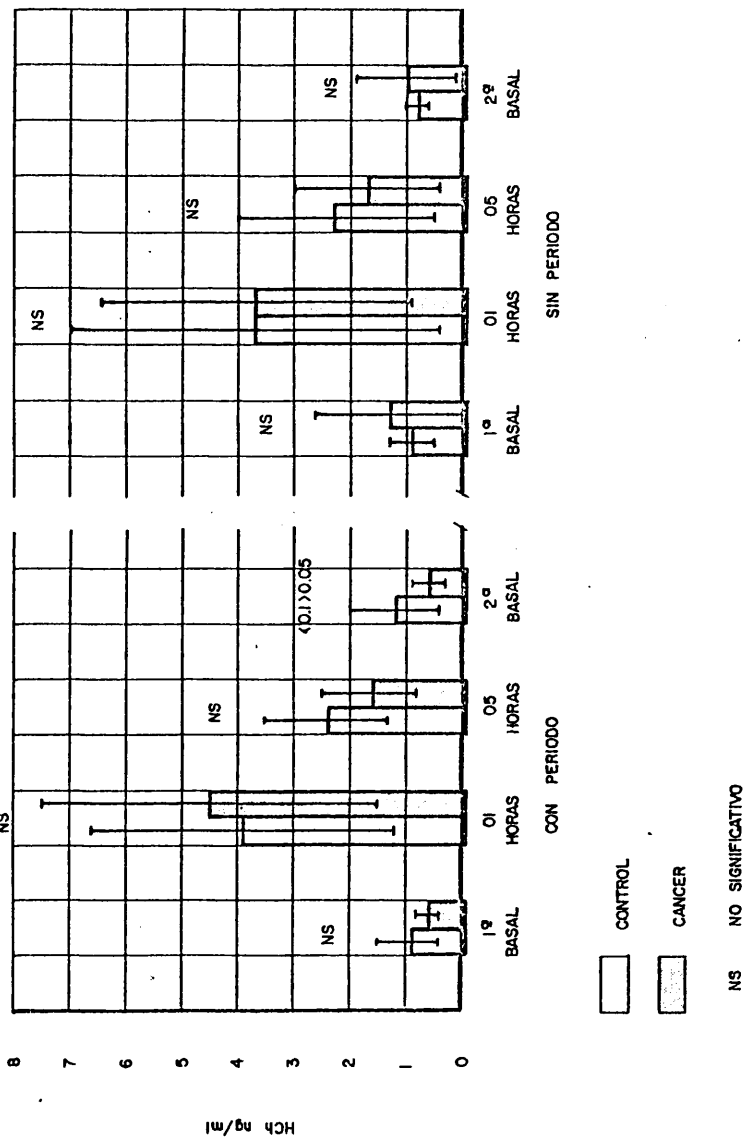


TABLA LXXIII

PRLh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL SEGUN LA FASE DEL CICLO
MENSTRUAL

	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Mín.</u>	<u>M</u>	<u>D.S.</u>	<u>R</u>	<u>DIS</u>
PRLh FASE FOLICULAR							
1 ^a Basal	11	21	6	10,61	5,40	15	D.N.
01 horas	11	40	12	20,33	9,87	38	D.N.
05 horas	11	65	12	28,1	16,65	53	D.N.
2 ^a Basal	11	20	5,2	10,52	5,32	14,8	D.N.
PRLh FASE LUTEAL							
1 ^a Basal	8	28	8,6	16,77	7,70	19,4	D.N.
01 horas	8	55	12,6	30,37	15,7	42,4	D.N.
05 horas	8	60	18,4	40	15,3	41,6	D.N.
2 ^a Basal	8	24	5,5	13,78	7,01	16,5	D.N.

ESTUDIO ESTADISTICO

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
PRLh FASE FOLICULAR				
09 - 01 h	3,335	>0,05	3,244	<0,005
09 - 05 h	9,47	>0,01	4,103	<0,001
09 - 09 h	1,031	<0,05	0,364	N.S.
01 - 05 h	2,855	>0,05	1,231	N.S.
01 - 09 h	3,44	>0,05	3,53	<0,005
05 - 09 h	9,777	>0,01	4,333	<0,001
PRLh FASE LUTEAL				
09 - 01 h	4,164	>0,05	2,313	<0,05
09 - 05 h	3,66	>0,05	3,93	<0,001
09 - 09 h	1,204	<0,05	0,46	N.S.
01 - 015 h	1,138	<0,05	1,248	N.S.
01 - 09 h	5,020	>0,01	2,693	<0,02
05 - 09 h	4,408	>0,05	4,39	<0,001

FIGURA 77

PRlh. RITMO NICTAMERAL SERIE TUMORAL SEGUN FASE CICLO MENSTRUAL.

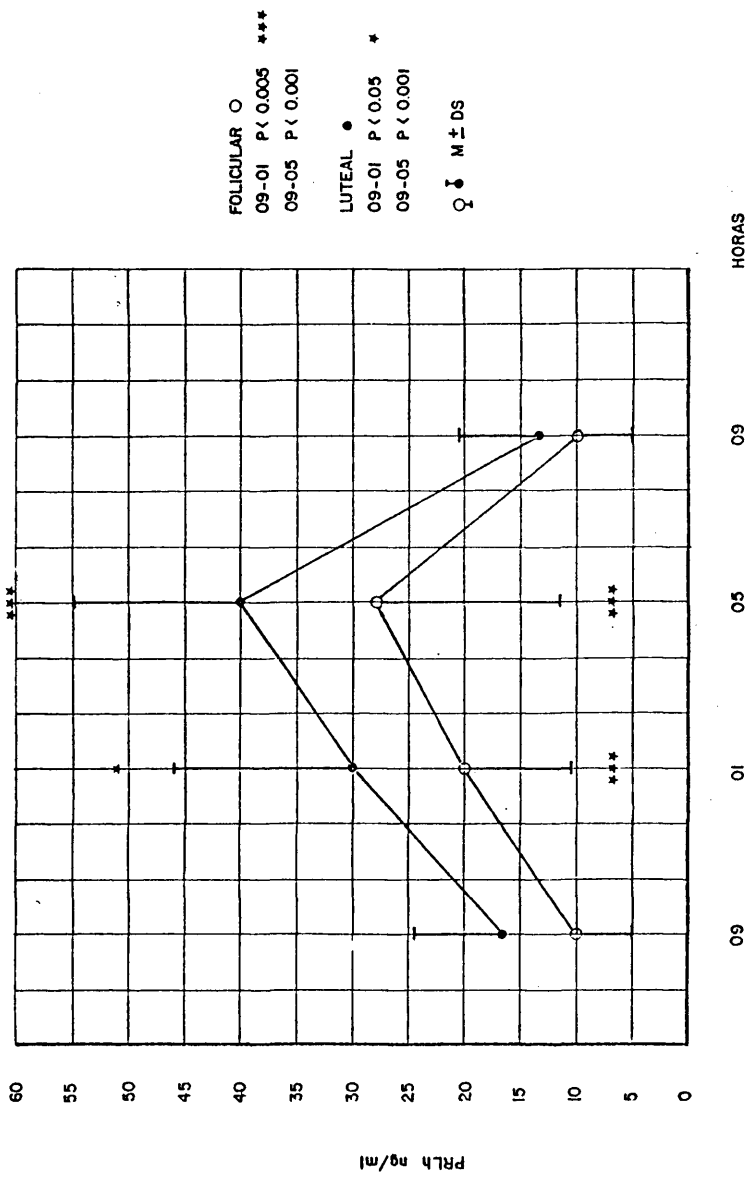


TABLA LXXIV

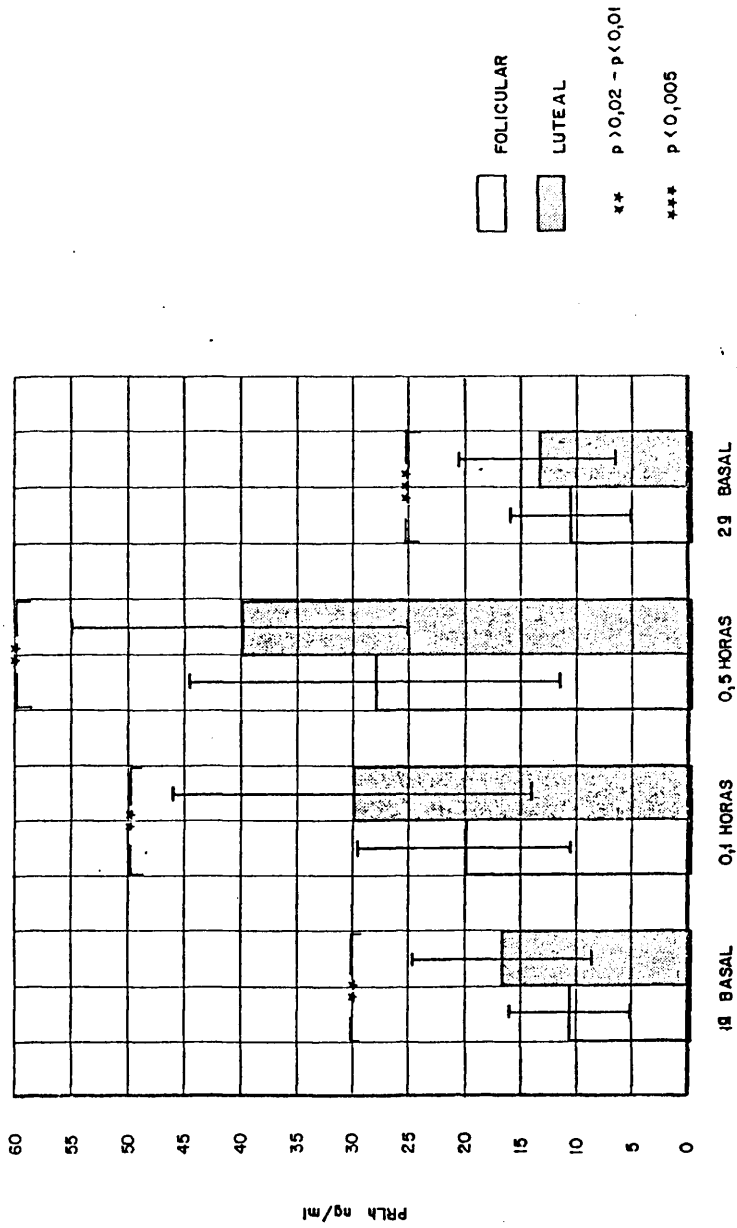
ESTUDIO ESTADISTICO

PRLH. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL. SEGUN FASE CICLO MENSTRUAL

	<u>F</u>	<u>P</u>	<u>t</u>	<u>P</u>
PRLh 1 ^a Basal F. follicular				
PRLh 1 ^a Basal F. luteal	2,033	<0,05	3,064	<0,01
PRLh 01 horas F. follicular				
PRLh 01 horas F. luteal	5,5302	<0,05	2,528	<0,025
PRLh 05 horas F. follicular				
PRLh 05 horas F. luteal	1,184	<0,05	2,959	<0,01
PRLh 2 ^a Basal F. Follicular				
PRLh 2 ^a Basal F. luteal	1,736	<0,05	3,193	<0,005

FIGURA 78

PRLH. RITMO NICTAMERAL SERIE TUMORAL SEGUN FASE CICLO MENSTRUAL.



Comparadas respecto a la serie control (Tabla LXXV, Figura 79 y 79A) dos hechos parecen significativos. El primero es que durante la fase folicular, a pesar de una semejanza entre los valores medios, la dispersión de la serie tumoral es mucho mayor, lo que sugiere la presencia de valores extremos como queda reflejado en las diferencias de los rangos. En segundo lugar, dentro de una distribución homogénea de todas las muestras, las pacientes cancerosas en fase luteal muestran cifras constantemente más elevadas que sus controles con significaciones estadísticas a niveles de $p < 0.05$ y $p < 0.025$.

14 E-3) Valores según el estadio sexual

Desglosando la división general con y sin ciclo menstrual en los tres grupos que pueden conformarla (fértiles, climatéricas y postmenopáusicas) se acentúan aún más las diferencias observadas inicialmente.

Para PRLh (Tabla LXXVI y Figura 80), quien mantiene un ritmo normal en los tres grupos, destaca la progresiva disminución de la media de los valores tabulados para el grupo de postmenopáusicas con una clara diferencia, especialmente para los valores nocturnos, respecto a fértiles y climatéricas (que muestran un comportamiento muy similar). De manera general fértiles y postmenopáusicas muestran diferencias estadísticamente significativas (Tabla LXXVII y Figura 81).

Pero, además, junto a la presencia de importantes dispersiones para los valores nocturnos, hasta ahora fenómeno característico en toda esta tesis, aún con rangos bastantes semejantes en general (con la excepción de las 05 horas en las postmenopáusicas debido a la presencia de una muestra individual muy elevada) destaca la pérdida absoluta de la distribución normal en el

TABLA LXXV

ESTUDIO ESTADISTICO

PRLh. RITMO NICTAMERAL SEGUN FASE CILCO MENSTRUAL. CONTROL-CANCER

	F	P	t	P
PRLh FASE FOLICULAR				
1 ^a BASAL	4,506	>0,05	0,737	N.S.
01 horas	4,513	>0,05	0,455	N.S.
05 horas	2,797	<0,05	1,093	N.S.
2 ^a BASAL	3,930	>0,05	1,324	N.S.
PRLh FASE LUTEAL				
1 ^a BASAL	2,033	<0,05	2,2413	<0,025
01 horas	2,139	<0,05	0,969	<N.S.
05 horas	1,534	<0,05	2,4040	<0,05
2 ^a BASAL	2,041	<0,05	2,1485	<0,05

FIGURA 79

PRLN. RITMO NICTAMERAL SEGUN FASE CICLO MENSTRUAL. CONTROL - CANCER..

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
F. FOLICULAR						
1º BASAL						
CONTROL	9	14	5	8.41	2.54	9
CANCER	11	21	6	10.61	5.40	15
01 HORAS						
CONTROL	9	26	12	17.68	4.65	14
CANCER	11	40	12	20.33	9.87	38
05 HORAS						
CONTROL	9	50	14	26.44	9.95	36
CANCER	11	65	12	28.1	16.65	53
2º BASAL						
CONTROL	9	14.5	5	8.67	2.70	9.5
CANCER	11	20	5.2	10.52	5.32	14.8
F. LUTEAL						
1º BASAL						
CONTROL	9	22.3	5.2	10.71	5.45	17.1
CANCER	8	28	8.6	16.77	7.70	19.4
01 HORAS						
CONTROL	9	42.1	13.1	23.97	10.74	29
CANCER	8	55	12.6	30.37	15.70	42.4
05 HORAS						
CONTROL	9	47.3	13.6	26.76	11.86	33.7
CANCE	8	60	18.4	40	15.30	4.6
2º BASAL						
CONTROL	9	18.9	3.6	8.96	4.89	15.3
CANCER	8	24	5.5	13.78	7.01	16.5

FIGURA 79A

PRLh. RITMO NICTAMERAL SEGUN FASE CICLO MENSTRUAL. CONTROL - CANCER.

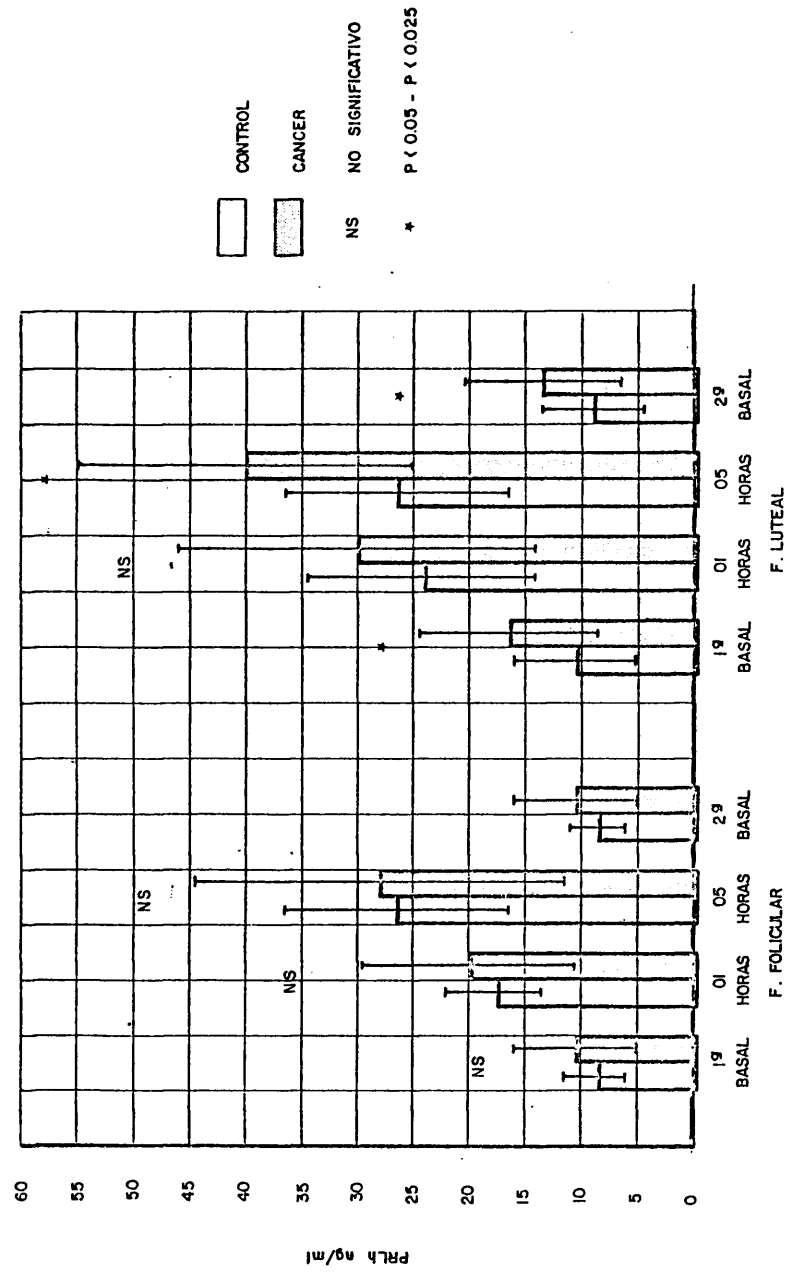


TABLA LXXVI

PRlh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL SEGUN PERIODO SEXUAL

PRlh FERTILES	N	Máx.	Min.	M	DS	R	DIS.
1ª BASAL	13	28	5,7	12,75	7,6	22,3	DNN
01 horas	13	55	12	21,93	13,34	43	DN
05 horas	13	60	12	31,53	16,88	48	DN
2ª BASAL	13	24	5,2	11,92	6,35	18,8	DN

PRlh CLIMATERICAS

1ª BASAL	11	21	4	11,04	5,39	17	DN
01 horas	11	45	12,6	23,91	11,38	32,4	DN
05 horas	11	65	15	26,34	14,6	50	DN
2ª BASAL	11	19	3,6	9,19	4,4	15,4	DN

PRlh POSTMENOPAUSICAS

1ª BASAL	26	21	2,3	8,53	4,47	18,7	DNN
01 horas	26	50	6	16,57	9,36	44	DNN
05 horas	26	83	10	21,58	15,22	73	DNN
2ª BASAL	26	18,5	3	7,87	3,88	15,5	DNN

ESTUDIO ESTADÍSTICO

PRLh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL SEGUN PERIODO SEXUAL

PRLh FERTILES	F	P	t	P
09-01 h	U = 31,5	Z = 2,719	<0,01	<0,01
09-05 h	U = 18	Z = 3,411	<0,001	<0,001
09-09 h	U = 77	Z = 0,385	N.S.	N.S.
01-05 h	0,625	<0,05	1,609	N.S.
01-09 h	4,413	>0,01	2,687	<0,02
05-09 h	7,067	>0,01	4,12	<0,001

517

PRLh CLIMATERICAS

09-01 h	0,224	<0,05	3,703	<0,005
09-05 h	0,136	<0,05	3,514	<0,005
09-09 h	1,501	<0,05	0,315	N.S.
01-05 h	0,608	<0,05	0,435	N.S.
01-09 h	6,689	>0,01	4,001	<0,001
05-09 h	11,01	>0,01	3,73	<0,005

PRLh POSTMENOPAUSICAS

09-01 h	U = 105,5	Z = 4,256	<0,001	<0,001
09-05 h	U = 59	Z = 5,107	<0,001	<0,001
09-09 h	U = 300	Z = 0,696	N.S.	N.S.
01-05 h	U = 228,5	Z = 2,005	<0,005	<0,005
01-09 h	U = 84	Z = 4,650	<0,001	<0,001
05-09 h	U = 43,5	Z = 5,391	<0,001	<0,001

FIGURA 80
 PRLh. RITMO NICTAMERAL SERIE TUMORAL SEGUN PERIODO SEXUAL

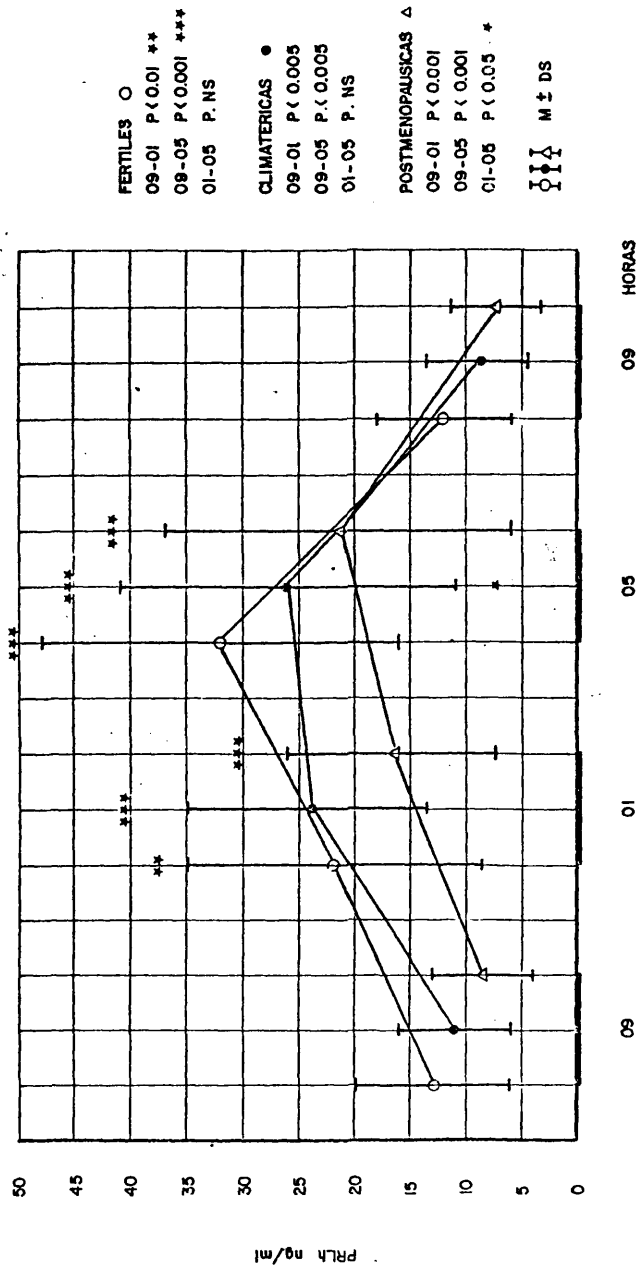


TABLA LXXVII

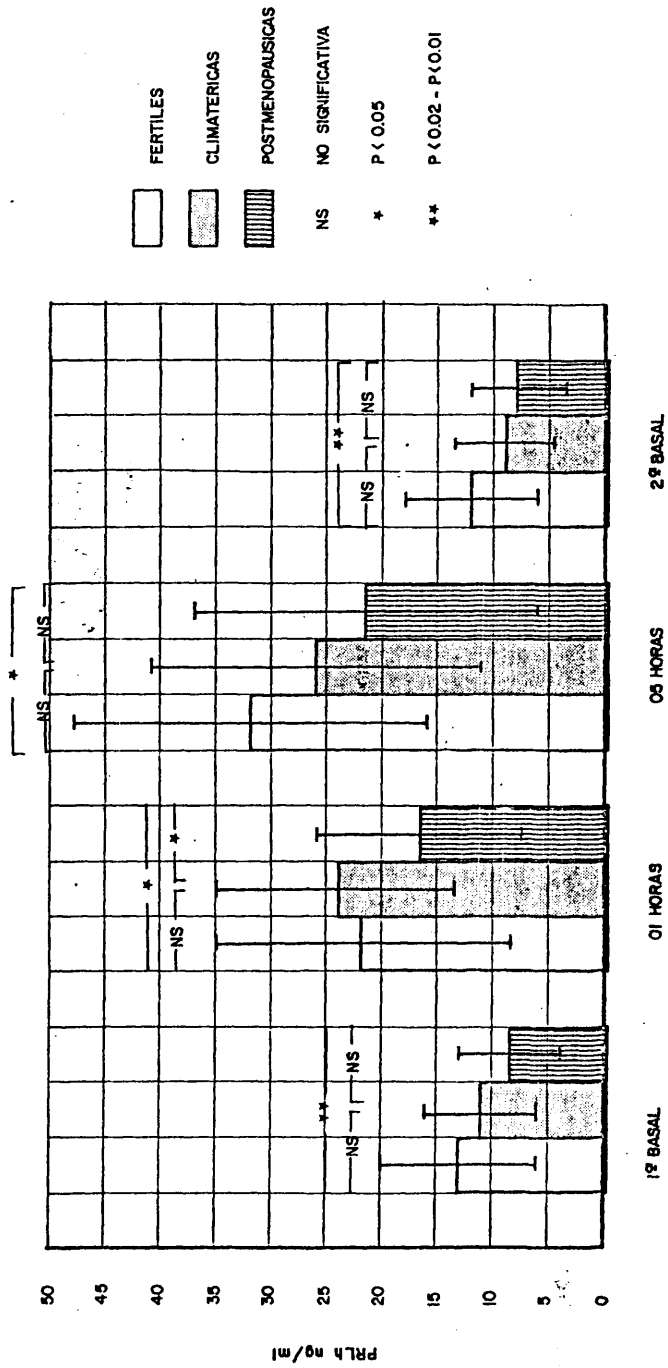
ESTUDIO ESTADISTICO

PRLh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO SEXUAL

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
<u>1ª BASAL</u>				
PRLh fértiles -				
PRLh climatéricas	U = 58,5	Z = 0,754		N.S.
PRLh fértiles -				
PRLh postmenopáusicas	U = 116,5	Z = 2,565		<0,02
PRLh climatéricas -				
PRLh postmenopáusicas	U = 128,5	Z = 0,482		N.S.
<u>01 horas</u>				
PRLh fértiles -				
PRLh climatéricas	1,374	<0,05	0,392	N.S.
PRLh fértiles -				
PRLh postmenopáusicas	U = 120,5	Z = 1,445		N.S.
PRLh climatéricas -				
PRLh postmenopáusicas	U = 75,5	Z = 2,245		0,05
<u>05 horas</u>				
PRLh fértiles -				
PRLh climatéricas	1,337	<0,05	0,808	N.S.
PRLh fértiles -				
PRLh postmenopáusicas	U = 102,5	Z = 1,982		<0,05
PRLh climatéricas -				
PRLh postmenopáusicas	U = 96	Z = 1,563		N.S.
<u>2ª BASAL</u>				
PRLh fértiles -				
PRLh climatéricas	2,673	>0,05	0,785	N.S.
PRLh fértiles -				
PRLh postmenopáusicas	U = 112	Z = 2,699		<0,01
PRLh climatéricas -				
PRLh postmenopáusicas	U = 111	Z = 1,064		N.S.

FIGURA 81

PRCh. RITMO NICTAMERAL SERIE TUMORAL SEGUN ESTADIO SEXUAL



grupo postmenopáusico para cualquier hora considerada (Tabla LXXVI). En resumen, que las pacientes postmenopáusicas muestran una tendencia a presentar valores de PRLh más bajos y desplazados hacia una distribución agrupada en un extremo, que obliga a un estudio individual de los datos del muestreo.

La HCh (Tabla LXXVIII y Figura 82) muestra una serie de modificaciones en el perfil del ritmo que la apartan del patrón general establecido en la serie global y en los controles. Mientras que las fértiles y postmenopáusicas muestran claros incrementos a las 01 horas respecto al valor basal, con una amplia dispersión para este último grupo y con un rango de 8.1 ng/ml respecto a los 3 ng/ml en las fértiles, las pacientes consideradas como climatéricas pierden la significación estadística para los valores nocturnos adoptando un ritmo medio que tienden al aplanamiento (Tabla LXXVIII).

Sin embargo, cuando se comparan los valores de cada hora entre los distintos grupos estudiados (Tabla LXXIX y Figura 83) se aprecia la no significación estadística de ninguno de ellos, siendo tan solo característica la gran heterogeneidad de las varianzas para las basales como consecuencia de la gran dispersión del grupo climatérico. Puede, pues, considerarse que no existe un patrón característico para el perfil de HCh, predominando tan solo las variaciones individuales.

La comparación de los valores de PRLh con sus respectivos controles revela algunos resultados que merecen especial atención (Tabla LXXX y Figura 84 y 84A). Así, el grupo fértil presenta cifras significativamente más elevadas que su control, tanto a nivel basal como en el pico nocturno de las 05 horas. Las climatéricas se comportan con cifras medias muy similares y no significativas, pero con rango claramente aumentado en la serie tumoral lo que, aún a pesar de la homogeneidad del estudio de varianza, no exclu

TABLA LXXVIII
HCh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO SEXUAL

HCh FERTILES	N	Máx.	Mín.	M	DS	R	DIS.
1ª BASAL	5	1	0,3	0,56	0,28	0,7	DN
01 horas	5	8	3	4,86	2,43	5	DN
05 horas	5	4	1	1,84	1,22	3	DN
2ª BASAL	5	0,9	0,2	0,51	0,27	0,7	DN
HCh CLIMATERICAS							
1ª BASAL	7	4	0,3	1,31	1,4	3,7	DN
01 horas	7	8,9	1,1	3,21	2,66	7,8	DN
05 horas	7	4,9	0,8	2,07	1,48	4,1	DN
2ª BASAL	7	3	0,2	1,24	0,94	2,8	DN
HCh POSTMENOPAUSICAS							
1ª BASAL	8	3	0,1	0,975	0,972	2,9	DN
01 horas	8	9,6	1,5	4,26	3,36	8,1	DN
05 horas	8	3,1	0,6	1,36	0,85	2,5	DN
2ª BASAL	8	2,5	0,1	0,85	0,84	2,4	DN

HCh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO SEXUAL

HCh FERTILES	F	P	t	P
09-01 h	0,013	<0,05	3,933	<0,005
09-05 h	0,053	<0,05	2,293	N.S.
09-09 h	1,083	<0,05	0,346	N.S.
01-05 h	3,936	>0,05	2,486	<0,05
01-09 h	81,944	>0,01	3,989	<0,005
05-09 h	20,556	>0,01	2,405	<0,05

HCh CLIMATERICAS

09-01 h	0,277	<0,05	1,673	N.S.
09-05 h	0,895	<0,05	0,987	N.S.
09-09 h	2,227	<0,05	0,11	N.S.
01-05 h	3,228	>0,05	0,991	N.S.
01-09 h	8,034	>0,05	1,849	N.S.
05-09 h	2,489	<0,05	1,253	N.S.

HCh POSTMENOPAUSICAS

09-01 h	0,083	<0,05	2,662	<0,02
09-05 h	1,306	<0,05	0,856	N.S.
09-09 h	1,343	<0,05	0,265	N.S.
01-05 h	15,667	>0,01	2,368	<0,05
01-09 h	16,114	>0,01	2,787	<0,02
05-09 h	1,029	<0,05	1,211	N.S.

FIGURA 82
HCH RITMO NICTAMERAL SERIE TUMORAL SEGUN ESTADIO SEXUAL

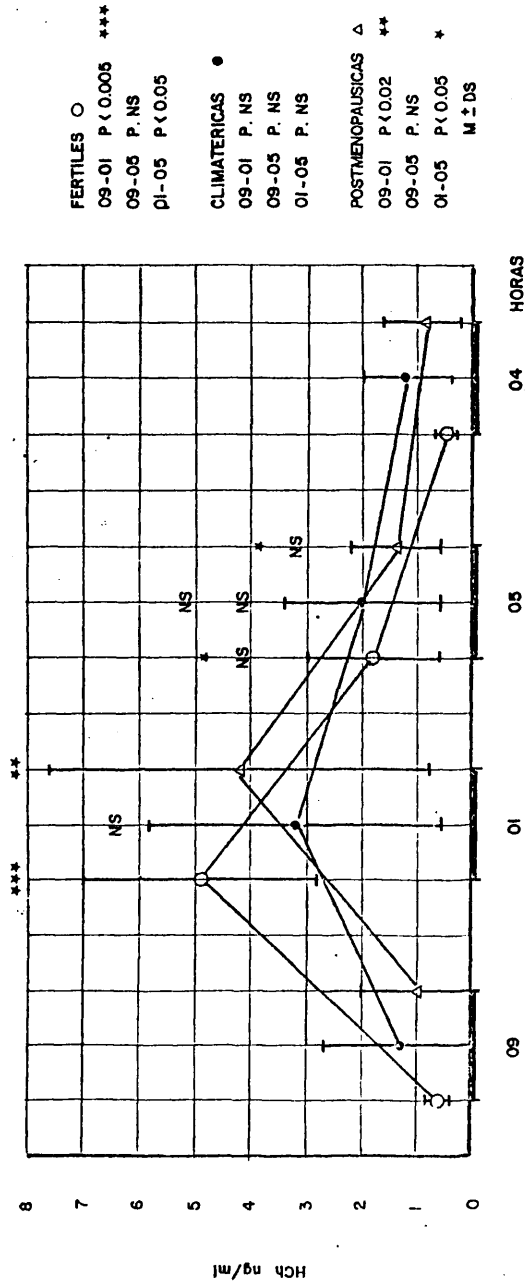


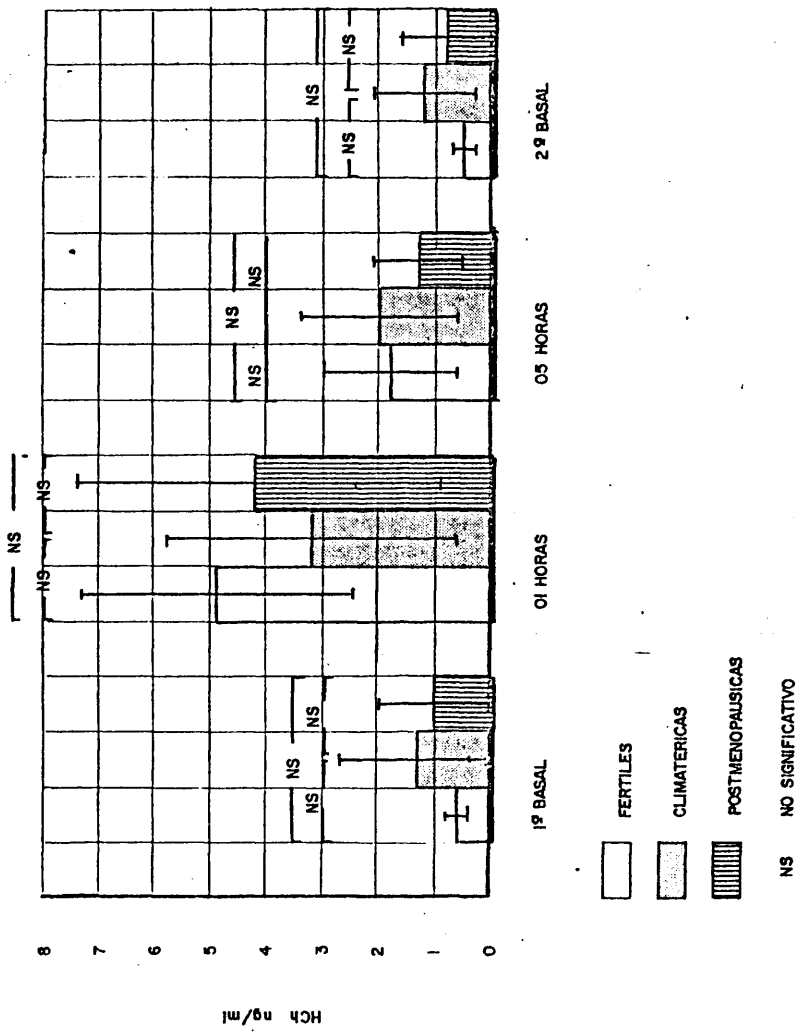
TABLA LXXIX

ESTUDIO ESTADISTICO

HCh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO SEXUAL

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>P</u>
<u>1ª BASAL</u>				
HCh fértiles -				
HCh climatéricas	25	<0,01	1,166	N.S.
HCh fértiles -				
HCh postmenopáusicas	12	>0,01	0,784	N.S.
HCh climatéricas -				
HCh postmenopáusicas	2,085	<0,05	0,539	N.S.
<u>01 horas</u>				
HCh fértiles -				
HCh climatéricas	1,198	<0,05	1,115	N.S.
HCh fértiles -				
HCh postmenopáusicas	1,911	<0,05	0,373	N.S.
HCh climatéricas -				
HCh postmenopáusicas	1,595	<0,05	0,675	N.S.
<u>05 horas</u>				
HCh fértiles -				
HCh climatéricas	1,471	<0,05	0,295	N.S.
HCh fértiles -				
HCh postmenopáusicas	2,056	<0,05	0,773	N.S.
HCh climatéricas -				
HCh postmenopáusicas	3,042	<0,05	1,119	N.S.
<u>2ª BASAL</u>				
HCh fértiles -				
HCh climatéricas	12,120	>0,01	1,694	N.S.
HCh fértiles -				
HCh postmenopáusicas	9,679	>0,05	0,894	N.S.
HCh climatéricas -				
HCh postmenopáusicas	1,257	<0,05	0,845	N.S.

FIGURA 83
HCh RITMO NICTAMERAL SERIE TUMORAL SEGUN ESTADIO SEXUAL



FERTILES
CLIMATERICAS
POSTMENOPAUSICAS
NS NO SIGNIFICATIVO

ESTUDIO ESTADISTICO

PRLh. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO SEXUAL. CONTROL-CANCER

PRLh FERTILES	F	P	t	P
1ª BASAL	U = 77,5	Z = 1,980	<0,05	<0,05
01 horas	0,376	<0,05	0,454	N.S.
05 horas	0,390	<0,05	2,175	<0,05
2ª BASAL	0,366	<0,05	2,158	<0,05

PRLh CLIMATERICAS

1ª BASAL	1,022	<0,05	0,312	N.S.
01 horas	0,939	<0,05	0,333	N.S.
05 horas	0,522	<0,05	0,223	N.S.
2ª BASAL	1,271	<0,05	0,151	N.S.

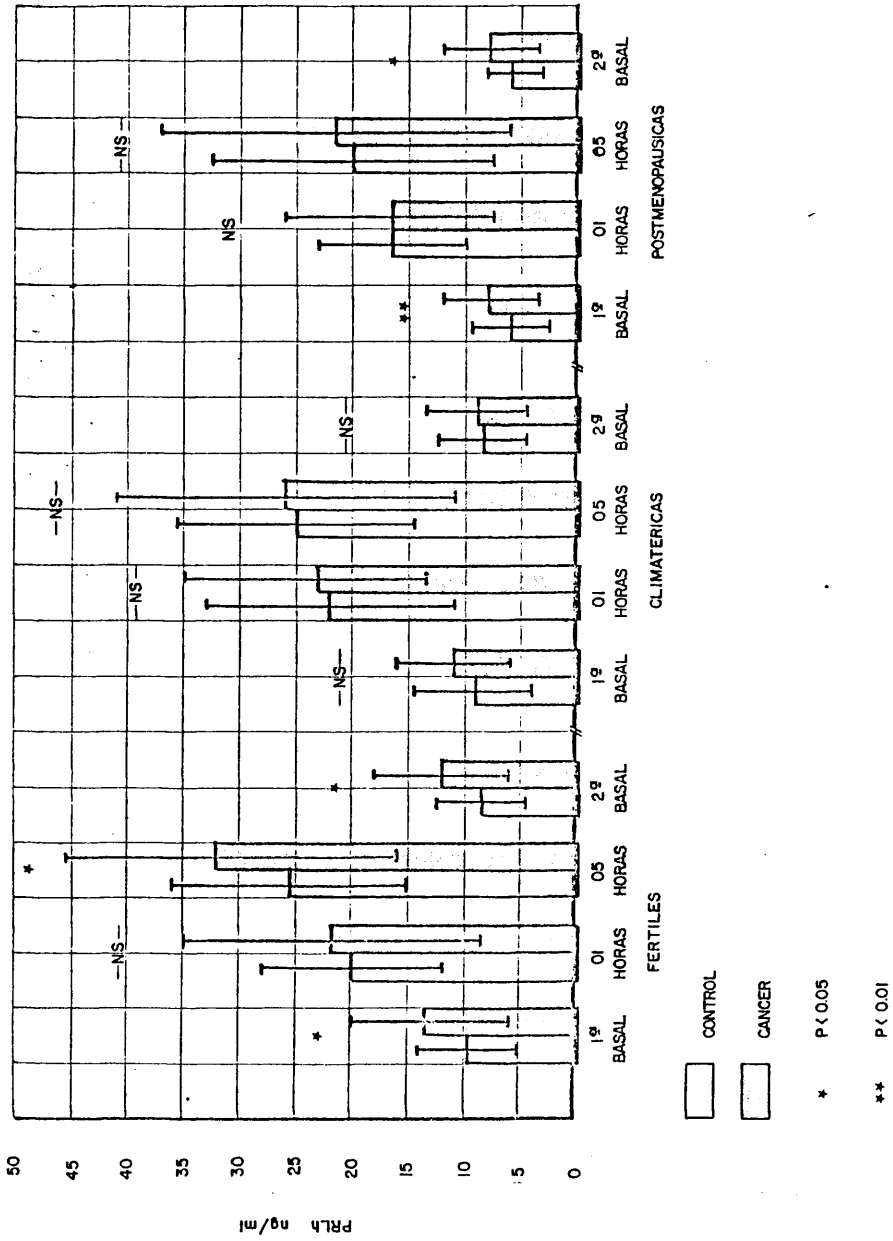
PRLh POSTMENOPAUSICAS

1ª BASAL	U = 126	Z = 2,943	<0,01
01 horas	U = 144	Z = 0,361	N.S.
05 horas	U = 142	Z = 0,440	N.S.
2ª BASAL	U = 140	Z = 1,963	<0,05

FIGURA 84

PR.L. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO SEXUAL, CONTROL - CANCER.						
	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
FERTILES						
1 ^o BASAL						
CONTROL	15	22.3	5	9.46	4.53	17.3
CANCER	13	28	5.7	12.75	7.60	22.3
01 HORAS						
CONTROL	15	42.1	12	20.06	9.18	30.1
CANCER	13	55	12	21.93	13.34	43
05 HORAS						
CONTROL	15	50	13.1	25.37	10.54	36.4
CANCER	13	60	12	31.53	16.88	48
2 ^o BASAL						
CONTROL	15	18.9	3.6	8.66	3.88	15.3
CANCER	13	24	5.2	11.92	6.35	18.8
CLIMATERICAS						
1 ^o BASAL						
CONTROL	10	14.	2.3	9.11	5.45	11.7
CANCER	11	21	4	11.04	5.39	17
01 HORAS						
CONTROL	10	39.4	12	22.28	11.03	27.4
CANCER	11	45	12.6	23.91	11.38	32.4
05 HORAS						
CONTROL	10	45	12	25.11	10.55	33
CANCER	11	65	15	26.34	14.60	50
2 ^o BASAL						
CONTROL	10	14.5	5	8.88	4.96	9
CANCER	11	19	3.6	9.19	4.40	13.4
POSTMENOPUSICAS						
1 ^o BASAL						
CONTROL	12	18.9	3.6	6.32	4.01	18.3
CANCER	26	21	2.3	8.53	4.47	18.7
01 HORAS						
CONTROL	12	29	8	16.50	6.40	21
CANCER	26	50	6	16.57	8.36	44
05 HORAS						
CONTROL	12	52.6	6.3	18.66	13.03	46.3
CANCER	26	83	10	21.58	15.22	73
2 ^o BASAL						
CONTROL	12	13.7	2.6	5.87	3.12	13.1
CANCER	26	18.5	3	7.87	3.88	15.5

PRLH. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO SEXUAL CONTROL - CANCER



* P < 0.05

** P < 0.01

CONTROL

CANCER

ye la presencia de valores límites que muestran un comportamiento hacia cualquiera de los otros dos grupos estudiados; siguen, pues, comportándose como un grupo difícil de delimitar. Por último, las postmenopáusicas muestran una tendencia al aumento, estadísticamente significativo, de las basales con nocturnas exactamente iguales a las controles, que reflejan, unido a las altas dispersiones, la posible existencia de dos subpoblaciones que se mueven de forma opuesta, posiblemente también presente en los controles pero más caracterizadas en la serie tumoral, y en la que en una de ellas tienden a aproximarse los valores basales y los valores nocturnos.

La HCh (Tabla LXXXI y Figura 85 y 85A) muestra una serie de discrepancias difíciles de interpretar que tan solo son justificables en base a las grandes variaciones individuales. Así, mientras las fértiles presentan una disminución basal estadísticamente significativa respecto a su control, las cifras nocturnas no varían, las climatéricas muestran una marcada tendencia al aplanamiento con cifras basales elevadas y nocturnas significativamente disminuídas y las postmenopáusicas revelan una tendencia sistemática a las concentraciones mayores en las horas más características por lo que parece evidente que cualquier planteamiento con la HCh tendrá que basarse en la interpretación de modificaciones individuales y no en las de series de ordenamiento.

14 E-4) Valores según frotis vaginal

La PRLh, como se resume en la Tabla LXXXII y Figura 86, ofrece un patrón muy distinto para el grupo con frotis estrogénico respecto a los demás. Este muestra una clara tendencia a presentar valores basales y nocturnos elevados, mientras que los grupos con frotis estrogénico débil, intermedio de la postmenopausia y atrófico de la postmenopausia se reúnen en un perfil muy semejante en el cual el pico de las 05 horas del grupo con frotis atrófico muestra la concentración más baja dando por resultado una tenden

TABLA LXXXI

ESTUDIO ESTADISTICO

HCh. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO SEXUAL. CONTROL -CANCER

HCh FERTILES	F	P	t	P
1ª BASAL	8,072	>0,05	2,7722	<0,025
01 horas	1,528	<0,05	0,6486	N.S.
05 horas	1,153	<0,05	0,7294	N.S.
2ª BASAL	2,142	<0,05	1,7727	N.S.
HCh CLIMATERICAS				
1ª BASAL	7,84	>0,05	2,4736	<0,05
01 horas	1,418	<0,05	1,875	<0,1>0,05
05 horas	1,251	<0,05	1,288	N.S.
2ª BASAL	8	>0,05	2,4880	<0,05
HCh POSTMENOPAUSICAS				
1ª BASAL	4,476	>0,05	2,413	<0,05
01 horas	6,631	>0,05	2,4209	<0,05
05 horas	1,258	<0,05	0,279	N.S.
2ª BASAL	6,363	>0,05	2,3989	<0,05

FIGURA 85

HCA. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO SEXUAL. CONTROL - CANCER.

	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
FERTILES						
1º BASAL						
CONTROL	5	2.3	0.3	1	0.8	2
CANCER	5	1	0.3	0.56	0.28	0.7
01 HORAS						
CONTROL	5	6.6	1.6	3.9	1.9	5
CANCER	5	8	3	4.86	2.43	5
05 HORAS						
CONTROL	5	3.6	0.7	2.46	1.3	1.9
CANCER	5	4	1	1.84	1.22	5
2º BASAL						
CONTROL	5	1.5	0.5	0.9	0.39	1
CANCER	5	0.9	0.2	0.51	0.27	0.7
CLIMATERICAS						
1º BASAL						
CONTROL	5	1.5	0.2	0.9	0.5	1.3
CANCER	7	4	0.3	1.31	1.4	3.7
01 HORAS						
CONTROL	5	9.9	2.2	6.36	3.19	7.7
CANCER	7	8.9	1.1	3.21	2.66	7.8
05 HORAS						
CONTROL	5	5.6	1.4	3.16	1.65	4.2
CANCER	7	4.9	0.8	2.07	1.48	4.1
2º BASAL						
CONTROL	5	1.2	0.3	0.83	0.3	0.9
CANCER	7	3	0.2	1.24	0.94	2.8
POSTMENOPAUSICAS						
1º BASAL						
CONTROL	6	1.8	0.6	0.88	0.46	1
CANCER	8	3	0.1	0.975	0.972	2.9
01 HORAS						
CONTROL	6	5.3	0.2	2.21	1.71	5.1
CANCER	8	9.6	1.5	4.26	3.36	8.1
05 HORAS						
CONTROL	6	2.6	0.3	1.48	0.76	2.3
CANCER	8	3.1	0.6	1.36	0.85	2.5
2º BASAL						
CONTROL	6	1	0.1	0.75	0.33	0.9
CANCER	8	2.5	0.1	0.85	0.84	2.4

FIGURA 85A
HCH. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO SEXUAL-CONTROL-CANCER

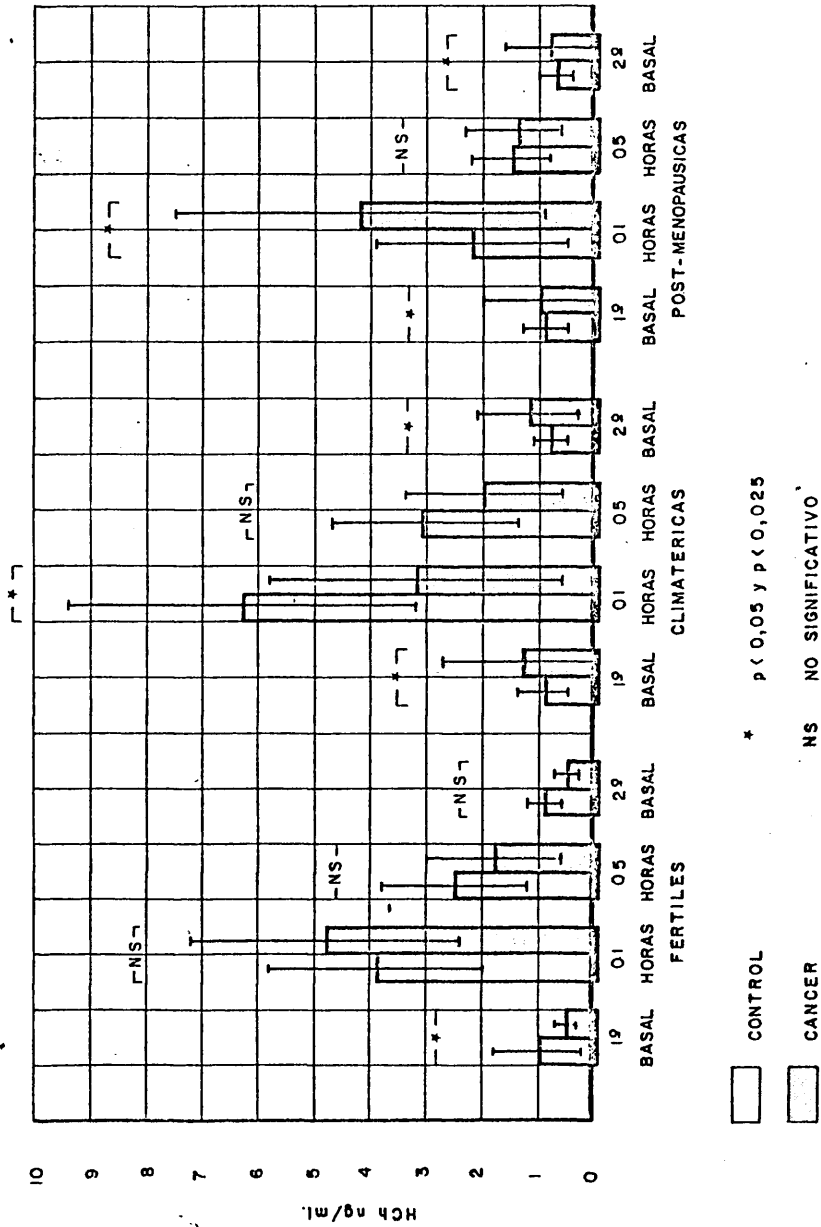


TABLA LXXXII

PRLh. SERIE TUMORAL. RIMO NICTAMERAL SEGUN FROTIS VAGINAL.

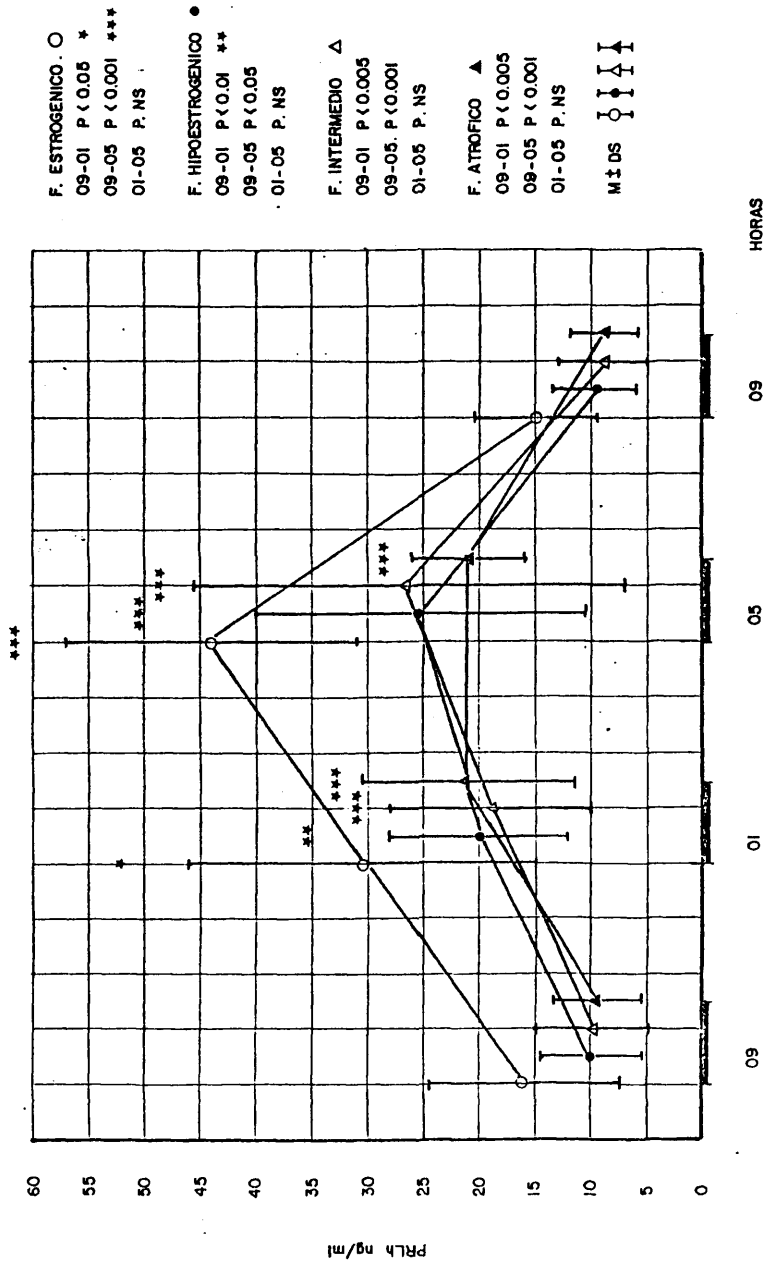
	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Min,</u>	<u>M</u>	<u>DS</u>	<u>R</u>	<u>DIS.</u>
FROTIS ESTROGENICO							
PRLh 1 ^a BASAL	8	28	2,5	16,3	8,21	22,5	DN
PRLh 01 horas	8	55	13	30,42	15,63	42	DN
PRLh 05 horas	8	60	25,7	44,2	12,91	34,3	DN
PRLh 2 ^a BASAL	8	24	8,6	14,85	5,97	15,4	DN
FROTIS ESTROGENICO DEBIL							
PRLh 1 ^a BASAL	12	21	5,2	10,49	4,18	15,8	DN
PRLh 01 horas	12	37	12	19,99	7,91	25	DN
PRLh 05 horas	12	65	12	25,69	14,7	53	DN
PRLh 2 ^a BASAL	12	9	3,6	9,56	3,9	15,4	DN
FROTIS INTERMEDIO POSTMENOPAUSIA							
PRLh 1 ^a BASAL	14	21	4	9,92	4,85	17	DN
PRLh 01 horas	14	37	10	19,3	8,89	27	DN
PRLh 05 horas	14	83	13,6	26,78	18,98	69,4	DNN
PRLh 2 ^a BASAL	14	18,5	3,7	8,96	4,13	14,8	DN
FROTIS ATROFICO							
PRLh 1 ^a BASAL	16	16	2,3	9,85	3,67	13,7	DN
PRLh 01 horas	16	50	6	20,6	9,94	44	DN
PRLh 05 horas	16	30	10	21,28	5	20	DN
PRLh 2 ^a BASAL	16	15	3	8,9	3,02	12	DN

TABLA LXXXII (continuación)
ESTUDIO ESTADISTICO

PRLh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL SEGUN FROTIS VAGINAL

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
FROTIS ESTROGENICO				
PRLh 09-01 h	0,276	<0,05	2,326	<0,05
PRLh 09-05 h	0,405	<0,05	4,848	<0,001
PRLh 09-09 h	1,891	<0,05	0,32	N.S.
PRLh 01-05 h	1,466	<0,05	1,633	N.S.
PRLh 05-09 h	6,854	>0,01	2,649	<0,02
PRLh 09-09 h	4,675	>0,01	5,444	<0,001
FROTIS ESTROGENICO DEBIL				
PRLh 09-01 h	0,279	<0,05	3,504	<0,01
PRLh 09-05 h	0,081	<0,05	3,418	<0,005
PRLh 09-09 h	1,097	<0,05	0,623	N.S.
PRLh 01-05 h	0,29	<0,05	1,251	N.S.
PRLh 01-09 h	3,93	>0,05	3,946	<0,001
PRLh 05-09 h	13,573	>0,01	3,666	<0,005
FROTIS INTERMEDIO				
PRLh 09-01 h	0,298	<0,05	3,466	<0,005
PRLh 09-05 h	U = 11,5	Z = 3,977		p<0,001
PRLh 09-09 h	1,379	<0,05	0,564	N.S.
PRLh 01-05 h	U = 66,5	Z = 1,449		p N.S.
PRLh 01-09 h	4,635		3,947	<0,001
PRLh 05-09 h	U = 9	Z = 4,091		p<0,001
FROTIS ATROFICO				
PRLh 09-01 h	0,137	<0,05	3,119	<0,005
PRLh 09-05 h	0,538	<0,05	5,76	<0,001
PRLh 09-09 h	1,476	<0,05	0,429	N.S.
PRLh 01-05 h	3,952	>0,05	0,244	N.S.
PRLh 01-09 h	10,833	>0,01	3,373	<0,005
PRLh 05-09 h	2,741	<0,05	6,464	<0,001

FIGURA 86
 PRLh RITMO NICTAMERAL SERIE TUMORAL SEGUN FROTIS VAGINAL



cia al aplanamiento del perfil y siempre con un mejor agrupamiento alrededor de la media. Por otra parte, los grupos estrogénico débil e intermedio de la postmenopausia presentan valores muy similares, ambos con amplias dispersiones a las 05 horas de la madrugada, y con rangos prácticamente iguales a cualquiera de las horas estudiadas. Los cuatro conservan el patrón de significación estadística general, sin diferencias significativas entre los picos de las 01 y 05 horas, incluso a nivel de frotis estrogénico donde la diferencia es más llamativa. Todos siguen una distribución normal a excepción del valor a las 05 horas del frotis intermedio de la postmenopausia.

Comparados entre sí (Tabla LXXXIII y Figura 87) se aprecia claramente la constante persistencia de concentraciones más elevadas a cualquier hora para el grupo con frotis estrogénico, no apareciendo ninguna diferencia en el estudio intergrupo para los otros tres, a excepción del valor a las 05 horas en el grupo con frotis intermedio y frotis atrófico de la postmenopausia.

Para la HCh los resultados son más confusos (Tabla LXXXIV y Figura 88). Si recordamos los perfiles del apartado anterior veremos la gran similitud, con abolición total del ritmo, entre los grupos climatérico e intermedio de la postmenopausia, lo que podría permitir la suposición de que casi todas las pacientes de aquel grupo se encuentran también ordenadas en éste. Por otra parte, las pacientes con frotis estrogénico débil muestran un perfil intermedio, y aquellas con frotis atrófico presentan el máximo incremento nocturno con una gran desviación de los valores medios que destaca sobre cualquier otra clase de interpretación.

Cuando se estudian los valores medios de cada grupo entre sí (Tabla LXXXV y Figura 89) se aprecia con mayor claridad la inconstancia de estos resultados no obteniéndose ningún tipo de diferencia estadísticamente significativa. Ello sigue favoreciendo la

TABLA LXXXIII
ESTUDIO ESTADISTICO

PRLh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL SEGUN FROTIS VAGINAL

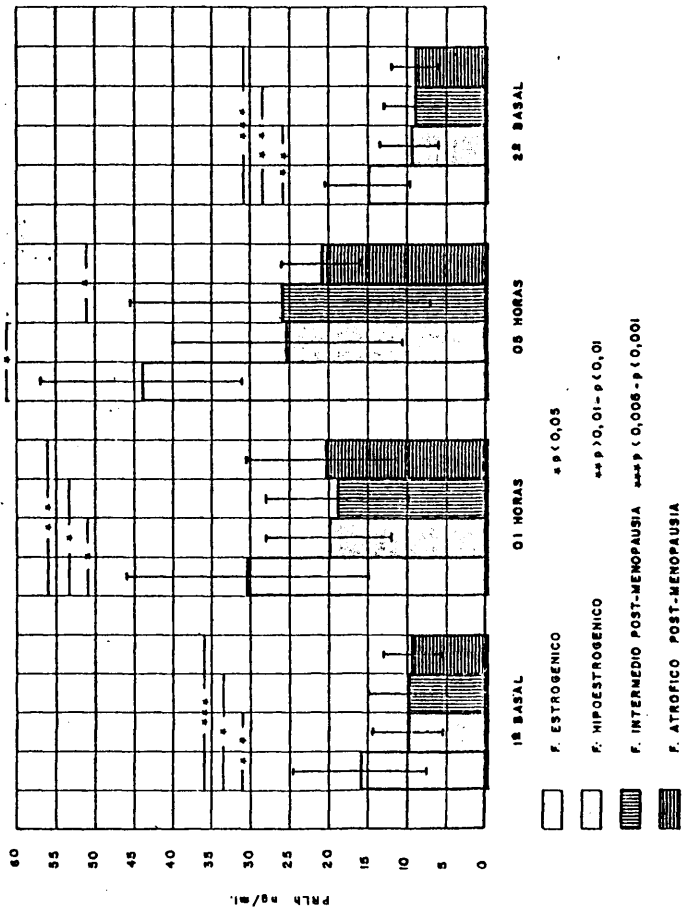
	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
<u>1ª BASAL</u>				
PRLh F. estrogénico -				
PRLh F. estrogénico débil	3,858	>0,05	2,673	>0,01
PRLh F. estrogénico -				
PRLh F. intermedio postme nopausia	2,866	>0,05	2,164	<0,05
PRLh F. estrogénico -				
PRLh F. atrófico	5,007	>0,01	3,568	<0,005
PRLh F. estrogénico débil -				
PRLh F. intermedio postme nopausia	0,743	<0,05	0,808	N.S.
PRLh F. estrogénico débil - -				
PRLh F. atrófico	1,298	<0,05	0,752	N.S.
PRLh F. intermedio postmeno - pausia -				
PRLh F. atrófico	1,747	<0,05	1,619	N.S.
<u>01 HORAS</u>				
PRLh F. estrogénico -				
PRLh F. estrogénico débil	3,905	>0,05	2,359	<0,05
PRLh F. estrogénico -				
PRLh F. intermedio postme nopausia	3,091	>0,05	2,145	<0,05
PRLh F. estrogénico -				
PRLh F. atrófico	2,473	<0,05	2,446	<0,025
PRLh F. estrogénico débil -				
PRLh F. intermedio postme nopausia	0,792	<0,05	0,398	N.S.
PRLh F. estrogénico débil -				
PRLh F. atrófico	0,633	<0,05	0,708	N.S.

TABLA LXXXIII (continuación)

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
PRLh F. intermedio postmenopausia -				
PRLh F. atrófico	0,8	<0,05	1,076	N.S.
<u>05 horas</u>				
PRLh F. estrogénico -				
PRLh F. estrogénico débil	0,771	<0,05	2,905	<0,05
PRLh F. estrogénico -				
PRLh F. intermedio postmenopausia	U = 17	Z = 2,665		p <0,01
PRLh F. estrogénico -				
PRLh F. atrófico	6,664	>0,01	7,13	<0,001
PRLh F. estrogénico débil -				
PRLh F. intermedio postmenopausia	U = 74,5	Z = 0,490		N.S.
PRLh F. estrogénico débil -				
PRLh F. atrófico	8,644	>0,01	1,97	N.S.
PRLh F. intermedio postmenopausia -				
PRLh F. atrófico	U = 61	Z = 2,121		<0,05
<u>2ª basal</u>				
PRLh F. estrogénico -				
PRLh F. estrogénico débil	2,239	<0,05	2,849	>0,01
PRLh F. estrogénico -				
PRLh F. intermedio postmenopausia	2,09	<0,05	2,431	>0,01
PRLh F. estrogénico -				
PRLh F. atrófico	3,908	>0,05	4,359	<0,001
PRLh F. estrogénico débil -				
PRLh F. intermedio postmenopausia	0,934	<0,05	0,665	N.S.
PRLh F. estrogénico débil -				
PRLh F. atrófico	1,746	<0,05	0,77	N.S.
PRLh F. intermedio postmenopausia -				
PRLh F. atrófico	1,87	<0,05	1,586	N.S.

FIGURA 87

PRL_h RITMO NICTAMERNA. SERIE TUMORAL SEGUN PROTIS VAGINAL



HCh SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL SEGUN FROTIS VAGINAL

	<u>N</u>	<u>Méx.</u>	<u>Min.</u>	<u>M</u>	<u>DS</u>	<u>R</u>	<u>DIS.</u>
HCh FROTIS ESTROGENICO							
DEBIL							
1ª BASAL	7	1	0,3	0,62	0,23	0,7	DN
01 horas	7	8	1,1	3,84	2,62	6,9	DN
05 horas	7	4	0,8	1,58	1,09	3,2	DNN
2ª BASAL	7	1	0,2	0,62	0,31	0,8	DN
HCh FROTIS INTERMEDIO							
1ª BASAL	6	4	0,1	1,83	1,55	3,9	DN
01 horas	6	3,6	1,4	2,65	0,86	2,2	DN
05 horas	6	4,9	0,6	2,06	1,69	4,3	DN
2ª BASAL	6	3	0,1	1,56	1,11	2,9	DN
HCh FROTIS ATROFICO							
1ª BASAL	5	1,5	0,1	0,76	0,61	1,4	DN
01 horas	5	9,6	1,5	5,2	4,07	8,1	DN
05 horas	5	3,1	0,7	1,66	0,96	2,4	DN
2ª BASAL	5	1,5	0,1	0,62	0,58	1,4	DN

TABLA LXXXIV (continuación)
 ESTUDIO ESTADISTICO
 HCh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL SEGUN FROTIS VAGINAL

	F	P	t	P
HCh FROTIS ESTROGENICO DEBIL				
09-01 h.	0,008	<0,05	3,24	<0,01
09-05 h	U = 2 Z = 2,888		2,888	<0,01
09-09 h	0,542	<0,05	0,0010	N.S.
01-05 h	U = 9 Z = 1,985		1,985	p <0,05
01-09 h	71,458	>0,01	3,23	<0,01
05-08 h.	U = 3,5 Z = 2,692		2,692	p <0,01
HCh FROTIS INTERMEDIO				
09-01 h	3,288		1,135	N.S.
09-05 h	0,842	<0,05	0,246	N.S.
09-09 h	1,951	<0,05	0,347	N.S.
01-05 h	0,256	<0,05	0,764	N.S.
01-09 h	0,593	<0,05	1,907	N.S.
05-09 h.	2,317	<0,05	0,606	N.S.
HCh FROTIS ATROFICO				
09-01 h.	0,022	<0,05	2,413	<0,05
09-05 h	0,402	<0,05	1,442	N.S.
09-09 h.	1,121	<0,05	0,274	N.S.
01-05 h	1,8	>0,01	1,493	<0,05
01-09 h	50,182	>0,01	2,492	<0,05
05-09 h	2,788	<0,05	2,08	N.S.

FIGURA 88
HCh RITMO NICTAMERAL SERIE TUMORAL SEGUN FROTIS VAGINAL

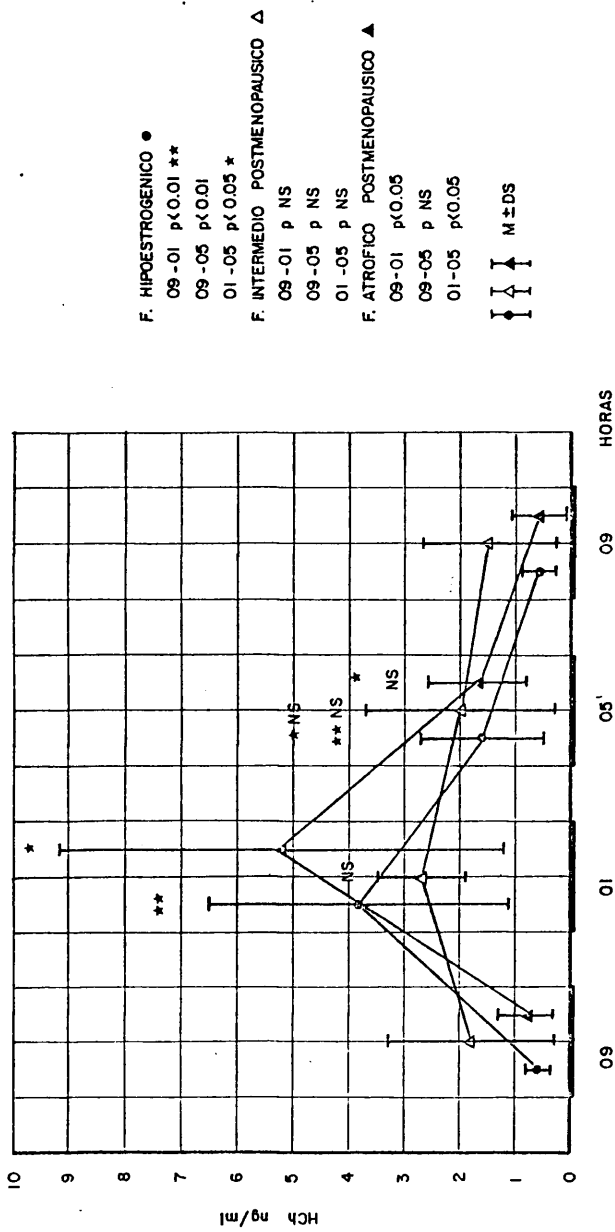


TABLA LXXXV

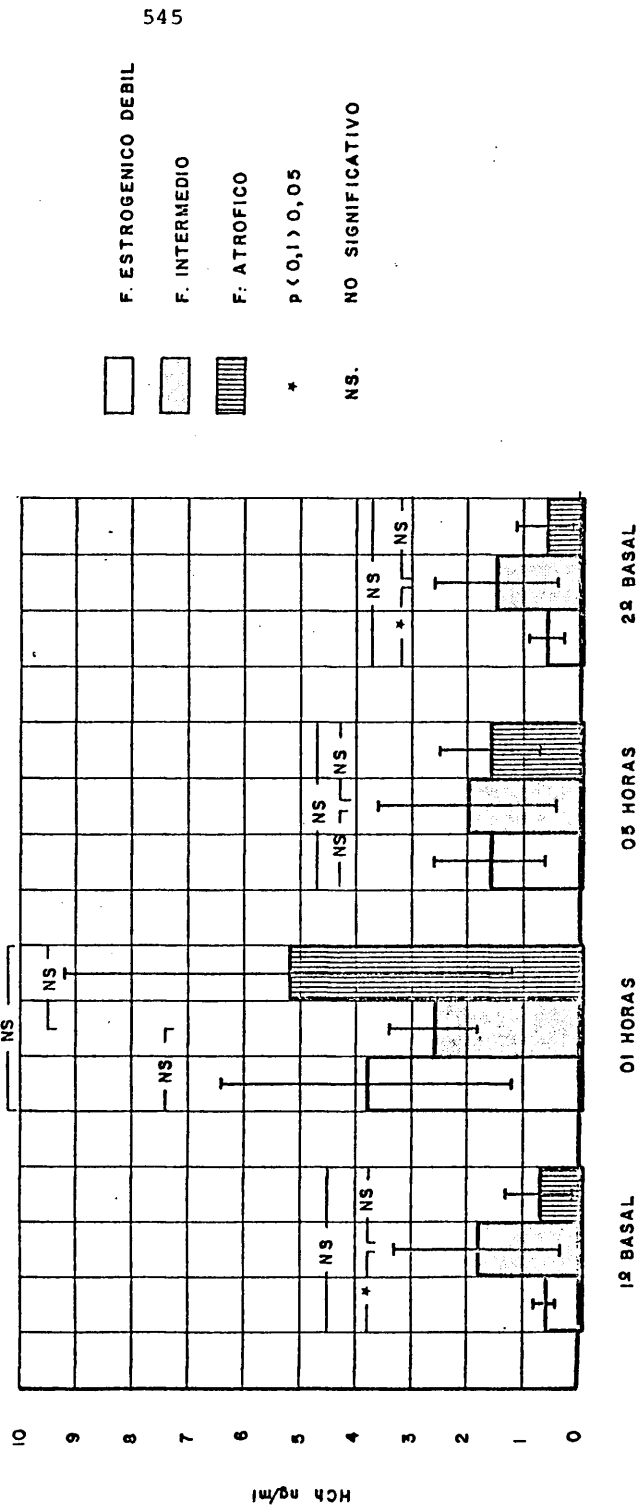
ESTUDIO ESTADISTICO

HCh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL SEGUN FROTIS VIGINAL

	F	p	t	P
<u>1ª BASAL</u>				
HCh F. estrogénico -				
HCh F. intermedio postmenopáusia	0,022	<0,05	2,056	N.S.
HCh F. estrogénico débil -				
HCh F. atrófico	0,141	<0,05	0,565	N.S.
HCh F. intermedio postmenopáusia -				
HCh F. atrófico	6,486	>0,01	1,444	N.S.
<u>01 horas</u>				
HCh F. estrogénico débil -				
HCh F. intermedio postmenopáusia	9,397	>0,01	1,06	N.S.
HCh F. estrogénico débil -				
HCh F. atrófico	0,414	<0,05	0,656	N.S.
HCh F. intermedio postmenopáusia -				
HCh F. atrófico	0,044	<0,05	1,511	N.S.
<u>05 horas</u>				
HCh F. estrogénico débil -				
HCh F. intermedio postmenopáusia	U = 19	Z = 0,286		p N.S.
HCh F. estrogénico débil -				
HCh F. atrófico	U = 17	Z = 0,002		p N.S.
HCh F. intermedio postmenopáusia				
HCh F. Atrófico	3,098	>0,05	0,439	N.S.
<u>2ª BASAL</u>				
HCh F. estrogénico débil -				
HCh F. intermedio postmenopáusia	0,087	<0,05	2,161	N.S.
HCh F. estrogénico débil -				
HCh F. atrófico	0,291	<0,05	0,011	N.S.
HCh F. intermedio postmenopáusia				
HCh F. atrófico	3,727	>0,05	1,866	N.S.

FIGURA 89

HCh. RITMO NICTAMERAL SERIE TUMORAL SEGUN FROTIS VAGINAL



idea, previamente apuntada, de que para la HCh tan solo existen modificaciones individuales y no de grupo o relacionadas con algún atributo cualitativo de los utilizados como criterio de ordenamiento de esta tesis.

Cuando se comparan los valores de PRLh con los correspondientes del ritmo control se aprecia un patrón semejante al obtenido en el apartado anterior (Tabla LXXXVI; Figura 90 y 90A). De forma sistemática todos los valores en pacientes con función estrogénica son significativamente más elevados, mientras que aquellos con frotis atrófico muestran una clara significación para los valores basales y un escaso aumento para la concentración de las 05 horas, persistiendo la impresión de una tendencia al aplanamiento del ritmo. Salvo en el grupo con frotis intermedio de la postmenopausia, muy parecido en valores absolutos al estrogénico débil en el cual se aprecian las mayores dispersiones nocturnas, el ordenamiento siguiendo este criterio ofrece, al menos para las poblaciones mejor caracterizadas, las menores dispersiones y una información bastante correcta de las modificaciones de cada grupo.

14 E-5) Valores según estadio tumoral

Hecha la salvedad del importante número de pacientes en estadios avanzados, paso a resumir las modificaciones apreciadas para PRLh en los cuatro estadios considerados, y para los estadios I y III de HCh por carecerse de suficiente número de datos en los estadios II y IV.

En la Tabla LXXXVII se recogen los valores medios de los cuatro grupos y su estudio estadístico, y en la Figura 91 la representación gráfica del perfil. Como puede observarse, dentro de una distribución normal excepto para los valores a las 05 horas del grupo III, los estadios I y II muestran los valores más bajos, casi iguales, lo mismo que sus rangos (5.2 -6, 10.5 -9, 26 -20.8 y 7 -6.6 ng respectivamente), y con las dispersiones más pequeñas de todo el estudio hasta ahora realizado. El grupo III muestra unas cifras medias

TABLA LXXXVI

ESTUDIO ESTADISTICO

PRLh. RITMO NICTAMERAL SEGUN FROTIS VAGINAL. CONTROL-CANCER

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
PRLh F. ESTROGENICO				
1 ^a BASAL	2,315	<0,05	2,1428	<0,05
01 horas	2,327	<0,05	1,288	N.S.
05 horas	1,372	<0,05	2,8461	<0,02
2 ^a BASAL	2,269	<0,05	2,0416	=0,05
PRLh F. ESTROGENICO DEBIL				
1 ^a BASAL	8,9	>0,01	2,2185	<0,05
01 horas	13,78	>0,01	2,2085	<0,05
05 horas	9,307	>0,01	2,2175	<0,05
2 ^a BASAL	8,608	>0,01	2,2118	<0,05
PRLh F. INTERMEDIO				
1 ^a BASAL	1,941	<0,05	0,007	N.S.
01 horas	1,263	<0,05	0,42	N.S.
05 horas	U = 55,5 Z = 0,034			N.S.
2 ^a BASAL	1,839	<0,05	0,274	N.S.
PRLh F. ATROFICO				
1 ^a BASAL	1,167	<0,05	2,3076	<0,05
01 horas	1,896	<0,05	1,2	N.S.
05 horas	2,562	>0,05	2,2672	<0,05
2 ^a BASAL	2,053	<0,05	2,4074	<0,025

FIGURA 90

PRL. RITMO NICTAMERAL SEGUN FROTIS VAGINAL. CONTROL - CANCER.						
	N	MAX	MIN	M	DS	RANGO
F. ESTROGENICO						
1 ^a BASAL						
CONTROL	11	22.3	6	10.67	5.07	16.5
CANCER	8	28	2.5	16.30	6.21	22.5
01 HORAS						
CONTROL	11	42.1	12	24.28	9.49	30.1
CANCER	8	85	13	30.42	15.63	42
05 HORAS						
CONTROL	11	60	20	30.8	11.01	30
2 ^a BASAL						
CONTROL	11	18.9	5	10.1	4.22	13.9
CANCER	8	24	6.6	14.65	5.97	15.4
F. HPOESTROGENICO						
1 ^a BASAL						
CONTROL	9	9.5	5	7.84	1.8	4.5
CANCER	12	21	5.2	10.19	4.18	15.8
01 HORAS						
CONTROL	9	20	12	15.32	2.61	8
CANCER	12	37	12	19.99	7.91	25
05 HORAS						
CONTROL	9	29.4	13.6	20.23	5.32	14.8
CANCER	12	65	12	25.69	14.7	53
2 ^a BASAL						
CONTROL	9	9.6	3.6	7.02	1.88	6
CANCER	12	19	3.6	9.56	3.9	15.4
F. INTERMEDIO POST.						
1 ^a BASAL						
CONTROL	8	22	4.2	9.90	6.76	17.8
CANCER	14	21	4	9.92	4.85	17
01 HORAS						
CONTROL	8	39.4	12.1	21.16	10.58	27.3
CANCER	14	37	10	19.3	8.89	27
05 HORAS						
CONTROL	8	52.6	12	25.27	13.87	40.6
CANCER	14	83	15.8	26.78	18.98	59.4
2 ^a BASAL						
CONTROL	8	15.7	2.6	9.58	5.60	13.1
CANCER	14	18.5	3.7	8.96	4.13	14.9
F. ATROFICO POSTM.						
1 ^a BASAL						
CONTROL	9	15.7	2.8	6.56	3.97	12.9
CANCER	16	16	2.3	9.85	3.67	13.7
01 HORAS						
CONTROL	9	29	8	16.4	7.22	21
CANCER	16	50	6	20.6	9.94	44
05 HORAS						
CONTROL	9	34	6.3	16.06	9.28	27.7
CANCER	16	30	10	21.28	5	20
2 ^a BASAL						
CONTROL	9	17	2.3	8.32	4.34	14.7
CANCER	16	15	3	8.90	3.02	12

FIGURA 90A

PRL: RITMO NICTAMERAL SEGUN FROTIS VAGINAL CONTROL - CANCER.

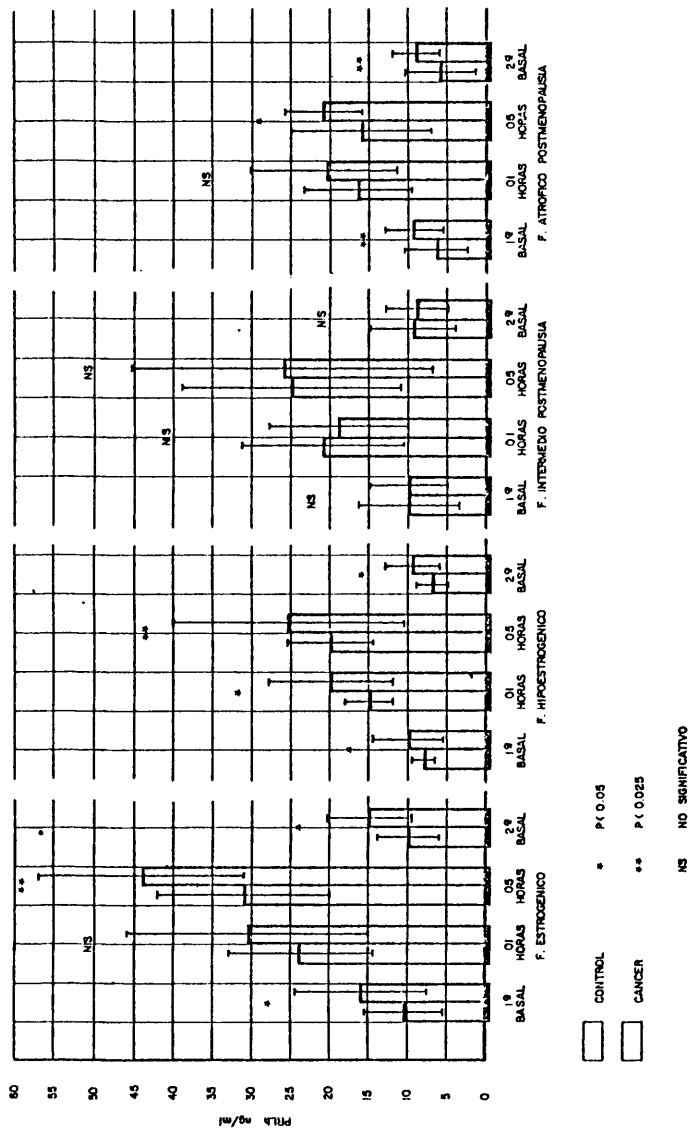


TABLA LXXXVII

PRLh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO TUMORAL

	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Min.</u>	<u>M</u>	<u>DS</u>	<u>R</u>	<u>DIS.</u>
ESTADIO I							
1 ^a BASAL	9	8	2,8	5,5	1,49	5,2	DN
01 horas	9	21	10,5	14,5	3,2	10,5	DN
05 horas	9	36	10	20,34	8,6	26	DN
2 ^a BASAL	9	10	3	5,73	2,29	7	DN
ESTADIO II							
1 ^a BASAL	6	10	4	6,95	2,18	6	DN
01 horas	6	20,5	11,5	15,33	3,76	9	DN
05 horas	6	35	14,2	20	8,51	20,8	DN
2 ^a BASAL	6	11,1	4,5	7,06	2,47	6,6	DN
ESTADIO III							
1 ^a BASAL	22	28	2,3	9,58	6,34	25,7	DN
01 horas	22	55	6	19,78	11,73	49	DN
05 horas	22	60	10,5	24,38	15,11	49,5	DNN
2 ^a BASAL	22	24	4,3	8,54	5,18	19,7	DN
ESTADIO IV							
1 ^a BASAL	13	21	7,3	14,11	4,5	13,7	DN
01 horas	13	50	8,3	24,7	14,11	41,7	DN
05 horas	13	83	14,4	32,38	21,24	68,6	DN
2 ^a BASAL	13	19	5	12,75	4,02	14	DN

TABLA LXXXVII (continuación)

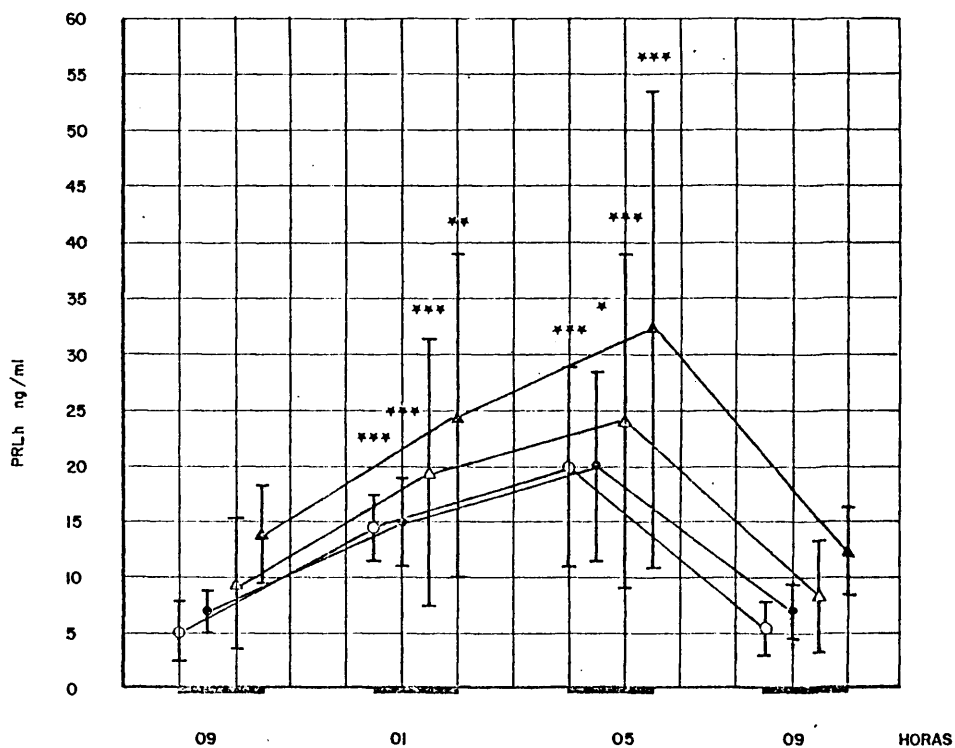
ESTUDIO ESTADISTICO

PRLh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO TUMORAL

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
ESTADIO I				
PRLh 09-01 h	0,217	<0,05	7,683	<0,001
PRLh 09-05 h	0,03	<0,05	5,101	<0,001
PRLh 09-09 h	0,424	<0,05	0,253	N.S.
PRLh 01-05 h	0,138	<0,05	1,896	N.S.
PRLh 01-09 h	1,954	<0,05	6,718	<0,001
PRLh 05-09 h	14,115	>0,01	4,925	<0,001
ESTADIO II				
PRLh 09-01 h	0,336	<0,05	4,724	<0,001
PRLh 09-05 h	0,066	<0,05	3,653	<0,05
PRLh 09-09 h	0,779	<0,05	0,082	N.S.
PRLh 01-05 h	0,195	<0,05	1,243	N.S.
PRLh 01-09 h	2,316	<0,05	4,504	<0,001
PRLh 05-09 h	11,872	>0,01	3,591	<0,005
ESTADIO III				
PRLh 09-01 h	0,292	<0,05	3,588	<0,001
PRLh 09-05 h	U = 39	Z = 4,76	p	<0,001
PRLh 09-09 h	1,498	<0,05	0,596	N.S.
PRLh 01-05 h	U = 187,5	Z = 1,280	p	N.S.
PRLh 01-09 h	5,128	>0,01	4,112	<0,001
PRLh 05-09 h	U = 32	Z = 4,930	p	<0,001
ESTADIO IV				
PRLh 09-01 h	0,094	<0,05	2,484	<0,02
PRLh 09-05 h	0,045	<0,05	3,034	<0,005
PRLh 09-09 h	1,253	<0,05	0,813	N.S.
PRLh 01-05 h	0,479	<0,05	1,072	N.S.
PRLh 01-09 h	13,372	>0,01	2,827	<0,01
PRLh 05-09 h	27,916	>0,01	3,274	<0,001

FIGURA 91

PRLh. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO TUMORAL



ESTADIO I ○	ESTADIO II ●	ESTADIO III △	ESTADIO IV ▲
09-01 p<0.001***	09-01 p>0.001	09-01 p<0.001	09-01 p>0.02**
09-05 p<0.001	09-05 p<0.05*	09-05 p<0.001	09-05 p>0.005
01-05 p NS	01-05 p NS	01-05 p NS	01-05 p NS

○ ● △ ▲ M ± DS

discretamente más elevadas, con rangos claramente mayores (25.7, 49, 49.5 y 19.7 ng/ml respectivamente para cada hora) y con un claro incremento en las dispersiones de las medias respectivas, al igual que durante el estadio IV donde pueden apreciarse los máximo valores medios.

Esta forma de evolución en las cifras medias de PRLh se aprecia mejor en la Figura 92 donde se esquematiza el estudio estadístico de la Tabla LXXXVIII, que recoge la comparación de los cuatro grupos entre sí. Frente a la clara significación del estadio IV respecto a los otros tres para los valores basales, los nocturnos solo ofrecen cifras significativas entre los grupos I y IV.

Ha existido, pues, durante todo el estudio del ritmo de PRLh una discrepancia entre la significación de los valores basales (que han seguido una evolución muy semejante a los de la serie basal de esta tesis) y los valores nocturnos, quienes solo se han mostrado estadísticamente significativos para los grupos de ordenamiento mejor caracterizados. Por otra parte, los valores a las 01 y 05 horas han mostrado una clara tendencia a las grandes dispersiones pero con variaciones entre los distintos grupos que sugieren dos posibles razonamientos:

- a) Los valores de PRLh no dependen solamente de las peculiaridades que puedan derivarse de los distintos ordenamientos que se basan en la función ovárica pues, en general, se agrupan siguiendo una ley normal en los controles, con dispersiones pequeñas o medias, y pierden frecuentemente la ley normal con dispersiones muy grandes en las distintas subdivisiones de la serie tumoral. Por otra parte, en un par de ordenamientos, correspondientes a fases con función ovárica abolida, se ha observado una tendencia a la disminución cuantitativa de los picos nocturnos, o un incremento basal sin aumento nocturno, que sugiere un aplanamiento del ritmo.

FIGURA 92
PRLH. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO TUMORAL

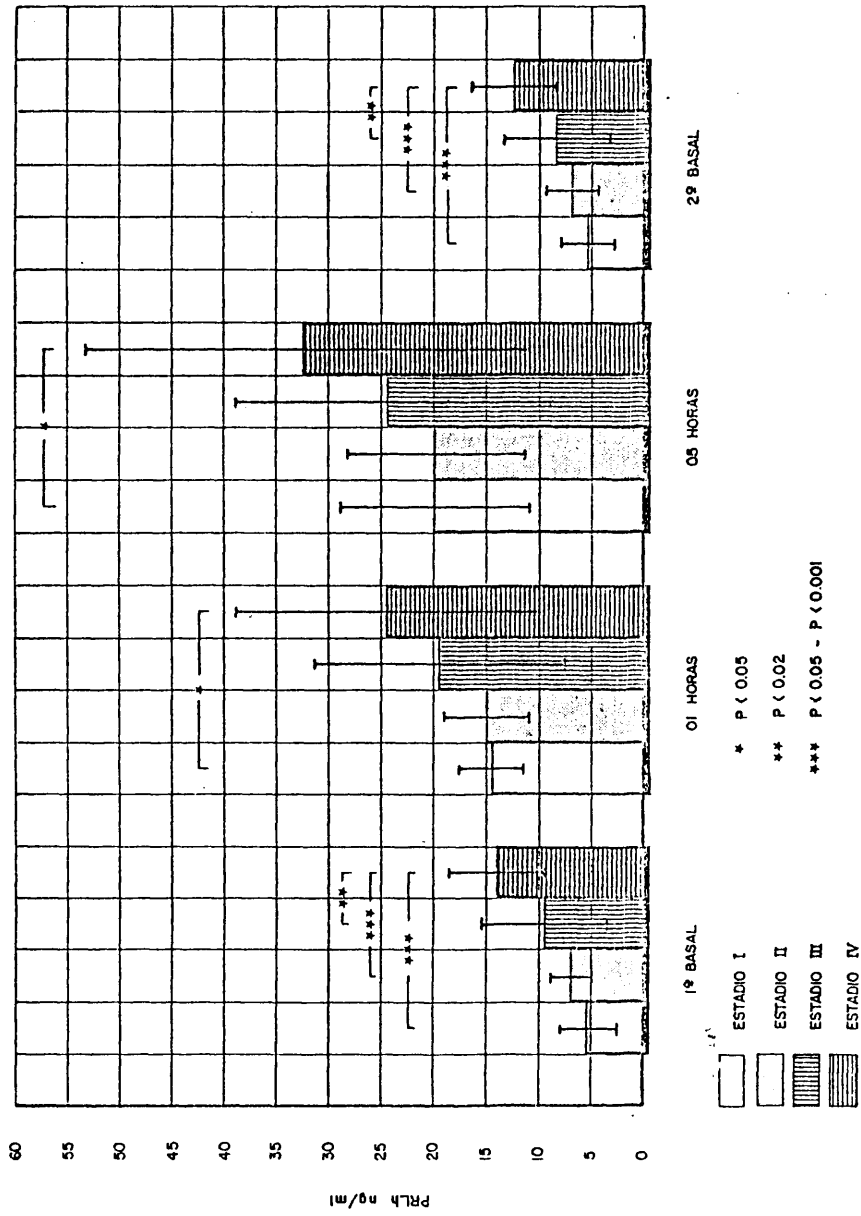


TABLA LXXXVIII

ESTUDIO ESTADISTICO

PRLh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO TUMORAL

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
<u>1^a BASAL</u>				
PRLh estadio I -				
PRLh estadio II	0,467	<0,05	1,423	N.S.
PRLh estadio I -				
PRLh estadio III	0,055	<0,05	1,892	N.S.
PRLh estadio I -				
PRLh estadio IV	0,11	<0,05	5,499	<0,001
PRLh estadio II-				
PRLh estadio III	0,118	<0,05	0,988	N.S.
PRLh estadio II -				
PRLh estadio IV	0,235	<0,05	4,671	<0,001
PRLh estadio III -				
PRLh estadio IV	1,985	<0,05	2,462	<0,02
<u>01 horas</u>				
PRLh estadio I -				
PRLh estadio II	0,725	<0,05	0,423	N.S.
PRLh estadio I -				
PRLh estadio III	0,074	<0,05	1,308	N.S.
PRLh estadio I -				
PRLh estadio IV	0,047	>0,05	2,226	<0,05
PRLh estadio II -				
PRLh estadio III	0,103	<0,05	0,906	N.S.
PRLh estadio II -				
PRLh estadio IV	0,065	<0,05	1,517	N.S.
PRLh estadio III -				
PRLh estadio IV	0,637	<0,05	1,029	N.S.

TABLA LXXXVIII. (continuación).

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
<u>05 horas</u>				
PRLh estadio I -				
PRLh estadio II	1,021	<0,05	0,064	N.S.
PRLh estadio I -				
PRLh estadio III	U = 915	Z = 0,327	p N.S.	
PRLh estadio I -				
PRLh estadio IV	4,821	>0,05	2,2993	<0,05
PRLh estadio II -				
PRLh estadio III	U = 53,5	Z = 0,7	p N.S.	
PRLh estadio II -				
PRLh estadio IV	0,161	<0,05	1,355	N.S.
PRLh estadio III -				
PRLh estadio IV	U = 102,5	Z = 1,384	N.S.	
<u>2ª BASAL</u>				
PRLh estadio I -				
PRLh estadio II	0,859	<0,05	1,052	N.S.
PRLh estadio I -				
PRLh estadio III	0,195	<0,05	1,554	N.S.
PRLh estadio I -				
PRLh estadio IV	0,324	<0,05	5,196	<0,001
PRLh estadio II -				
PRLh estadio III	0,227	<0,05	0,99	N.S.
PRLh estadio I -				
PRLh estadio IV	0,377	<0,05	3,785	<0,005
PRLh estadio III -				
PRLh estadio IV	1,66	<0,05	2,683	<0,02

b) El distinto comportamiento observado al asociar los valores respectó al estadio tumoral sugiere que son fundamentalmente los estadios avanzados los que pueden cambiar el patron medio de los valores del ritmo, condicionando o picos nocturnos máximos, o picos mínimos, que obliga a reconsiderar todo lo estudiado hasta ahora en un nuevo ordenamiento que tenga en cuenta los dos parámetros que parecen ser básicos: grado de función ovárica y estadio tumoral.

La HCh solo ha podido ser estudiada en los estadios II y III no apreciándose ninguna significación en los valores medios obtenidos (Tablas LXXXIX y XC).

14 E-6) Correlación PRLh-HCh para valores del ritmo nictameral

Un nuevo estudio de correlación entre HCh y PRLh en la serie tumoral tampoco ofrece datos significativos de que ambas hormonas se muevan siguiendo un patrón común, lo que confirma los diferentes resultados obtenidos con las dos hormonas al estudiar las características del ritmo. Sin embargo, dado que la HCh puede presentar valores máximos en casos individuales sería interesante conocer en que ocasiones ambas hormonas se mueven siguiendo el mismo esquema. Los valores del coeficiente de Pearson y la representación de la recta de regresión se resumen en la Figura 93.

14 E-7) Relación basal-máximo y pico nocturno. Diferencias pre-postoperatorias

No cabe duda que no pudiendo estudiar la secreción de 24 horas, lo que permite la comparación entre la concentración total de los picos diurnos y nocturnos, la valoración siguiendo las modificaciones de horas aisladas no aborda el problema en toda su magnitud, pues como se ha visto existen diferencias entre las distintas horas de extracción que dificultan la interpretación de los resultados, aunque ha aportado datos que pueden permitir una discusión fisiopatológica. En un intento de simplificar el problema, y basado en los

TABLA LXXXIX

HCh. SERIE TUMORAL. RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO TUMORAL

	<u>N</u>	<u>Máx.</u>	<u>Min.</u>	<u>M</u>	<u>DS</u>	<u>R</u>	<u>DJS.</u>
<u>Estadio I</u>							
HCh 1 ^a basal	5	2,5	0,3	1,06	0,93	2,2	DN
HCh 01 horas	5	9,5	2,8	5,26	3,23	6,7	DN
HCh 05 horas	5	4	0,8	2,48	1,39	3,2	DN
HCh 2 ^a basal	5	2	0,2	0,78	0,73	1,8	DN
<u>Estadio III</u>							
HCh 1 ^a basal	9	4	0,1	0,86	1,20	3,9	DNN
HCh 01 horas	9	9,6	1,1	3,17	2,59	8,5	DN
HCh 05 horas	9	4,9	0,7	1,61	1,31	4,2	DN
HCh 2 ^a basal	9	3	0,1	0,8	0,9	2,9	DN

ESTUDIO ESTADISTICO

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
<u>Estadio I</u>				
HCh 09-01 h	0,082	<0,05	2,795	N.S.
HCh 09-05 h	0,446	<0,05	1,901	N.S.
HCh 09-09 h	1,623	<0,05	0,531	N.S.
HCh 01-05 h	5,404	>0,05	1,768	N.S.
HCh 01-09 h	19,679	>0,01	3,026	<0,02
HCh 05-09 h	3,642	>0,05	2,424	<0,05
<u>Estadio III</u>				
HCh 09-01 h		U = 8	Z = 2,873	p<0,01
HCh 09-05 h		U = -	Z = 4,31	p<0,001
HCh 09-09 h		U = 38,5	Z = 0,178	p N.S.
HCh 01-05 h	3,918		1,614	N.S.
HCh 01-09 h	8,272	>0,01	2,594	<0,025
HCh 05-09 h	2,111		1,531	N.S.

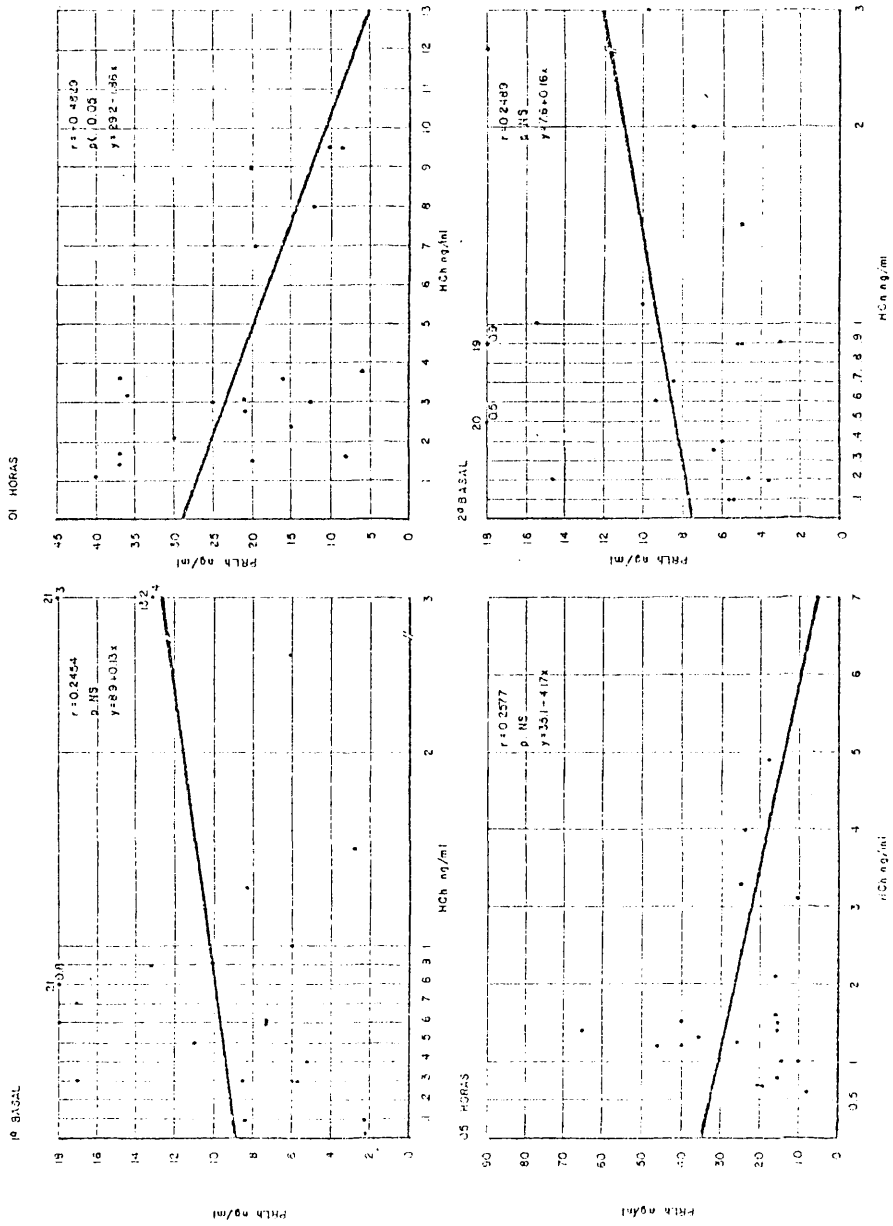
TABLA XC

ESTUDIO ESTADISTICO

HCh. SERIE TUMORAL RITMO NICTAMERAL SEGUN ESTADIO TUMORAL

	F	p	t	p
HCh estadio I 1ª basal -				
HCh estadio III 1ª basal	U = 18,5	Z = 0,537	P	N.S.
HCh estadio I 01 horas -				
HCh estadio III 01 horas	1,557	<0,05	1,242	N.S.
HCh estadio I 05 horas -				
HCh estadio III 05 horas	1,129	<0,05	1,146	N.S.
HCh estadio I 2ª basal -				
HCh estadio III 2ª basal	0,654	<0,05	0,045	N.S.

FIGURA 93



dos razonamientos expuestos al final del apartado 14 E-5, he utilizado un valor único por enferma que se obtiene de la correlación existente entre el valor basal y el máximo valor nocturno.

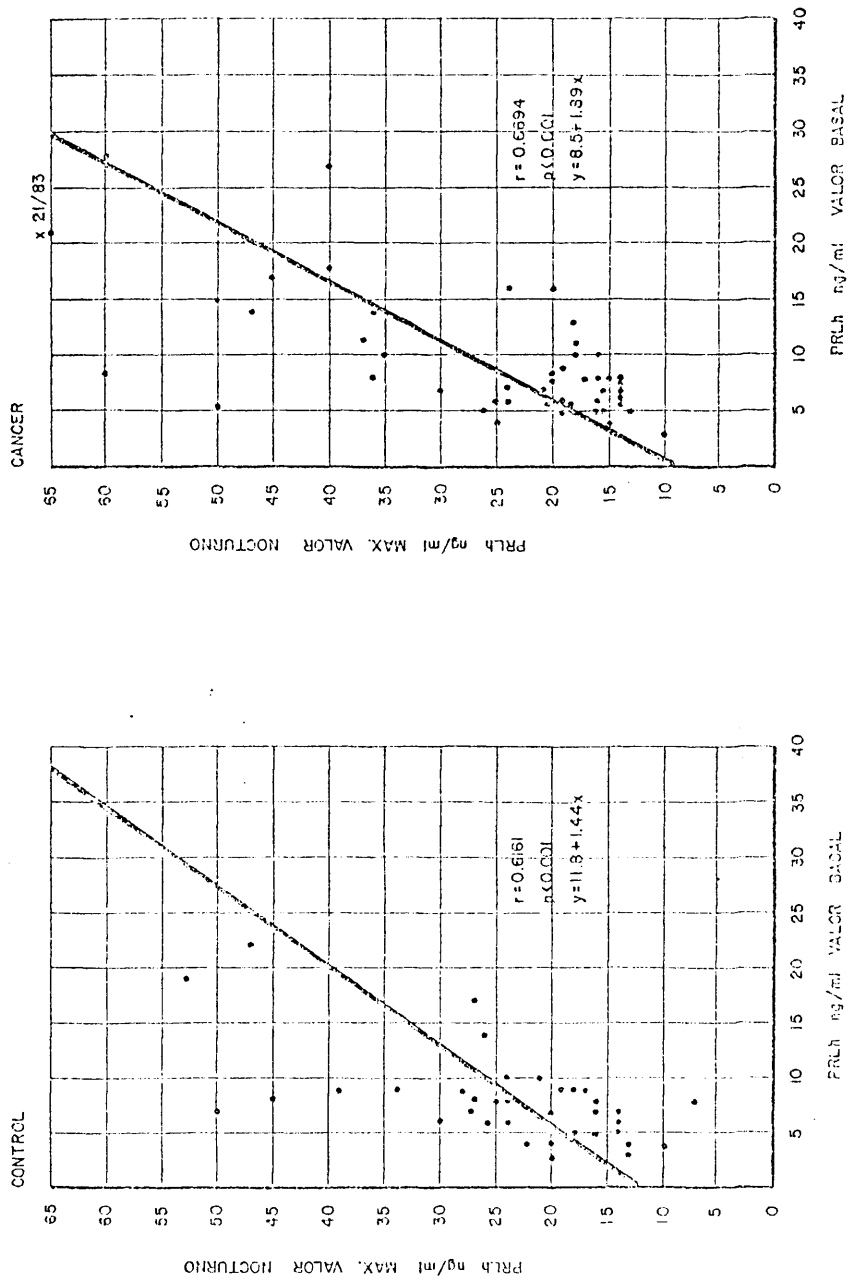
En la Figura 94 se establece la base matemática de que ambos valores, basal y nocturno máximo, se encuentran correlacionados y, por tanto, permitiendo suponer la existencia de una posible predicción del valor nocturno en base al valor basal, si bien no parece que pueda ser muy exacta dada la tendencia en campana que toma la nube de puntos respecto a la recta de regresión. En base a tales resultados podría predecirse que en condiciones normales a valores basales "bajos" podrían corresponder picos nocturnos "bajos", a basales "normales" nocturnas "normales" y a "basales" altas nocturnas "altas", con amplias variaciones individuales que hace que los coeficientes de Pearson tomen valores intermedios aunque altamente significativos (r 0.6166; $p < 0.001$ para controles y 0.6694; $p < 0.001$ para cáncer).

El valor único por paciente se ha obtenido siguiendo dos criterios distintos:

- a) Factor de multiplicación de la basal, obtenido tras dividir el máximo valor nocturno por el basal.
- b) Porcentaje de incremento respecto al valor basal, obtenido con la fórmula $\frac{V_f - V_i}{V_i} \times 100$ siendo V_f la concentración final (nocturna) y V_i la basal.

14 E-7 a) Factor de multiplicación de la basal. Dado que la población tumoral no se distribuye normalmente se ha establecido el valor medio de la serie según histograma de frecuencias absolutas, con amplitud global de 6, igual número de intervalos, y longitud media del intervalo de 1. Dado que el más frecuente ha sido el 2-3 se ha tomado como valor medio el de la mitad del intervalo, es decir 2.5.

FIGURA 94



Partiendo, pues, de la base de considerar un ritmo normal cuando el valor nocturno sea como mínimo 2.5 veces mayor que el valor basal, se obtiene el orden de frecuencia representado en la Figura 95, estudiado estadísticamente según el criterio de distribución χ^2 .

Para la serie control el mayor porcentaje se distribuye para ritmos mayores de 2.5, sin diferencias para la división con y sin ciclo menstrual (χ^2 0.015; p NS) (Figura 95). La serie tumoral, aunque tampoco muestra diferencias significativas (χ^2 1.317; p NS) ofrece un porcentaje de distribución con algunas diferencias. Para las enfermas con ciclo menstrual, o premenopáusicas en el concepto oncológico clásico, el 36.8% presentan valores menores de 2.5 y el 63.1% mayores de 2.5, mientras que para las enfermas sin ciclo menstrual o postmenopáusicas clásicas, el porcentaje de enferma con ritmos menores de 2.5 es mayor (53.3%) y el de enfermas con valores de 2.5 menor (46.6%) (Figura 95).

Cuando se comparan entre sí la serie control y la tumoral respecto a los dos grupos establecidos no se aprecian diferencias significativas (χ^2 0.015; p NS para el grupo con ciclo menstrual y χ^2 1.323; p NS para el grupo sin ciclo menstrual) (Figura 96), aunque existen algunas diferencias para los porcentajes relativos: las enfermas sin ciclo en la serie tumoral muestran un mayor porcentaje de ritmos con coeficientes menores de 2.5 y un menor porcentaje de ritmos con coeficientes mayores de 2.5.

En fin, respecto al criterio de multiplicación de la basal, y aunque el planteamiento de estadística no paramétrica entre la serie control y tumoral no ofrece diferencias significativas entre el número de elementos de cada serie distribuidos en los límites de los dos tipos de ritmos, los porcentajes individuales muestran una tendencia a la presencia de ritmos con basales y nocturnas próximas, y por tanto con un aplanamiento del perfil, más frecuentes en el grupo de postmenopáusicas.

FIGURA 95

ORDENAMIENTO SEGUN FACTOR DE MULTIPLICACION DE LA C.BASAL

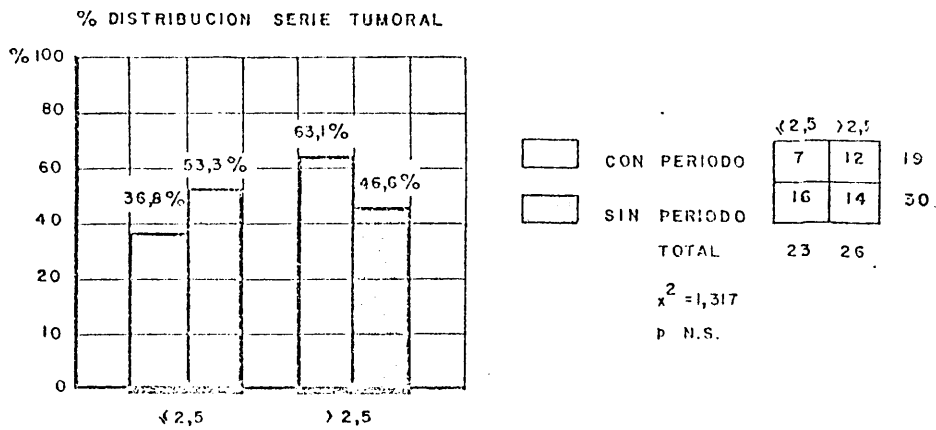
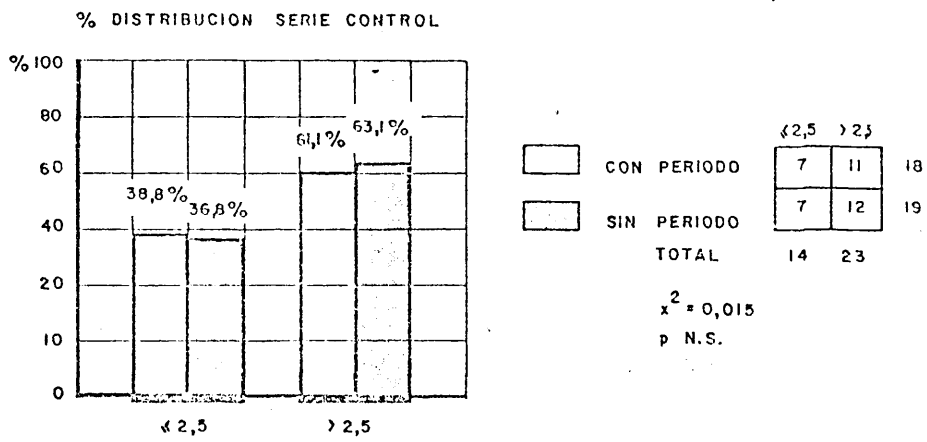
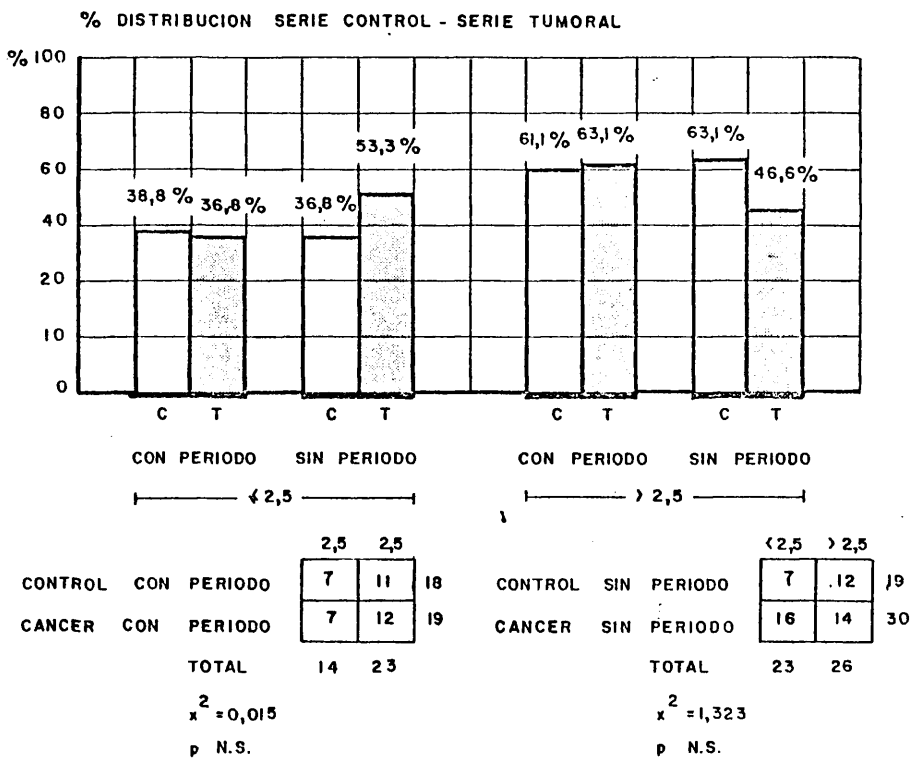


FIGURA 96

ORDENAMIENTO SEGUN FACTOR DE MULTIPLICACION DE LA C.BASAL



14 E-7 b) Porcentaje de incremento nocturno. Utilizando un criterio de ordenamiento semejante al del apartado 14 E-7 a), mediante histograma con amplitud global de 70, 6 intervalos tomando como punto inicial el valor mínimo de los incrementos absolutos, y longitud media de 10, se establece el valor medio del porcentaje de incremento en el 50%, con un máximo por encima del 80%.

Siguiendo este ordenamiento se aprecia una distribución semejante para la serie control y el grupo tumoral, como se representa en la Figura 97. La primera no ofrece diferencias respecto al ordenamiento con y sin ciclo menstrual (x^2 0.143; p NS) con porcentajes prácticamente iguales para los tres grupos, lo mismo que le ocurre a la segunda (x^2 0.290; pNS), aunque en este caso el criterio de utilización de x^2 no es, desde el punto de vista técnico, totalmente exacto.

En base al posible error derivado del incorrecto criterio de utilización del x^2 la comparación de porcentajes entre la serie control y tumoral se ha realizado mediante estudio de porcentajes individuales, lo que revela datos semejantes a los obtenidos con el estudio de multiplicación basal (Figura 98). Si bien existe una distribución porcentual muy similar entre ambas series, las pacientes sin ciclo menstrual con tumor de mama muestran un porcentaje superior a las controles de incrementos menores del 50%, mientras que las controles presentan un número superior de incrementos mayores del 80% que las enfermas con tumor mamario. Ambos valores se acercan al límite de significación estadística (z 1.5; $p < 0.1 > 0.05$ para serie tumoral y z 1.66; $p < 0.1 > 0.05$ para serie control), por lo que no puede negarse la validez de las diferencias, aunque según las reglas de utilización de estudios de porcentajes será necesario comprobar el resultado en una serie mayor.

Cuando se combinan los dos criterios de correlación entre la concentración basal y nocturna con el estadio tumoral estas diferencias se hacen más acusadas:

ORDENAMIENTO SEGUN PORCENTAJE DE INCREMENTO $(\frac{V_F - V_I}{V_F} \times 100)$ M + DS

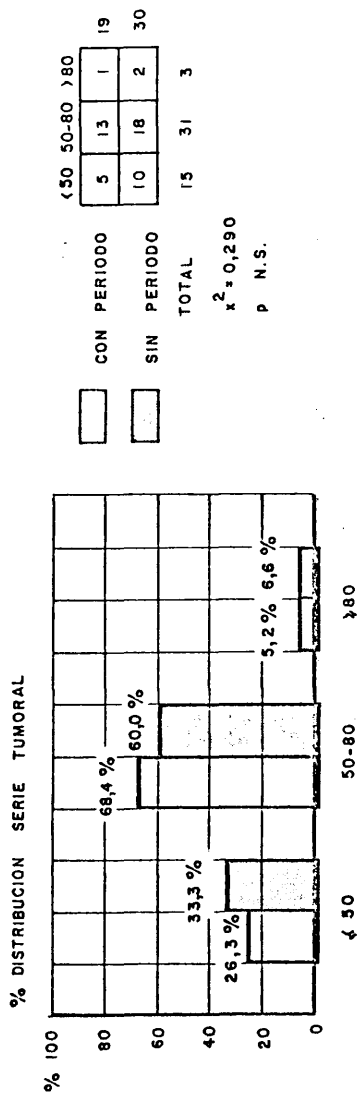
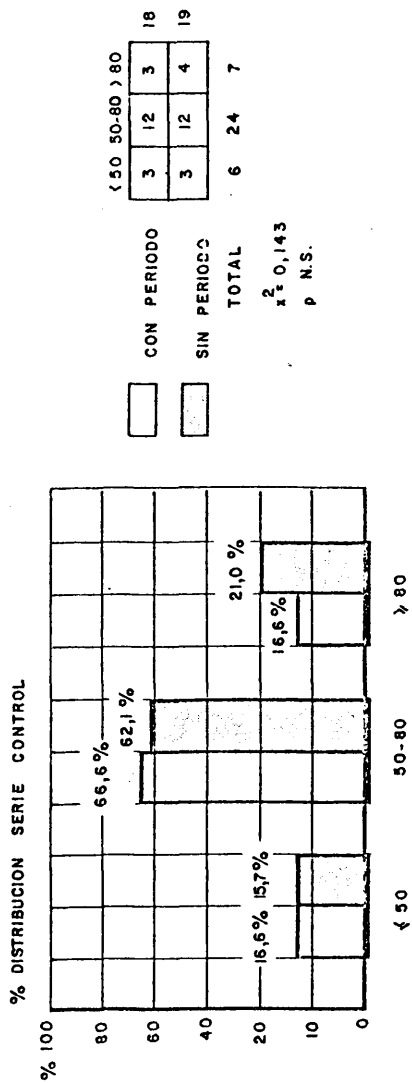
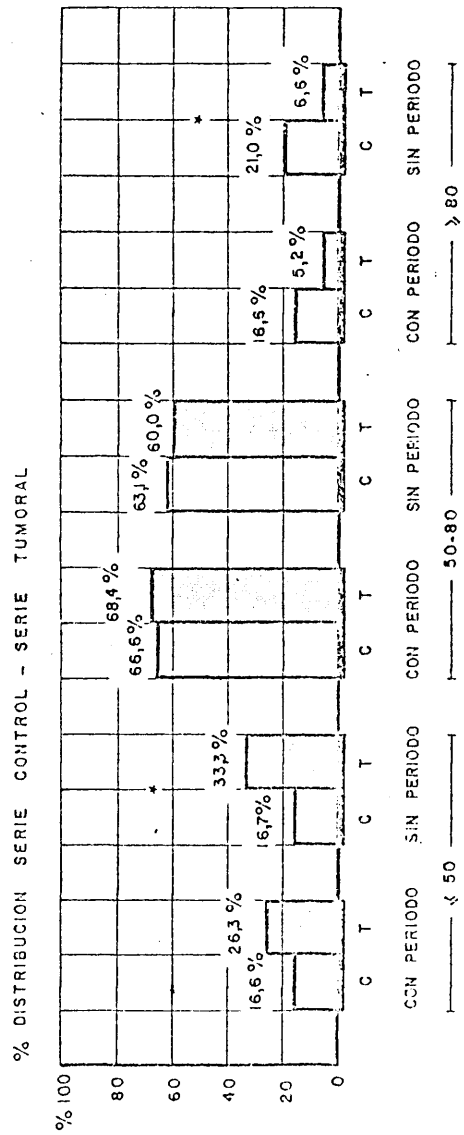


FIGURA 98
 ORDENAMIENTO SEGUN PORCENTAJE DE INCREMENTO ($\frac{V_F - V_I}{V_F} \times 100$)



* Ambos valores se acercan al limite de significacion estadistica.

-Para el primero $z=1,5$ ($p(0,10) \rightarrow 0,05$)

-Para el segundo $z=1,66$ ($p(0,10) \rightarrow 0,05$)

- a) Para el factor de multiplicación basal (Tabla XCI) el porcentaje de ritmos menores de 2.5 se eleva paulatinamente según avanza el estadio tumoral (χ^2 6.31; $p < 0.05$).
- b) Para el porcentaje de incremento los valores siguen un esquema paralelo al anterior aunque con cifras porcentuales para cada estadio algo menos significativas (χ^2 4.29; $p = 0.05$) (Tabla XCII)

14 E-7 c) Ordenamiento con dos criterios. Estadio sexual y estadio tumoral. Parece, pues, que la utilización de un solo criterio de ordenamiento no es útil para definir las modificaciones del ritmo nictameral de PRLh en la serie tumoral, por lo que he realizado nuevamente el estudio asociando a cada estadio sexual, unificado en el criterio clásico de pre y postmenopáusicas, el estadio tumoral correspondiente a las muestras estudiadas con lo que se obtiene los siguientes resultados:

En primer lugar destaca una disminución de las dispersiones para todos los grupos estudiados, aspecto que difiere claramente de los resultados que se han comentado hasta ahora.

En segundo lugar (Figura 99) se aprecia un comportamiento muy distinto para los dos grupos considerados respecto a cada uno de los estadios tumorales. Las premenopáusicas muestran un paulatino incremento de sus concentraciones basales y de su pico nocturno conforme progresa el tamaño tumoral, conservando la significación estadística entre el valor basal y el nocturno, como queda reflejado en la Tabla XCIII. Cuando se comparan los valores nocturnos máximos del grupo control y de los distintos estadios tumorales se aprecia la semejanza para el estadio I-II (t 0.0934; p NS) y el incremento para los estadios III (t 2.2828; $p < 0.05$) y metastásico (t 7.0270; $p < 0.001$).

Puede concluirse que para enfermas premenopáusicas la concentración de PRLh aumenta progresivamente desde los estadios precoces hasta los avanzados, momento en el que se obtienen los máximos valores nocturnos y diurnos.

TABLA XCI

% DE DISTRIBUCION DEL FACTOR DE MULTIPLICACION SEGUN ESTADIO TUMORAL

Estadio	<2,5	>2,5	n
I	11,1%	88,8%	9
II	33,3%	66,6%	6
III	57,1%	42,9%	21
IV	61,5%	38,4%	13

χ^2 6.31 ; p < 0,05

TABLA XCII

% DE DISTRIBUCION DE % INCREMENTO SEGUN ESTADIO TUMORAL

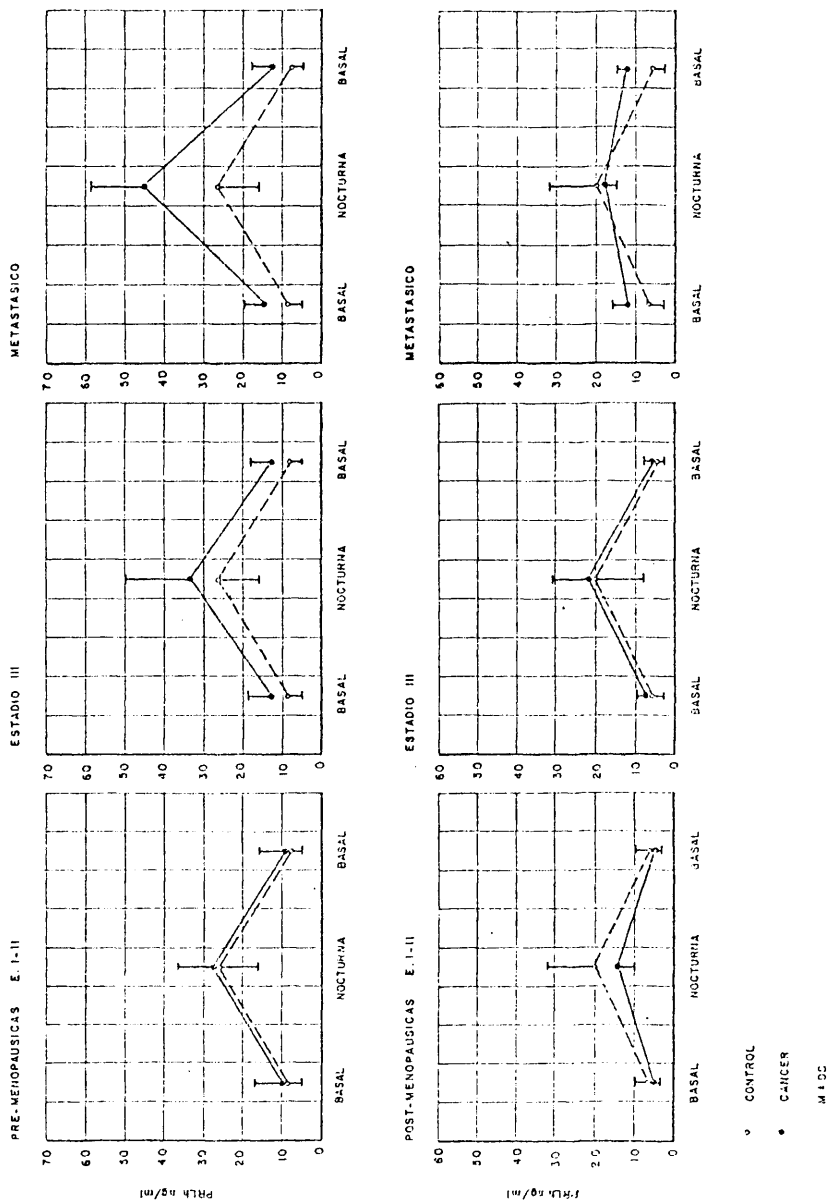
Estadio	<50	50-80	>80	n
I	0%	88,8%	11,1%	9
II	33%	67%	0%	6
III	31%	59%	9%	22
IV	50%	50%	0%	12

571

χ^2 4,29 ; p = 0,05

FIGURA 99

RITMO NICTANERAL RESPECTO PICO NOCTURNO MAXIMO. SEGUN PRE (PER+CLIM) Y POST-MENOPAUSICAS - ESTADIO TUMORAL.



○ CONTROL
 ● CANCER
 M ± DC

TABLA XCIII

LH ORDENAMIENTO CON DOS CRITERIOS: PRE O POSTMENOPAUSIA Y ESTADIO TUMORAL

PREMENOPAUSICAS

	<u>n</u>	<u>1^a basal</u>	<u>Noct. Máx.</u>	<u>2^a basal</u>
Control	24	8,81±4,1	26,06±10,02	8,37±3,56
Estadio I-II	10	10,9±7,6	25,06±12,2	9,31±6,91
Estadio III	9	13,6±7,9	31,06±19	12,4±6,11
Estadio IV	6	15,6±3,95	44,2 ±15,3	13,6±3,41

ESTUDIO ESTADISTICO

BASAL-NOC. MAX.

	<u>r</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
Control	0,4008	5,1967	<0,001
Estadio I-II	0,8385	2,5129	<0,05
Estadio III	0,6057	3,2811	<0,02
Estadio IV	0,8865	7,7484	<0,005

ESTUDIO ESTADISTICO

CONTROL-CANCER

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
Control-Estadio I-II	1,490	<0,05	0,0934	N.S.
Control-Estadio III	3,595	>0,05	2,2828	<0,05
Control-Estadio IV	2,351	<0,05	7,0270	<0,001

Las postmenopáusicas ofrecen un comportamiento muy distinto, como se había sospechado previamente, y como queda reflejado en la Tabla XCIV y Figura 99. Los valores basales y nocturnos para el estadio I-II se acercan hasta el punto de perder la significación estadística (t 1.8955; p NS) lo que puede interpretarse como una pérdida del ritmo nictameral. Para el estadio III los valores nocturnos ascienden claramente (t 6.3920; $p < 0.001$) para mantenerse a ese nivel con una dispersión mínima durante la aparición del cuadro metastásico; pero dado que los valores basales también ascienden se llega a una pérdida completa del ritmo (t 0.513; p NS) que parece ser estable dadas las mínimas modificaciones de la desviación estandar de cada hora.

Cuando se comparan los valores nocturnos con los del grupo control (Tabla XCIV) se observa un descenso estadísticamente significativo para el estadio I-II (t 2.2466; $p < 0.05$) y el metastásico (t 2.2446; $p < 0.05$) a pesar de la mínima diferencia de sus medias, y que puede guardar relación con la clara heterogeneidad de las dos muestras como refleja el estudio de varianza (F 11.003; $p > 0.01$).

De tanto o más interés son los resultados obtenidos al estudiar las modificaciones postoperatorias, comprobadas en una serie de 15 pacientes de las cuales 2 fueron reevaluadas en clara situación de enfermedad metastásica (Tabla XCV).

Aunque la serie estudiada es muy pequeña para obtener conclusiones definitivas dos hechos parecen evidente: a) las dos pacientes con carcinoma metastásico (A.H.M. y PSR), ambas postmenopáusicas, muestran una tendencia a la configuración basal-nocturna semejante a la comentada previamente, pues ambas presentan basales que tienden a elevarse (11.7 y 12.6 ng/ml) y nocturna aplanada (21 y 26.7 ng/ml) que conducen a un factor de multiplicación menor de 2.5 (1.7 y 2) y a un incremento que no supera el 50% aceptado como límite (48 y 51%).

TABLA XCIV

PRLh.ORDENAMIENTO CON DOS CRITERIOS: PRE O POSTMENOPAUSIA Y ESTADIO TUMORAL POSTMENOPAUSICAS

	<u>n</u>	<u>1ª basal</u>	<u>Noct. Máx.</u>	<u>2ª basal</u>
Control	13	6,6 ±4,1	19,94±11,93	6,26±3,48
Estadio I-II	6	5,66±2,15	15,31±4,98	5,23±1,83
Estadio III	12	6,91±2,69	21,34±10,94	6,40±1,51
Estadio IV	6	11,46±3,68	18,1 ±3,59	10,95±3,96

ESTUDIO ESTADISTICO

BASAL-NOC. MAX.

	<u>r</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
Control	0,8482	8,8938	<0,001
Estadio I-II	-0,1046	1,8955	N.S.
Estadio III	0,3359	6,3920	<0,001
Estadio IV	0,9045	0,0513	N.S.

ESTUDIO ESTADISTICO

CONTROL-CANCER

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
Control-Estadio I-II	5,7459	>0,05	2,2466	<0,05
Control-Estadio III	0,84	<0,05	0,25	N.S.
Control-Estadio IV	11,003	>0,01	2,2446	<0,05

TABLA XCV

PRlh. RITMO NICTAMERAL POSTOPERATORIO

	Basal		01 horas		05 horas		2 ^a Basal		E
	Pre -	Post	Pre -	Post	Pre -	Post	Pre -	Post	
M.R.S.	10	9,7	13	31,2	35	63,9	11,1	10,3	II
F.G.S.	17	7,5	45	23,3	29	39,6	14	6,9	IV
E.N.E.	4	12,6	18	54	25	34	37	10,9	II
I.A.S.	8,5	11,5	15	13,2	60	43	9	13,2	III
L.R.S.	5	9,1	17	23,7	19	22,8	7,5	10,4	III
J.B.R.	5,7	12,5	14,4	34,2	13,1	38	7,3	14,2	I
M.M.S.	9,9	8	12,6	35,5	18,4	45,9	6,5	10,5	III
P.M.C.	5,2	8,4	12,6	33,4	15,7	37,8	3,6	9,9	I
A.A.D.	2,3	12,6	6	19,5	10,5	24,1	5,5	13,6	III
A.H.M.	14,2	11,7	18,9	18,1	47,3	21	13,1	12	IV
E.S.S.	6,8	9,2	14,2	28,2	23,6	46	5,8	9,25	I
C.A.G.	17	8,3(7)	36	22,9(1,4)	40	22,6(20)	14,7	9,5(8)	IV
J.R.B.	27	8,5	40	37,2	40	45,4	23,5	9,8	II
C.L.C.	25	12,2	18	28,8	25	34,5	22	13,2	I
P.S.R.	13,2	12,6	16	29,9	13	26,7	9,8	14,5	IV

Para el grupo de premenopáusicas (Tabla XCVI; Figura 100) destaca la tendencia al descenso basal y al incremento nocturno, sin diferencias estadísticamente significativas que quedan en el límite del 95% por lo que no puede rechazarse la falta de significación.

Las postmenopáusicas (Tabla XCVII; Figura 100) muestran un comportamiento similar con peculiaridades típicas derivadas de la situación hormonal que las caracteriza. El valor basal tiende a aumentar, al igual que el valor nocturno, que es claramente significativo tanto para las 01 horas (t 4.004; $p < 0.02$), 05 horas (t 3.1176, $p < 0.025$) como para el máximo valor nocturno (t 4.5; $p < 0.02$) lo que hace que el perfil postoperatorio se eleve claramente por encima del valor control, pero sin alcanzar al de las premenopáusicas.

Puede, pues, concluirse, aunque solo sea con el carácter de hallazgo preliminar, que tanto las pre como las postmenopáusicas muestran una serie de modificaciones en la evolución del ritmo nictameral que parecen guardar relación con la presencia de una masa tumoral activa y con un distinto comportamiento tras la aparición del cuadro metastásico. Las premenopáusicas mantienen concentraciones que tienden a ser sistemáticamente más altas que las controles, aumentando algo más tras la supresión de la masa tumoral, sin que se pueda especificar que diferencias existen en el perfil postoperatorio entre enfermas estudiadas en estadios precoces o avanzados. Para postmenopáusicas la presencia en una masa tumoral parece que condiciona una pérdida del ritmo, clara y mantenida durante el período metastásico, mientras que la supresión de dicha masa tumoral conduce a una elevación de las cifras medias del perfil por encima de las de la serie control.

En la Figura 101 se resume el perfil de reproductibilidad de cuatro controles normales estudiados en dos días consecutivos y durante la misma fase del ciclo menstrual. Independientemente de la hora considerada y de las variaciones individuales parece claro que el máximo pico nocturno de PRLh muestra un patrón repetitivo bastante constante.

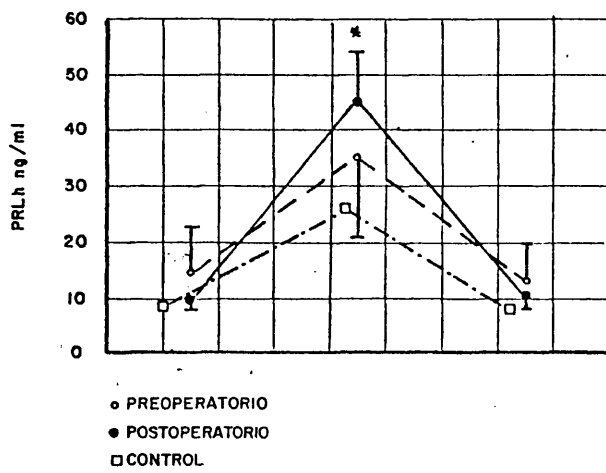
TABLA XCVI

PREMENOPAUSICAS. RITMO NICTAMERAL POSTOPERATORIO. VALORES MEDIOS Y ESTUDIO ESTADISTICO PRE-POSTOPERATORIO

	<u>n</u>	<u>M</u>	<u>DS</u>	<u>V</u>	<u>SIGNIFICACION</u>
<u>09 horas</u>					
Preoperatorio	7	14,88	8,25	68,06	t 1,7451
Postoperatorio	7	9,51	1,76	3,4	p N.S.
<u>01 horas</u>					
Preoperatorio	7	22,51	13,82	191,02	t 0,9263
Postoperatorio	7	28,2	8,08	65,44	p N.S.
<u>05 horas</u>					
Preoperatorio	7	33	13,92	193,92	t 2,0264
Postoperatorio	7	45,47	9,13	83,50	p N.S.
<u>09 horas</u>					
Preoperatorio	7	13,11	7,14	51,04	t 1,0152
Postoperatorio	7	10,45	2,22	4,93	p N.S.
<u>Valor nocturno máximo</u>					
Preoperatorio	7	35,28	14,46	209,15	t 1,5457
Postoperatorio	7	45,47	9,13	83,50	p N.S.

FIGURA 100

PREMENOPAUSICAS



POSTMENOPAUSICAS

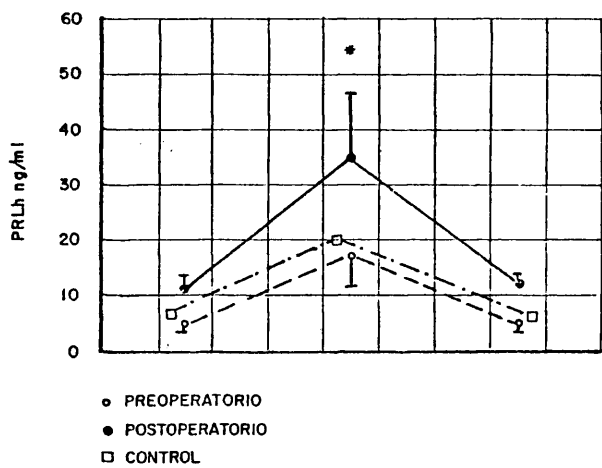
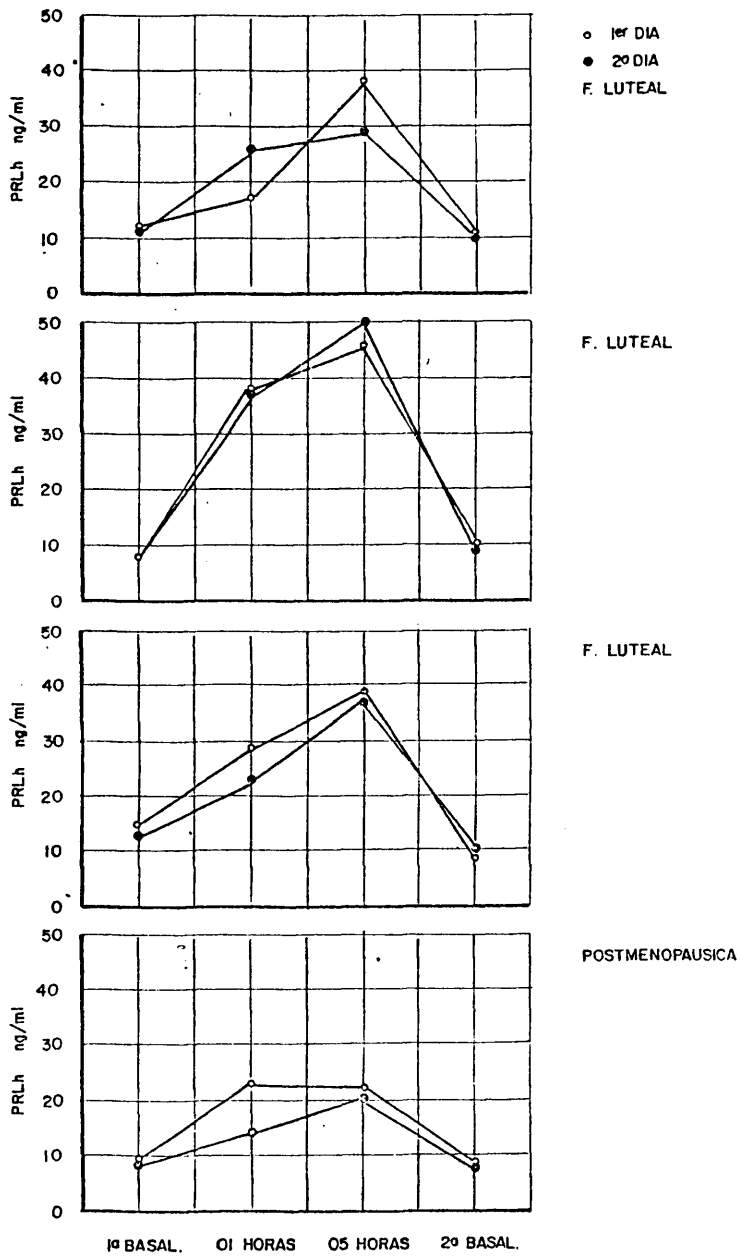


TABLA XCVII
 POSTMENOPAUSICAS. RITMO NICTAMERAL POSTOPERATORIO. VALORES MEDIOS Y
 ESTUDIO ESTADÍSTICO PRE-POSTOPERATORIO

	<u>n</u>	<u>M</u>	<u>DS</u>	<u>V</u>	<u>SIGNIFICACION</u>
<u>09 horas</u>					
Preoperatorio	5	4,44	1,34	1,81	t 4,4
Postoperatorio	5	11,04	2,10	4,43	p <0,02
<u>01 horas</u>					
Preoperatorio	5	13,6	4,75	22,58	t 4,004
Postoperatorio	5	32,96	13,33	177,83	p <0,02
<u>05 horas</u>					
Preoperatorio	5	16,66	5,62	31,64	t 3,1176
Postoperatorio	5	28	9,39	88,19	p <0,025
<u>09 horas</u>					
Preoperatorio	5	4,82	1,69	2,85	t 5,7377
Postoperatorio	5	11,8	1,96	3,84	p <0,005
<u>Valor nocturno máximo</u>					
Preoperatorio	5	16,92	5,44	29,66	t 4,5
Postoperatorio	5	34,76	12,4	153,92	p <0,02

FIGURA 101

REPRODUCTIBILIDAD RITMO NICTAMERAL PRLh



La realización de un estudio semejante para HCh se ve complicada por lo pequeño de la muestra, que no permite obtener grupos con el número mínimo de elementos para comparar, en pre y postmenopausia, los valores dentro de cada estadio tumoral. Utilizando el máximo pico nocturno, que no corrige como le ocurre a PRLh la dispersión del valor medio, puede apreciarse (Tabla XCVIII) la enorme similitud de los valores basales, y la no significación estadística de la pequeña diferencia entre el valor nocturno máximo de pre y postmenopáusicas. Realizando el estudio para cada estadio tumoral en un solo grupo, se aprecia la no significación, no solo de los valores basales, prácticamente iguales, sino del pico nocturno. El único hallazgo, de difícil interpretación dada la dispersión de los valores, es la no significación entre la basal y la nocturna del estadio IV que hace sugestiva la consideración de una pérdida del ritmo día-noche.

Por último, como se expresa en la Figura 102, hay que destacar la reproductividad relativa del máximo pico nocturno en la serie de tres controles estudiada, con diferencias muy acusadas incluso en aquellos dos casos en los que su semejanza es mayor. Sin embargo, lo pequeño de la muestra no permite obtener conclusiones definitivas. Ello puede coincidir con la poca diferencia apreciada en el estudio postoperatorio en el que junto a discretas elevaciones, no significativas, de los valores basales se aprecian variaciones mínimas de los picos nocturnos que tienden hacia un descenso solo significativo para las pacientes postmenopáusicas (Tabla XCIX)

TABLA XCVIII

HCh. ORDENAMIENTO CON DOS CRITERIOS: PRE O POSTMENOPAUSIA Y ESTADIO TUMORAL.

	<u>n</u>	<u>1ª Basal</u>	<u>Noct. máx.</u>	<u>2ª Basal</u>
Control premenopáusicas	8	0,97±0,63	4,36±2,34	0,89±0,3
Control postmenopáusicas	7	0,97±0,48	3 ±2,2	0,81±0,35
Estadio I-II	7	0,94±0,81	6,1 ±2,91	0,82±0,59
Estadio III	9	0,86±1,2	3,24±2,57	0,80±0,90
Estadio IV	4	1,35±1,17	2,52±1,02	1,27±0,97

ESTUDIO ESTADISTICO

BASAL-NOC. MAX.

	<u>r</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
Control premenopáusicas	0,0573	4,2689	0,005
Control postmenopáusicas	0,8563	9,6041	0,001
Estadio I-II	-0,1891	3,7912	0,01
Estadio III	0,1011	2,1377	<0,1 >0,05
Estadio IV	0,4340	0,2119	N.S.

ESTUDIO ESTADISTICO

CONTROL-CANCER

	<u>F</u>	<u>p</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
<u>Premenopáusicas</u>				
Control-Estadio I-II	1,539	<0,05	1,3082	N.S.
Control-Estadio III	1,203	<0,05	1,9237	N.S.
Control-Estadio IV	5,455	>0,05	1,4838	N.S.
<u>Postmenopáusicas</u>				
Control-Estadio I-II	1,630	<0,05	2,1739	=0,05
Control-Estadio III	1,269	<0,05	0,1967	N.S.
Control-Estadio IV	5,148	>0,05	0,4098	N.S.

FIGURA 102

REPRODUCTIBILIDAD RITMO NICTAMERAL HCh

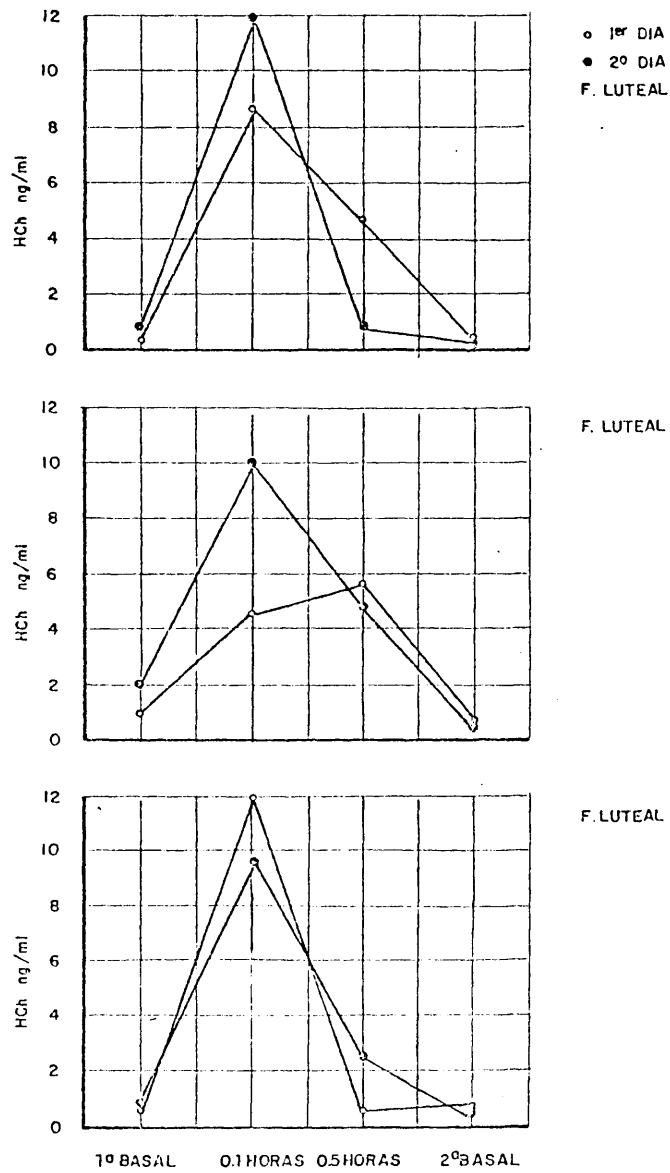


TABLA XCIX

HCh. RITMO NICTAMERAL. VALORES PRE-POSTOPERATORIOS

	<u>n</u>	<u>M</u>	<u>DS</u>	<u>SIGNIFICACION</u>
<u>PREMENOPAUSICAS</u>				
1 ^a BASAL				
Control	8	0,97	0,63	-
Cancer preoperatorio	8	0,57	0,26	-
Cancer postoperatorio	6	1,3	0,48	-
NOCTURNA MAXIMA				
Control	8	4,36	0,89	-
Cancer preoperatorio	8	4,51	2,98	-
Cancer postoperatorio	6	3,45	1,75	-
2 ^a BASAL				
Control	8	0,89	0,3	-
Cancer preoperatorio	8	0,66	0,29	-
Cancer postoperatorio	6	1,4	0,48	-
<u>POSTMENOPAUSICAS</u>				
1 ^a BASAL				
Control	7	0,97	0,48	-
Cancer preoperatorio	8	0,97	0,97	-
Cancer postoperatorio	5	1,42	0,48	-
NOCTURNA MAXIMA				
Control	7	3	2,2	-
Cancer preoperatorio	8	4,2	3,3	-
Cancer postoperatorio	5	2,3	0,9	t 2,4043, p <0,05
2 ^a BASAL				
Control	7	0,81	0,35	-
Cancer preoperatorio	8	0,85	0,84	-
Cancer postoperatorio	5	1,4	0,4	-

14 F) PRLh y Antígeno Carcinoembrionario (ACE)

El valor medio del ACE de la serie control, establecido para 20 hombres y 20 mujeres, ha dado como resultado una concentración de 2.16 ± 0.44 y 1.83 ± 0.61 ng/ml respectivamente, sin observarse variaciones aparentes respecto a la pre o postmenopausia de las mujeres (Figura 103).

Aceptando como límite la concentración de 5 ng/ml, pero considerando como valores dudosos los que se encuentran entre esta concentración y el máximo rango control, cifrado alrededor de 2.5 ng/ml, se observa que existen importantes diferencias en la cuantificación plasmática de los niveles de ACE en la serie inicial de comprobación con tumores digestivos. Así, 1 entre 11 tumores no avanzados presentan valores superiores a 5 ng/ml, mientras que cinco de estos se sitúan en el rango dudoso entre 2.5 y 5 ng/ml. Para tumores en estadios avanzados, pero sin metastasis a distancia, la proporción de valores en el rango, o por encima del límite aceptado, aumenta a un 57% (8 entre 14) mientras que todos aquellos que presentan metastasis a distancia superan esta cifra; de todas maneras parece existir un diferente comportamiento para los niveles de ACE en estos casos, pues tres tumores metastatizantes en esqueleto han presentado cifras límite entre 5 y 10 ng/ml, al contrario de los que presentaron metastasis viscerales cuyos valores sobrepasan claramente esta cifra (Figura 104). De esta pequeña serie inicial puede concluirse que el valor de ACE circulante depende de las características de cada tumor, estando sometido a amplios márgenes de variación individual.

En la Figura 105 se recogen los valores individuales de decenso tras la extirpación del tumor primitivo. Independientemente de la significación estadística de la diferencia pre-postoperatori ($t = 2.2260$; $p < 0.05$) hay que destacar el acusado decenso de los valores máximos preoperatorios, no modificándose prácticamente aquellos situados en el rango de normalidad. Por otra parte, frente a tumores en los que la exeresis es incompleta se comprueba un descenso que no llega a alcanzar el rango de normalidad.

FIGURA 103

ACE CONTROLES

2.16 ± 0.44

1.83 ± 0.61

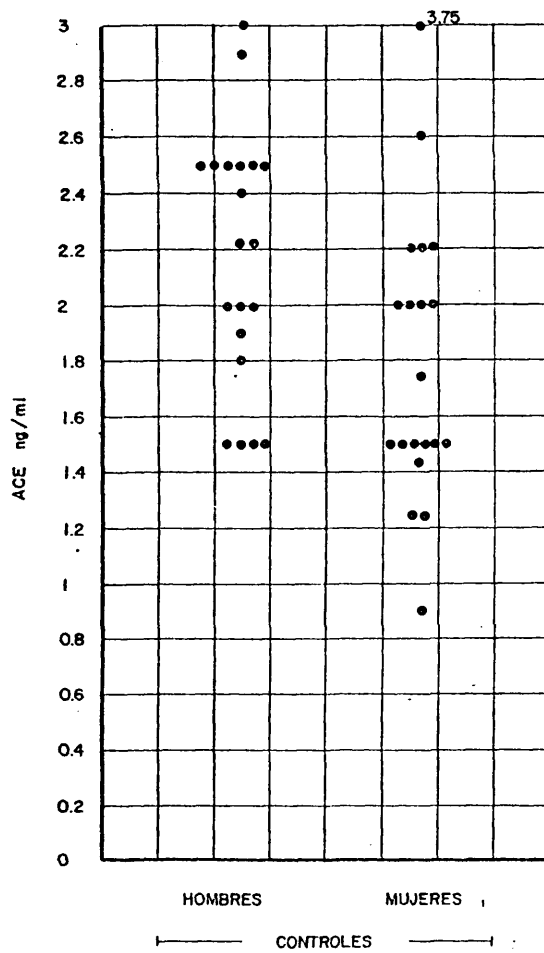


FIGURA 104

ACE TUMORES DIGESTIVOS

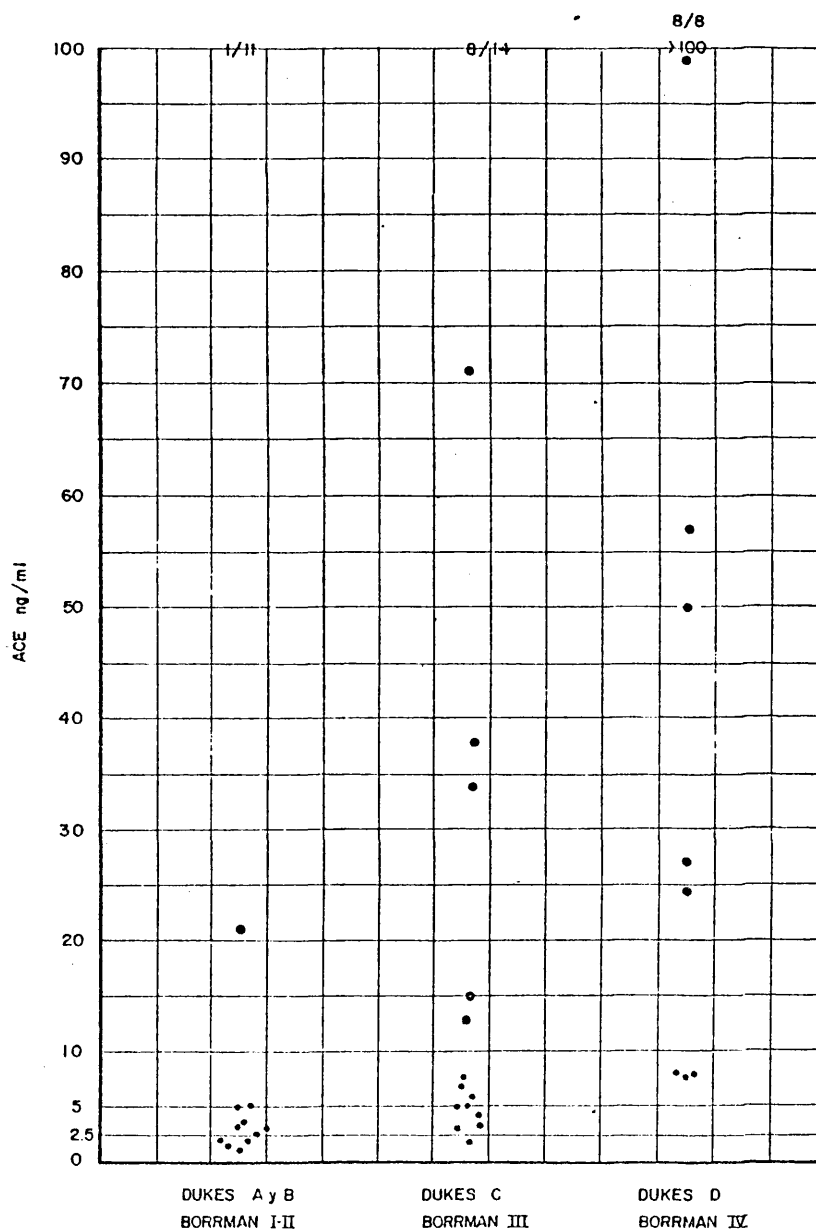
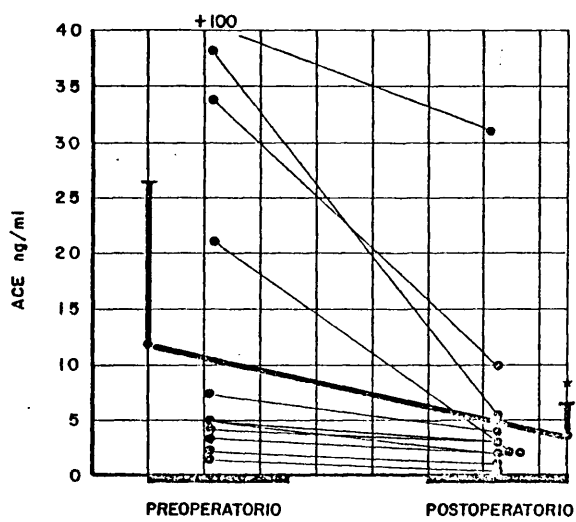


FIGURA 105

ACE PRE - POSTOPERATORIO



* t = 2.2260
p < 0.05

He comprobado ciertas diferencias mediante la introducción de una modificación técnica en la realización del ensayo. La no extracción previa de proteínas mediante floculación por acetato-calor produce un incremento en el valor de ACE en las muestras tumorales frente a la no modificación de las muestras control, quienes representan el mayor número en la serie estudiada y condicionan el valor tan alto del coeficiente de Pearson observado en este estudio (r 0.9873; $p < 0.001$) (Figura 106). Este aumento en las muestras tumorales parece proporcional al valor inicial, siendo grande para los títulos inicialmente elevados y más pequeña para las cifras límite que, sin embargo, parece que se positivizan por encima del límite aceptado (Tabla C).

Las modificaciones del ACE no parece que guarden relación con el grado de función hepática cuando esta es normal, (Tabla CI), pues la correlación respecto al valor de GOT, y GPT no ha revelado cifras significativas (r -0.2085 para la primera y r 0.3030 para la segunda en 25 ensayos). Respecto a fosfatasa alcalina, frecuentemente elevada en las metastasis digestivas de estos tumores, tampoco se ha observado correlación significativa, a pesar de encontrarse algunas muestras claramente elevadas (r 0.0581; p NS).

En la Figura 107 se representan los valores individuales de ACE en los distintos estadios del carcinoma mamario. Catorce entre 18 tumores (77%) en estadio precoz mostraron cifras completamente normales, dos (11.1%) se situaron en el rango 2.5-5 ng/ml y dos (11.1%) sobrepasaron muy discretamente el valor límite. Para el estadio III se puede apreciar un mayor número de muestras que tienden a situarse por encima del límite (9/26; 34.6%) aunque persisten bastantes dentro del rango dudoso (13/26; 50%) y aún algunas muestra cifras normales (4/26; 15%). El estadio IV ha sido el que ha ofrecido los valores mayores, excepto 2 muestras que se cifraron cercanas al límite de 5 ng/ml. Puede, pues, concluirse que la determinación de ACE durante el preoperatorio del carcinoma mamario ofrece poca seguridad diagnóstica, siendo tan solo efectivo para la sospecha inicial de posibles metastasis, especialmente en tumores estudiados en estadios ya avanzados.

FIGURA 106

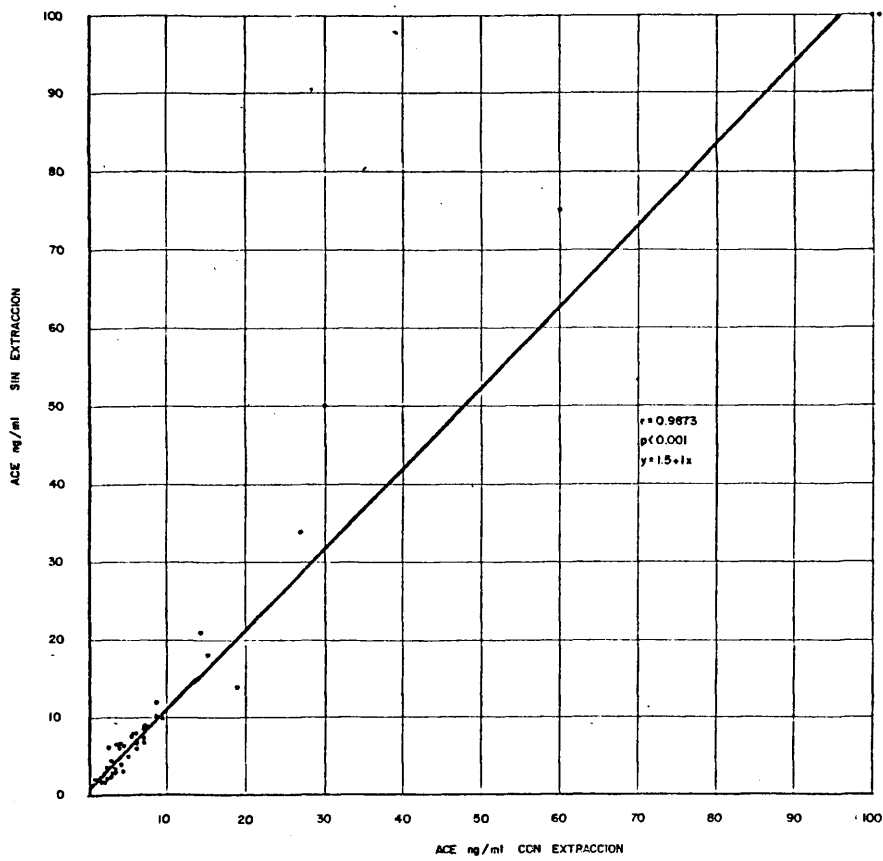


TABLA C

1er ENSAYO

<u>Muestra</u>	<u>Normal</u>	<u>Sin extraer</u>	
1	3,25	3	
2	2,20	2,25	
3	14	19	*
4	4	4,75	
5	2,75	3,75	
6	5,75	8,25	
7	30,4	50	*
8	5,75	8,25	
9	27	34	*
10	3,75	4,75	
11	14,5	21	
12	3,4	5,5	
13	3,75	4,5	
14	3,2	3,6	
15	2,4	2,25	
16	15	18	*
17	1,95	2,6	
18	2,6	2,6	
19	4	6	
20	3,6	6,5	*
	$\bar{x}=7,66\pm 8,30$	$\bar{y}=10,5\pm 12,42$	

* Los valores señalados corresponden a muestras tumorales

TABLA C (Continuación)

2° ENSAYO

<u>Muestra</u>	<u>Normal</u>	<u>Sin extraer</u>
1	7	6,75
2	8,5	12 *
3	3	2,75
4	6	6
5	7	8
6	4,8	5,5
7	8,5	10
8	6,9	6,5
9	7	8,5
10	4,5	3
11	<100	<100
12	5	5
13	6	7,5
14	4,6	5,75
15	60	75 *
16	2,6	6
17	2,5	2,9
18	1,3	2,1
19	<100	<100
20	4	6 *
	$\bar{x}=8,5\pm 13$	$\bar{y}=9,84\pm 16,6$

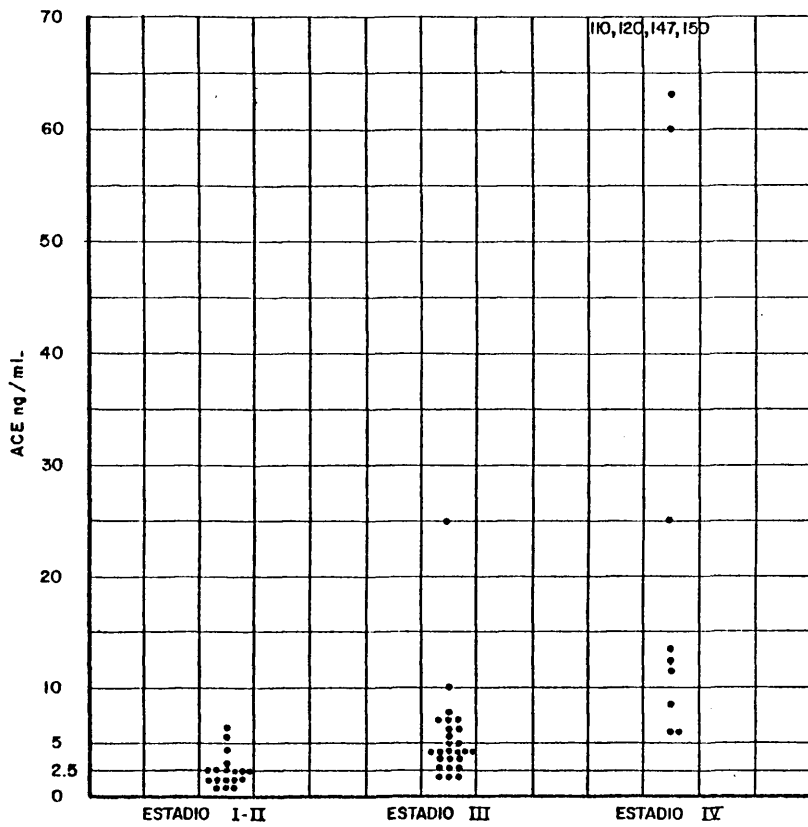
* Los valores señalados corresponden a muestras tumorales

TABLA CI

<u>Muestra</u>	<u>GOT</u>	<u>GPT</u>	<u>F.A.</u>	<u>ACE</u>	<u>CORRELACION</u>
1	28	29	3,3	1,5	GOT-ACE $r = 0,2085$
2	18	28	2,7	4,7	F NS
3	23	23	2,9	1,4	$y = 2,4 + 0,01x$
4	12	20	2,5	1,7	
5	28	20	4	2	GPT-ACE $r = 0,3030$
6			3,1	1,5	F NS
7	33	30	3,3	2	$y = 1,25 + 0,02$
8	29	31	3,5	2,6	
9	11	30	2,4	1,25	
10	32	17	3	1,8	F.A.-ACE $r = 0,0581$
11	37	30	2,1	1,5	F NS
12	15	12	1,1	2,2	$y = 1,9 + 0,02$
13	12	16	4,5	2	
14	28	22	2,1	1,8	
15	19	32	5,4	2,7	
16	21	19	2,1	1,5	
17	19	29	3,5	1,5	
18	17	26	2,8	2	
19	18	15	2,7	1,5	
20	13	20	4,5	2	
21	14	40	2	2,5	
22	34	35		2	
23	26	35	2,1	2,2	
24	26	21	4,1	0,9	

FIGURA 107

ACE EN CARCINOMA DE MAMA SEGUN ESTADIO TUMORAL



La valoración del descenso postoperatorio (Figura 108) muestra una clara regresión a los valores normales, independientemente del valor inicial, persistiendo elevada en aquellos casos en los que no se realizó una extirpación total de la masa tumoral y en los que se comprobó la presencia de metastasis hepática (120 y 147 ng/ml) y óseas (13.2 ng/ml), lo que confirma la presunción indicada en los párrafos anteriores.

Aunque con amplias variaciones individuales, que parecen relacionadas con la localización de las metastasis, las cuatro pacientes que en algún momento mostraron valores normales presentaron claros incrementos por encima del valor límite tras la aparición de éstas (7 -61.2; 1.7 -6.2; 1 -5.7; 2.7 -7.5 ng/ml). De forma general el ACE se comporta en el carcinoma mamario de manera semejante a como lo hacen los carcinomas digestivos previamente estudiados.

Planteada la posibilidad de que la PRLh, de acuerdo con las modificaciones en la serie basal, pudiera comportarse en casos individuales como un marcador evolutivo, se han correlacionado sus concentraciones con las de ACE, aunque se trata de sustancias muy distintas estructural y biológicamente. Como queda reflejado en la Tabla CII durante la valoración del tumor primitivo no existe ningún tipo de correlación entre ambas, con valores del coeficiente de Pearson muy sugestivos de la total independencia de ambos parámetros. Pero durante la valoración postoperatoria, frente a la no correlación en postoperatorio sin metastasis, se aprecia una clara significación estadística ($r = 0.8204$; $p < 0.01$) en la situación de enfermedad metastásica, que sugiere que la PRLh se comporta de alguna manera de forma semejante a como lo hace el antígeno carcinoembrionario.

FIGURA 108

ACE EN CARCINOMA DE MAMA VALORES PRE-POSTOPERATORIOS

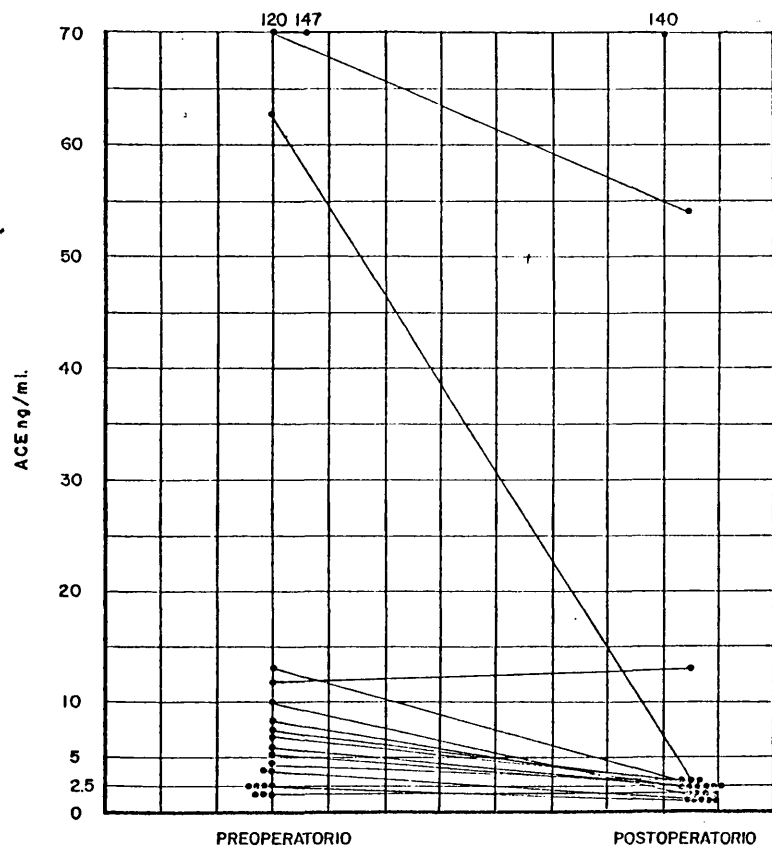


TABLA CII
CORRELACION PRLh-ACE

	<u>n</u>	<u>r</u>	<u>p</u>	<u>y</u>
<u>Preoperatorio</u>				
Estadio I-II	18	0,3219	N.S.	2 +0,06x
Estadio III	20	-0,0386	N.S.	5,7 +0,02x
Estadio IV	13	-0,1204	N.S.	89 +2,1x
<u>Postoperatorio</u>				
Sin metastasis	13	0,3029	N.S.	0,59+0,27x
Con metastasis	7	0,8204	<0,01	-40 +3,8x

14 G) Mastopatía fibroquística

Los valores medios de las 11 enfermas estudiadas se resumen en la Tabla CIII, en la que también queda expresado el estudio estadístico que se comporta siguiendo el modelo control, con dispersiones relativamente pequeñas y englobadas en una población homogénea. La concentración basal (11.64 ± 6.68 ng/ml) es claramente menor que las nocturnas especialmente la de las 05 horas (20.92 ± 9.24 ; t 2.542 $p < 0.02$ para las 01 horas y 27.11 ± 8.76 ; t 4.726 $p < 0.001$ para las 05 horas), no mostrando diferencia respecto a la segunda basal (10.66 ± 5.71 ; t 0.37 p NS).

Evaluadas respecto a la serie control y tumoral en período climatérico, dada la edad media de la serie, no se observa ninguna diferencia estadísticamente significativa, encontrándose sus valores en un rango muy similar al de las otras dos series estudiadas (Tabla CIV).

TABLA CIII

PRLh. RITMO NICTAMERAL MASTOPATIA FIBROQUISTICA

	n	Máx.	Mín.	M	DS	R	DIS.
1ª BASAL	11	27	4,4	11,64	6,68	22,6	N.
01 horas	11	40	7,8	20,92	9,24	32,2	N.
05 horas	11	40	13,6	27,11	8,76	26,4	N.
2ª BASAL	11	23,5	3,9	10,66	5,71	19,6	N.

ESTUDIO ESTADISTICO

	F	P	t	p
1ª basal-01 horas	1,913	<0,05	2,542	<0,02
1ª basal-05 horas	1,719	<0,05	4,726	<0,001
1ª basal-2ª basal	1,368	<0,05	0,37	N.S.
01 horas-05 horas	1,112	<0,05	1,635	N.S.
01 horas-2ª basal	2,618	<0,05	3,127	<0,01
05 horas-2ª basal	2,353	<0,05	5,302	<0,001

TABLA CIV

ESTUDIO ESTADISTICO
 PRLh. RITMO NICTAMERAL. CONTROL-MASTOPATIA FIBROQUISTICA

	F	P	t	P
1ª BASAL	2,174	0,05	1,2278	N.S.
01 horas	1,275	0,05	0,4187	N.S.
05 horas	1,447	0,05	1,0681	N.S.
2ª BASAL	1,353	0,05	1,2045	N.S.

ESTUDIO ESTADISTICO

PRLh. RITMO NICTAMERAL. MASTOPATIA FIBROQUISTICA-CANCER

1ª BASAL	U = 235	Z = 0,751	P	N.S.
01 horas	U = 218	Z = 1,070	P	N.S.
05 horas	U = 191,5	Z = 1,567	P	N.S.
2ª BASAL	U = 220	Z = 1,032	P	N.S.

C A P I T U L O O C T A V O

15. DISCUSION

El motivo de este trabajo, al disponer de una técnica estandarizada de RIA para PRLh, no ha sido otro que el de estudiar, en un amplio sentido genérico dadas las bases existentes en tumores experimentales, si la prolactina podría jugar algún papel en la evolución del carcinoma mamario humano, aspecto de gran actualidad si tenemos en cuenta que se trata de una hormona que no ha sido posible cuantificar en plasma hasta hace relativamente poco tiempo, y que los trabajos en humanos publicados al respecto no han aclarado el problema y han introducido una serie de controversias derivadas de los resultados contradictorios comunicados.

Pero como he apuntado al realizar el planteamiento experimental mi intención ha sido doble. En primer lugar, y aún sabiendo las limitaciones que conlleva la valoración de las concentraciones basales circulantes, he intentado comprobar si a lo largo de la evolución de este tipo tumoral se podían recoger fluctuaciones en los niveles plasmáticos que permitieran plantear otros modelos de estudio con algún significado fisiopatológico. De ser así se hacía necesaria la realización de estudios funcionales que, fundados en la utilización de distintas drogas estimuladoras o inhibitoras de la secreción de PRL, permitieran apuntar un posible punto de disrupción del mecanismo normal que controla su secreción. Pero dado que las drogas al uso presentan un mecanismo de acción complejo, pues modifican de forma alternativa más de una vía reguladora, pensé que ello, al menos inicialmente, podría introducir mayores dificultades en la interpretación de los resultados, por lo que he recurrido al estudio del mecanismo más simple que pudiera revelar una perturbación en la regulación como es el estudio del ritmo nictameral.

En tercer lugar, y partiendo de los resultados obtenidos con el estudio evolutivo de las concentraciones basales, he realizado la comparación de la PRLh con uno de los marcadores tumorales más empleados en la actualidad en carcinoma de mama, a pesar de su inespecificidad, como es el antígeno carcinoembrionario.

Ello ha supuesto la introducción y desarrollo de su técnica de cuantificación, lo que me ha permitido observar algunos aspectos metodológicos que merecen también una especial discusión.

Por último, hay que significar que ha habido otro aspecto sobre el que se podía realizar una llamada de atención, cual es la búsqueda del mejor método de agrupamiento para los estudios que implican función hormonal en este tipo de enfermas, pues siempre he mantenido la idea de que los métodos simplificados que se han utilizado introducen una fuente de error si se piensa con un sentido puramente endocrinológico. Como luego comentaré parece que esta suposición es cierta y que, al menos, dos son los atributos de ordenamiento que deben de seguir estos estudios en este tipo de enfermas: a) grado o tipo de función hormonal y b) estadio tumoral.

ASPECTOS METODOLÓGICOS

A) Prolactina

Como he indicado en el capítulo de Métodos, la cuantificación de PRLh se ha realizado con dos técnicas diferentes motivado tan solo por problemas de adquisición de material. Hasta 1978, período que comprende aproximadamente la mitad del procesado de las muestras basales, he utilizado la técnica de REUTER, KENNES, GEVAERT y FRANCHIMONT (1975), continuando posteriormente, con el fin de poder homologar los resultados con la mayor parte de los publicados en la literatura, con la técnica de FRIESEN (FRIESEN, WEBSTER, HWANG, GUYDA, MUNRO y READ 1972; FRIESEN, WANG, GUIDA, TOLIS, TYSON y MYERS 1972) mucho más ampliamente utilizada.

Ambas técnicas son muy similares. Las dos emplean un estándar de PRLh hipofisaria que es utilizada para la inmunización en conejos, aunque puede criticarse, como ha apuntado L'HERMITE (1976), que al igual que ha ocurrido con otras técnicas basadas en la utilización de PRLh hipofisaria siguiendo la metodología de FRIESEN, no se menciona la referencia exacta de las preparaciones utilizadas lo que origina, al no tener todas ellas la misma potencia, una dificultad para comparar directamente los resultados publicados. En este caso ambas preparaciones han sido comparadas respecto al estándar A de referencia del MRC (71/222) presentando unas equivalencias muy semejantes: 1 mgr de REUTER y col. = 19 U.I. MRC y 1 mgr ABBOTT = 21'5 U.I. MRC. Ello puede explicar (suponiendo una gran semejanza en la actividad biológica de los anticuerpos utilizados, que proceden del conejo en los dos métodos) la gran correlación y exactitud existente al comparar las mismas muestras con los dos ensayos.

Por otra parte, las dos técnicas utilizan el mismo método de marcaje, el mismo isótopo I 125 (principal modificación respecto a la técnica original de FRIESEN y col. que utilizan I 131),

y tiempos y temperatura de incubación prácticamente similares, diferenciándose tan sólo ligeramente en el procedimiento de separación de las fracciones libre y ligada. Aunque los dos procedimientos se basan en la técnica de doble anticuerpo la primera utiliza un sistema de fase salada (celulosa), que requiere forzosamente una segunda incubación bajo agitación constante, mientras que la segunda emplea una técnica simple de postprecipitación, lo que justifica la menor consistencia del precipitado y, por tanto, la necesidad de mayor precaución en el decantado del sobrenadante. Se trata, pues, de dos técnicas metodológicamente muy semejantes y que satisfacen, como se ha comprobado a lo largo de este trabajo, los requerimientos mínimos para su utilización rutinaria (YALOW y BERSON 1976). Tan sólo se aprecia una pequeña diferencia al comparar las curvas estandar realizadas en este trabajo con los dos métodos, pues la técnica de REUTER y col. ha mostrado una menor dispersión para los estandar estudiados, que puede deberse tan sólo a una mayor homogeneidad en los lotes empleados.

Algo semejante ha ocurrido con la hormona de crecimiento. La técnica utilizada difiere muy poco de las publicadas sobre todo al emplear para el marcaje y construcción del estandar HCh homologada, correspondiente a la proporcionada por el IRA (HCh de WILHELMY), y que es la utilizada en la mayoría de los laboratorios (HUNTER 1976). La técnica de yodación con I-125, que tiene una vida media mayor que el I-131 (2 meses/8 días), permite obtener una buena actividad específica, con un rendimiento del 8%, y un porcentaje de unión a la hormona no dañada que varía entre un 35 y 55%. Por otra parte, el resto de la metodología se caracteriza por su sencillez, no habiéndose descrito modificaciones de la capacidad de unión del Ag y Ac por trabajar a temperatura ambiente, lo que, además, incrementa la velocidad de reacción obteniéndose el equilibrio en 20-24 h. La comprobación clínica del método en manos de MOLINATTI y col. (1969) ha mostrado una buena reproductibilidad, aspecto comprobado también en este trabajo, aunque la utilización de varios estandar procedentes de distintos lotes puede justificar la relativa dispersión, medida por el coeficiente de variación, de alguno de los valores obtenidos.

Mención especial merece la técnica utilizada para la cuantificación del ACE. La técnica descrita se basa en la desarrollada por HIRAI (1977), que ofrece algunas diferencias importantes con la clásica descrita por HANSEN, LANCE y KRUPPEY (1971). Básicamente se trata de un método de RIA en fase sólida que utiliza antígeno procedente de metástasis hepáticas de un paciente con un carcinoma de colon, extrayéndose este mediante la utilización de ácido perclórico como describieron KRUPPEY, WILSON, FREEDMAN y GOLD (1972), diferenciándose en este punto tan sólo en el empleo de la cromatografía de intercambio iónico con DEAE-celulosa como fase final de purificación en lugar de la electroforesis de preparación en Sefadex G-25 realizada por KRUPPEY y col. El material recogido sirve para la obtención de un anticuerpo específico por inmunización al caballo, y como ya se ha indicado este anticuerpo se utiliza para la purificación del ACE mediante una técnica inmunoquímica. De este modo se obtiene una molécula que mantiene la misma estructura en la composición de aminoácidos pero que se diferencia, aportando base como luego discutiré a la heterogeneidad molecular del ACE, en el contenido de carbohidrato. Este antígeno altamente purificado se emplea para la obtención del anticuerpo específico; utilizándose posteriormente en el ensayo tanto este como la fracción gamma-G.

La especificidad del antígeno y anticuerpo de este ensayo fue comprobada por IRAI y col. (1977) frente al material proporcionado por los Laboratorios Roche que utiliza el antígeno y el anticuerpo de GOLD. Para alcanzar un porcentaje prefijado de la relación B/T fue necesaria una cantidad claramente mayor del Ag de IRAI que del de GOLD (200/23 ng), y para alcanzar una cifra prefijada de radioactividad también fue necesaria una mayor concentración del primero que del segundo, aunque en esta ocasión la diferencia fue claramente menor (23/32 ng/ml). Comparados ambos métodos frente a las mismas muestras pudieron comprobar que los resultados eran aproximadamente la mitad que los obtenidos con el material Roche, aunque existía entre ambos una buena correlación. Ello puede ser debido, aún utilizando técnicas muy semejantes, a que el ACE considerado

como antígeno no es una molécula homogénea por lo que la especificidad del anticuerpo puede variar de un laboratorio a otro, del mismo modo que las diferencias metodológicas de uno y otro ensayo pueden introducir distintas fuentes de variación.

Respecto a este último punto la técnica realizada en este trabajo difiere considerablemente de la desarrollada por HANSEN y col. (1971), ampliamente distribuida por Hoffman-La Roche, al menos en dos de los pasos fundamentales. El primero es en la metodología utilizada para la preextracción del ACE de las muestras a testificar. El ensayo de Hoffman-La Roche utiliza ácido perclórico para la desnaturalización y precipitación proteica, mientras que la técnica que he utilizado lo realiza mediante tampón acetato y baño caliente a 80°C. Ello permite la cuantificación directa en el sobrenadante frente a la necesidad de dializar durante 18-24 h el sobrenadante del ácido perclórico para equilibrar el pH y medio iónico y extraer los restos de ácido y proteínas de bajo p.m. desnaturalizadas; aunque esta diálisis puede hacerse de forma automática, previa neutralización del exceso de ácido con TRIS, en vez de con el complejo equipo necesario para la diálisis con agua desionizada, se requiere siempre un exacto ajuste del pH final que se mueve en límites muy estrechos ($6.5 \pm \pm 0.1$), frente a la no dependencia ($\text{pH } 6 \pm 3$) del método de IRAI. Como es fácil comprender con la extracción por floculación proteica en medio ácido, no sólo se acorta considerablemente el tiempo del ensayo, sino que se excluyen una serie de fuentes de error derivadas del menor número de pasos metodológicos.

En segundo lugar, las dos técnicas presentan una clara diferencia en la obtención de la fracción ligada y en su recuperación para el conteo, con la característica fundamental de la rapidez derivada del hecho de tratarse de un RIA en fase sólida en la técnica de IRAI (1977). Por otra parte, e independientemente de las diferencias derivadas de la propia estructura del ACE, y por tanto posible motivo de diferencias en la actividad de los anticuerpos específicos, esta técnica utiliza un primer anticuerpo

obtenido de la cabra y un segundo anticuerpo específico, en este caso anticuerpo trazador, obtenido del caballo que es el mismo que se utiliza para el aislamiento y purificación del ACE, frente a la utilización de un adsorbente no específico como es el fosfato de zirconilo utilizado por HANSEN y col. (1971). Ello, al menos en potencia, incrementa la sensibilidad del método aunque las diferencias observadas al comparar ambas técnicas apuntan hacia una mayor reactividad de la técnica de Hoffman-La Roche, que pueden ser atribuidas a las diferencias antigénicas, y por tanto de las propiedades inmunológicas, observadas en el ACE (BANJO, SHUSTER y GOLD 1974). Dado que por el momento no se dispone de un estándar internacional común es difícil explicar las diferencias entre ambos métodos en base a la potencia del anticuerpo o a meras peculiaridades metodológicas.

♦ En resumen, y teniendo en cuenta las puntualizaciones realizadas, la técnica empleada en este trabajo es sencilla, reproducible y específica, aunque los coeficientes de variación de los 10 estándar estudiados duplican el comunicado por HIRAI y col. (1977) sin modificarse el valor del suero de control proporcionado para el ensayo. Ello puede ser consecuencia de la utilización de material de distintos lotes, lo que presupone posibles diferencias de la capacidad de unión (actividad) del anticuerpo y de la eficiencia de marcado que influyan conjuntamente en las cuentas medidas en cada determinación. Ello queda obviado con la realización de una curva de calibración para cada ensayo en vez de una curva única por lote de material empleado.

He observado un hecho que merece un especial comentario, pues pone en tela de juicio la necesidad de pre-extraer el ACE de las muestras problema. Ateniéndome a los resultados de este trabajo podría concluir que tal paso no es, en principio, necesario, como refleja la magnífica correlación obtenida entre los ensayos con y sin extracción. Pero también he apreciado una diferencia para ciertos valores individuales, especialmente de muestras

procedentes de pacientes con cáncer, que permite plantear la posibilidad de una pérdida de ACE en las muestras tratadas. Esta diferencia hace que los valores límites puedan considerarse como claramente positivos, lo que introduciría una mayor exactitud en la interpretación clínica de los resultados.

Este proceso de pérdida tras la extracción empieza a ser considerado como una interferencia metodológica (CARRICO y USA-TEGUI-GOMEZ 1973), especialmente en las técnicas que tratan el plasma con ácido perclórico, y que junto a otros aspectos técnicos han sido recogidos recientemente en un magnífico estudio por PRITCHARD, TODD y EGAN (1978). ROGERS, SEARLE y BAGSHAWE han demostrado que puede extraerse ACE de los precipitados de ácido perclórico, indicando que parte de él puede sobrevivir a la desnaturación provocada por el ácido o, más probablemente, alterarse en su capacidad de unión a otras proteínas del precipitado tisular o plasmático.

A favor de los resultados indicados en este trabajo, que pueden considerarse como preliminares, se encuentran aquellos observados con técnicas de cuantificación directa, como ocurre en el ensayo de Hoffman-La Roche para valores superiores a 20 ng/ml. Con esta metodología KEEP, LEAKE y ROGERS (1978) demuestran en siete de diez experimentos con un "pool" de plasmas la presencia de ACE en el precipitado plasmático de ácido perclórico aunque a una concentración menor que en el sobrenadante; aunque ello se contrapone con los resultados en muestras individuales comunicados por SORKIN, ZUPCHIK y ZAMCHECK (1973) es de destacar que en ambos trabajos la concentración de ACE es superior en muestras no extraídas respecto a las tratadas. Por otra parte, se ha descrito la identidad inmunológica entre el ACE de la fracción soluble y el del precipitado de ácido perclórico, aunque se ha sugerido la presencia de dos antígenos distintos, uno que se consideraría como clásico y otro relativamente inestable o menos soluble en ácido perclórico (KEEP y col. 1978).

Otro aspecto que no puede olvidarse al discutir los diferentes resultados de la técnica directa e indirecta es el de la posible determinación de un ACE "normal", "alterado" o de alguna fracción o isoantígeno inmunológicamente relacionado, así como la presencia de reacciones cruzadas con otras glicoproteínas (ISAACSON y JUDD 1977). Ya he indicado que el ACE muestra una clara heterogeneidad estructural (BANJO, SHUSTER y GOLD 1974; EVELEIGH 1974) por lo que cabe la posibilidad de que estas fracciones antigénicamente relacionadas deriven de degradaciones enzimáticas o químicas de una estructura primitiva tras el tratamiento con distintos ácidos. Pero, además, hay que tener en cuenta que las propias características genéticas que controlan la producción de ACE pueden producir modificaciones estructurales, especialmente en tumores en los que es clara la alteración cromosómica. Dos recientes trabajos parece que corroboran estas posibilidades. El primero, de KRANTZ, ARIEL y GOLD (1979) les ha llevado a proponer un nuevo método de purificación en el que se excluye la utilización de ácido perclórico; con él han podido obtener varios fragmentos que han mostrado diferentes curvas de inhibición de RIA, con variaciones entre el 20 y 70% pero un considerable grado de reactividad cruzada. En el segundo comunicado por SHILVEY, GLASSMAN, ENGVALL y TODD (1979) tras caracterizar dos antígenos de reacción cruzada con el ACE, que muestran respecto a este una gran similitud de la fracción proteica, proponen la procedencia desde genes derivados de un ancestro primitivo común.

De las alteraciones secundarias al manejo del ACE con ácido, quizás las producidas en su solubilidad sean una de las más importantes en cuanto a la capacidad de determinación por métodos inmunológicos, sobre todo si se tiene en cuenta que no todos los isoantígenos del ACE se alteran igual: algunas especies permanecen inmunológicamente intactas en la fracción soluble de ácido perclórico, otras, modificadas claramente en su solubilidad, quedan intactas en el precipitado por lo que pueden ser de

terminables por RIA, y otras, por último, se desnaturalizan irreversiblemente haciéndose indetectables. Por el momento desconozco la cantidad de ACE que puede recuperarse de la pastilla de floculación proteica de la técnica empleada en este trabajo, pero en base a lo expuesto no cabe duda que se hace necesaria su investigación.

Dado que la técnica que he utilizado cubre el disco de transporte del anticuerpo con éste y con la fracción gamma-G la utilización de extracción proteica se hace necesaria para evitar el error introducido por la fijación de proteínas plasmáticas, por lo que las diferencias observadas entre las muestras tratadas y no tratadas podría tener una explicación en este fenómeno. Sin embargo, el hecho que las muestras controles no presentaran claras diferencias, que se hacen más ostensibles en las procedentes de pacientes con tumor, plantea la necesidad de discutir la discrepancia de los resultados en base a la capacidad de reconocimiento del anticuerpo-antiACE de otros determinantes antigénicos incluidos en el grupo de antígenos inespecíficos de reacción cruzada (AIRC) (NEVEU, STAEBLER, CHAVANEL y BURTIN 1975), o de isoantígenos del ACE especialmente si se tiene en cuenta que su molécula contiene, según HAMMARSTRON, ENGVALL y SUNDELAD (1976), al menos 10 determinantes antigénicos sobre los que no se ha podido determinar la diferencia inmunogénica específica, pero que hipotéticamente podrían alterarse durante la extracción ácida del ACE. Ello podría condicionar las características del método de RIA, que depende en gran parte de la pureza, título y capacidad de reacción del anticuerpo y, por tanto, de las características del antígeno inmunizante.

La inmunización con un antígeno heterogéneo conduce a la obtención de anticuerpos que pueden presentar reactividad cruzada con otros antígenos de alguna manera relacionados con el ACE. Es bien conocida la interferencia con sustancias del grupo sanguíneo A (GOLD, FREEMAN y GOLD 1972) y, aunque más discutida, con el antígeno tipo III del carcinoma de colon (NEWMAN, PETRAS,

GEORGIADIS y HANSEN, 1974) aunque adquiere mucha mayor importancia la reactividad cruzada con los isoantígenos del ACE, quizás específicos de tejido, y que se determinan globalmente con los habituales métodos de RIA. Recientemente CHISM, WARNER, WELLS, CREWTER, HUNT, NARCHALONIS y FUDENBERG (1977) han demostrado, al comparar la actividad del ACE de carcinomas de mama y ovario respecto a tres neoplasias de colon, que todos ellos son moléculas relacionadas pero con distintas características según el tejido de origen, lo que podría explicar ciertas diferencias en el título de ACE cuantificado en distintos tumores, en metástasis procedentes de estos, y con distintas técnicas de RIA. No puede, pues, excluirse que los resultados hallados en mi trabajo sean la consecuencia de la cuantificación de un AIRC o de unos isoantígenos del ACE no desnaturalizados al no realizar la preextracción, y que se encuentran fundamentalmente en las muestras procedentes de enfermos neoplásicos, sobre todo si se tienen presentes los hallazgos de ROGERS, SEARLE y BAGSHWE (1976) quienes han publicado la presencia en el plasma de pacientes cancerosos de una enzima capaz de unir fucosa a N-acetil-glucoamina que puede conducir a fracciones estructural o inmunológicamente distintas y, por tanto, más fácilmente alterables por el tratamiento de las muestras con acetato-calor.

CONCENTRACIONES BASALES EN CONTROLES

A) PROLACTINA

La concentración media de PRLh en el conjunto de la serie control se mueve dentro del rango unánimemente aceptado, aunque una vez separadas las distintas series de agrupamiento se observan cifras diferentes que parecen guardar una relación de dependencia con el grado de función ovárica. Así, el valor medio obtenido en mujeres con período es significativamente mayor que el correspondiente a mujeres sin período, lo que queda quizás más claramente reflejado al comparar entre sí los grupos considerados respecto al estadio sexual, donde se aprecia una clara diferencia entre fértiles y postmenopáusicas; por otra parte, el heterogéneo grupo de mujeres climatéricas se acerca más en su comportamiento al primero, lo que sugiere que el fallo ovárico que conduce a la menopausia no afecta, al menos en períodos iniciales, a la secreción de PRLh. Esta posible dependencia de la función ovárica quedaría reforzada por los mayores niveles de PRLh basal observados en el ordenamiento con frotis estrogénico, aunque las diferencias respecto a los frotis estrogénico débil, intermedio de la postmenopausia y atrófico no permiten afirmar una dependencia total.

Estos resultados podrían aclarar, bajo distintos ordenamientos experimentales, un aspecto que no parece haber sido definitivamente resuelto. Inicialmente FRIESEN y HWANG (1973) indicaron en mujeres postmenopáusicas la no existencia de datos suficientes que permitieran suponer que la PRLh descendía a niveles semejantes a los del hombre, y por tanto más bajo que en mujeres jóvenes. Un año más tarde HWANG, FRIESEN y GUYDA (1974) comunicaron la no existencia de diferencias significativas para mujeres pre y postmenopáusicas, aunque la presencia de medicaciones intercurrentes no permitió obtener conclusiones definitivas. Por otra parte, L'HERMITE, STAVRI y ROBYN (1971) comunicaron valores más bajos en postmenopáusicas con un protocolo de estudio más rígido que el anterior, indicando

posteriormente que este grupo de mujeres eran las que presentaban un rango más amplio (L'HERMITE, DELVOYE, NOKIN, VEKEMANS y ROBYN 1972), y aunque tales resultados estarían de acuerdo con los obtenidos en este trabajo los valores absolutos no pueden ser comparados debido a la distinta metodología empleada en la cuantificación hormonal. De acuerdo también con las recientes comunicaciones de THORNER y BESSER (1977) y RUTLIN, HAUG y TORGESEN (1977) puede, pues, concluirse que los valores medios basales de PRLh son más bajos en mujeres postmenopáusicas.

Respecto a las posibles modificaciones de la PRLh a lo largo del ciclo menstrual los resultados obtenidos en la serie control de este trabajo apuntan hacia la confirmación de que no existen diferencias apreciables durante las fases folicular y luteal, si bien de la desviación de los valores medios en la segunda parte del ciclo ha sido algo superior a la observada en la primera. Tales resultados estarían de acuerdo con los de HWANG, GUYDA y FRIESEN (1971), FRIESEN y HWANG (1973), Mc NEYLLI, EVANS y CHARD (1973), MIDGLEY y JAFFE (1973), EHARA, SILER, Van DerBERG, SINHA y YEN (1973) y EPSTEIN, McNEILLY, MURRAY y HOCKADAY (1975), aunque el hecho de que la protocolización utilizada haya restringido las determinaciones a los primeros días de la fase folicular y últimos de la fase luteal (momento éste en el que no puede excluirse que algunas de las determinaciones efectuadas hayan sido muy cercanas en el tiempo al inicio de la hemorragia menstrual en el que se registran los valores más bajos de PRLh circulante (DELVOYE, HASAN, L'HERMITE, NEUMANN y ROBYN 1973), unido a que se trata de un grupo heterogéneo compuesto por distintas mujeres que han sido valoradas en un momento determinado y no de forma secuencial no permite negar que las concentraciones de la segunda parte del ciclo sean superiores a la de la primera como han sugerido ROBYN, DELVOYE, NOKIN, VEKEMANS, BADAWI, PEREZ-LOPEZ y L'HERMITE (1973) y SHETH, RANADIVE, SURAIYA y SHETH (1975).

Estos diferentes niveles de PRLh a lo largo de los distintos períodos de la vida sexual de la mujer, o los menos evidentes

acaecidos a lo largo del ciclo menstrual, es lógico pensar que tengan su base en la influencia que puedan ejercer las distintas concentraciones de estrógenos circulantes en estos determinados momentos, hormonas que, como se ha visto en la introducción de este trabajo, juegan un importante papel en los mecanismos de regulación de PRL. Aunque no existan datos concretos sobre una correlación directa entre los niveles circulantes de estradiol y PRLh los datos publicados por DELVOYE, HASAN, L'HERMITE, NEUMANN y ROBYN (1973) ofrecen, en ciertas condiciones, un patrón muy similar pudiendo quedar corroborado, bien es verdad que de una manera indirecta, al observar los resultados obtenidos ordenando los valores de PRLh respecto al frotis vaginal. De todos modos esta dependencia se hace menos manifiesta para los frotis menos claramente estrogénicos donde se observa una superposición de valores individuales. Ello sugiere que no es sólo el ovario el que puede condicionar esta dependencia, pues el hecho de observarse rangos muy similares en el grupo de mujeres con edades avanzadas apunta hacia otras fuentes de estrógenos que, aunque no produzcan niveles circulantes lo suficientemente elevados para ejercer el efecto biológico de estrogenización del epitelio vaginal, sí pueden condicionar el mantenimiento de un efecto tónico favorecer de la secreción hipofisaria de PRLh como han sugerido en el animal intacto CALIGARIS y TELEISNIK (1977) y KATO, VELASCO y ROTHCHILD (1978). Esta fuente de estrógenos, originada de la conversión periférica de andrógenos suprarrenales (REVOL 1977), es lo suficientemente importante para hacer que los niveles de PRLh circulantes de mujeres ovariectomizadas sean semejantes a los de mujeres postmenopáusicas no castradas.

Por otra parte, un estudio más profundo en este tipo de ordenamiento quizás pudiera aportar una evidencia más clara de la interrelación estrógenos-PRLh a lo largo del ciclo menstrual, pues la simple cuantificación de estrógenos circulantes no parece haber solucionado el problema, y el mero hecho de considera

el momento del ciclo como único patrón de selección sólo ha aportado resultados contradictorios. Reforzaría esta afirmación el hallazgo observado en la serie control de este estudio respecto a la no existencia de un paralelismo entre la fase teórica del ciclo y el grado de estrogenización pues 3 de los 8 controles en fase luteal han mostrado frotis estrogénicos débiles y 4 de los 10 considerados en fase folicular han presentado frotis claramente estrogénicos. Aunque la selección de mujeres en la primera parte de la fase folicular y en la fase luteal tardía presupone una protocolización que parece guardar una buena correlación con los distintos niveles de estrógenos circulantes a lo largo del ciclo, habiendo sido utilizada con buenos resultados por BOYD y SANCHEZ FRANCO (1977), las discrepancias observadas en el tipo de frotis vaginal en estos momentos del ciclo hace pensar que las contradicciones publicadas sean el resultado de la no valoración del estado estrogénico real, aspecto va apuntado por BUCKMAN, PEAKE y SRIVASTAVA (1977); si esto fuera así obligaría a una nueva valoración de las fluctuaciones de la PRLh a lo largo del ciclo en base al resultado final de la acción estrogénica y no a la simple cuantificación de los niveles plasmáticos circulantes que, además, reflejan imperfectamente la intensidad del proceso de secreción estrogénica y, quizás más importante, ignoran la mediación del receptor de estrógeno, el cual no sólo está presente en la célula de prolactina hipofisaria (DE LEAN, FERLAND, DROUIN, KELLY y LABRIE 1977) sino que se ha propuesto como mediador del efecto directo de estrógenos en la secreción de PRLh.

B) HORMONA DE CRECIMIENTO

Los resultados obtenidos con la serie control de esta tesis no permiten ningún tipo de discusión dado que sistemáticamente se encuentran dentro del rango de normalidad (MOLINATTI, MASSARA, STRUNIA, PENNISI, SCASSELLATI y VANCHERI 1969). Tan sólo destaca una mayor concentración en mujeres con período activo que, unido a la significación de los valores respecto al frotis estrogénico, sugiere un

efecto potenciador o sensibilizador de éstos en el mecanismo responsable de su secreción (MERIMÉE, FINEBERG y TYSON 1969). Ello está de acuerdo con los datos de MALARKEY, SCHROEDER, STEVENS, HAMES y LANESE (1977), quienes comprueban cifras medias más bajas en controles postmenopáusicos respecto al grupo con actividad menstrual normal. De todos modos, tanto en este como en mis resultados, los valores medios e individuales se mueven muy por debajo del límite de 6-7 ng/ml aceptado generalmente como límite máximo de normalidad.

CONCENTRACIONES BASALES EN CARCINOMA DE MAMA

A) Prolactina

No cabe duda de que existe una abundante base experimental que sugiere un papel, quizás promordial, de esta hormona hipofisaria en el inicio del desarrollo tumoral, así como en su mantenimiento. Sin embargo, gran parte de estos conocimientos han surgido de la utilización de modelos animales que en ningún modo pueden ser completamente comparados con los hechos acaecidos en el humano; por otra parte, la utilización de tumores humanos mantenidos en cultivo no expresa el verdadero estado fisiológico en el organismo íntegro, existiendo modificaciones en las respuestas muy posiblemente derivadas de las peculiaridades metodológicas de los distintos protocolos utilizados. Por ello se hace imprescindible estudiar, en la medida que la investigación aplicada lo permite, lo que la investigación animal ha aportado en este campo de la endocrinología oncológica, pudiendo afirmar que hasta el momento no se han podido obtener pruebas tan evidentes como las observadas en el animal.

Partiendo de la experimentación más simple, en este caso el estudio de las concentraciones basales de la hormona objeto de investigación, se ha llegado a la conclusión casi universalmente aceptada de que tales niveles son en general similares a los de las poblaciones control estudiadas. Junto a ello se han descrito algunas elevaciones que podrían interpretarse como meramente casuales, o no sujetas a una clara explicación, pues no parecía que se correlacionasen con el estado evolutivo de la enfermedad o con su curso clínico. Sin embargo, en base a los resultados obtenidos en este trabajo, que muestra una gran concordancia con comunicaciones muy recientes de la literatura, podría empezar a afirmarse que la idea hasta ahora mantenida dista mucho de la realidad, negando, por tanto, la normalidad generalmente aceptada.

Planteando inicialmente el estudio de las concentraciones basales en una serie global de enfermas afectas de tumor mamario podría considerarse la no existencia de diferencias significativas cuando este valor se compara con un grupo control, al igual que han publicado KWA, DE JONG-BAKKER, ENGELSMAN y CLETON (1974), GORINS y NETTER (1974), FRANKS, RALPHS, SEAGROATT y JACOBS (1974), WILSON, BUCHAN, ROBERTS, FORREST, BOYNS, COLE y GRIFFITHS (1974), MITTRA, HAYWARD y Mc NEILLY (1974), SHETH, RANADIVE, SURAIYA y SHETH (1975), Mc FAYDEN, PRESCOTT, GROM, FORREST, GOLDER, FAHMY y GRIFFITHS (1976), MONNE, RUIBAL, OLIVAN y SOLE (1976) y ZUMOFF (1978).

Pero el análisis detenido de estas comunicaciones pone de manifiesto la presencia de defectos de planteamiento, que obliga a considerar con gran cautela la validez de los resultados, o discrepancias individuales a las que no se encuentra una explicación racional. Así, KWA, DE JONG-BAKKER, ENGELSMAN y CLETON (1974) estudian las diferencias entre 115 pacientes de tumor mamario y 115 controles en una serie de edad media de 51 años que corresponde, según mis resultados, y con toda probabilidad, a mujeres muy cercanas o poco alejadas del climaterio, que como más adelante discutiré presupone el período de mayor complejidad endocrina y, por tanto, de mayor dificultad interpretativa. Pero, además, la serie tumoral está compuesta por mujeres ya operadas y, en general, sin recurrencias, lo que no puede interpretarse como una serie con tumor mamario activo.

GORINS y NETTER (1974) utilizan en su estudio un criterio de normalidad que hace difícil la interpretación de los resultados; trabajando con el RIA inicial de L'HERMIT (RIA homogéneo) comunican valores normales que se mueven en un rango muy amplio (entre 0 y 350 m UI/ml), considerando como valores patológicos los que sobrepasan el valor máximo de la dispersión de la serie control. El rango de la serie tumoral estudiada fue claramente más amplio (entre 30 y 585 m UI/ml), con una media de 263 m UI/ml que no es comparada con la media control. Además, solo estudian postmenopáusicas

con tumor avanzado no haciéndose referencia a otros estadios evolutivos, indicando que el valor medio es parecido al de las enfermas premenopáusicas y, aunque más dispersos, no se indica el grado y significación de la dispersión. Además de esta vaguedad en los resultados no buscan explicación de porqué el 25% (4/16) de estas enfermas mostraron valores claramente elevados.

FRANKS, RALPHS, SEAGROTT y JACOBS (1974), trabajando con un RIA homólogo, concluyen, tras indicar la presencia de concentraciones más elevadas en premenopáusicas respecto a postmenopáusicas con tumores de mama independientemente de su benignidad o malignidad, que la valoración de los resultados no puede hacerse sin separar al menos dos grandes grupos de pacientes respecto a la presencia o ausencia de actividad menstrual. Sin embargo, los resultados de su trabajo carecen de una adecuada comparación con un grupo control, por lo que no puede aceptarse de forma definitiva que este tipo de pacientes muestren esta supuesta elevación de PRL. WILSON, BUCHAN, ROBERTS, FORREST, BOYNS, COLE y GRIFFITHS (1974) indican también la no diferencia entre la serie tumoral y control, pero la distribución de los valores individuales hace difícil cualquier intento de evaluación estadística; de toda la serie con cáncer solo se estudian 4 enfermas premenopáusicas y, aunque considera el grado evolutivo del tumor, compara los resultados con los de la media general de la serie control, si bien puede suponerse que las cifras individuales de PRL en las pre y postmenopáusicas de esta serie son muy similares. MITTRA, HAYWARD y McNEILLY (1974) estudian enfermas con tumor precoz o avanzado respecto a una población control con un riguroso control de ordenamiento por edades, pero ignorando, como ellos mismos reconocen, cualquier selección basada en el estado menstrual; además la serie con tumor avanzado o metastásico no puede considerarse homogénea, pues sólo el 8% de las enfermas no fueron sometidas a alguna terapéutica antes de la realización del estudio. Algo similar ocurre en la publicación de MONNE, RUIBAL, OLIVAN y SOLE (1976) quienes estudian 54 pacientes con carcinoma de mama, la

mayor parte postmenopáusicas, pero de las cuales 52 habían sido mastectomizadas presentando tan sólo tumor activo 9 consideradas en estadio metastásico. No cabe ninguna duda, como los resultados de mi trabajo permite suponer, que la cuanficación de PRL en enfermas que no presentan una masa tumoral activa es muy distinto que su cuantificación antes de la realización de cualquier maniobra terapéutica.

Sin embargo, dos de los trabajos antes apuntados, aunque también concluyen con la normalidad de los valores de PRL, apuntan la posibilidad de que existan diferencias respecto a las series de control. El primero es el comunicado por SHETH, RANADIVE, SURAIYA y SHETH (1975) quienes observan los mayores valores en pacientes, al parecer con cáncer primitivo, entre 31 y 50 años, pudiendo objetarse que por tratarse de mujeres con ciclos menstruales, y habiendo comprobado previamente una clara diferencia a lo largo de éste, debería de haberse tenido en cuenta las posibles modificaciones derivadas por tal situación; por otra parte, el establecimiento del concepto de PRL elevada a partir de 30 ng/ml dista mucho del aceptado en mi estudio, que se aproxima mucho más a los 15 ng/ml indicado como límite de normalidad por HORROBIN (1977), a pesar de lo cual el 24% (10/42) de las enfermas con tumor menores de 40 años superaban esta cifra. El segundo trabajo es el publicado por McFAYDEN, PRESCOTT, GROOM, FORREST, GOLDFER, FAHMY y GRIFFITHS (1976) quienes en 6 postmenopáusicas con tumores precoces, locales avanzados y metastásicos (2 en cada grupo), aunque no observan diferencias significativas con sus controles, comunican una tendencia generalizada a las cifras más elevadas de hormona circulantes en las mujeres con tumor.

De acuerdo con lo apuntado en los párrafos anteriores puede mantenerse que existe abundante evidencia para rebatir el concepto inicial de una normalidad de los valores basales de PRLh en carcinoma de mama. Esta evidencia, procedente de la interpretación crítica realizada, puede basarse en la inexactitud de los planteamientos realizados para la selección de las enfermas estudiadas,

que no representan en muchos casos una verdadera población con tumor activo, o que ignoran el estado endocrino en el momento del estudio; además, no se utiliza un criterio de normalidad estandarizado que permita la comparación de los valores respecto a una población control o respecto a los otros trabajos publicados, hecho en parte derivado de las distintas metodologías utilizadas. Por otra parte, se entrevee la presencia de desviaciones a la normalidad, generalmente elevaciones, que no parece que sean solo imputables a otros defectos de ordenamiento y/o planteamiento.

Ya FRANKS, RALPHS, SEAGROATT y JACOBS (1974) indicaron la necesidad de separar las poblaciones en estudio al menos en pre y postmenopáusicas. Tal indicación, utilizada como veremos en trabajos más recientes, se comprende perfectamente si pensamos que la situación endocrina de la mujer no es igual a lo largo de toda su vida sexual. Por ello, y observando la amplia desviación de los valores de PRLh en la serie global de este trabajo, me planteé la idea de estudiar los distintos ordenamientos que consideraban bajo distintos puntos de vista la situación hormonal de la población utilizada, lo que me ha permitido comprobar que los valores de PRLh en el carcinoma de mama no pueden considerarse normales, aunque existan pacientes que no muestren ninguna modificación.

Independientemente del criterio de ordenamiento utilizado, el resultado más constante obtenido en este trabajo es el de una tendencia a la presencia de valores medios de PRLh más elevados en las pacientes con tumor mamario frente a sus respectivos controles, así como la presencia de medias más elevadas en las pacientes con tumor que mantienen ciclos menstruales respecto a aquellas que no los presentan. Además, dentro de las pacientes con tumor que presentan función menstrual la cifra de PRLh es claramente más elevada en la segunda mitad del ciclo que en la primera, fase que muestra valores semejantes a los controles, lo que aporta un dato más a favor de la inexactitud de los resultados antes criticados.

Existen en la literatura resultados muy similares que confirmarían los obtenidos en este trabajo, especialmente cuando se han utilizado criterios de selección y ordenamientos semejantes. Aunque no son comparables por la gran diferencia metodológica existente BERLE y VOIGT comunicaron en 1972, trabajando con el ensayo del buche de dichón, que el número de pacientes con tumor mamario que presentaban niveles de PRLh mensurables era mayor que el de los controles, sugiriéndose indirectamente que la hormona que nos ocupa podía mostrar concentraciones más elevadas en este tipo de enfermas. MURRAY, MOZAFFARIAN y PEARSON (1972), trabajando con un RIA heterólogo, lo que quita fiabilidad a los resultados y no permite una correcta comparación, comunicaron concentraciones basales más elevadas en la población tumoral, que estaba formada por pacientes postmenopáusicas con carcinoma metastásico, apreciando, al igual que en este estudio una importante desviación de los valores medios; L'HERMITE, DELVOYE, NOKIN, VEKEMANS y ROBYN (1972), trabajando también con un RIA heterólogo, comunicaron que algunos de los valores más elevados obtenidos en la serie de mujeres postmenopáusicas correspondieron a mujeres con carcinoma metastásico, aunque no indicaron el valor hormonal y el número de pacientes estudiadas.

Aunque los resultados no pueden ser equiparados, a pesar de trabajar con una de las técnicas de RIA utilizadas por mí, por realizarse en una serie de pacientes de edad heterogénea (y por tanto su estado endocrino) ROLANDI, BARRECA, MASTURZO, POLLERI, INDIVIERI y BARABINO (1974) comunican una mayor tendencia a los valores individuales elevados en mujeres con carcinoma metastásico, indicando, además, la no existencia de cifras muy dispares en las distintas extracciones realizadas. WILLIS, LONDON, WARD, BUTT, LYNCH y RUDD (1977), aunque no comparan los valores de su serie con una población control, indican que un 41% de las postmenopáusicas con carcinoma metastásico presentan concentraciones elevadas, comprobando además que el tamoxifen disminuye los niveles de PRLh en los pacientes que responden mientras que no se modifica en aquellas que mantienen su curso evolutivo inalterado.

OHGO, KATO, CHIHARA e IKAMURA (1976) trabajando con un ensayo homólogo, sugieren que aunque en general los valores son normales pueden apreciarse elevaciones aisladas que en su serie llegan al 21%; pero, en realidad, aunque la diferencia no es estadísticamente significativa la concentración hormonal media en el conjunto de pacientes pre y postmenopáusicas con tumores no metastásicos estudiados por ellos es superior a la media control, con rangos claramente diferentes. Es posible que la utilización en esta serie de una separación respecto a función ovárica, y el empleo de una estadística adecuada (y no el test paramétrico empleado), hubiera permitido obtener diferencias más acusadas. ZUMOFF (1978), por otra parte, también apunta la presencia de elevaciones ocasionales, indicando que no existe una clara correlación con el estado evolutivo de la enfermedad, lo que está de acuerdo, al menos de una forma genérica, con la no diferencia entre los valores observados en este trabajo para cada uno de los estadios evolutivos considerados. Como indicaré al comentar los resultados del ritmo nictameral, el atributo "estadio tumoral" como factor de ordenamiento estadístico no refleja de una manera totalmente exacta la situación en estas pacientes, al menos en cuanto a PRLh se refiere.

Muy recientemente KOBAYASHI, SAITO y NAGAI (1978), estudiando la correlación entre los niveles hormonales plasmáticos y los niveles de receptores en cancer humano, concluyen con la afirmación de que la PRLh presenta una cifra media más elevada que los controles, especialmente durante la premenopausia, ampliando posteriormente estos resultados preliminares con la publicación de los porcentajes que en cada grupo de pacientes presentaron cifras elevadas: el 60% de premenopáusicas, 40% de menopáusicas y 40% de postmenopáusicas (NAGAY, KATAOKA, KOBAYASHI, ISHIMARA, TOBIOKA, NAKASHIMA, NARUSE, SAITO y SAKIMA 1979). Aunque el planeamiento del estudio hormonal plasmático respecto a la función ovárica es semejante al mio, al igual que una de las técnicas de RIA empleadas, los valores absolutos difieren sustancialmente lo que puede ser atribuido al momento de la toma de las muestras,

pues NAGAY y col. las realizaron en el momento del acto operativo, lo que en mi experiencia, no publicada en esta tesis, se sigue constantemente de cifras medias mucho más elevadas.

Por último, hay que citar, aunque sólo se ha publicado el resumen, el trabajo de SLATOPOLSKY, WILDER y MEDICI (1978), quienes han comunicado que tanto las pre como las postmenopáusicas con cáncer presentan cifras medias más elevadas que los controles, aunque no exista diferencia entre ellas cuando se compara entre sí, único resultado que difiere respecto a los obtenidos por mí.

Aunque todas las formas de ordenamiento de esta tesis apuntan hacia el incremento de PRLh en las pacientes con tumor respecto a sus controles, las mujeres estudiadas en período climatérico son las únicas que no muestran una clara diferencia, a pesar de que el valor medio de la serie tumoral es más elevado que el control. Por otra parte, y aunque su comportamiento se acerca al de las mujeres fértiles, no creo que se puedan obtener conclusiones definitivas en base a dos hechos que claramente pueden introducir modificaciones en los resultados. El primero puede partir de un error en el criterio de definición del período climatérico, pues la selección respecto al valor matemático derivado de la desviación estandar de la edad media en un grupo control no representa el verdadero estadio endocrino de cada mujer. Ello hace que pueda considerarse como un grupo heterogéneo que se aproxima a fértiles o postmenopáusicas dependiendo del número de mujeres más cercanas a una u otra edad que se encuentra en la muestra. Derivado de ello se encuentra el segundo punto, el más importante de los que pueden condicionar los resultados obtenidos, cual es la verdadera situación hormonal a lo largo de este período. Como recientemente han revisado KORENMAN, SHERMAN y KORENMAN (1978) las modificaciones en la duración del ciclo menstrual se asocian a cambios en las concentraciones de las hormonas ováricas que podrían influenciar la secreción de PRLh. Los estrógenos disminuyen durante este período,

bien es cierto que con diferencias individuales, hasta alcanzar los niveles postmenopáusicos, pero mostrando modificaciones derivadas de los ciclos anovulatorios que van produciéndose según avanza la pérdida de función ovárica hasta su total desaparición. Si tenemos presente el efecto de los estrógenos sobre la PRLh es fácil pensar en la repercusión final de los resultados, así como en el condicionamiento de la heterogeneidad de la muestra estudiada. Aunque desde un punto de vista de oncología clínica se considera a estas enfermas como mujeres con función ovárica, lo que estaría de acuerdo con los resultados que se han obtenido en este trabajo, desde un punto de vista experimental se hace necesario estudiar con mayor precisión las modificaciones de PRLh respecto al estado endocrino individual. Favorece la idea de heterogeneidad el hecho de que en la serie que he estudiado no se ha observado un patrón constante para el frotis vaginal, lo que puede condicionar grandes diferencias en los resultados definitivos dados los mayores niveles de PRLh para frotis estrogénicos que para los frotis atróficos.

No existen comunicaciones en la literatura sobre las modificaciones de PRLh respecto a un método de ordenamiento que tiene en cuenta un fenómeno biológico "in vivo", por lo que las obtenidas respecto al frotis vaginal pueden considerarse como originales. La principal ventaja es que obvia las modificaciones de ordenamiento introducidas por los criterios que guardan relación con un parámetro tan inespecífico como es la edad; sin embargo, obliga a una mayor precisión en la protocolización y requiere una valoración cuidadosa de los resultados. Si realmente este ordenamiento representa un índice cierto del estado de estrogenización podría concluirse que las mujeres con tumor mamario presentan concentraciones más elevadas de PRLh, no sólo en situación de buena función estrogénica sino en su ausencia (frotis atrófico de las postmenopausia), aspecto este último que en realidad no es totalmente cierto pues los niveles de PRLh en este período equivalen a los obtenidos en la fase de función débilmente estrogénica que son, no

sólo más elevados que los de sus controles, sino muy cercanos a los correspondientes a la fase de función estrogénica de la población teóricamente normal.

De acuerdo con lo expuesto y con los resultados obtenidos en este trabajo puede concluirse que:

- a) La normalidad de los valores basales de PRLh en carcinoma de mama humano publicados hasta ahora puede ser el reflejo de un defectuoso y equívoco planteamiento de los protocolos de estudio utilizados.
- b) Existen datos bastante evidentes de que el valor medio preoperatorio de PRLh tiende a ser más elevada en mujeres con cáncer que en sus respectivos controles.
- c) De acuerdo con mis resultados esta elevación de PRLh se realiza a expensas de aquellas pacientes que presentan función ovárica activa, como queda expresado por el aumento en mujeres fértiles, con período, especialmente en fase luteal, lo que está de acuerdo con el valor medio mayor obtenido en el grupo que presentaron frotis claramente estrogénico.
- d) De acuerdo con los resultados de esta tesis la comparación de los valores de PRLh basal en cáncer de mama respecto a los distintos ordenamientos de controles sugiere que la cifra más elevada en las primeras no depende solo de la integridad de la función ovárica, pues también se aprecia en mujeres postmenopáusicas. Además, y de acuerdo con los resultados respecto al frotis vaginal, los niveles de PRLh dependen de algo más que de los factores plasmáticos que condicionan el efecto estrogénico normal, como ya se observa en los grupos con función hipoestrogénica y se confirma en el grupo con frotis atrófico de la postmenopausia.

e) De acuerdo con los valores obtenidos respecto al estadio tumoral, con rangos muy elevados respecto al rango medio control y amplias desviaciones para cada grupo, puede plantearse la posibilidad de que además de la influencia ejercida por el tiempo de evolución y la masa tumoral se asocia otro factor condicionante que puede ser el estadio sexual y/o el grado de función estrogénica.

Si bien el estudio de los valores basales de PRLh en el grupo definido como preoperatorio ha podido plantear discrepancias con respecto a otros datos publicados en la literatura, la evolución post-operatoria, especialmente en el grupo objeto de estudio con datos precedentes de la misma paciente, puede decirse que se trata de una novedad, pues los datos comunicados al respecto son prácticamente inexistentes.

Partiendo de los resultados obtenidos en la inadecuada serie global destaca como hecho primordial el descenso de la cifra media de PRLh basal respecto a la observada en el preoperatorio, hasta el punto de no diferenciarse del valor medio control. A pesar de las discrepancias entre el número de pacientes con y sin función menstrual condicionada por la introducción de maniobras terapéuticas endocrinas ablativas, parece claro que el descenso post-operatorio se encuentra condicionado por la mayor normalización de los valores en el grupo de mujeres con función ovárica activa, contribuyendo en menor grado el grupo sin función menstrual quien, por otra parte, ofrece una tendencia hacia los valores proporcionalmente más elevados. Este resultado queda mejor reflejado al comparar los valores respecto a los tres grupos considerados en el estadio sexual, apreciándose claramente que las pacientes postmenopáusicas muestran una concentración media que difiere poco de la preoperatoria, si bien parece que se compone de una serie de valores individuales más heterogéneos como se advierte al persistir un rango más elevado.

Esta normalización de las cifras de PRLh basal puede estar de acuerdo con los datos publicados por COLE, ENGLAND, SELLWOOD y GRIFFITHS (1976) y JONES, RAMSAY, BOOTH y COLLINS (1977), únicos autores que han abordado el problema con un diseño experimental distinto de los demás en el sentir de ZUMOFF (1978), y que dista poco del planteado en este trabajo. Pues bien, el primero, tras comunicar que las pacientes con cáncer presentan una mayor concentración de PRLh que los controles en fase folicular y durante el período preovular, afirma que en general no se observan grandes diferencias a los tres meses de practicada la mastectomía. El segundo grupo, estudiando los niveles de PRLh tras mastectomía en pre y postmenopáusicas afectas de tumor mamario primitivo, comunican la similitud de los valores con los de las respectivas series control. Por otra parte, SARFATY, TALLIS, MURRAY, PITT, GARDNER y LEPPARD (1977) han demostrado que las pacientes con carcinoma metastásico que responden a cirugía endocrina muestran un descenso de los valores de PRLh, mientras que las que no responden o no desciende o lo hacen de manera poco significativa. Aunque ya criticados previamente, confirmarían esta normalidad postoperatoria los datos publicados por KWA, DE JONG-BAKKER, ENGELSMAN y CLETON (1974), quienes obtienen valores normales estudiando 115 pacientes que previamente habían sido operadas por tumor mamario, y los de MONNE, RUIBAL, OLIVAN y SOLE (1976) quienes llegan a la misma conclusión en un grupo en el que la casi totalidad de las pacientes habían sido mastectomizadas.

Cuando se comparan los valores pre y postoperatorios según el ordenamiento realizado respecto al frotis vaginal (remodelado al no haber podido estudiarse un grupo valorable con frotis estrogénico, lo que ha condicionado una menor representatividad de las cifras medias de PRLh durante los estadios con función estrogénica), se observa un descenso tanto para el grupo que presenta una buena estrogenización como para el que la presenta prácticamente abolida; este descenso llega a igualarse con los valores medios de la serie control, lo que sugiere que el comportamiento de las concentraciones de PRLh en ambos casos está regida por mecanismos que no implican única y directamente el grado de función estrogénica.

Hasta aquí puede, pues, concluirse que las cifras de PRLh basal determinables con las técnicas previamente comentadas pueden guardar una relación con la presencia de una masa tumoral en la mama.

Esta hipótesis adquiere fundamento al observar los datos obtenidos en el grupo de mujeres que han podido seguirse a lo largo de su enfermedad. Este grupo al utilizar como "control" el primer valor obtenido, y por tanto ser evaluado con estadística para datos apareados, excluye teóricamente del estudio el error introducido por las variaciones individuales del muestreo. Pues bien, los resultados procedentes de este diseño experimental permiten suponer que la concentración de PRLh, normalizada tras la extirpación del tumor primitivo, aumenta nuevamente durante la reaparición del cuadro metastásico. Además, dado que la concentración media de PRLh en esta situación es igual para pre y postmenopáusicas, el aumento de hormona parece proporcionalmente más importante para las segundas que para las primeras. Esta afirmación queda también corroborada por el estudio del perfil individual que, además permite plantear la idea de que el estudio hormonal en carcinoma de mama ciertamente debe ser realizado bajo dos criterios de ordenamientos conjuntos que consideren a la vez el estado hormonal y el estadio tumoral, pues, al menos para PRLh parece evidente que el comportamiento de las pre y postmenopáusicas no es igual. Aunque con variaciones individuales, sospechadas por la dispersión de los valores medios, puede aportarse una prueba, hasta ahora no comunicada, de que la presencia de un carcinoma mamario puede influir los niveles de PRLh.

Al estudiar más en detalle estos resultados se aprecian ciertas diferencias entre las mujeres que mantienen función ovárica y las que no la mantienen. Para las primeras, que presentan el descenso más acusado tras la extirpación del tumor, el 60% se sitúan por encima del valor límite establecido, que coincide plenamente con el considerado por HORROBIN (1977) como límite máximo de

normalidad, descendiendo postoperatoriamente hasta el punto de que sólo el 6% sobrepasan este límite, porcentaje semejante al de la población control. De las postmenopáusicas sobrepasan el límite de su serie control el 61% de las pacientes, cifra que desciende al 40% si se considera el margen de 15 ng/ml; postoperatoriamente el porcentaje de pacientes que se sitúan en el rango de normalidad es claramente más bajo que en el grupo anterior, persistiendo un 41% de ellos con cifras que tienden a ser más elevadas respecto al límite de su serie y un 19,8% respecto al límite general. Los porcentajes preoperatorios de este estudio coinciden plenamente con los publicados por NAGAY, KATAOKA, KOBAYASHI, ISHIHARA, TOBOKIAN, NAKASHIMA, NARUSE, SAITO y SAKUMA (1979) a pesar de que el rango de normalidad utilizado en este estudio dobla el empleado aquí; desgraciadamente no realizan control postoperatorio por lo que no pueden compararse plenamente los resultados de ambos trabajos.

Por otra parte, el estudio de correlación entre los valores pre y postoperatorios de PRLh refuerza la idea de que ambas concentraciones no están directamente relacionadas por los mecanismos normales de regulación que tienden a mantenerlos dentro de unos límites prefijados. Si como se aprecia en el estudio de ritmo circadiano las concentraciones basales de PRLh en dos días diferentes son prácticamente iguales, algo semejante a lo que ha ocurrido en 7 pacientes con tumor evaluado en más de una ocasión a lo largo de este estudio, la pérdida de correlación en la situación que se discute tiene lógicamente que depender de la presencia del tumor mamario, quien puede condicionar las elevaciones de PRLh de forma específica para cada enferma y a niveles que dependen de su grado de actividad.

Las pruebas aportadas sobre este comportamiento de PRLh a lo largo de la evolución del carcinoma mamario creo que no son debidas a repercusiones inespecíficas de su secreción, o a modificaciones relacionadas con otros planes terapéuticos, especialmente

quimioterapia. Si se tiene en cuenta la meticulosidad del protocolo de extracción de muestras realizadas en este estudio, y el que todas las enfermas evaluadas lo han sido en situaciones similares, incluso a lo largo de la misma fase del período menstrual, puede descartarse el efecto inespecífico del stress, especialmente el físico, como se ha citado clásicamente en la literatura (NOEL, SUN, STONE y FRANTZ 1972), aunque no puede negarse plenamente la presencia de una repercusión por stress psicológico; el hecho de que la somatotropa no muestre cifras aumentadas, y no quarde una relación lineal con la PRLh, puede ser una prueba que permita excluir de este estudio tal tipo de interferencia. Corroboran esta afirmación las recientes publicaciones de SOWERS, RAJ, HERSMAN; CARLSON y Mc CALLUM (1977) y MIYABO, ASATO y MIZUSHIMA (1977) quienes han comunicado un aumento proporcionalmente semejante de PRLh y HCh utilizando un modelo de stress psicológico.

Al igual que ha ocurrido con otras hormonas la PRLh presenta un patrón de secreción pulsátil, comprobado en el animal y en el humano (LEIGHTON, McNEILLY y CHARD 1976). Este patrón puede modificar los niveles medios circulantes no habiéndose tenido en cuenata en los trabajos publicados sobre PRLh y cáncer de mama. De los resultados de este trabajo se infiere que para la misma persona los niveles basales de PRLh pueden oscilar entre el doble o la mitad del valor considerado a las 09 horas, lo que coincide plenamente con los resultados de LEIGHTON, Mc NEILLY y CHARD (1976). Por ello puede proponerse la no significación de los valores que oscilen entre estos máximos y mínimos para cada caso considerado individualmente, aunque la repercusión de esta oscilación no parece ser mucha como se deriva del estudio de concentraciones a lo largo de 5 días de extracción, con mínimos coeficientes de variación que permiten suponer un patrón relativamente estable, siempre que este se valore en condiciones experimentales iguales. Como ya he indicado, siete mujeres con tumor revaluadas más de dos veces en el postoperatorio han mostrado cifras muy similares en las distintas extracciones, resultados semejantes a los publicados por ROLANDI, BARRECA,

MASTURZO, POLLERI, INDIVIERI y BARABINO (1974), por lo que las modificaciones inducidas por la pulsatibilidad de secreción no parecen ser un gran factor de error en la valoración final de los resultados.

Tampoco puede admitirse en este estudio la interferencia por drogas, pues las series de estudio están formadas por mujeres que no tomaban ninguna medicación. Tan sólo merece alguna consideración la posible influencia de los protocolos de quimioterapia, que en esta serie ha sido de manera uniforme el CMF, aunque ninguna de las pacientes se ha estudiado durante su realización. Por otra parte, aunque es clásico que estas mujeres presenten amenorreás durante el tratamiento con estas combinaciones (CADMAN 1977), no existe clara evidencia de que se modifique el patrón de secreción a nivel hipofisario. Aunque con 5-fluoruracilo se ha descrito una alteración rápida y reversible de la barrera hematoencefálica (Mc DONELL, POTTER y LESLIE 1978), la publicación de WARNE, FAIRLEY, HOBS y MARTIN (1973) demuestra la normalidad de los niveles plasmáticos de hormonas hipofisarias tras terapéutica general antineoplásica con ciclofosfámida. Tan sólo se han descrito algunas drogas capaces de producir insufiencia hipofisaria, que no han sido utilizadas en la terapéutica de las pacientes de este estudio; por ejemplo VIVACQUA, HAURANI y ERSLEV (1967) han descrito una función hipofisaria alterada (disminución de la secreción de ACTH) tras tratamiento con busulfan. Puede, pues, concluirse que, aunque con las lógicas reservas por no existir una clara evidencia, el protocolo de quimioterapia realizado en las pacientes de este estudio no debe de haber influenciado significativamente los resultados obtenidos.

Por último, y en espera de un mejor conocimiento de los factores que puedan modificar la secreción de PRLh como las producidas por los ciclos circanales (REINBERG, LAGOGUEY, CESSÉLIN, TOUITON, LEGRAND, DELASSALLE, ANTREASIAN y LAGOGUEY 1978) no considerados aquí, u otros aún no conocidos, puede sugerirse en base

a mis resultados que las modificaciones de la concentración basal de PRLh pueden estar directamente relacionadas con la presencia del tumor, proponiendo que la hormona que nos ocupa puede comportarse como un marcado evolutivo en el sentido propuesto por TURKINGTON (1972): elevación no relacionada con procesos que corrientemente causan hiperprolactinemia, presencia de un tumor y descenso de la cifra circulante tras la disminución de la masa tumoral.

B) Hormona de Crecimiento

El estudio de la hormona de crecimiento, siguiendo un ordenamiento semejante al de prolactina, revela unas modificaciones mínimas respecto a los controles, que permitirían concluir con la afirmación de que sus valores no guardan ninguna relación con el proceso tumoral que nos ocupa, aunque se han observado algunas alteraciones que merece la pena comentar y que podrían implicar directamente a esta hormona en el espectro oncogénico de la mama. Sin embargo, la literatura publicada es conflictiva. En ratas con tumor DMBA LI y YANG (1975) publicaron que la hormona de crecimiento promueve el desarrollo de tumores mamarios establecidos en animales hipofisectomizados, datos totalmente opuestos a los publicados por NAGASAWA y YANAI (1970) quienes no observaron ningún efecto sobre el crecimiento tumoral tras la administración exógena de la hormona. Incluso en cultivos tumorales el efecto de la HC no ha sido totalmente definido como han indicado LEWIS y ALLOWES (1976), quienes han comprobado que la adición de hormona al medio de cultivo no incrementa la síntesis de DNA. En otro modelo distinto (el tumor trasplantable en la cepa de ratones C3H, sensible pero no dependiente en su crecimiento inicial a la HC) PIERPAOLI y SORKIN (1975) han comunicado que el crecimiento tumoral no se afecta por la administración de suero anti-HC.

En el humano las cosas son más confusas que en el animal con tumores experimentales. Los pocos datos publicados son difíciles

de evaluar, ya por la comunicación de series muy cortas, utilización preferente de pruebas dinámicas, grupos de estudio poco homogéneos con edades muy diferentes, o por la utilización de metodologías muy diversas. La hipofisectomía en el humano se encuentra sometida a las mismas críticas que en el animal, al menos desde el punto de vista de supresión de funciones endocrinas conocidas, estando además sujeta a dificultades de evaluación fisiológica en aquellos parámetros que pueden indicarnos su realización más o menos completa (FOTHERBY y JAMES 1974). Por otra parte, GREENWOOD, JAMES, MEGGITT, MILLER y TAYLOR (1968), comunicaron una hipersecreción de HCh tras hipoglucemia insulínica y PEARSON, LLERENA, SAMAN y GONZALEZ (1968) obtienen resultados similares tras inducir una sobrecarga de glucosa; todos ellos refieren en sus trabajos niveles basales normales, al igual que han comunicado recientemente MALARQUEY, SCHROEDER, STEVENS, JAMES y LANESE (1977) estudiando la secreción integrada de HCh en mujeres pre y postmenopáusicas. Tan sólo discrepan de estos resultados los publicados por CARTER, LEFKON, FARLIN y FELDMAN (1975) quienes han comunicado una cifra media aumentada, y proponen que ello puede ser el resultado de una alteración hipotalámica o una secreción ectópica aunque no aportan pruebas que permitan sustentar estas proposiciones.

De acuerdo con los resultados de esta tesis puede afirmarse que la hormona de crecimiento no muestra una clara desviación de la normalidad, comportándose de forma semejante a como lo hace la población control. Tan sólo destaca, y siempre dentro del rango de normalidad, la discreta elevación del grupo fértil respecto al postmenopáusico, valor que incluso es significativamente mayor que el del grupo control.

Por otra parte se mantiene también aquí la tendencia a la presencia de cifras discretamente más elevadas en el grupo de pacientes con frotis estrogénico, aunque no se diferencia de los valores controles. Por tanto, mis resultados coinciden plenamente con los comunicados por MALARKEY, SCHROEDER, STEVENS, JAMES y

LANESE (1977) quienes, aunque observan una mayor concentración en premenopáusicas, concluyen que los valores obtenidos hay que considerarlos englobados dentro del patrón de secreción normal.

También estoy de acuerdo con los datos de CARTER, LEFKON, FARLIN y FELDMAN (1975) en lo que respecta a la disparidad de rangos entre la serie tumoral y control, y aunque las edades de los grupos de los dos trabajos no son semejantes puede aceptarse que la mayor cifra media obtenida por ellos confirma el discreto aumento del grupo fértil de mi serie.

Puede, pues, ratificarse que, aunque un cierto grupo de pacientes presentan una tendencia hacia la elevación discreta de la HCh, tal elevación se mantiene dentro del rango de normalidad, por lo que puede aceptarse la no variabilidad media de las cifras de hormona de crecimiento en el carcinoma de mama. Tan sólo puede sugerirse la posibilidad de que alguna de estas mujeres presenten cifras individuales más elevadas.

Esta normalidad en los valores medios de la HCh queda con firmada al no observarse modificaciones sustanciales en el período postoperatorio. Como se refleja en el estudio secuencial las posibles modificaciones de la HCh son del todo inconstantes y no sujetas a un patrón evolutivo común, destacando tan solo algunas elevaciones aisladas en casos individuales, especialmente en el período metastásico. Sin embargo, estas posibles elevaciones no me per miten aceptar, con absoluta seguridad, la idea de que la HCh en el carcinoma de mama puede el varse por secreción ectópica como han propuesto CARTER, LEFKON, FARLIN y FELDMAN (1975) aunque ello podría ser teóricamente posible como se ha demostrado en otros tum ores (SAEEDUZ, ZAFAR, MELLINGER, FINE, SZABO y FRONNAN 1979). De hecho KAGANOWICZ, FARKOUH, FRANTZ y BLAUSTEIN (1979) han demo strado la presencia de HCh ectópica en 8 de 118 ovarios humanos, apre ciando la máxima concentración en una metástasis de un carcinoma de mama.

En mi opinión la mayor importancia del estudio con la HCh estriba en que permite suponer que las modificaciones de PRLh no son inespecíficas o debidas a un aumento por stress, aunque hay que tener presente que la valoración de los resultados con hormona del crecimiento, aún moviéndose dentro del rango de normalidad, hay que hacerla con sumo cuidado debido a la gran variabilidad individual de sus concentraciones plasmáticas (MARTIN 1976) reflejo de las características fluctuaciones fisiológicas de su secreción. De todos modos si tenemos presente que las condiciones de recogida de muestras han sido las mismas para las dos hormonas, que no se han incluido en el estudio aquellas muestras con claras elevaciones posteriormente normalizadas y sugestivas de un efecto de stress al cual la HCh es altamente sensible, que la valoración de muestras tras ayuno y reposo en una población correctamente seleccionada con adecuada protocolización y obtención de más de una muestra basal puede ser un índice cierto de la concentración de hormona circulante en esos momentos, puede suponerse que los valores de la HCh y PRLh de este estudio son reales y no influenciados por factores inespecíficos a los que también es sensible la PRLh.

Puede afianzarse esta idea al observarse la no correlación estadística entre ambas hormonas. Aunque en la serie control he obtenido un buen índice de significación, resultado de la normalidad de los valores individuales, ya se observa, al igual que ocurre en la serie tumoral, que la HCh no aumenta cuando la PRLh aumenta, lo que sugiere que ambas hormonas no se encuentran relacionadas por un mecanismo común inespecífico o específico que las haga aumentar de manera coordinada. Ello apoya la idea de que las modificaciones de PRLh pueden ser inherentes a la presencia del tumor.

RITMO NICTAMERAL EN CONTROLES

A) Prolactina

La cuantificación de PRLh en las horas de la noche consideradas en este estudio han revelado una clara elevación respecto a los valores basales, lo que de una forma genérica puede considerarse como un ritmo circadiano o nictameral. Sin embargo, y casi como norma general, se aprecian dos hechos a los que hay que buscar una adecuada interpretación. El primero es una disociación de la significación estadística entre los valores basales y nocturnos cuando se comparan las distintas horas de extracción dentro de los distintos grupos de ordenamiento que he considerado. Así, mientras se mantiene la significación de los descensos basales en el grupo sin función menstrual y en el grupo de postmenopáusicas respecto al grupo con función y fértil, los valores nocturnos, aunque muestran una cifra media más baja, se mantienen estadísticamente semejantes. En segundo lugar, son frecuentes, especialmente en los grupos de mujeres con más edad, las desviaciones estándar amplias sugestivas de grandes variaciones de los valores individuales, y que puede ser la causa de la no significación estadística de los valores nocturnos a pesar de su cifra media más baja. Esta explicación puede quedar reforzada si se tiene en cuenta que la diferencia entre las cifras nocturnas de PRLh en frotis estrogénico y atrófico son claras, por lo que en base a esta forma más exacta de ordenamiento puede aceptarse que la pérdida de función estrogénica, en la mayoría de los casos relacionada con la edad, condiciona no sólo una disminución de las cifras basales sino también un descenso de los picos nocturnos. Por otra parte, destaca en las mujeres con función menstrual la no diferencia de los valores nocturnos de PRLh entre la fase folicular y luteal, posiblemente debido a las pequeñas diferencias observadas entre los frotis estrogénico y estrogénico débil.

Estos resultados coinciden con los publicados en la literatura, y aunque creo que podrían ser considerados con una cierta

reserva derivada del criterio arbitrario utilizado en la selección de las horas nocturnas de extracción, existen datos que abogan hacia su validez. Ya he indicado que el hecho de que la PRLh haya presentado una clara diferencia entre los valores basales y nocturnos puede ser considerado "a priori" como un ritmo circadiano semejante al descrito inicialmente por SASSIN, FRANTZ, WEITZMAN y KAPEN (1972) y NOKIN, VEKEMANS, L'HERMITE y ROBYN (1972), y aunque no se ha realizado la misma cadencia horaria de extracciones (cada 20 minutos ó 1 hora) los valores máximos nocturnos a las 01 y 05 horas coinciden no sólo con los obtenidos por estos autores, quienes refirieron las cifras mayores entre estas horas, sino con los de WEITZMAN (1976), quien comprobó esta elevación entre las 01-02 y 06-07 horas.

Sin embargo, SASSIN, FRANTZ, WEITZMAN y KAPEN (1972) comunicaron que estos incrementos nocturnos no eran debidos a un verdadero ritmo circadiano sino que se encontraban relacionados con el sueño. Este hallazgo, ampliamente aceptado y que guarda una relación directa con la profundidad y período del sueño electroencefalográficamente comprobado (PARKER, ROSSMAN y Van Der LAAN 1974), podría restar valor a mis resultados al carecer estos de un adecuado control poligráfico. Además, podría pensarse que justificaría las dispersiones medias obtenidas, que serían el resultado de diferencias individuales en el estadio del sueño y que haría que algunos picos nocturnos máximos se obtuvieran a las 01 horas y otros a las 05 horas, aunque la no existencia de diferencias significativas entre ambos permite aceptar la validez de la elevación nocturna en una u otra hora. Pero por otra parte, e independientemente del registro del sueño, las variaciones de los picos individuales son en general muy amplias (FRANTZ 1979) y prácticamente siempre superiores a las máximas de los niveles basales, por lo que creo que el no control de la profundidad del sueño no es un argumento definitivo para no aceptar los resultados obtenidos en este trabajo. De hecho, comunicaciones recientes como la de LEEBAW, LEE y WOOLF (1978)^a, y la de GOLSTEIN, Van HAELEST, BRUNO y L'HERMITE (1979) aceptan ciertamente

la validez de sus resultados con criterios también arbitrarios y sin control electroencefalográfico, utilizando tan sólo un exquisito cuidado en la no interrupción del sueño.

Puede, pues, aceptarse que con un rígido protocolo y control en las extracciones nocturnas y considerando los valores obtenidos hacia las 01 y 05 horas como representativas de la elevación nocturna de la PRLh, puede obviarse la comprobación electroencefalográfica de la profundidad del sueño en una valoración simplificada de las modificaciones día-noche de la secreción de PRLh.

De acuerdo con ello los resultados obtenidos aportan evidencia sobre un distinto nivel de secreción nocturna entre mujeres con y sin ciclo menstrual, siendo menor en estas últimas, lo que parece coincidir con los datos publicados por FINKELSTEIN, WU y BOYAR (1974), pudiendo estar además en relación con los menores niveles de estrógenos circulantes en esta etapa de la vida, pues estos también parece que controlan los picos de secreción nocturna de PRLh (VEKEMANS y ROBYN 1975).

Respecto a las diferencias de los niveles nocturnos a lo largo del ciclo menstrual poco puede decirse dado que hasta diciembre de 1979 tan solo he podido recoger un artículo en el que se realiza un detallado estudio del perfil de secreción a lo largo de las 24 horas del día (EHARA, SILER, Van Der BERG, SINHA, YEN 1973). De acuerdo con él, (utilizando RIAS homólogos y no control electroencefalográfico del sueño) y aunque el protocolo de extracción es muy distinto, puede resumirse, en espera de datos más abundantes en la literatura, que no existen diferencias a lo largo del ciclo menstrual, aunque el hecho observado por EHARA y col. (1973) de un gran aumento en una mujer hacia la mitad del ciclo, y las diferencias observadas por RASTOGI, DASH, SHARMA, SAWHNEY y SIALY (1976) tras estímulo con TRH apuntan hacia una influencia directa de los estrógenos que podría condicionar niveles más elevados en la mitad y segunda fase del ciclo. Como ya he apuntado en el estudio con muestras basales un adecuado planteamiento que incluya el grado de

estrogenización individual en cada período del ciclo podría aportar datos más aclaratorios a un problema aún no resuelto.

B) Hormona de Crecimiento

La determinación de HCh en la misma hora de la noche que la PRLh ha revelado la presencia de aumentos que permitirían aceptar la presencia de un ritmo nictameral, que al igual que el de PRLh está relacionado con el sueño (TAKAHASI, KIPNIS y DAUGHADAY 1978).

Sin embargo, la interpretación de los resultados es mucho más compleja que con los obtenidos con aquella, no sólo por haber estudiado una serie más pequeña, sino porque las posibles modificaciones de HCh parecen más variables e incostantes que las de prolactina.

Ya en el estudio de la serie global se aprecia como el pico máximo se obtiene a las 01 horas, mientras que a las 05 horas la concentración media es claramente menor, aunque en general mayor que la basal. Además, destaca la presencia de importantes desviaciones estandar, sugestivas de grandes variaciones individuales en los datos estudiados.

Persistiendo este patrón a lo largo de todo el estudio, mis resultados revelan la no diferencia entre los niveles nocturnos y diurnos para los grupos con y sin función menstrual, y un aplanamiento de los picos nocturnos en la postmenopausia que, a pesar de la pequeña muestra estudiada, y de las grandes variaciones individuales, sugiere un distinto nivel de regulación en este período de la vida.

Pero la aceptación de estos resultados requiere, como ha ocurrido con la PRLh, que el protocolo utilizado sea válido, lo que "a priori" puede admitirse si tenemos presente que el momento de secreción de HCh es muy cercano electroencefalográficamente

al de PRLh (en las dos primeras horas del sueño) y que, el contrario que ésta, la HCh no es nuevamente secretada en posteriores recurrencias del sueño profundo, o si lo es ocurre a niveles menores que durante el primer período como han indicado BECK, BREZINOVA, HUNTER y OSWALD (1975) y MARTIN (1976). El primer punto puede verse apoyado en el hecho comunicado por SASSIN, FRANTZ, WEITZMAN y KAPEN (1972) quienes apreciaron que el pico de HCh precede al de PRLh, lo que fue posteriormente comprobado por PARKER, ROSSMAN y Van DERLAAN (1973) quienes, además, comunicaron que ambas hormonas se secretan en los estadios III y IV del sueño profundo antes de la aparición del período de movimientos oculares rápidos, pero con un adelantamiento de unos 40 minutos para la HCh, no existiendo ningún otro tipo de relación entre ambas hormonas en el resto del período de 24 horas de estudio; ello puede estar de acuerdo con la absoluta falta de correlación obtenida en esta tesis aunque, como ya he indicado, la significación apreciada con las concentraciones a las 09 horas puede ser reflejo de la normalidad de secreción de PRL y HCh que, moviéndose dentro de límites más o menos estrechos, facilita un artefacto matemático que no implica un mecanismo de regulación común, al menos en lo que a tiempo de inicio, y tiempo e intensidad de duración del pico de PRLh respecta (FRANTZ 1979). Creo, pues, que puede aceptarse que las elevaciones apreciadas para HCh a las 01 horas pueden corresponder, al igual que ocurre con la PRLh, al pico secretor correspondiente a la primera fase del sueño profundo.

El segundo punto indicado por MARTIN (1976) podría justificar los valores más bajos que he apreciado a las 05 horas, lo que contrasta claramente con los de PRLh quien, por el contrario, tiende a mostrar sus máximos valores en estos períodos finales del sueño.

Otro aspecto que merece un pequeño comentario es la amplia dispersión observada en todos los grupos estudiados. Como ya he comentado, la distinta profundidad del sueño condiciona la secreción

de PRLh y HCh, pudiendo criticarse que la no monitorización de las mujeres estudiadas puede condicionar una población heterogénea por haberse estudiado en momentos distintos de este período. Sin embargo, como han criticado KRIEGER y GLICK (1974), el dogma de que los picos secretorios de HCh se encuentran íntimamente relacionados con los períodos de sueño con ondas lentas, a través de un proceso neural común, puede ser puesto en duda, hasta el punto de que MARTIN (1976) admite que la asociación picos nocturnos-sueño no es obligatoria. Si esto es cierto hay que admitir que las dispersiones observadas en este estudio son consecuencia de la gran variabilidad secretora de HCh, y no de la ausencia de monitorización; además, en controles normales, las amplias variaciones individuales apreciadas en la secreción de HCh pueden llegar a condicionar una falta de incremento durante el sueño (PARKER, ROSSMAN y Van Der LAAND 1973), con grandes oscilaciones relacionadas con algo tan inespecífico como el tipo de vida realizado el día de la prueba (WEITZMAN 1976). De hecho, un control con período y tres sin período no han mostrado elevaciones nocturnas en mi serie.

Por último, las modificaciones medias observadas en clímatéricas y, especialmente, en postmenopáusicas, coinciden con los datos publicados por CARLSON, GILLIN, GORDEN y SNYDER (1972) quienes han observado una concentración nocturna menor, ocasionalmente abolida, en mujeres de edad.

RITMO NICTAMERAL Y CANCER DE MAMA

A) Prolactina

No cabe duda que los resultados de este trabajo en lo que respecta a las modificaciones nocturnas de PRLh, son totalmente originales, pues hasta el momento de concluir la revisión de la literatura (en diciembre de 1979) tan sólo había sido publicado un trabajo que puede ser equiparado con este. Por ello cualquier intento de justificación de los resultados obtenidos tiene que basarse en posibilidades especulativas a pesar del incompleto conocimiento de los mecanismos que regulan la secreción nocturna de PRLh, y de las posibles interrelaciones entre esta y el cáncer de mama.

Considerando las modificaciones horarias de PRLh en los distintos grupos de ordenamiento utilizados puede decirse que, al igual que ha ocurrido con las determinaciones basales, se aprecia unas concentraciones nocturnas más elevadas en aquellas mujeres que presentan función ovárica, y dentro de estas en aquellas que teóricamente se encuentran en una atmósfera con mayores niveles de estrógenos. Así, las pacientes con actividad menstrual muestran cifras más elevadas que las pacientes que no la presentan, las fértiles mayores que las postmenopáusicas, las que se encuentran en fase luteal mayores que las de la fase folicular y, por último, y de acuerdo con el efecto de los estrógenos sobre PRL, las pacientes con frotis estrogénico ofrecen niveles claramente más elevados que aquellas con frotis atrófica.

Pero cuando estos resultados se comparan con los obtenidos en los correspondientes grupos control se aprecia que, aunque con un cierto paralelismo con lo que ocurría en el estudio con concentraciones basales, el valor medio de las concentraciones nocturnas ofrece en el grupo de postmenopáusicas una disociación en el perfil que sugiere un distinto comportamiento respecto a las

pacientes que presentan actividad menstrual: mientras que las segundas ofrecen claros aumentos basales y nocturnos las postmenopáusicas tienden hacia una elevación basal sin elevación media nocturna, y con unas variaciones individuales que permiten sospechar la tendencia al aplanamiento del pico nocturno en un importante número de casos. Si junto a ello se tiene presente que los tumores estudiados en estadios avanzados son no sólo los que han presentado valores nocturnos más elevados, sino los que han mostrado la dispersión más amplia, es lógico replantear el estudio en un nuevo ordenamiento que tenga presente la posible relación entre el estadio endocrín y el tamaño tumoral. Por otra parte, el hecho de individualizar los perfiles día-noche de ambas series me ha permitido observar unas modificaciones en la secreción de PRLh aún no descritas en la literatura, y que concordando en ciertos aspectos con los referidos por MALARKEY, SCHROEDER, STEVENS, JAMES y LANESE (1977) permiten el planteamiento de un nuevo enfoque en el estudio de la fisopatología endocrina del carcinoma de mama humano.

En este doble ordenamiento, realizado con la concentración máxima de PRLh en base a la buena correlación entre las concentraciones de las 01/05 horas, he asociado el estudio de los niveles hormonales respecto a la presencia de tumor local (estadio I-II), local avanzado (estadio III) y generalizado o metastásico (estadio IV) en los dos períodos clásicos de la endocrinología oncológica, es decir pre y postmenopáusicas y que, aunque lleva implícito el error de la mala definición endocrinológica de las enfermas climatéricas, no se ha podido evitar por el condicionamiento que ha supuesto el número de elementos de la muestra. Pero a pesar de ello he podido comprobar que los niveles de secreción de PRLh son distintos para cada uno de los períodos fisiológicos y que se encuentran relacionados con la presencia y tamaño de la masa tumoral.

En primer lugar, puede afirmarse que se trata de un ordenamiento útil, que considera dos parámetros fundamentales y en el que las dispersiones de la media de los valores estudiados se reduce considerablemente.

En segundo lugar, me permite plantear la hipótesis de que la PRLh se comporta de forma muy diferente en las pre y postmenopáusicas, lo que puede significar un distinto modelo de hormonodependencia, al menos en cuanto a función hipofisaria se refiere. En las primeras la masa tumoral condiciona en su evolución un aumento generalizado de las concentraciones basales y nocturnas, que es máximo para el tumor en estadio avanzado, persistiendo en las segundas el mismo patrón alterativo que se observó en el estudio de las concentraciones horarias, con un claro y constante aplanamiento del perfil día-noche en los estadios más avanzados. De acuerdo con todo ello puede concluirse que, además de las diferencias entre pre y postmenopáusicas, el comportamiento de la PRLh frente a la masa tumoral es distinto para los tumores localizados que para los estadios generalizados.

Esta última afirmación puede también fundamentarse en los resultados obtenidos en la nueva valoración postoperatoria que, aunque pequeña, ofrece algunos datos de gran interés: En primer lugar, destaca la tendencia al aumento de la cifra nocturna máxima de PRLh, hasta el punto de normalizarse y hacerse incluso más elevadas que las del respectivo grupo control, aspecto más evidente para las post que para las premenopáusicas. En segundo lugar, dos pacientes reevaluadas en franco cuadro de diseminación han ofrecido perfiles planos que confirman los datos del estudio metastásico preoperatorio, y de hecho dos pacientes premenopáusicas con aplanamiento pre-operatorio han ofrecido una clara normalización del perfil durante el postoperatorio libre de metástasis.

Estos resultados pueden considerarse similares, al menos en lo que al preoperatorio concierne, con los publicados por MALARKEY, SCHROEDER, STEVENS, JAMES y LANEXE (1977) si bien los resultados postoperatorios difieren en algunos aspectos.

Este grupo comunica el descenso de los valores integrados de PRLh en las premenopáusicas, mientras que las postmenopáusicas

no muestran ninguna modificación. A mi juicio estos resultados no excluyen los hallazgos de esta tesis pues el distinto protocolo de extracción utilizado, que les permite estudiar la secreción integrada día-noche y, sobre todo, la gran diferencia en los estadios tumorales de la serie (todos tumores locales, o a lo sumo locales avanzados, frente al gran número de tumores avanzados de la mía) pueden ser motivo suficiente de discrepancia. Al igual que el grupo de MALARKEY creo que estas modificaciones, especialmente las de las postmenopáusicas, no son debidas a fenómenos inespecíficos, aunque no puede descartarse que distintos tipos de stress juegen algún papel de interferencia no relacionada con la secreción de glucocorticoides (FRANTZ 1979).

Sin embargo, aunque los dos estudios ofrezcan resultados preoperatorios muy similares no hay duda de que los obtenidos por mí hay que tomarlos con gran cautela, pues en base a los modernos conceptos de ritmo circadiano, y aunque haya aceptado la representatividad de los picos nocturnos en el estudio control, el patrón de extracción utilizado no debe de considerarse como totalmente representativo de un ritmo circadiano, aunque creo que existen datos en la literatura que me permiten proponer como válido este protocolo reducido de secreción día-noche.

En primer lugar, la utilización de la basal y el máximo pico nocturno para intentar definir un teórico ritmo normal en base a un criterio único se ha realizado clásicamente en el estudio del ritmo circadiano de cortisol (JARA ALVARRAN 1971), y aunque limita y reduce las diferencias observables en cada hora de extracción nocturna, no me ha permitido definir con seguridad un criterio de normalidad que pudiera ser estandarizado. Los dos parámetros utilizados en este trabajo, al igual que ocurre con los valores medios absolutos, no son capaces de establecer claras diferencias entre el patrón de secreción día-noche de la población normal y tumoral como consecuencia de la gran desviación de los valores medios. Ello hace que la selección del criterio de normalidad respecto a la media y DS incluya como normales valores claramente patológicos, dada

la amplitud de los límites máximo y mínimo. Ajustando mejor el criterio de normalidad con tests no paramétricos tampoco se definen claramente las posibles diferencias entre las dos series aunque se intuye la mayor tendencia al aplanamiento del perfil en el grupo postmenopáusico con cáncer y en los estadios tumorales avanzados.

Podría, pues, objetarse que el problema fundamental de mis hallazgos es la persistencia de las amplias desviaciones medias de todos los grupos de ordenamiento, derivada de la utilización de un criterio arbitrario de selección del muestreo nocturno. Pero, de acuerdo con los datos publicados recientemente por ASCHOFF (1979) sobre las características generales de los ritmos circadianos no creo que estas amplias desviaciones sean sólo motivadas por defectos de protocolización, pues existen datos en esta tesis que permiten suponer que es el mecanismo de regulación de los picos de secreción, inherente a cada persona, lo que justifica estas dispersiones.

- a) Aunque existen considerables diferencias interindividuo los patrones circadianos generalmente observados muestran una reproductibilidad satisfactoria. Creo que ello queda claramente reflejado en los ritmos representados en las tres mujeres normales que he estudiado en esta tesis, y en uno estudiado en una paciente con tumor mamario en remisión.
- b) Dentro de las 24 horas del período día-noche la frecuencia de los episodios de secreción y la cantidad de hormona secretada pueden sufrir cambios considerables. Por tanto, el patrón de secreción episódica obtenido con muestras frecuentes de sangre (por ejemplo cada 20-30 minutos) ofrece una gran variabilidad individual y de día a día. Pero si los datos de cada individuo son determinados en promedio los detalles de su patrón de secreción desaparecen mientras que el componente circadiano se muestra más claramente. Ello abogaría, en mi opinión, a la validez, como ya he indicado en un

riguroso protocolo experimental, de las extracciones en los momentos teóricamente más característicos del ritmo.

- c) Debido a las fases de control de secreción inducidas por el sueño la expresión de los resultados respecto a un tiempo determinado produce rangos mayores que cuando las curvas individuales son normalizadas respecto al principio o al final del período de sueño. Aunque en este estudio he tenido en cuenta la presencia de sueño no modificado por estímulos exógenos no se ha valorado el momento del inicio del mismo, lo que podría representar un claro ejemplo de dispersión por valoración en un tiempo local. Sin embargo, y en mi opinión, aunque puede justificar la mayor dispersión de mis datos no presupone que los picos nocturnos obtenidos no representen descargas secretoras inducidas por el sueño.
- d) Teniendo en cuenta el concepto matemático y físico de las oscilaciones sincronizadas que definen un ritmo circadiano, el modelo utilizado en esta tesis representa un criterio matemáticamente poco representativo de caracterización de un ritmo normal o patológico, sobre todo si se tiene presente las amplias variaciones individuales, por otra parte fisiológicas y dependientes del mecanismo intrínseco que regula las descargas nocturnas de PRLh. Pero aunque el modelo a que me refiero estudia a lo sumo las características del rango de una oscilación definida por el período Basal-Nocturna Máximo-Basal, y no las verdaderas características de una descarga sincronizada de oscilaciones, los resultados que he comentado pueden ser ciertamente representativos de una alteración específica en la secreción de PRLh por un tumor de mama, pues en un reciente estudio de TARQUINI; GHERI, ANICHINI, NERI y BURICCHI (1977) se observa claramente como los máximos valores de hormona determinados mediante cronograma coinciden con las horas de extracción de esta Tesis. Se hace pues necesario comprobar estos resultados en base a un estudio

más perfecto mediante cronogramas y análisis de coordenadas polares.

- e) Por último creo que las dificultades encontradas para separar las posibles diferencias entre la serie control y tumoral no derivan solo del método de estudio simplificado que he utilizado, sino que son en parte secundarias al inexacto conocimiento que aún se tiene de los mecanismos que regulan los picos secretorios de PRLh. En una reciente comunicación de COPINSCHI, L'HERMITE, GOLSTEIN, LECKERQ, DESIR, VanHAELST, VIRASORO, ROBYN y Van CAUTER (1978), utilizando un exacto modelo de periodogramas, se observa claramente la posible aparición de ciclos monofásicos, bifásicos y ocasionalmente polifásicos, que como ya comentaron SASSIN, FRANTZ, KAPEN y WEITZMAN (1973) pueden ser debidos a la presencia de otros factores no relacionados con el sueño. Corroborando esta posibilidad BADAWI, Van EXTER, DELOGNE-DESNOECK, Van MEENE y ROBYN (1978) han demostrado la presencia de ritmicidad circadiana durante la vida fetal en un momento en el que el ritmo del sueño no está aún establecido, lo que permite plantear la posibilidad de que junto a los picos relacionados con el sueño se exprese un verdadero patrón dependiente de los fotoperíodos.

B) Hormona de Crecimiento

Para la HCh es difícil obtener conclusiones válidas debido a la gran disparidad de los valores individuales observados, con diferencias inconstantes que solo parecen seguir un patrón definido en el grupo de climatéricas, con un aplanamiento del perfil, y en el de postmenopáusicas, en las que todos los valores medios se muestran elevados. El esquema de trabajo utilizando el máximo pico nocturno, de manera similar al estudio de PRLh, aunque no permita tampoco el plantear una alteración de secreción, pues no sigue un patrón alterativo coordinado con el de los valores individuales, podría sugerir

una modificación secretoria durante el período metastásico no depende de la situación de pre o postmenopáusia, ya que las dos pacientes de cada grupo que integran este estadio ofrecen perfiles individuales planos pero a distinto nivel de concentración hormonal. Sin embargo, este tipo de alteración también ocurre con cierta frecuencia en controles sanos como ya he indicado en el estudio del ritmo control.

De todos modos, y a pesar de la peor reproductibilidad de los valores máximos nocturnos en la pequeña muestra control, sería deseable comprobar si ciertamente las pre y postmenopáusicas, y el estadio tumoral avanzado o metastásico llevan implícitos una alteración secretoria interrelacionada, partiendo de la base del pequeño descenso portoperatorio observado en el grupo de postmenopáusicas.

Por último, HCh y PRLh, no se correlacionan directamente en ninguna de las horas estudiadas, lo que aboga por la independencia de sus mecanismos de control. De todos modos si la modificación observada en las postmenopáusicas y en el estadio metastásico fuesen confirmadas podría establecerse un mecanismo patogénico común para las dos hormonas, aunque para la HCh, las modificaciones apreciadas son inconstantes, y más sujetas a alteraciones de casos individuales que las observadas para PRLh.

Este mecanismo alterativo, como ahora comentaré, quedaría basado en el efecto de los estrógenos sobre los sistemas dopaminérgicos cerebrales.

ACE y CARCINOMA DE MAMA

Respecto al estudio realizado con el ACE puede concluirse que los resultados obtenidos en esta tesis coinciden plenamente con los publicados en la literatura. La comprobación de la reproductibilidad de la técnica utilizada me permite afirmar que los niveles plasmáticos preoperatorios no aseguran el diagnóstico tumoral, de acuerdo con los datos publicados por LOGERFO y PENNINGTON (1975), pues se hallan muy directamente relacionados con el estadio evolutivo, tipo de tumor e, incluso, con la forma de localización anatómica, hasta el punto de que el mayor índice de positividad lo he obtenido en tumores de colon, y en estadio metastásico donde las diferencias entre tumores de distintos órganos digestivos desaparecían; además, puede corroborarse que los tumores en estadios precoces se asocian frecuentemente a cifras circulantes normales o límites (ZAMCHECK 1976; JUVERT, TALBOTT y MAYCROFT 1978) lo que condena la validez del ACE para el diagnóstico clínico.

Por otra parte, el título de ACE circulante desciende claramente tras la extirpación del tumor, lo que le confiere, junto al aumento tras la reaparición de metástasis, la clásica definición de marcador tumoral. Sin embargo, el hecho del distinto nivel circulante respecto a la localización de las metástasis pone de manifiesto la necesidad de estudiar mejor la biología de su síntesis, pues el mero mecanismo de desrepresión por alteración de la maquinaria genética celular no parece que explique, en mi opinión, este distinto comportamiento que pudiera ser tejido específico, y no relacionado con los mecanismos hepáticos que condicionan su metabolismo, dada la no correlación con el grado de función hepática parcialmente valorada mediante las determinaciones enzimáticas.

Por lo que respecta al carcinoma mamario, al igual que en los tumores digestivos, el estadio tumoral, como ya comunicaron REYNOSO, MING, CHU, HOLYOKE, COWEN, NEMOTO, WANG, CHUANG, GUINAN y MURPHY (1972) y, por tanto, el tamaño de la masa tumoral, condi-

ciona el nivel circulante (KHOO 1978), que sólo está elevado en una parte de los tumores avanzados y/o metastásicos (NAMER, HERY, BONET, ABBES, KREBS, BOUBLIL, Mc DONALD, LALANNE y RAMAIOLI 1978), comportándose también como un claro marcador pero que sólo es inicialmente valorable como indicador de la efectividad terapéutica en un porcentaje reducido de casos; HIRAI (1977), con la misma técnica de este trabajo, ha comunicado resultados similares y JAKESZ, KOLB, REINER, CHAPUT y SCHEMPER (1979), trabajando con la técnica de Hansen, refieren positividad tan bajas como un 27% en tumores primitivos, cifra que no difiere con la obtenida en mi serie.

Por lo que respecta a su valoración postoperatoria es también de destacar el distinto comportamiento entre las metastásis hepáticas y óseas, con una total discrepancia respecto a los resultados publicados por HAEGELE, PETIT, HERDLY, PILLEMENT y EBER (1978) y para los que no encuentro una explicación racional, y el hallazgo original de una buena correlación entre los niveles de ACE y PRLh en el período metastásico, lo que permite plantear que ambas sustancias se comportan como marcadores evolutivos, aunque sujetas a claras variaciones individuales dependientes de los distintos mecanismos que condicionan sus concentraciones plasmáticas.

----- o o o -----

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta tesis pueden plantearse una serie de nuevas hipótesis de trabajo que podrían explicar, al menos teóricamente, las modificaciones de secreción basal y nocturna de PRLh y, quizás en casos individuales, las de HCh, relacionadas con la presencia de una masa tumoral activa, aunque sujetas al aún imperfecto conocimiento de los sistemas que regulan la secreción de estas hormonas, especialmente los picos de secreción relacionados con el sueño y las relaciones con fotoperíodos o períodos estacionales.

A) El hecho de que la PRLh se comporte como un teórico marcador evolutivo en el estudio de las concentraciones basales se pue

de fundamentar en el actual conocimiento de síntesis hormonal ectópica por los tumores, como ha sido ampliamente estudiado por HOLL (1974), REES y RATCLIFFE (1974), BAYLIN (1975) y ODEL y WOLFSEN (1978).

De hecho, el lactógeno placentario, hormona relacionada estructural y biológicamente con la PRLh, ha sido detectado en un importante número de tumores por ROSEN y WEINTRAUB (1977), y la PRLh lo ha sido en carcinoma pulmonar y carcinoma renal por TURKINGTON (1971), REES, BLOOMFIELD, REES, CORRIN, FRANKS y RATCLIFFE (1974), PODMORE, WILSON, COWDEN, BEASTALL y RATCLIFFE (1979) y DAVIS, PROPER y ERTEL (1979), habiéndose descrito también su presencia en carcinoma mamario, sola o asociada a HC, lactógeno y ACTH, mediante cuantificación en homogeneizado tumoral (PODMORE y col. 1979) y mediante cuantificación en el caldo de cultivo (COLE, ENGLAND, SELLWOOD y GRIFFITHS 1976).

Puede pues aceptarse "a priori" que el carcinoma de mama humano tendría la capacidad de sintetizar PRLh ectópicamente, lo que de acuerdo con mis resultados sería más evidente en tumores en estadios avanzados y en tumores metastásicos, es decir en aquellas situaciones que teóricamente conllevan una mayor alteración de la maquinaria genética celular. Por ello se hace necesario no solo la confirmación de la hipótesis, sino la caracterización de la PRLh cuantificada mediante RIA, que no llega a discernir la verdadera estructura del material inmunológicamente determinado, y que puede presentar una muy distinta actividad biológica (AUBERT, GADNIER, KAPLAN, GRUMBACH 1975). Si este material fuera activo podría establecer un mecanismo de retroalimentación largo o podría actuar directamente en un mecanismo que excluye el receptor de membrana o que incluye un punto de unión a nivel de un posible receptor de membrana nuclear de acuerdo con los recientes resultados de NOLIN y WITORSCH (1976), WITORSCH y SMITH (1977) y NOLIN (1978) quienes han demostrado su presencia intracelular.

B) Cabe la posibilidad de que el tejido mamario neoplásico produzca alguna sustancia capaz de estimular la síntesis y/o liberación de PRL hipofisaria. Esta hipótesis podría tener una base experimental en el hallazgo de NORTHROP, HYMER y BERGLAND (1975), quienes en un cocultivo de hipófisis y carcinoma mamario humano observan un acrecentamiento de la secreción de PRL, postulando un posible mecanismo de retroalimentación entre el tejido mamario y la hipófisis; esta retroalimentación podría quedar definida en mis resultados por la variación de la PRLh respecto a la presencia o ausencia de tumor activo y, quizás más claramente, por la pérdida y recuperación del perfil día-noche asociado a la presencia del tumor.

De acuerdo con los conocimientos actuales los estrógenos podrían quedar implicados como sustancia directamente relacionada en este doble mecanismo de estimulación de las concentraciones basales y pérdida del perfil día-noche, el cual también podría ser alterado en base al mecanismo de síntesis de PRL ectópica. Sustentaría la primera parte de esta hipótesis los hallazgos de HOLTZMAN, STONE y SHELLABERGER (1979) en la rata y los de HYMER, SNYDER, WILFINGER, BERGLAND, FISHER y PEARSON (1976) en humanos, quienes han descrito la presencia en la hipófisis de células de PRL hipertróficas, más abundantes en aquellos casos asociados a tumor mamario, con gran capacidad secretora, y relacionadas con tratamientos previos con estrógenos o andrógenos. Sustentarían la pérdida del perfil día-noche los hallazgos de FREEMAN y STERMAN (1978) quienes han indicado en ratas que el estradiol 17β administrado a niveles elevados acentúa el pico de secreción diurno y atenúa el pico nocturno, o un posible efecto de retroalimentación negativo inducido por la PRL como ocurre en los tumores hipofisarios secretores de hormona (McLEOD y LEHMEYER 1974^b).

Por otra parte, parece atractivo proponer un mecanismo distinto de regulación de PRL inducido por los estrógenos en mujeres pre y postmenopáusicas con carcinoma mamario, probablemente más relacionado con el grado de sensibilidad del sistema hipotálamo-hipofisario que con las concentraciones de hormona circulante. En mujeres con tumor que ciclan normalmente es sugestivo el incremento de PRL a cualquiera de las horas estudiadas, lo que unido a una tendencia

al discreto aumento nocturno tras la extirpación del tumor, hace que mis resultados concuerden completamente con los publicados por VEKEMANS y ROBYN (1975) tras la administración exógena de estrógenos. Aunque alguna enferma premenopáusica pierde la tendencia al incremento nocturno parece que, en general, las mujeres con tumor incluídas en este grupo presentan una cifra mayor de PRL, quizás secundaria a un mayor efecto estrogénico. Sin embargo, y aunque parece que este efecto es dependiente de la presencia del tumor, no puedo precisar si es ejercido directamente a nivel del sistema hipotálamo-hipofisario regulador de la secreción de PRL o a nivel de un ovario funcionando, pudiendo postularse varias hipótesis al respecto:

a) Aunque es muy poco probable, la presencia de complejos inmunes derivados de antígenos del tumor, de manera semejante a como ha ocurrido con el LATS, podrían alterar el mecanismo secretor de PRL ya directamente o modificando el metabolismo y transporte de los esteroides ováricos, sobre todo si se tiene en cuenta las relaciones existentes entre sistema inmune y hormonas esteroideas (PAPAIOANNOU 1974). De hecho, algunos antígenos embrionarios, especialmente la alfafetoproteína, han sido relacionados con ciertos aspectos del mecanismo de acción esteroidea (VALLETTE, BENASSAYAG, BELANGER, NUÑEZ y JAYLE 1976).

b) El tumor de mama sintetiza estógenos a partir de precursores (ADAMS 1977), principalmente andrógenos, en un muy importante número de casos. Aunque este fenómeno parece más relacionado con los tumores de las postmenopáusicas, podría también estar implicado en las premenopáusicas condicionando una mayor cantidad de estrógenos circulantes que, como han demostrado LABRIE, BERGEAT, DROUIN, BEAULIF, LAGACÉ, FERLAND y RAIMOND (1979) y LABRIE, BEAULIEU, FERLAND, RAYMOND, DIPALO, CARON, VEILLEUX, DENIZEAU, EUVRARD, RAYNAUD y BOSSIER (1979), pueden ejercer un intenso efecto antidopaminérgico que facilita y estimula la secreción de PRL. Este efecto se realizaría a nivel hipofisario, manteniéndose íntegro el mecanismo de regulación

hipotalámico, lo que explicaría el mantenimiento del perfil día-noche, incluso a niveles más elevados, pues sensibilizaría el mecanismo estimulador inducido por el sueño, al igual que potencia el efecto estimulante del TRH. Por el momento esta hipótesis no puede ser negada solo en base a las determinaciones de estrógenos circulantes, fundamentalmente E17-beta y estrona, pues la poca experiencia existente no permite obtener conclusiones definitivas, aunque se apuntan datos a favor de una mayor secreción urinaria de ambas hormonas en pacientes premenopáusicas (COLE, CRAMER, YEN, PAFFENBARGER, McMAHON y BROWN 1978) a pesar de que la cuantificación en orina no refleja la realidad de las concentraciones plasmáticas (LONGSCOPE y PRATT 1978). Por otra parte, la capacidad de metabolizar estos estrógenos por el tejido tumoral, en un mecanismo que lleva implícita su sulfatación (ADAMS y CHANDRA 1977), puede condicionar un mayor efecto estrogénico dado que estas formas metabólicas facilitan la captación por la célula diana y aumentan el tiempo de persistencia en plasma respecto a las formas de estrógenos libres (BROOKS 1976). Se hace, pues, necesario la comprobación de esta hipótesis en un riguroso estudio que comprenda, además de las concentraciones nocturnas y diurnas de ambas hormonas en el pre y postoperatorio, un estrecho control del aclaramiento hormonal y unión a proteínas transportadoras.

c) Dado que el tumor de mama en premenopáusicas se ha asociado a un ovario endocrinológicamente activo, aunque al parecer sujeto a un cierto grado de disfunción (LEIS y RACITI 1976), puede proponerse que el tumor de mama induce sobre el ovario un mecanismo de mayor secreción esteroidea que eleva los niveles de PRL al mismo tiempo que estos mantienen el mecanismo de disfunción. Aunque no se han comunicado datos al respecto en carcinoma de mama, STEPANAS, SAMAN, SCHULTZ y HOLOYE (1978) han comunicado en carcinoma testicular la directa correlación entre la síntesis ectópica de BetaHCG y el aumento de los niveles de PRL, estrona y estradiol por lo que puede proponerse como hipótesis de trabajo, y con las lógicas diferencias de sexo, que la síntesis ectópica de BetaHCG, descrita en un importante número de tumores mamarios (VAITUKAITIS, ROSS, BRAUNSTEIN y

RAYFORD 1976; WAALKES, GEHRKE, TORMEY, WOO, KUO, SNYDER y HANSEN 1978), podría ejercer el efecto estimulador de la secreción de estrógenos ováricos iniciando el círculo de eventos fisiopatológicos. De hecho la HCG es capaz de estimular la producción hormonal ovárica en postmenopáusicas (GREENBLATT, COLLE y MAHESH 1976). Esta hipótesis tampoco puede ser negada en base a los datos procedentes de la cuantificación de gonadotropinas en carcinoma mamario, sobre las que todavía no se han podido obtener conclusiones definitivas. Como indica FOTHERBY (1974) la cuantificación de gonadotropinas urinarias con los métodos de bioensayo utilizados aportan conclusiones muy inciertas derivadas o de la no representatividad de los resultados o de dificultades de interpretación por metodología inadecuada, y los pocos estudios realizados con RIA, revisados por ZUMOFF (1978), aportan evidencia de una normalidad tanto para la FSH como la LH, aunque este autor indica en un estudio integrado de 24 horas que los niveles permanecen normales en postmenopáusicas y disminuidos en premenopáusicas. En realidad, y en base a los conocimientos actuales de las relaciones PRL-gonadotropinas-estrógenos, puede aceptarse la validez de cualquier modificación en sus niveles, que estarían condicionados por las modificaciones de estrógenos y PRL o al momento, en el tiempo, de la realización del estudio. De hecho, los estrógenos pueden elevar primero y después disminuir los niveles de LH de acuerdo con un mecanismo dual de retroalimentación en el que también se encontraría implicada la PRL. La acción de ambas hormonas a nivel de los terminales catecolaminérgicos hipotalámicos podría en un período inicial disminuir los niveles de gonadotropinas (QUIGLEY, JUDD, GILLILAND y YEN 1979), pero la persistencia del estímulo induciría una lenta desensibilización de los mismos que condicionaría la elevación tardía o la puesta en marcha de otras vías accesorias de regulación, como lo es la vía serotoninérgica (WUTTKE, HOHN, HONMA, HILGENDORF y LAMBERTS 1979). Aunque ésta factible estimulación es aún muy hipotética, la posibilidad que propongo podría aportar alguna coherencia al mecanismo de producción de los ciclos anovulatorios, frecuentemente observados en mujeres premenopáusicas con cáncer de mama, por

otra parte altamente complejo y que comprendería una alteración de la secreción de PRL inducida por estrógenos y una alteración de la secreción y relación LH/FSH a nivel hipotalámico dependiente de la acción del servomecanismo corto. Se trata, pues, de una nueva hipótesis a investigar.

Para las postmenopáusicas el mecanismo alterativo surgiría a nivel de la interacción con las glándulas suprarrenales, como clásicamente se ha admitido, en un mecanismo que implicaría una alteración hipotalámica, posiblemente relacionada con la síntesis cerebral de esteroides, que originaría una disrupción del mecanismo de regulación de PRL manifestado por la pérdida del perfil día-noche, junto a la posible preponderancia de la síntesis extraovárica de estrógenos; el ovario en esta ocasión, y de acuerdo con resultados ampliamente aceptados (CHEMAMA, JAYLE y ENNUYER 1974), jugaría un papel prácticamente nulo en el aporte de estrógenos circulantes, aunque si contribuiría junto a las suprarrenales en la producción de andrógenos, fuente para la conversión periférica de estrógenos. Al igual que en las premenopáusicas el propio tumor condicionaría una fuente, quizás primordial, de estrógenos, libres o sulfatados, pero al contrario que en aquellas inducirían, aunque sus niveles no fueran muy elevados, una inhibición del mecanismo implicado en la estimulación de la secreción nocturna de acuerdo con los recientes trabajos de VEKEMANS y ROBYN (1975) y TARQUINI, GHERI, ANICHINI, NERI y BURICCHI (1977) en humanos, y los de KATO, VELASCO y ROTHCHILD (1978)^a y FREEMAN y STERMAN (1978) en la rata. Pero dado que el efecto inhibitorio ejercido por los estrógenos parece operativo a nivel hipotalámico puede proponerse como futuras hipótesis de trabajo que:

a) Junto a la mayor síntesis extraovárica se incrementara la síntesis intracerebral de estrógenos, ya que la aromatización hipotalámica de andrógenos parece mayor en animales hembras castradas (NAFTOLIN, RYAN, DAVIES, REDDY, FLORES, PETRO, KUHN, WHITE, TAKOOKA y WOLIN 1975), lo que condicionaría a este nivel una concentración lo suficientemente más activa que la circulante para inhibir el

mecanismo de secreción cíclica. Este mecanismo incluso podría explicar la pérdida del ritmo nocturno en algunos de los controles estudiados, máxime si se tiene en cuenta que la tendencia a la obesidad, asociada a la postmenopáusia, se acompaña de un incremento en la producción de androstenediona, el principal andrógeno metabolizable a estrógenos a nivel cerebral. Puesto que obesidad y cáncer de mama son hechos frecuentes en la postmenopáusia (HEMS 1970) podría ser factible que la presencia de una alteración en el metabolismo hormonal local en ciertas áreas cerebrales jugara un importante papel etiológico o se viera implicado en el mantenimiento y progresión tumoral.

b) Los estrógenos sintetizados a nivel cerebral o periférico y/o tumoral podrían incrementar el mecanismo secretor hipofisario de PRL, activando el sistema inhibidor inducido por PRL a través del servomecanismo corto que ocasionalmente podría verse activado por la síntesis de PRL ectópica. Estos estrógenos podrían actuar directamente o previa metabolización a catecol-estrógenos (FISHMAN 1976), que son también producidos a nivel tumoral (HOFFMAN, SASTRY y AXELROD 1979), y que tienen la doble capacidad de interaccionar con los receptores adrenérgicos o estrogénicos reproduciendo el efecto de ambos (YEN 1979); por ello podría postularse un doble mecanismo de acción, a nivel hipofisario estimulando directamente la secreción de PRL o a nivel hipotalámico modulando el sistema catecolaminérgico regulador de la secreción de PRL. De acuerdo con los resultados de esta tesis el mecanismo de acción hipofisario pudiera ser preponderante en premenopáusicas, mientras que el hipotalámico lo sería en postmenopáusicas y, especialmente, en situaciones de tendencia a la hormono independencia como es el estadio evolutivo metastásico; esta diferencia de acción podría derivarse de un fallo de la homeostásis hipotálamo-hipofisaria, posiblemente relacionado con la alteración de los umbrales de sensibilidad de los sistemas de servomecanismo modificados por la edad, como ya sugirió MEITES (1977) y como ha descrito con una cierta precisión DILMAN (1974); este mecanismo podría además explicar la tendencia a la elevación nocturna de PRL observada tras la extirpación del tumor y

que estaría de acuerdo con los datos epidemiológicos que sugieren una mayor secreción de PRL en poblaciones de alto riesgo (HENDERSON, GERKINS, ROSARIO, CASAGRANDE y PIKE 1975; KWA, CLETON, De JONG-BAKKER, BULBROOK, HAYWARD y WANG 1976; HILL, WINDER, KUMAR, HELMAN, RONA y KUNO 1976).

c) Otras vías de regulación como la serotoninérgica también podrían verse implicadas en las modificaciones comentadas. Recientemente FELDMAN (1979) ha indicado una mayor concentración y metabolización de serotonina transportada por las plaquetas en mujeres con carcinoma metastásico. Podría ser posible que un mayor efecto serotoninérgico estimulara la secreción de PRL en premenopáusicas, mientras que en postmenopáusicas este estímulo inicial fuera el responsable, junto a los otros sistemas comentados, de la activación permanente del sistema corto de inhibición inducido por PRL.

Parece, pues, que la PRL puede jugar lo mismo que en el animal de experimentación, algún papel, quizás de suma importancia, en la aparición y evolución del carcinoma de mama humano. Al menos las modificaciones de los valores plasmáticos obtenidos en esta tesis permiten plantear una nueva área de investigación que, reuniendo la interacción de ovario e hipófisis, permite un nuevo enfoque a la endocrinología del tumor mamario, quizás con unas posibles implicaciones clínicas como las ya apuntadas por SHITHLINE, SHERMAN y KOLODNY (1975) en base a los datos disponibles entonces y que como he comentado no permitían un abordaje real del problema a consecuencia de las discrepancias de los resultados comunicados. De acuerdo con mis resultados es lícito replantear estas posibles implicaciones pero creo que ahora con una mayor base experimental:

1) ¿Es PRL un factor de riesgo? El haberse descrito concentraciones elevadas de PRL en hijas de mujeres con carcinoma apunta la posibilidad de que la hormona que nos ocupa puede ser un factor de alto riesgo que permite identificar mejor estas poblaciones. El hecho observado en este trabajo de una tendencia hacia la presencia de concentraciones postoperatorias más elevadas tanto en pre como

en postmenopáusicas, pero especialmente en estas últimas, creo que permite el planteamiento de un adecuado estadio epidemiológico que aclare definitivamente el problema, aunque ello no implique directamente un efecto oncogénico pues los niveles absolutos de hormona circulante en un momento dado no son representativos de lo que haya podido ocurrir en el epitelio mamario algunos años antes, en una edad muy anterior a la del establecimiento de la neoplasia mamaria.

Sin embargo, modificaciones ambientales en los niveles de PRL, como las inducidas por ritmos estacionales, el reconocido efecto de la obesidad, quizás mediado también por una mayor síntesis de estrógenos, y/o una alteración de las variaciones nictamerales normales pueden alterar el medio ambiente endocrino a nivel mamario incrementando la posibilidad de desarrollo neoplásico, especialmente si junto a estos niveles más elevados se asocia la acción de algún otro carcinógeno conocido.

2) ¿Podría prevenirse el desarrollo tumoral en estas poblaciones de alto riesgo? No cabe duda de la importancia que tendría la identificación de esta población, pues los resultados obtenidos con las drogas inhibitoras de PRL en la prevención del crecimiento de los N.A.H., y la buena tolerancia del tratamiento crónico unido a la posible evidencia de nódulos hiperplásicos en el tejido mamario humano, abre la posibilidad de prevenir el desarrollo de la neoplasia humana mediante maniobras endocrinas que suprimen la evolución de la lesión precancerosa. Sin embargo, no está aún totalmente establecido si estos nódulos humanos son, como en el ratón, lesiones precancerosas o si son hormonodependientes, pero no cabe duda de que muestran algunas características que apuntan hacia una importancia real. Se observarán raramente en mujeres jóvenes, persisten después de la menopausia, se encuentran más frecuentemente en mujeres afectas de un cáncer o en la mama contralateral donde el tumor puede reaparecer y, por último, pueden ser clasificados en base al grado de atípia en un ordenamiento arbitrario que puede considerarlos como carcinomas "in situ". Por otra parte, dado que la

respuesta a la terapéutica hormonal se pierde frecuentemente una vez que el carcinoma se ha desarrollado y diagnosticado (por un posible mecanismo de hormono-selección), y dado que las remisiones terapéuticas son temporales, no cabe duda que la supresión de las lesiones atípicas precancerosas mediante la privación de sus requerimientos hormonales endógenos, puede ofrecer el mejor método de prevención del desarrollo de una neoplasia mamaria adulta.

3) ¿Puede el control farmacológico de los niveles de PRL aportar una acción terapéutica en el carcinoma de mama humana? Aunque los resultados publicados hasta ahora son conflictivos no puede asegurarse que la utilización de drogas depresoras de la secreción de PRL no puede jugar algún papel en el tratamiento del tumor que nos ocupa. Pero no es tampoco menos cierto que su utilización tenga que restringirse a casos seleccionados en los que realmente se demuestre que PRL influye en la evolución de ese tumor en particular, y este aspecto no creo que pueda ser aclarado mediante la simple valoración de las concentraciones plasmáticas. Además, si como he indicado la PRL pudiera ser secretada ectópicamente por el propio tumor o sus metástasis ¿qué valor tendría suprimir su secreción hipofisaria si se está produciendo un autoabastecimiento de hormona? No cabe duda que se trata de un interesante aspecto a investigar que podría presuponer nuevos enfoques terapéuticos especialmente encaminados no solo a deprimir esta neosíntesis, sino a evitar su posible acción en la célula diana.

4) ¿Tiene valor la determinación de receptores de PRL en tumor? Aunque este aspecto no ha sido tratado en esta tesis, la base existente en modelos experimentales, y la aún escasa en humanos, no creo que permita afirmar, al menos por el momento, que la cuantificación del rPRL sea una prueba predictiva de respuesta a una terapéutica hormonal. Lo que sí es cierto es que PRL interacciona con las demás hormonas que pueden influir el desarrollo neoplásico a un nivel que presupone un efecto de postactivación de receptor, y que parece posible se puede actuar a nivel citoplásmico, sin el concurso previo de su receptor de membrana, lo que hace aún más

interesante el hecho de que pueda sintetizarse ectópicamente. ¿Qué influencia podría tener esta PRL ectópica en la activación del receptor de membrana, en la posible activación de un lugar de unión citoplásmico y/o nuclear, o en la cooperación a través de prostaglandinas, su segundo mensajero fisiológico, en la activación o inhibición del receptor de estrógenos? No cabe duda de que se trata de unas apasionantes posibilidades sobre las que aún no se conoce prácticamente nada pero que podrían abrir un nuevo camino para la mejor comprensión de lo que ocurre a nivel celular en el carcinoma de mama y, por supuesto, para una terapéutica más racional.

C A P I T U L O N O V E N O
=====

16. RESUMEN Y CONCLUSIONES

Tras realizar una exhaustiva revisión de la literatura publicada sobre el estado actual de la prolactina, y especialmente sobre las pruebas existentes de su influencia en el carcinoma de mama experimental y humano, se llega a la suposición de que la teórica normalidad en las determinaciones plasmáticas de esta hormona hipofisaria pueden ser la consecuencia de una inadecuada valoración de los mecanismos que en condiciones fisiológicas regulan su secreción a lo largo de las distintas fases de la vida sexual de la mujer, mecanismos, por otra parte, complejos y aún insuficientemente conocidos. Pero junto a esta normalidad de los niveles de PRL en el carcinoma mamario humano se objetivan algunas modificaciones que introducen una clara controversia en el momento de intentar obtener pruebas a favor o en contra de su posible implicación oncogénica, aspecto que contrasta claramente con los modelos de tumores experimentales en los que la PRL parece jugar un papel primordial.

Basado en estos dos hechos fundamentales, y utilizando distintos criterios de selección y ordenamiento relacionados con la teórica influencia que ejerce la función ovárica en la secreción de PRL, he pretendido responder a una pregunta que, aunque parezca simple, es probablemente el punto de partida para profundizar en este campo de la endocrinología aplicada a oncología: ¿Existe en realidad alguna modificación en los niveles de PRL que permitan implicarla en la evolución del carcinoma mamario humano?

La respuesta a esta pregunta es el resultado de este trabajo cuyas conclusiones paso, seguidamente, a resumir.

PROLACTINA BASAL SERIE CONTROL

1.- La concentración media de las mujeres con actividad menstrual es mayor que la de aquellas que no la presentan, del mismo modo que las postmenopáusicas muestran una cifra media menor que las fértiles

Y climatéricas, grupo, este último, heterogéneo y más parecido al primero que al segundo aunque es probable que el valor medio de PRL depende del número de mujeres del muestreo que se encuentran más o menos lejos en el tiempo de la fecha de la menopausia fisiológica.

Por ello creo que no pueden obtenerse conclusiones definitivas en el grupo afecto de mastopatía fibroquistica, cuya edad media ha correspondido al de las mujeres en período climatérico. Sin embargo, y a pesar de que sus valores medios no difieren de los de la población control y tumoral, es necesario delimitar mejor los niveles de PRLh a lo largo del día y de la noche en una serie más amplia y mejor caracterizada dado que algunas mujeres de las estudiadas ofrecen cifras medias claramente elevadas, lo que podría estar de acuerdo con algunos datos de la literatura.

2.- No existen diferencias entre la concentración media de la fase folicular y luteal, aunque tampoco puede negarse la existencia de una tendencia a las concentraciones medias mayores en la segunda parte del ciclo menstrual. Sigue siendo, por tanto, un aspecto que requiere una mayor investigación, basada en ordenamientos con atributos más específicos (grado de estrogenización de cada mujer) que los fundamentados en el día teórico del ciclo respecto al día "0" de la ovulación.

3.- Este modelo de ordenamiento puede quedar fundamentado en el hallazgo de esta tesis respecto a los valores de PRLh en función del tipo de frotis vaginal pues, de acuerdo con el probable efecto de los estrógenos sobre la secreción de prolactina, los valores medios de hormona circulante descienden progresiva y significativamente desde el ru o con frotis estroénico hasta el ru o con frotis atrófico representado un modelo de ordenamiento en el que se observan las menores dispersiones de la media, lo que sugiere una mayor exactitud respecto a aquellos otros basados en atributos dependientes de la edad de la mujer estudiada.

4.- No existe una clara correlación entre los niveles basales de PRLh y HCh, aunque el conjunto de la serie global ofrezca una correlación significativa que posiblemente refleje tan solo la normalidad de los valores basales estudiados. Este patrón se mantiene también en el estudio de la serie tumoral, tanto a nivel de concentraciones basales como nocturnas, lo que permite suponer que no existe un mecanismo interrelacionado en el control de secreción.

5.- La concentración basal de PRLh se mantiene estable en la misma mujer cuando esta se estudia en varios días sucesivos y dentro de la misma fase del ciclo menstrual, con coeficientes de variación que oscilan entre un 0.52 y 1%. Ello permite proponer la validez de la determinación basal como índice inicial de las modificaciones secretoras de PRLh.

PROLACTINA BASAL Y CARCINOMA DE MAMA

1.- De acuerdo con la interpretación crítica de la literatura consultada puede proponerse que la normalidad de la concentración basal media de PRLh, casi sistemáticamente aceptada, podría ser el resultado de defectos de planteamiento, diseño experimental, y selección de los grupos de estudio que no representan en muchos casos una verdadera población con tumor activo, ignoran el estado endocrino de la paciente o utilizan criterios de normalidad no estandarizados, que no permiten la comparación respecto a un grupo control. Por otra parte, se intuyen desviaciones a la normalidad que no parecen ser debidas a estos defectos de selección o planteamiento.

2.- En base a los distintos ordenamientos realizados en esta tesis puede concluirse que dentro de la serie tumoral el grupo con función menstrual activa presenta una cifra media mayor que el grupo sin función menstrual; al igual que las fértiles respecto a las postmenopáusicas. Las climatéricas muestran un valor intermedio más parecido al de las primeras que al de las segundas. Por otra parte, el grupo considerado en fase folicular presentan una cifra media inferior que el considerado en fase luteal, y respecto al frotis vaginal el grupo

con frotis estrogénico muestra una cifra media claramente superior que los grupos hipuestrogénico, intermedio y atrófico de la postmenopáusia.

3.- Comparados respecto a sus controles ya se aprecia para la serie global una concentración media superior en la serie tumoral, aunque individualmente no todas las pacientes con neoplasia mamaria presentan cifras superiores al rango de normalidad. Para cada uno de los grupos estudiados destaca la constancia de la elevación media en la serie tumoral, aunque no presentan significación estadística el grupo en fase folicular, climatérico y los de los frotis hipuestrogénico e intermedio; por otra parte, es de destacar que la concentración media del grupo con frotis atrófico de la postmenopausia ofrezca un valor semejante al hipuestrogénico, lo que sugiere un mayor efecto estrogénico en las pacientes postmenopáusicas con cáncer que en los controles.

4.- El ordenamiento respecto al estadio tumoral (correspondiendo anatomopatológicamente un 85% de formas escirro y origen ductal, 3% mucosecretorios, 3% medulares, 3% carcinomas sólidos, 1% mixtos y 5% Paget) no ofrecen diferencias significativas entre los distintos grupos considerados que permitan afirmar una relación directa entre el grado evolutivo del tumor y la concentración basal de PRLh, a pesar de la concentración media mayor en el estadio metastásico. Sin embargo, las grandes dispersiones de cada grupo permiten suponer que se trata de series heteróneas en las que los valores medios estudiados dependen de algún otro factor y no exclusivamente del grado evolutivo del tumor.

5.- Los resultados de la cuantificación postoperatorio de PRLh pueden considerarse originales pues no existe ningún trabajo en la literatura consultada diseñado específicamente para tal fin. De acuerdo con los resultados de esta tesis puede concluirse con la afirmación de que las cifras medias basales de hormona circulante descienden claramente respecto a los niveles preoperatorios, haciéndose prácticamente semejantes a los de los grupos control. Esta normalización

postoperatoria es más evidente en los grupos de ordenamiento mejor caracterizados (grupo con ciclo menstrual y/o fértiles y postmenopáusicas, y grupos con frotis estrogénico y atrófico) y mayor en aquellos que se asocian a un ovario funcionante, presentando las postmenopáusicas una diferencia menos acusada.

Esta modificación evolutiva a lo largo del estudio secuencial ha permitido comprobar que la normalización postoperatoria es estable hasta la reaparición del cuadro metastásico momento en que se aprecia un reascenso de la concentración basal media con cifras similares para pre y postmenopáusicas sugestivas de un incremento proporcionalmente mayor para estas últimas. Ello permite plantear una posible relación de dependencia entre la cifra plasmática de PRLh y el tumor mamario quién podría condicionar esta elevación de una manera específica para cada enferma y a niveles dependientes de características biológicas de cada tumor, pues no parece que exista una elevación por mecanismos inespecíficos (stress) o dependiente de la influencia modificadora de los pulsos de secreción de PRLh.

El porcentaje de pacientes que sobrepasan el límite medio normal se ha calculado en un 60% para las premenopáusicas y un 40% para las postmenopáusicas, descendiendo tras la extirpación del tumor primitivo a un 6% en las primeras y un 19,8 en las segundas quienes presentan algunos valores individuales que tienden al discreto aumento respecto al valor medio de su serie, y que son los responsables del menor descenso medio postoperatorio.

Aceptando, en definitiva, la estabilidad de la concentración basal media de PRLh, y teniendo en cuenta que esta puede variar entre la mitad y el doble de la obtenida en una determinación única en muestras control, puede proponerse que la hormona que nos ocupa podría comportarse como un marcador evolutivo del carcinoma de mama humano.

RITMO NICTAMERAL DE PROLACTINA. SERIE CONTROL

1.- Aceptando la representatividad de los valores obtenidos en las horas nocturnas de extracción planteadas en esta tesis (01 y 05 horas),

fundamentadas en los datos bien comprobados de la literatura, y bajo un rígido protocolo de control que quizás pueda permitir obviar el registro electroencefalográfico de la profundidad del sueño en un modelo de estudio simplificado del perfil día-noche de secreción, puede concluirse que los datos obtenidos en esta tesis confirman la presencia de un ritmo nictameral para la PRLh.

2.- Al igual que en la serie basal existe una tendencia a las concentraciones nocturnas más bajas en aquellos grupos de ordenamiento caracterizados por una pérdida de la función ovárica (postmenopáusicas) respecto a aquellos que la presentan.

3.- No existen diferencias entre los niveles nocturnos de las fases folicular y luteal del ciclo menstrual. Sin embargo, al igual que ocurre en la serie basal, este resultado no debe de considerarse como definitivo, pues de acuerdo con los hallazgos de esta tesis deberá de ser nuevamente estudiado con un criterio de protocolización basado en el estado individual de estrogenización.

4.- De acuerdo con los resultados del ordenamiento respecto al froti vaginal puede concluirse que los estrógenos también modulan, con un efecto positivo, el control de los picos de secreción nocturna.

RITMO NICTAMERAL DE PROLACTINA. SERIE TUMORAL

1.- Al igual que la serie control, la serie tumoral mamaria present unas claras elevaciones a las 01 y 05 horas de la noche, pero con desviaciones en el modelo de significación estadística respecto al valor basal en algunos de los grupos de ordenamiento sugestivos del aplanamiento y/o pérdida del perfil típico día-noche.

2.- En general, dentro de la serie tumoral se aprecia una clara tendencia a las concentraciones nocturnas más elevadas en aquellos grupos que presentan función ovárica, y dentro de estos en aquellos que teóricamente se encuentran en una atmósfera con mayores niveles de estrógenos. Así el grupo fértil muestra cifras más elevadas que el

postmenopáusico, el de la fase luteal mayores que el de la fase folicular, y el grupo con frotis estrogénico ofrece cifras nocturnas mayores que el atrófico de la postmenopáusia.

3.- El grupo tumoral metastásico presenta cifras nocturnas claramente mayores que los grupos de los estadios precoces, pero con amplias dispersiones de la media que sugieren una gran heterogeneidad en los valores individuales, al igual que ocurría con los resultados de la serie basal. Si junto a este hallazgo se tiene en cuenta que la comparación de los valores nocturnos en cada grupo de ordenamiento respecto a sus controles ofrece una disociación del perfil día-noche, con claros incrementos de la serie tumoral en los períodos con función ovárica y tendencia al aplanamiento en el período postmenopáusico, con persistencia de las grandes desviaciones medias, puede proponerse que ninguno de los dos atributos (estadio sexual y estadio tumoral) utilizados por separado ofrecen un modelo de ordenamiento que exprese claramente las diferencias en el ritmo nictameral en la serie tumoral, lo que podría conducir a una falsa conclusión de normalidad. Esta afirmación se hace también evidente cuando se utiliza para la comparación de las dos series (control y tumoral) un valor único basado en la correlación existente entre la concentración basal y el pico nocturno (factor de multiplicación de la basal y/o índice de caída nocturno), aunque mejora, y aproxima al límite de la significación estadística, las diferencias del número de pacientes que teóricamente presentan ritmos normales o patológicos dentro de cada uno de los grupos básicos de ordenamiento.

4.- Parece, pues, que la utilización de un solo criterio de ordenamiento no es útil en los estudios de endocrinología oncológica o, al menos, en lo que a PRLh respecta. Cuando a la situación de fertilidad, resumida en pre y postmenopáusicas (aunque supone una pérdida de potencia y un aumento de la heterogeneidad del muestreo por incluir el complejo grupo de climatéricas repartidas entre ambos), se une el estudio de las concentraciones hormonales en los distintos estadios evolutivos del tumor (ordenamiento bifactorial) se obtiene:

- a) una confirmación de la validez del modelo al incluir el grado mínimo de dispersiones de todo el estudio.
- b) un distinto comportamiento de pre y postmenopáusicas: las primeras incrementan paulatinamente la concentración basal y el pico nocturno según progresa el estadio tumoral, con diferencias claramente significativas para los estadios avanzados respecto a su serie control, mientras que las postmenopáusicas muestran una evidente tendencia a la pérdida de los picos nocturnos claramente manifestado en el estadio IV en el que la concentración basal y nocturna prácticamente se igualan.

5.- El estudio del ritmo postoperatorio revela una tendencia a la normalización de las concentraciones basales y aumentos nocturnos en las premenopáusicas, y al mantenimiento discretamente por encima del rango de normalidad basal y claro incremento nocturno en las postmenopáusicas, lo que sugiere la posibilidad de que las mujeres con alto riesgo de padecer carcinoma mamario tienden a secretar más PRLh frente a estímulos fisiológicos que los controles. Por otra parte, estas modificaciones de la secreción día-noche pueden encontrarse relacionadas con la presencia de una masa tumoral activa, pues la reproductibilidad del pico nocturno máximo parece bastante estable cuando se controla a las mismas mujeres en días sucesivos y en la misma fase del ciclo.

HORMONA DE CRECIMIENTO BASAL. SERIE CONTROL

1.- Aunque manteniéndose dentro del rango de normalidad la concentración basal media de HCh es mayor en el grupo de mujeres con función ovárica en comparación con aquellas que teóricamente no la presentan, no existiendo ninguna diferencia respecto a las distintas fases del ciclo menstrual.

2.- El grupo estudiado con frotis estrogénico muestra una concentración media superior que el considerado con frotis atrófico lo que

sugiere una prueba a favor de un efecto coadyuvante positivo de los estrógenos sobre la secreción de HCh.

HORMONA DE CRECIMIENTO BASAL. SERIE TUMORAL

1.- No existe ninguna diferencia entre las concentraciones medias de los distintos grupos de ordenamiento de la serie tumoral frente a sus respectivos controles, ni entre los valores de los estadios de evolución tumoral considerados en esta tesis.

2.- La comparación de los valores postoperatorios de HCh respecto a los preoperatorios y controles no ofrecen ningún tipo de diferencias significativas. Por otra parte, en el modelo de estudio secuencial tampoco se observa ningún tipo de modificación, apreciándose tan solo algunas elevaciones inconstantes e individuales, y siempre dentro del rango de la serie control.

HORMONA DE CRECIMIENTO. RITMO NICTAMERAL CONTROL

1.- La hormona de crecimiento muestra un incremento nocturno mucho más acusado a las 01 horas que a las 05 horas, lo que puede estar de acuerdo con el hecho de que una vez secretada en el primer período de sueño profundo no vuelve a mostrar claras elevaciones durante los períodos posteriores de recurrencia del sueño. Sin embargo, el patrón de secreción nocturna que he apreciado es mucho más inconstante y variable que el de PRLh.

2.- No existen diferencias del perfil medio para ninguno de los ordenamientos estudiados, si bien las postmenopáusicas muestran una tendencia al aplanamiento del pico nocturno que, por otra parte, y de acuerdo con los datos de la literatura, parece ser un fenómeno relativamente frecuente en este período de la vida.

HORMONA DE CRECIMIENTO. RITMO NICTAMERAL. SERIE TUMORAL

1.- Tampoco existen diferencias entre los distintos valores nocturnos entre la serie tumoral y control, si bien la primera presenta algunas variaciones individuales que ni siquiera permiten sugerir la presencia de un patrón alterativo relacionado con alguno de los ordenamientos realizados.

2.- La utilización del máximo pico nocturno de HCh, el contrario de lo que ocurre con la PRLh, no corrige las dispersiones de los valores medios, aunque permite apreciar una tendencia al aplanamiento del perfil día-noche durante el período metastásico que podría ser no dependiente de la situación de pre o postmenopausia. Sin embargo, la validez de este hallazgo hay que considerarlo con reservas, derivadas de la reproductibilidad relativa de los picos de secreción nocturna de HCh.

3.- Por último, y en lo que a la HCh respecta, puede concluirse que la casi absoluta normalidad de sus valores aporta una posible prueba indirecta de la especificidad relacionada con el tumor en las modificaciones apreciadas para PRLh.

ANTIGENO CARCINOEMBRIONARIO

1.- No existen diferencias entre la concentración media de hombre y mujeres en la serie control.

2.- La cuantificación de ACE en la serie de tumores digestivos en distintos estudios evolutivos, realizada con el único fin de estudiar la reproductibilidad del método de RIA utilizado, confirma otros hallazgos de la literatura:

- a) La cifra preoperatoria es muy variable, y dependiente del estadio tumoral, por lo que puede afirmarse que en el preoperatorio la cuantificación de ACE solo es válida para la sospecha de la posible presencia de tumores avanzados o metastásicos, sin que su negatividad excluya la existencia de una masa tumoral activa.

- b) Para aquellos tumores con cifras preoperatorias elevadas la determinación postoperatoria puede ser indicativa de una incompleta exéresis del tumor, pues la extirpación radical normaliza la cifra de A.C.E. circulante.

3.- La comparación de los valores de ACE cuantificados en la misma muestra tras extracción proteica y sin ella me ha permitido comprobar una diferencia entre las muestras procedentes de la población control y de la tumoral. Mientras que las primeras ofrecen valores similares, las segundas presentan valores superiores cuando se cuantifican sin extracción. De acuerdo con datos recientes de la literatura ello puede ser debido a una pérdida de ACE o alguno de sus isoantígenos, alteración estructural en el proceso de preextracción o a la cuantificación de antígenos de reacción cruzada, aspectos ambos que tendrán que ser mejor aclarados en la técnica de determinación que he empleado. Independientemente de la causa que la produce, habrá que investigar mejor la posibilidad de que esta modificación técnica puede ofrecer una prueba diferencial para aquellas muestras que se encuentran en el límite de normalidad, pues las tumorales se positivizan mientras que las normales no varían.

4.- Los distintos valores plasmáticos de ACE no parece que dependan del grado de función hepática, al menos cuando esta es normal y valorada mediante determinaciones enzimáticas rutinarias.

5.- Al igual que en los tumores digestivos, en el carcinoma de mama la cifra inicial parece muy relacionada con el estadio evolutivo del tumor, pues para tumores en estadios precoces se aprecia un alto porcentaje de cifras normales. Por otra parte, durante el período metastásico la cifra de ACE parece que guarda algún tipo de dependencia con la localización de las metástasis, pues los valores mayores se han obtenido en metástasis hepáticas y los menores, incluso límites, en las óseas, aspecto que discrepa de los datos publicados en la literatura.

6.- La correlación entre los valores de ACE y PRLh me ha permitido comprobar la independencia de ambos en los estadios iniciales de la evolución tumoral, apareciendo una clara correlación en el período metastásico, lo que podría corroborar la hipótesis previamente planteada de que la PRLh puede comportarse como un marcador evolutivo, ya que sus modificaciones son muy similares a las de aquél.

Por último, quiero destacar que los resultados y hallazgos obtenidos en esta tesis, proceden de un campo de la experimentación aplicada en el que existen grandes dudas respecto a los mecanismos normales que controlan las descargas circadianas, hasta el punto de que junto a los picos de secreción hormonal al parecer inducidos por el sueño es posible que se exprese un verdadero patrón de secreción dependiente de los fotoperíodos, y ambos quizás relacionados con el medio ambiente a través de los ritmos circanales. Solo el tiempo, y la continuación de las investigaciones con métodos más perfeccionados, podrían aclarar estas nuevas dudas aportando un mejor conocimiento de los mecanismos implicados en la producción y evolución del carcinoma mamario y, por tanto, en su tratamiento.

10/10/10

CAPITULO
=====

DECIMO
=====

17. BIBLIOGRAFIA

- ADAMS J.B., (1977).- Steroid hormones and human breast Cancer. An hypothesis. *Cancer* 40: 325-333.
- ADAMS J.B., y CHANDRA D.P. (1977).- Dehydroepiandrosterone sulfotransferase as a shunt for the control of steroid metabolism in human mammary carcinoma. *Cancer Res.* 37: 278-284.
- ADIGA P.R., HUSSA R., ROBERTSON M., HOUL H., y WINNIC T. (1968).- Polysomes of bovine anterior pituitary gland and their role in hormone and protein biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.* 60:606-613.
- ADIGA P.R., HUSSA R., y WINNICK T. (1968).- Ribonucleo-protein particles of bovine anterior pituitary gland. *Biochemistry* 7:1808-1817.
- ADLER R.A., DOLPHIN S., SZEFLER M., y SOKOL H.W. (1979).- The effects of elevated circulating prolactin in rats with hereditary hypothalamic diabetes insipidus (Brattleboro strain). *Endocrinology* 105:1001-1006.
- ADVIS J.P., y OJEDA S.R. (1978).- Hiperprolactinemia-induced precocious puberty in the female rat: ovarian site of action. *Endocrinology* 103:924-935.
- AHREN K., FUXE K., HAMBERGER L., y HÖKFELT T. (1971).- Turnover changes in the tubero-infundibular dopamine neurons during the ovarian cycle of the rat. *Endocrinology* 88:1415-1424.
- ALOJ S.M., y EDELHOCH H. (1970).- Conformational similarity of ovine prolactin and bovine growth hormone. *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A.* 66:830-836.
- AMBROS B., TRAVAGLINI P., BECK-PECCOZ P., BARA R., ELLI R., PARACCHI D., y FAGLIA G., (1976).- Effect of sulpiride-induced hyperprolactinemia on serum testosterone response to HCG in normal men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 43:700-703.

- AMENOMORI Y., CHEN C.L., y MEITES J. (1970).- Serum prolactin levels in rats during different reproductive states. *Endocrinology* 86:506-510.
- AMENOMORI Y., MEITES J. (1970).- Effect of a hypothalamic extract on serum prolactin levels during the estrous cycle and lactation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 134:492-495.
- ANDEN N.E., BUTCHER S.G., CORRODI H., FUXE K., y UNGERSTEDT U. (1970).- Receptor activity and turnover of dopamine and noradrenaline after neuroleptics. *Eur. J. Pharmacol.* 11:303-314.
- ANTON-TAY F., PELHAM R.W., y WURTMAN R.J. (1969).- Increased turnover of H3-norepinephrine in rat brain following castration or treatment with ovine follicle stimulating hormone. *Endocrinology* 84:1489-1492.
- AONO T., SHIOJI T., MIYAI K., ONISHI T., y KURACHI K. (1977).- Effect of triiodothyronine treatment on prolactin secretion in patients with amenorrhea galactorrhea. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 44: 8-14.
- AONO T., SHIOJI T., y KURACHI K. (1977).- The initiation of human lactation and prolactin response to suckling. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 44:1101-1106.
- AONO T., YASUDA M., SHIOJI T., KONDO K., y KURACHI K. (1978).- Absence of inhibition by hiperprolactinemia on ovarian response to exogenous gonadotrophin. *Acta Endocrinológica* 89:142-148.
- AONO T., MIYAKE A., YASUDA T.S.M., KOIKE K., y KURACHI K. (1979).- Restoration of oestrogen positive feedback effect on LH release by bromocriptine in hyperprolactinaemic patients with galactorrhea-amenorrhoea. *Acta Endocrinológica* 91:591-600.

- APFELBAUM M.E., y TALEISNIK S. (1977).- Influence of oestrogen administration in vivo and in vitro on the release and synthesis of prolactin from incubated pituitaries. *Acta Endocrinológica* 86:714-721.

- APOSTOLAKIS M., KAPETANAKIS S., LAZOS G., y MADERA-PIRGAKI A. (1972).- Plasma prolactin activity in patients with galactorrhea after treatment with psychotropic drugs. In *lactogenic Hormones*. Ed. G.E.W. Wolstenholme y J. Knight p 345-354. Churchill Livingstone, Edimburgo y Londres.

- ARAGONA C., y FRIESEN H.G. (1975).- Specific prolactin binding sites in the prostate and testis of rats. *Endocrinology* 97:677-684.

- ARAGONA C., BOHNET H.G., y FRIESEN H.G. (1976).- Prolactin binding sites in the male rat liver following castration. *Endocrinology* 99:1017-1022.

- ARAI Y., y LEE T.H. (1967).- A double-antibody radioimmunoassay procedure for ovine pituitary prolactin. *Endocrinology* 81:1041-1046.

- ARAKELIAN M.C., y LIBERTUM C. (1977).- H1 and H2 histamine receptor participation in the brain control of prolactin secretion in lactating rats. *Endocrinology* 100:890-895.

- ARIMURA A., DUNN J.D., y SCHALLY A.V. (1972).- Effect of infusion of hypothalamic extracts on serum prolactin levels in rats treated with Nembutal, CNS depressants, or bearing hypothalamic lesions. *Endocrinology* 90:378-383.

- ARMSTRONG D. T., y KING E.R. (1971).- Uterine progesterone metabolism and progestational response: effects of estrogens and prolactin. *Endocrinology* 89:191-197.

- ARMSTRONG B., STEVENS N., y DOLL R. (1974).- Retrospective study of the association use of Rauwolfia derivatives and breast cancer in English women. *Lancet* 2:672-675.

- ASCHOFF J. (1979).- Circadian rhythms: General features and endocrinological aspects. En *Endocrine Rhythms*. Ed D.T. Krieger p 1-61. Raven Press. New York.
- ASPEGREN K. (1976).- Hormone effects on human mammary cancer in organ cultures. *Am. J. Surg.* 131:575-580.
- ASSELIN J., KELLY P.A., CARON M.G., y LABRIE F. (1977).- Control of hormone receptor levels and growth of 7,12 dimethylbenz(a)-anthracene-induced mammary tumors by estrogens, progesterone and prolactin. *Endocrinology* 101:666-671.
- ASTWOOD E.B. (1941).- The regulation of corpus luteum function by hypophysial luteotrophin. *Endocrinology* 29:309-319.
- ATTRAMADAL D., NAESS O., HAUG E., HANSSON V., y DURVIS K. (1977).- Androgen receptors in prolactin producing pituitary tumors in rats. *Acta Endocrinológica* 86:288-298.
- AUBERT M.L., GRUMBACH M.M., y KAPLAN S.L. (1975).- Ontogenesis of human fetal hormones III. Prolactin. *J. Clin. Invest.* 56:155-160.
- AUCLAIR C., KELLY P.A., COY D.H., SCHALLY A.V., y LABRIE F. (1977).- Potent inhibitory activity of (D-Leu 6, Des-Gly-NH₂ 10) LHRH ethylamide on Lh/hCG and PRL testicular receptor levels in the rat. *Endocrinology* 101:1890-1893.
- AUMÜLLER G., WAGNER R., y GRÄF K.J. (1978).- Fine structure of rat prolactin cells after treatment with a long acting depot contraceptive. *Acta Endocrinológica* 89:251-262.
- AYLSWORTH C.F., HODSON C.A., BERG G., KLEDZICK G., y MEITES J. (1979).- Role of adrenals and estrogen in regression of mammary tumors during postpartum lactation in the rat. *Cancer Res* 39:2436-2439.

- BADANI M., Van EXTER C., DELOGNE-DESNOECK J., Van MEENE F., y ROBYN C. (1978).- Cord Serum prolactin in relation to the time of the day, the sex of the neonate and the birth weight. Acta Endocrinológica 87:241-247.
- BANGHAM D.R., y BORTH R. (1972).- Assay of protein hormones related to human reproduction: problems of specificity of assay methods and reference standards. Report of a meeting. Acta Endocrinológica 71:625-637.
- BANJO C., SHUSTER J., y GOLD P. (1974).- Intermolecular heterogeneity of carcino-embryonic antigen. Cancer Res. 34:2114-2121.
- BAR R.S., MAZZAFERRI E.L., y MALARKEY W.B. (1975).- Primary empty sella; galactorrhea, hiperprolactinaemia and renal tubular acidosis Am. J. Med. 59:803-806.
- BARBARINO A., de MARINIS L., MENINI E., ANILE C., y MAIRA G. (1979).- Prolactin-Secreting Pituitary adenomas: prolactin dynamics before and after transsphenoidal surgery. Acta Endocrinológica 91:397-409.
- BARRACLOUGH C.A., y SAWYER C.H. (1959).- Induction of pseudopregnan in the rat by reserpine and chlorpromazine. Endocrinology 65:563-571.
- BARTKE A., SMITH M.S., MICHAEL S.D., PERON F.G., y DALTERIO S. (1977).- Effects of experimentally-induced chronic hyperprolactinemia on testosterone and gonadotropin levels in male rats and mice. Endocrinology 100:182-186.
- BARTKE A., GOLDMAN B.D., BEX F., y DALTERIO S. (1977).- Effects of prolactin (PRL) on pituitary and testicular function in mice with hereditary PRL deficiency. Endocrinology 101:1760-1766.

- BATES R.W., GARRISON M.M., y CORNFIELD J. (1963).- An improved bio-assay for prolactin using adult pigeons. *Endocrinology* 73:217-223.
- BAUER K., GRAF K.J., FAIVRE-BAUMAN A., BEIER S., TIXIER-VIDAL A., y KLEINHAUF M. (1978).- Inhibition of prolactin secretion by histidyl-prolinediketopiperazine. *Nature* 274:174-175.
- BAULIEU E.E., ALBERGA A., JUNG I., LEBEAU M.C., MERCIER-BODARD A., MILGROM E., RAYNAUD J.P., RAYNAUD-JAMMET C., ROCHEFORT H., TRUONG H., y ROBEL P. (1971).- Metabolism and protein binding of sex steroids in target organs: an approach to the mechanism of hormone action. *Recent Prog. Hormone Res.* 27:351-419.
- BAUMANN G., y LORIAUX D.L. (1976).- Failure of endogenous prolactin to alter renal salt and water excretion and adrenal function in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 43:643-649.
- BAUMANN G., MARYNICK S.P., WINTERS S.J., y LORIAUX D.L. (1977).- The effect of osmotic stimuli on prolactin secretion and renal water excretion in normal man and in chronic hyperprolactinemia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 44:199-202.
- BAYLIN S.B. (1975).- Ectopic production of hormones and other proteins by tumor *Hospital Practice*, Octubre: 117-126.
- BEATSON G.T. (1896).- On the treatment of inoperable cases of carcinoma of the mamma: suggestion for a new method of treatment, with illustratives cases. *Lancet* 2:104. Citado por FURTH (1973).
- BEEBY D.I., EASTY G.C., GAZET J.C., GRIGURK K., y NEVILLE A.M. (1975).- An assessment of the effects of hormones on short term organ cultures of human breast carcinomata. *Br. J. Cancer* 31:317-328.

- BECK U., BREZINOVA V., HUNTER W.M., y OSWALD I. (1975).- Plasma growth hormone and slow wave sleep increase after interruption of sleep. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 40:812-815.
- BECK W., y WUTTKE W. (1977).- Desensitization of LH inhibitory dopamine receptors by prolactin or by apomorphine. *Acta Endocrinológica Sup.* 208 Vol. 84:40-41.
- BECK W., ENGALBERT S., GELATO M., y WUTTKE W. (1977).- Antigonadotrophic effect of prolactin in adult castrated and in immature female rats. *Acta Endocrinológica* 84: 62-71.
- BECK W., HANCKE J.L., y WUTTKE W. (1978).- Annual rhythm of plasma LH, FSH, prolactin and testosterone in male Rhesus monkeys. *Acta Endocrinológica. Supl.* 215:93-94.
- BEHRMAN H.R., ORCZYK G.P., Mc DONALD G. J., y GREEP R.O. (1970).- Prolactin induction of enzymes controlling luteal cholesterol ester turnover. *Endocrinology* 87:1251-1256.
- BEHRMAN H.R., GRINWICH D.L., HICHENS M., y Mac DONALD G.J. (1978).- Effect of hypophysectomy, prolactin, and prostaglandin F2a on gonadotropin binding in vivo and in vitro in the corpus luteum. *Endocrinology* 103:349-357.
- BEN-DAVID M., DANON A., y SULMAN F.G. (1970).- Acute changes in blood and pituitary prolactin after a single injection of perphenazine. *Neuroendocrinology* 6:336-342.
- BEN-DAVID M., DANON A., y SULMAN F.G. (1971).- Evidence of antagonism between prolactin and gonadotrophin secretion. *J. Endocrinol.* 51:719
- BEN-DAVID M., RODBARD D., BATES R.W., BRIDSON W.E., y CHRAMBACH A. (1973).- Human prolactin in plasma, amniotic fluid and pituitary. Identity and characterization by criteria of electrophoresis and isoelectric focusing in polyacrylamide gel. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 36:951-964.

- BEN-DAVID M., y CHRAMBACH A. (1974).- Isolation of isohormones of human prolactin from amniotic fluid. *Endocrine Res. Commun.* 1:193-210.
- BEN-DAVID M., y CHRAMBACH A. (1977).- Preparation of bio and immunoactive human prolactin in milligram amounts from amniotic fluid in 60% yield. *Endocrinology* 101:250-261.
- BENSON G.K., y FOLLEY S.J. (1956).- Oxytocin as stimulator for the release of prolactin from the anterior pituitary. *Nature* 117:700. Citado por CLEMENS, J.A. y MEITES J., 1974.
- BENVENISTE R., HELMAN J.D., ORTH D.N., Mc KENNA T.J., NICHOLSON W.E., y RABINOWITZ D. (1979).- Circulating big human prolactin: conversion to small human prolactin by reduction of disulfide bonds. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 48:883-886.
- BEREMBLUM I. (1947).- Cocarcinogenesis. *Brit. Med. Bull.* 4:343.
- BERGH T., NILLIUS S.J., y WIDE L. (1977).- Hyperprolactinaemia in amenorrhoea.- Incidence and clinical significance. *Acta Endocrinológica* 86:683-694.
- BERGLAND R.M., y PAGE R.B. (1978).- Can the pituitary secrete directly to the brain? (Affirmative anatomical evidence). *Endocrinology* 102:1325-1338.
- BERLE P., y VOIGT K.D. (1972).- Evidence of plasma prolactin levels in patients with breast cancer. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 114:1101-1102.
- BERN H.A., y NICOLL C.S. (1968).- The comparative endocrinology of prolactin. *Recent. Progr. Hormone. Res.* 24:681-720.
- BERSON S.A., y YALOW R.S. (1976).- *Methods in Radioimmunoassay of Peptide Hormones.* Recopilado y Editado por R.S. Yalow. p 1-36. North Holland, Amsterdam.

- BERSMOTD-VALRABE I., HERLYN H., y JENTZEN K. (1965).- A modificatio
of the pigeon crop assay for determination of lactogenic hormone
(prolactin) in human serum Acta Endocrinológica. Sup. 100:169
- BESSER G.M., PARKE L., EDWARDS C.R.W., FORSYTH I.A., y Mc NEILLY
A.S. (1972).- Galactorrhea: Successful treatment with reduction
of plasma prolactin by bromergocryptine. Br. Med. J. 3:669-672.
- BESSER G.M., THORNER M.O., y WASS J.A.H. (1977).- Hyperprolactine-
mia-hypogonadism syndrome. Medical treatment. En Endocrinology.
Proc. V. Inter. Congress of Endocrinology. Hamburgo. Ed V.H.T.
James Vol.2 p 353-357. Excerpta Medica, Amsterdam y Oxford.
- BETHEA C.L., y NEILL J.D. (1979).- Prolactin secretion after
cervical stimulation of rats maintained in constant dark or
constant light. Endocrinology 104:870-876.
- BEWLEY T.A., y LI C.H. (1970).- Primary structures of human pituitary
growth hormone and sheep pituitary lactogenic hormone compared.
Science 168:1361-1362.
- BEWLEY T.A y LI C.H. (1971).- Sequence comparison of human pituitary
growth hormone, human chorionic somatomammotropin and ovine pituitary
lactogenic hormone. Experientia 27:1368-1371.
- BEX F.J., y BARTKE A. (1977).- Testicular LH binding in the hamster:
modification by photoperiod and prolactin. Endocrinology 100:1223-
1226.
- BIGOS S.T., RIDGWAY E.C., KOURIDES I.A., y MALDOFE(1978).- The
spectrum of pituitary alterations with mild and severe thyroid
impairment. J. Clin. Endocrinol. Metab. 96:317-325.
- BIRGE C.A., JACOBS L.S., HAMMER C.T., y DAUGHADAY W.H. (1970).-
Catecholamine inhibition of prolactin secretion by isolated rat
adenohypophyses. Endocrinology 86:120-130.

- BISWAS D.K., y TASHJIAN A.H. (1974).- Intracellular site of prolactin synthesis in rat pituitary cells in culture. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 60:241-248.
- BLAKE C.A., SCARAMUZZI R.J., NORMAN R.L., HILLIARD J., y SAWYER C.H. (1973).- Effects of hypothalamic deafferentation on circulating levels of LH, FSH, prolactin and testosterone in the male rat. *Endocrinology* 92:1419-1425.
- BLASK D.E., VAUGHAN M.K., REITER R.J., JONHSON L.Y., y VAUGHAN G.M. (1976).- Prolactin-releasing and release inhibiting factor activities in the bovine, rat, and human pineal gland: in vitro and in vivo studies. *Endocrinology* 99:152-162.
- BLASK D.E., y NODELMAN J.L. (1979).- Antigonadotrophic and prolactin-inhibitory effects of melatonin in anosmic male rats. *Neuroendocrinology* 29:206-412.
- BOGDEN A.E., TAYLOR D.J., KUO E.Y.H., MASON M.M., y SPEROPOULOS A. (1974).- The Effect of perphenazine-induced serum prolactin response on estrogen-primed mammary tumor-host systems, 13762 and R-35 mammary adenocarcinomas. *Cancer Res.* 34:3018-3025.
- BOHNET H.G., y FRIESEN H.G. (1976).- Control of prolactin secretion in man. En *Current Topics in Molecular Endocrinology* vol. 3: Hypothalamus and Endocrine Functions Ed. F. Labrie, J. Meytes, y G. Pelletier, p 257-281. Plenum Press. New York.
- BOHNET H.G., DAHLEN H.G., WUTTKE W., y SCHNEIDER H.P.G. (1976).- Hyperprolactinemic anovulatory syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 42:132-143.
- BOHNET H.G., GOMEZ F., y FRIESEN H.G. (1977).- Prolactin and estrogen binding sites in the mammary gland of the lactating and non-lactating rat. *Endocrinology* 101:1111-1121.

- BOHNET H.G., GOMEZ F., FRIESEN G. (1977)^a. - Regulation of prolactin and estrogen receptors in the rat mammary gland during lactation. *Acta Endocrinológica. Sup.* 208, vol. 84:41-42.
- BOHNET H.G., DEL POZO E., y GOMEZ F. (1978). - Control of mammary prolactin receptors in the female rat. *Acta Endocrinologica Sup.* 215, vol. 87:7-8.
- BOHNET H.G., GREIWE M., HANKER J.P., ARAGONA C., y SCHNEIDER H. P. (1978). - Effects of cimetidine on prolactin, LH, and sex steroid secretion in male and female volunteers. *Acta Endocrinologica* 88:428-434.
- BOHNET H.G., SHIU R.P.C., GRINWICH D., y FRIESEN H.G. (1978). - In vivo effects of antisera to prolactin receptors in female rats. *Endocrinology* 102:1657-1661.
- BOND G.C., PASLEY J.N., KOIKE T.I., y LLERENA L. (1977). - Inhibition of the renal response to intravenous prolactin by ADH. En *Comparative Endocrinology of Prolactin*. Eds H.D. Dellmann, J.A. Jhonson y D.M. Klachko. p 193-196. Plenum Press. New York
- BOTELLA LLUSIA (1976). - *Citologia Endocrina*. En *Endocrinologia de la Mujer*. Ed. L. Botella Llusia. p 489-500. Editorial Científico Médica. Madrid
- BOWER A., HADLEY M.E., y HRUBY V.J. (1974). - Biogenic amines and control of melanophore stimulating hormone release. *Science* 184:70-72.
- BOWERS C.Y., FRIESEN H.G., HWANG P., GUYDA H.J. y FOLKERS K. (1971). - Prolactin and thyrotropin release in man by synthetic pyroglutamyl-histidyl-prolinamide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 45:1033-1041.

- BOYAR R.M., KAPEN S., WEITZMAN E.D., y HELLMAN L. (1976).- Pituitary microadenoma and hyperprolactinemia: a cause of unexplained secondary amenorrhea. N. Engl. J. Med. 294:283-285.
- BOYD A.E., SPENCER E., JACKSON I.M.D., y REICHLIN S. (1976).- Prolactin-releasing factor (PRF) in porcine hypothalamic extract distinct from TRH. Endocrinology 99:861-871.
- BOYD A.E., y SANCHEZ-FRANCO F. (1977).- Changes in the prolactin response to thyrotropin-releasing hormone (TRH) during the menstrual cycle of normal women. J. Clin. Endocrinol. Metab. 44:985-988.
- BOYD A.E., REICHLIN S., y TURKSOY N. (1977).- Galactorrhea-amenorrhea syndrome: diagnosis and therapy. Ann. Inter. Med. 87:165-175.
- BOYLAN E.S., y WITTLIFF J.L. (1975).- Specific estrogen binding in rat mammary tumors induced by 7,12-Dimethylbenzanthracene. Cancer Res. 35:506-511.
- BOYNS A.R., y GRIFFITHS K. (1972). Editores: Prolactin and Carcinogenesis. Alfa-Omega-Alfa Cardiff, Gales.
- BOYNS A.R., COLE E.N., GOLDBERGER M.P., DANUTRA V., HARPER M.E., BROWNSEY B., COWLEY T., JONES G.E., y GRIFFITHS K. (1972).- Prolactin studies with the prostate. En Prolactin and Carcinogenesis. Ed. K. Griffiths y A.R. Boyns. p 207-216. Alfa-Omega-Alfa, Cardiff. Gales.
- BOYNS A.R., BUCHAN R., COLE E.N., FORREST A.P.M., y GRIFFITHS K. (1973).- Basal prolactin blood levels in three strains of rat with differing incidence of 7-12 dimethylbenzanthracene-induced mammary tumors. European J. Cancer 9:169-171.

- BOYNS A.R., COLE E.N., GRIFFITHS K., ROBERTS M.M., BUCHAN R., WILSON R.G., y FORREST A.P.M. (1973).- Plasma prolactin in breast cancer. *European J. Cancer* 9:99-102.

- BRADLEY C.J., CAMPBELL G.A., MARSHALL S., MEITES J., y COLLINGS W. (1975).- Rapid alterations in prolactin binding activity of tissue slices in response to estrogen. *Fed. Proc.* 34:343 (Abstracto).

- BRADLEY C.J., KLEDZIK G.S., y MEITES J. (1976).- Prolactin and estrogen dependency of rat mammary cancers at early and late stages of development. *Cancer Res.* 36:319-324.

- BREMNER W.J., ABREU R., STOCKIGT J.R., KRETZER D.M., y BURGER H.G. (1977).- Pituitary-thyroid responses to 4-hour constant infusions of thyrotropin releasing hormone in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 45:981-987.

- BRENNAN M.J. (1975).- Endocrinology in cancer of the breast. *Am. J. Clin. Pathol.* 64:797-809.

- BROOKS S.C. (1976).- The metabolism of steroid hormones in breast cancer. A reappraisal. En *steroid Hormone Action and Cancer*. Ed. K.M.J. Menon y J.R. Reel. p 36-50. Plenum Press. New York y Londres

- BROWN G.M., GARFINKEL P.E., WARSH J.J., y STANCER H.C. (1976).- Effect of carbidopa on prolactin, growth hormone and cortisol secretion in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 43:236-239.

- BRUCE J.D., y RAMIREZ V.D. (1970).- Site of action of the inhibitory effect of estrogen upon lactation. *Neuroendocrinology.* 6:19-24.

- BRUNI J.E., y MONTEMURRO D.G. (1971).- Effect of hypothalamic lesions on the genesis of spontaneous mammary gland tumors in the mouse. *Cancer Res.* 31:854-863.

- BRYANT G.D., y GREENWOOD F.C. (1968).- Radioimmunoassay for ovine, caprine and bovine prolactin in plasma and tissue extracts. *Biochem. J.* 109:831. Citado por BRYANT G.D. y GREENWOOD F.C. 1976.
- BRYANT G.D., SHILER T.M., GREENWOOD F.C., PASTEELS J.L., ROBYN C., y HUBINONT P.O. (1971).- Radioimmunoassay of a human pituitary prolactin in plasma. *Hormones* 2:139-152.
- BRYANT G.D., y GREENWOOD F.C. (1972).- The concentration of human prolactin in plasma measured by radioimmunoassay: experimental and physiological modifications. En *lactogenic Hormones*. Ed. G.E.W. Wolstenholme y J. Knight. p 197-206. Churchill Livingstone, Edimburgo y Londres.
- BRYANT G.D. y GREENWOOD F.C. (1976).- Prolactins. En *Methods in Radioimmunoassay of peptide hormones*. Ed. R.S. Yalow p 120-137. North Holland/American Elsevier, Amsterdam, Oxford y New York.
- BUCKMAN M.T., y PEAKE G.T. (1973).- Osmolar control of prolactin secretion in man. *Science* 181:755-757.
- BUCKMAN M.T., PEAKE G.T., y SRIVASTAVA L.S. (1976).- Endogenous estrogen modulates phenothiazine stimulated prolactin secretion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 43:901-906.
- BUEHRING G.C., y WILLIAMS R.R. (1976).- Growth rates of normal and abnormal human mammary epithelia in cell culture. *Cancer Res.* 36:3742-3747.
- BURROW G.N., MAY P.B., SPAULDING S.W., y DONABEDIAN R.K. (1977).- TRH and dopamine interactions affecting pituitary secretion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 45:65-72.
- BURTON N., CARLILE S., y JUBIZ W. (1975).- Prostaglandin F2 alpha (PGF 2 alpha) and prolactin secretion in rats. *Prostaglandins* 10:667-674.

- BUTLER T.P., y PEARSON O.H. (1971).- Regression of prolactin-dependent rat mammary carcinoma in response to antihormone treatment. *Cancer Res.* 31:817-820.

- BUTLER W.R., KREY L.C., LU K.H., PECKHAM W.D., y KNOBIL E. (1975).- Surgical disconnection of the medial basal hypothalamus and pituitary function in the Rhesus Monkey.IV. Prolactin secretion. *Endocrinology* 96:1099-1105.

- BUTTLE H.L. (1977).- The effect of anterior cervical gangliectomy on the seasonal variation in prolactin concentration in goats. *Neuroendocrinology* 23:121-128.

- CADMAN E. (1977).- Toxicity of chemotherapeutic agents. En *Cancer*. Ed. F.F. Becker. Vol. 5, p 59-111. Plenum Press. London, New York.

- CALIGARIS L., y TALEISNIK S. (1977).- Futher evidence on the role of the hypothalamic afferents on the estrogen-induced prolactin release. *Neuroendocrinology* 23:323-329.

- CAMANNI F., MASSARA F., BELFORTE L., ROSATELLO A., y MOLINATTI G. M. (1977).- Effect of dopamine on plasma growth hormone and prolactin levels in normal and acromegalic subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 44:465-473.

- CAMANNI F., PICOTTI G.B., MASSARA F., MOLINATTI G.M., MANTEGAZZA P. y MÜLLER E.E. (1978).- Carbidopa inhibits the growth hormone and prolactin suppressive effect of L-dopa in acromegalic patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 47:647-652.

- CAMPBELL G.A., KURCZ M., MARSHALL S., y MEITES J. (1977).- Effects of starvation in rats on serum levels of follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, thyrotropin, growth hormone and prolactin; response to LH-releasing hormone and thyrotropin releasing hormone. *Endocrinology* 100:580-587.

- CAPPELAERE P. (1975).- Prolactin et cancers mammaires. *Pathol Biol.* 23:161-170.

- CAREY R.M., JOHANSON A.J., y SEILF S.M. (1977).- The effects of ovine prolactin on water and electrolyte excretion in man are attributable to vasopressin contamination. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 44:850-858.

- CARLSON H.E., GILLIN J.C., GORDON P., y SNYDER F. (1972).- Absence of sleep-related growth-hormone peaks in aged normal subjects and acromegaly. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 34:1102-1105.

- CARLSON H.E., BRICKMAN A.S., y BOTTAZZO G.F. (1977).- Prolactin deficiency in pseudohipoparathyroidism. *New. Eng. J. Med.* 296: 140-144.

- CARLSON H.E., e IPOLITI A.F. (1977).- Cimetidine, and H₂-antihistamine, stimulates prolactin secretion in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 45:367-370.

- CARLSON H.E., SAWIN C.T., KRUGMAN L.G., MEYER N.C., y HERSHMAN J.M. (1978).- Effect of thyroid hormones on the prolactin response to thyrotropin - releasing hormone in normal persons and euthyroid goitrous patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 47:275-279.

- CARON M. G., DROUIN J., RAYMOND V., KELLY P.A., y LABRIE F. (1976).- Specificity of the catecholaminergic effect on prolactin secretion and H₃ dihydroergocryptine binding. *Clin. Res.* 24:656 A.

- CARRICO R.J., y USATEGUI-GOMEZ M. (1975).- The isolation of carcinoembryonic antigen from tumor tissue at neutral pH. *Cancer Res.* 35:2928-2934.

- CARROLL K.K., y KHOR H.T. (1970).- Effects of dietary fat and dose level of 7,12-dimethylbenzanthracene on mammary tumor incidence in Rats. *Cancer Res.* 30:2260-2264.

- CARTER A.C., LEFKON B.W., FARLIN M., y FELDMAN E.B. (1975).- Metabolic parameters in women with metastatic breast cancer. J. Clin. Endocrinol. Metab. 40:260-265.
- CARTER J.N., TYSON J.E., WARNE G.L., Mc NEILLY A.S., FAIMAN C., y FRIESEN H.G. (1977).- Adrenocortical function in hiperprolactinemic women. J. Clin. Endocrinol. Metab. 45:973-980.
- CARTER J.N., TYSON J.E., TOLIS G., Van ULIET S., FAIMAN C., y FRIESEN H.G. (1978).- Prolactin-Secreting tumors and hypogonadism in 22 Men. New Engl. J. Med. 299:847-852.
- CASELL E.E., MEITES J., WELSCH C.W. (1971).- Effects of ergo-cornine and ergocryptine on growth of 7,12-Dimethylbenzanthracene-induced mammary tumors in rats. Cancer Res. 31:1051-1053.
- CATT K., y MOFFAT B. (1967).- Isolation of internally labeled rat prolactin by preparative disc electrophoresis. Endocrinology 80:324-328.
- CELOTTI F., MASSA R., y MARTINI L. (1978).- Effect of prolactin on LH release in male rats. Neuroendocrinology 26:41-49.
- CERIANI R.L., CONTESSO G.P., y NATAF B.M. (1972).- Hormone requirement for growth and differentiation of the human mammary gland in organ culture. Cancer Res. 32:2190-2196.
- CESKA M., y LUNDKVIST V. (1972).- A new and simple radioimmunoassay metod for the determination of IgE. Immunochemistry 9:1021-1030.
- CHAMNESS G.C., COSTLOW M.E., y Mc GUIERE W.L. (1975).- Estrogen receptor m rat liver and its dependence of prolactin steroids 26: 363-371.
- CHAN P., y COHEN L.A. (1974).- Effect of dietary fat, antiestrogen and antiprolactin on the development of mammary tumors in rats. J. Natl. Cancer. Inst. 52:25-30.

- CHAN P.C., HEAD J.F., COHEN L.A., y WYNDER E.L. (1977).- Influence of dietary fat on the induction of mammary tumors by N-nitrosomethylurea: Associated hormone changes and differences between Sprague-Dawley and F344 Rats. J. Natl. Cancer. Inst. 59:1279-1283.
- CHEEVER E.V., y LEWIS U.J. (1969).- Estimation of the molecular weights of the multiple components of growth hormone and prolactin. Endocrinology 85:465-473.
- CHEMAMA R., JAYLEY M.F., y ENNUYER A. (1974).- Treatment by progestin-oestrogen-corticosteroid combination. En Mammary Cancer and Neuroendocrine Therapy. Ed. B.A. Stall. p 265-282. Butterworths Londres.
- CHEN C.L., y MEITES J. (1970): Effects of estrogen and progesterone on serum and pituitary prolactin levels in ovariectomized rats. Endocrinology 86:503-505.
- CHEN C.L., AMENOMORI Y., LU K.H., VOOGT J.L., y MEITES J. (1970).- Serum prolactin levels in rats with pituitary transplants or hypothalamic lesions. Neuroendocrinology 6:220-227.
- CHEN H.W., MEIER H., HEINIGER H.J., y HUEBNER R.J. (1972).- Tumorigenesis in strain DW/J mice and induction by prolactin of the group-specific antigen of endogenous C-type RNA tumor virus. J. Natl. Cancer Inst. 49:1145-1154.
- CHEN H.J., MEITES J. (1975).- Effects of biogenic amines and TRH on release of prolactin and TSH in the rat. Endocrinology 96:10-14.
- CHEN H.J., BRADLEY C.J., y MEITES J. (1976).- Stimulation of carcinogen-induced mammary tumor growth in rats by adrenalectomy. Cancer Res. 36:1414-1417.
- CHEN H.J., BRADLEY C.J., y MEITES J. (1977).- Stimulation of carcinogen-induced mammary cancers in rats by thyrotropin-releasing hormone. Cancer Res. 37:64-66.

- CHEUNG C.Y., y WEITNER R.I. (1978).- In vitro supersensitivity of the anterior pituitary to dopamine inhibition of prolactin secretion. *Endocrinology* 102:1614-1620.
- CHIHARA K., KATO Y., MAEDA K., OHGO S., y IMURA S. (1976).- Suppressive effect of L-dopa on human prolactin release during sleep. *Acta Endocrinológica* 81:19-27.
- CHIHARA K., ARIMURA A., COY D. H., y SCHALLY A.V. (1978).- Studies on the interaction of endorphins, substance P, and endogenous somatostatin in growth hormone and prolactin release in rats. *Endocrinology* 102:281-290.
- CHILD D.F., GORDON H., MASHITER K., y JOPLIN G.F. (1975).- Pregnancy, prolactin and pituitary tumors. *Br. Med. J*-4:87-89.
- CHIODINI P.G., LIUZZI A., MULLER E.E., BOTALLA L., CREMASCOLI G., OPPIZZI G., VERDE G., y SILVESTRINI F. (1976).- Inhibitory effect of an ergoline derivate, methergoline, on growth hormone and prolactin levels in acromegalic patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 43:356-363.
- CHISM S.E., WARNER N.L., WELLS J.V., CREWTER P., HUNT S., MARCHALONIS J.J., y FUDENBERG H.H. (1977).- Evidence for common and distinct determinants of colon carcinoembryonic antigen, colon carcinoma antigen-III, and molecules with carcinoembryonic antigen activity isolated from breast and ovarian cancer. *Cancer Res* 37:3100-3108.
- CHOCHINOV R.H., KETAPUNYA A., MARIZ I.K., UNDERWOOD L.E., y DAUGHADAY W.H. (1976).- Amniotic fluid reactivity detected by somatomedin C radioreceptor assay: Correlation with growth hormone, prolactin and fetal renal maturation. *J. Clin. Endocrinol. Metab*, 42:983-986.

- CLEMENS J.A., SHAAR C.J., RANDY W. A., y ROUSH M.E. (1971).- Effect of hypothalamic stimulation on prolactin secretion in steroid treated rats. *Endocrinology* 89:1317-1320.
- CLEMENS J.A., MEITES J. (1974).- Hypothalamic control of prolactin secretion. En *Mammary Cancer and Neuroendocrine Therapy*. Ed. B.A. Stoll. p 160-178. Butterworths, Londres.
- CLEMENS J.A., SMALSTING E.B., y SHAAR C.J. (1975).- Inhibition of prolactin secretion by lergotrile mesylate: mechanism of action. *Acta Endocrinológica* 79:230-237.
- CLEMENS J.A., (1976).- Neuropharmacological aspects of the neural control of prolactin secretion. En *Current Topics in Molecular Endocrinology*. Vol:3 Hypothalamus and Endocrine Functions ed. F. Labrie, J. Meites, y G. Pelletier. pag. 283-301. Plenum Press New York-Londres.
- CLEMENS J.A., REYES F.I., WINTER J.S.D., y FAIMAN C (1977).- Studies on human sexual development.IV: Fetal pituitary and serum and amniotic fluid concentrations of prolactin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 44:408-413.
- CLEMENS J.A., SAWYER B.D., y CERIMELE B. (1977).- Further evidence that serotonin is a neurotransmitter involved in the control of prolactin secretion. *Endocrinology* 100:692-692.
- CLEMENS J.A., ROUSH M.E., FULLER R.W., y SHAAR C.J. (1978).- Changes in luteinizing hormone and prolactin control mechanisms produced by glutamate lesions of the arcuate nucleus. *Endocrinology* 103:1304-1312.
- COCCHI D., GIL-AD. I., PANERAI A.E., LOCATELLI V., y MULLER E.E. (1977).- Effect of 5-hydroxytryptophan on prolactin and growth hormone release in the infant rat: evidence for different neurotransmitter mediation. *Neuroendocrinology* 24:1-13.

- COHEN L.A., DIDATO F., y CHAN P.C. (1974).- Effects of altered dietary fat intake on serum prolactin titer. Fed. Proc. 33:601 (abstracto) 601.
- COHEN M.P. y GALA R.R. (1975).- Failure of insulin hypoglycemia to produce rise in serum prolactin. Amer. J. Obstet. Gynecol. 121:1103-1106.
- COLBY H.D. (1979).- Mechanis of action of prolactin on adrenocortical steroid secretion in hypophysectomized female rats. Endocrinology 104:1299-1303.
- COLE E.N., ENGLAND P.C., SELLWOOD R.A., y GRIFFITHS K. (1976).- Prolactin in benign and malignant breast disease. J. Endocrinol. 69:49P.
- COLE E.N., SELLWOOD R.A., ENGLAND P.C., y GRIFFITHS K (1977).- Serum prolactin concentrations in bening breast disease throughout the menstrual cicle. Eur. J. Cancer 13:597-603.
- COLE P., CRAMER D., YEN S.,PAFFENBARGER R., Mc MAHON B., y BROWN J (1978).- Estrogen prófiles of premenopausal women with breast cancer. Cancer Res. 38:745-748.
- COLOMBO J.A. (1978).- Prolactin and LH release after stimulation of the preoptic-suprachiasmatic and arcuate-ventromedial N. regions in male rats under pentobarbital anesthesia. Neuroendocrinology 26:150-162.
- COOPER D.S., y JACOBS L.S. (1977).- Apomorfine inhibits the TSH response to thyrotropin releasing hormone. J. Clin. Endocrinol. Metab. 44:404-407.
- COPINSCHI G., L'HERMITE M., GOLSTEIN J., LECLERR R., DESIR D., VANHAELST L., VIRASORO E., ROBYN C., y VAN CAUTER E. (1978).- Interrelations between circadian and ultradian variations of PRL, ACTH, CORTISOL, β MSH, y TSH in normal man. En Progress in Prolactin. Physiology and Pathology. Ed. C. Robyn y M. Harter. p 165-172. Elsevier. North Holland. Amsterdam, New York.

- COPPEDGE R.L., y SEGALOFF A. (1951).- Urinary prolactin excretion in man. *J. Clin. Endocrinol.* 11:465-476.
- COPPOLA J.A., LEONARDI R.G., LIPPMAN W., PERRINE J.W., y RINGLER I. (1965).- Induction of pseudopregnancy in rats by depletors of endogenous catecholamines. *Endocrinology* 77:485-490.
- CORRODI H., FUXE K., HOKFELT T., LIDBRINK P., y UNGERSTEDT J. (1973). *J. Pharmac. Pharmacol* 25:409-411; citado por FLUCKIGER K., VIGOURET J.M., y WAGNER H.R. 1978.
- COSTLOW M.E., BUSCHOW R.A., y Mc GUIRE W.L. (1974).- Prolactin receptors in an estrogen receptor-deficient mammary carcinoma. *Science* 184:85-86.
- COSTLOW M.E., BUSCHOW R.A., RICHERT N.J., y Mc GUIRE W.L. (1975).- Prolactin and estrogen binding in transplantable hormone-dependent and autonomous rat mammary carcinoma. *Cancer Res.* 35:970-974.
- COSTLOW M.E., BUSCHOW R.A., y Mc GUIRE W.L. (1976).- Prolactin receptors and androgen induced regression of 7-12-dimethylbenz (a) anthracene-induced mammary carcinoma. *Cancer Res.* 36:3324-3329.
- COSTLOW M.E., BUSCHOW R.A., y Mc GUIRE W.L. (1976)^a.- Prolactin receptors in 7-12 dimethylbenz (a) anthracene induced mammary tumors following endocrine ablation. *Cancer Res.* 36:3941-3943.
- COSTLOW M.E., y Mc GUIRE W.L. (1977).- Autoradiographic localization of prolactin receptors in 7-12 dimethylbenz (a) anthracene induced rat mammary carcinoma. *J. Nat. Cancer Inst.* 58:1173-1175.
- COSTLOW M.E., SLUYSER M., y GALLAGHER P.E. (1977).- Prolactin receptors in mammary tumors of GR mice. *Endocrine Res. Commun.* 4:285-294.

- COSTLOW M.E., y Mc GUIRE W.L. (1978).- Prolactin receptors and hormone dependence in mammary carcinoma. En *Endocrine Control in Neoplasia*. Ed. R.K. Sharma y W.E. Criss p 121-150. Raven Press. New York.
- COTES P.M. (1972).- Discussion en Prolactin and Carcinogenesis. Ed. A.R. Boyns y K. Griffiths, p 111-114. Alfa-Omega-Alfa, Cardiff, Gales.
- COTES P.M. (1973).- Research Standard A. for human prolactin (in ampoules coded 71/222). En *Human Prolactin*. Eds. J.L. Pas teels y C. Robyn; p 97-101, Excerpta Medica. Amsterdam y New York.
- COWIE A.T. (1974).- Hormonal factors in mammary development and lactation. En *Breast Cancer and Neuroendocrine Therapy*. Ed. B.A. Stoll. p. 3-24. Butterworths, Londres.
- CRAMER O.M., PARKER C.R., y PORTER J.C. (1979).- Estrogen inhibition of dopamine release into hypophysial portal blood. *Endocrinology*, 104:419-422.
- CRAMER O.M., PARKER C.R., y PORTER J.C. (1979)^a.- Secretion of dopamine into hypophysial portal blood by rats bearing prolactin-secreting tumors or ectopic pituitary glands. *Endocrinology* 105:636-640.
- CRONIN M.J., ROBERTS J.M., WEINER R.I. (1978).- Dopamine and dihydroergocryptine binding to the anterior pituitary and other brain areas of the rat and sheep. *Endocrinology* 103:302-309.
- CROSIGNANI P.G., LOMBROSO G.C., MATTEI A., CACCAMO A., y TROJSI L. (1979).- Comments: effect of three serotonin antagonists on plasma prolactin response to suckling in puerperal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 48:335-337.

- D'AGATA R., ANDO S., LACHELLO L., PEZZINO V., GULIZIA S., y SCAPAGNINI U. (1977).- Decrease of prolactin by methysergide in amenorrheic hyperprolactinemic women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 45:1116-1119.
- DAMM H.C., PIPES G.W., Von BERSWORDT-WALLRABE R., y TURNER C.W. (1961).- Uptake of P-32 by pigeon crop-sac as index of lactogenic hormone. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 108:144-146.
- DANG B.T., y VOOGT J.L. (1977).- Termination of pseudopregnancy following hypothalamic implantation of prolactin. *Endocrinology* 100:873-880.
- DANNIES P.S., GAUTVIK K.M., y TASHJIAN A.H. (1976).- A possible role of cyclic AMP in mediating the effects of thyrotropin releasing hormone on prolactin release and on prolactin and growth hormone synthesis in pituitary cells in culture. *Endocrinology* 98:1147-1159.
- DANNIES P.S., YEN P.M., y TASHJIAN A.H. (1977).- Anti-estrogenic compounds increase prolactin and growth hormone synthesis in clonal strains of rat pituitary cells. *Endocrinology* 101:1151-1156.
- DANON A., y SULMAN F.G. (1970).- Storage of prolactin-inhibiting factor in the hypothalamus of perphenazine-treated rats. *Neuroendocrinology* 6:295-300.
- DAO T.L. (1962).- The role of ovarian hormones in initiating the induction of mammary cancer in rats by polynuclear hydrocarbons. *Cancer Res.* 22:973-981.
- DAO T.L. (1969).- Mammary cancer induction by 7,12-Dimethylbenzanthracene: Relation to Age. *Science* 165:810-811.
- DAVIS S., y PROPER S., y ERTEL N.H. (1979).- Elevated prolactin levels in bronchogenic carcinoma. *Cancer* 44:676-679.

- DAWSON A.B. (1946).- Some evidences of specific secretory activity of the anterior pituitary gland of the cat. *Am. J. Anat.* 78:347. Citado por FARQUHAR (1977).
- DE DUVE C. (1969).- The lysosoma in retrospect. En *lysosomes in Biology and Pathology*. Ed. J.T. Dingle y H.B. Fell. p 3-40. North Holland Publishing Co. Amsterdam.
- DE GREEF W.J., y ZEILMAKER G.H. (1979).- Serum prolactin concentrations during hormonally induced pseudopregnancy in the rat. *Endocrinology* 105:195-199.
- DE HERTOOGH R., THOMAS K., BIETLOT Y., Van Der HEYDEN I., y FERIN J. (1975).- Plasma levels of un conjugated strone, estradiol, and estriol and of HCS throughout pregnancy in normal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90:93-101.
- DE LEAN A., FERLAND L., DROUIN J., KELLY P.A., y LABRIE F. (1977).- Modulation of pituitary thyrotrofin releasing hormone receptor levels by estrogen and thyroid hormones. *Endocrinology* 100:1496-150
- DE LEAN A., GARON M., KELLY P.A., y LABRIE F. (1977).- Changes of pituitary thyrotrofin releasing hormone (TRH) receptor level and prolactin response to TRH during the rat estrous cycle. *Endocrinology* 100:1505-1510.
- DELITALA G. (1977).- Stimulating action of sulpiride and pimozide on prolactin release. Effect on bromocriptine, L-dopa and metergoline administration. *Acta Endocrinologica* 86: 251-256.
- DELITALA G., MASALA A., y ALAGNA S. (1977).- Suppression of pimozide-induced prolactin secretion by piridoxine (Vitamin B6). *Biomedicine* 27:190-192.
- DELITALA G., y MASALA A. (1977).- Dissociation of growth hormone and prolactin response to levodopa during pyridoxine administration *Biomedicine* 27:219-222.

- DEL POZO E., BRUN del RE R., VALGA L., y FRIESEN H. (1972).- The inhibition of prolactin secretion in man by CB-154 (2-Br- α -ergocryptine). *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 35:768-771.
- DEL POZO E., VARGA L., WYSS H., TOLIS G., FRIESEN H., WENNER R., VETTER L., y UETTWILER A. (1974).- Clinical and hormonal response to bromocriptin (CB-154) in the galactorrhea syndromes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 39:18-26.
- DEL POZO E., y LANCRANJAN I. (1978).- Clinical usage of drugs modifying the release of anterior pituitary hormones. En *Frontiers in Neuroendocrinology*. Vol 5. Ed. W.E. Ganong y L. Martini. p 207-247. Raven Press. New-York.
- DELVOYE P., HASAN S.H., L'HERMITE M., NEUMANN I., y ROBYN C. (1973).- Relationships between serum levels of prolactin, oestrogens, LH, FSH, and progesterone during menstrual cycle and treatment with steroids. *Acta Endocrinológica. Suppl* 177:133.
- DE SOMBRE E.R., KLEDZIK G., MARSHALL S., y MEITES J. (1976).- Estrogen and prolactin receptor concentrations in rat mammary tumors and response to endocrine ablation. *Cancer Res.* 36:354-358.
- DE SOUZA I., HOBBS J.R., MORGAN L., SALIH H. (1977).- Localization of prolactin in human breast tumors. *J. Endocrinol* 73:17P.
- DIAMOND E.J., KOPLAK S., SHEN S.K., y HOLLANDER V.P. (1976).- The conversion of an ovariectomy-nonresponsive to an ovariectomy-responsive mammary tumor strain. *Cancer Res.* 36:77-80.
- DIAMOND E.J., GILADI M., KHAN S., y HOLLANDER V.P. (1977).- Estradiol binding in ovariectomy-responsive and nonresponsive rat mammary carcinoma. *Cancer Res.* 37:1852-1856.
- DIAMOND E.J., KHAN S., KOPRAK S., y HOLLANDER V.P. (1978).- Inhibition of ovariectomy-induced rat mammary tumor regression by a mammosomatotropic tumor. *Cancer Res.* 38:2239-2245.

- DICKERMAN S., CLARK J., DICKERMAN E., y MEITES J. (1972).- Effects of haloperidol on serum and pituitary prolactin and on hypothalamic PIF in rats. *Neuroendocrinology* 9:332-340.
- DICHERMAN S., KLEDZIK G., GELATO M., CHEN H.J., y MEITES J. (1974).- Effects of haloperidol on serum and pituitary prolactin, LH and FSH, and hypothalamic PIF and LRF. *Neuroendocrinology* 15:10-20.
- DICKEY R.P., y MINTON J.P. (1972).- L-Dopa effect on prolactin, follicle stimulating hormone and luteinizing hormon in women with advanced breast cancer. A preliminary report. *Amer. J. Obstet. Gynec.* 114:267-269.
- DIEFENBACH W.M., CARMEL P.W., FRANTZ A.G., y FERIN M. (1976).- Supression of prolactin secretion by L-dopa in the stalk-sectioned Rhesus Monkey. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 43:638-642.
- DILLEY W.G. (1971).- Morphogenic and mitogenic effects of prolactin on rat mammary gland in vitro. *Endocrinology* 88:514-517.
- DILLEY W.G., y KISTER S.J. (1975).- In vitro stimulation of human breast tissue by human prolactin. *J. Natl. Cancer. Inst.* 55:35-36.
- DILMAN V.M. (1974).- Changes in hypothalamic sensitivity in ageing and cancer. En *Mammary Cancer and Neuroendocrine Therapy*. Ed. B.A. Stoll p 197-228. Butterworths. Londres.
- DJIANE J., DURAND P., y KELLY P.A. (1977).- Evolution of prolactin receptors in rabbit mammary gland during pregnancy and lactation. *Endocrinology* 100-1348-1356.
- DJIANE J., y DURAND P. (1977).- Prolactin-progesterone antagonism in self regulation of prolactin receptors in the mammary gland. *Nature* 266:641-643.

- DÖHLER K.D., y WUTTKE W. (1974).- Serum LH., FSH, prolactin and progesterone from birth to puberty in female and male rats. *Endocrinology* 94:1003-1008.
- DÖHLER K. D., WONG C.C., y Von ZUR MÜHLEN A. (1978).- Comparative effects of gonadal hormones on prolactin release in male and female rats. *Acta Endocrinologica* 87, Sup. 215:5-7.
- DONOSO A.D., BISHOP W., FAWCET C.P., KRULICH L., Mc CANNDI S.M. (1971).- Effects of drugs that modify brain monoamine concentrations on plasma gonadotrophin and prolactin levels in the rat. *Endocrinology* 89:774-748.
- DONOSO A.O., BAZAN A.M., y BARCAGLIONI J.C. (1974).- Further evidence on the direct action of L-dopa on prolactin release. *Neuroendocrinology* 15:236-239.
- DONOVAN B.T., Van Der WEEFF TEN BOSCH J.J. (1957).- The hypothalamus and lactation in the rabbit. *J. Physiol. (London)* 137:410-420.
- DRASAR B.S., e IRVING D. (1973).- Environmental factors and cancer of the colon and breast. *Br. J. Cancer* 27:167-172.
- DULAR R., La BELLA S., VIVIAN S., y EDDIE L. (1974).- Purification of prolactin-releasing and inhibiting factors from beef. *Endocrinology* 94:563-567.
- DUNN J.D., ARIMURA A., y SCHEVING L.E. (1972).- Effect of stress on circadian periodicity in serum LH and prolactin concentration. *Endocrinology* 90:29-33.
- DUPONT A., CUSAN L., FERLAND L., LEMAY A., y LABRIE F. (1979).- Evidence for a role of endorphins in the control of prolactin secretion. In *Central Nervous System Effects of Hypothalamic Hormones and Other Peptides*. Eds. R. Collu, A. Barbeau, J.R. Ducharme y J.G. Rochefort. p 283-300. Raven Press. New York.

- DURAND D., MARTIN J.B., y BRAZEAU P. (1977).- Evidence for a role of α -adrenergic mechanisms in regulation of episodic growth hormone secretion in the rat. *Endocrinology* 100:722-728.
- DURBIN P.W., WILLIAMS M.H., JEUNG N., y ARNOLD J.S. (1966).- Development of spontaneous mammary tumors over the life-span of the female Charles River (Sprague-Dawley) rat: the influence of ovariectomy, thyroidectomy, and adrenalectomy-ovariectomy. *Cancer Res.* 26:400-411.
- DUSSAULT J.H., TURCOTTE R., y GUYDA H. (1976).- The effect of acetylsalicylic acid on TSH and PRL secretion after TRH stimulation in the human. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 43:232-235.
- EDWARDS C.R.W., FORSYTH I.A., y BESSER G.M. (1971).- Amenorrhea, galactorrhea, and primary hypothyroidism with high circulating levels of prolactin. *Br. Med. J.* III:462-464.
- EHARA Y., SILER T., Van Den BERG G., SINHA Y.N., y YEN S.S.C. (1973).- Circulating prolactin levels during the menstrual cycle: episodic release and diurnal variation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 117:962-970.
- EHARA Y., YEN S.S., y SILER T.M. (1975).- Serum prolactin levels during puberty. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 121:995-997.
- EHARA Y., SILER T.M., y YEN S.S.C. (1976).- Effects of large doses of estrogen on prolactin and growth hormone release. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 125:455-458.
- EHNI G., y ECKLES N.E. (1959).- Interruption of the pituitary stalk in the patient with mammary cancer. *J. Neurosurg.* 16:628-652.
- ELLIS S., GRINDELAND R.E., y NUENKE J.M. (1968).- Isolation and characterization of prolactin from rat pituitary glands. In 3rd International Congress of Endocrinology. Ed. C. Gual. Intern. Congres Series n° 157 p. 77. Excerpta Medica. Amsterdam.

- ELLIS S., GRINDELAND R.E., NUENKE J.M., y CALLAHAM P.X. (1969).- Purification and properties of rat prolactin. *Endocrinology* 85: 886-894.
- ENJALBERT A., MOOS F., CARBONELL L., PRIAM M., y KORDON C. (1977).- Prolactin inhibiting activity of dopamine-free subcellular fractions from rat mediobasal hypothalamus. *Neuroendocrinology* 24: 147-161.
- ENJALBERT A., RUBERG M., y KORDON C. (1978).- Neuroendocrine control of prolactin secretion, *En Progress in Prolactin. Physiology and Pathology*. Eds. C. Robyn y M. Harter. p 83-94. Elsevier North-Holland. Amsterdam, New York.
- ENJALBERT A., RUBERG M., FIORE L., y KORDON C. (1978).- Dopamine, GABA, PIF et regulation de la secretion de prolactine in vitro chez le rat. *Ann. Endocrinol. (Paris)* 39:237-238.
- ENJALBERT A., RUBERG M., ARANCIBIA S., FIORE L., PRIAM M., y KORDON C. (1979).- Independent inhibition of prolactin secretion by dopamine and γ -aminobutyric acid in vitro. *Endocrinology* 105: 823-826.
- EPSTEIN M.T., Mc NEILLY A.S., MURRAY M.A.F., y HOCKADAY T.D.R. (1975).- Plasma testosterone and prolactin in the menstrual cycle. *Clin. Endocrinol.* 4:531-536.
- EUROPEAN BREAST CANCER GROUP (1972).- Clinical trial of 2 Bromergocryptine (CB154) in advanced breast cancer. *Europ. J. Cancer* 8:155-156.
- EUROPEAN BREAST CANCER GROUP (1972).- Clinical trial of the cyclic imide 1-(morpholino-methyl)-4-phtalimido piperidindione 2,6 (CG 603) in advanced breast cancer. *Europ. J. Cancer* 8:157-158.

- EVANS H.M., SIMPSON M.E., LYONS W.R., y TURPEINEN K. (1941).- Anterior pituitary hormones wich favor the production of traumatic uterine placentomata. *Endocrinology* 28:933-945.
- EVELEIGH J.W. (1974).- Heterogenity of carcinoembrionic antigen. *Cancer Res.* 24:2122-2124.
- EVERETT J.W. (1954).- Luteotrophic function of autografts of rat hypophysis. *Endocrinology* 54:685-690.
- FALCONER I.R., y ROWE J.M. (1977).- Effect of prolactin on sodium and potassium concentrations in mammary alveolar tissue. *Endocrinology* 101:181-186.
- FANG V.S., REFETOFF S., y ROSENFELD R.L. (1974).- Hypogonadisim induced by a transplantable prolactin - producing tumor in male rats: hormonal and morphological studies. *Endocrinology* 95:991-998.
- FANG V.S., y KIM M.H. (1975).- Study on maternal, fetal and amnioti fluid human prolactin at term. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 41:1030-1034.
- FARKOUH N.H., PACKER M.G., y FRANTZ A.G. (1979).- Large molecular size prolactin with reduced receptor activity in human serum: high proportion in basal state and reduction afer thyrotropin-releasing. *J. Clin, Endocrinol. Metab,* 48:1026-1032.
- FARQUHAR M.G., y RINEHART J.F. (1954).- Electron microscopic studies of the anterior pituitary gland of castrate rats. *Endocrinology* 54:516-541.
- FARQUHAR M.G. (1961).- Origin and fate of secretory granules in cells of the anterior pituitary gland. *Trans. N.Y. Acad. Sci.* 23:346-351. Citado por FARQUHAR M.G. 1977.
- FARQUHAR M.G. (1977).- Celullar secretion and crinophagy. En *Comparative Endocrinology of Prolactin.* Ed. H.D. Dellman, J.A. Jonhson y D.M. Klachko. p 37-94. Plenum Press, New York y Londres.

- FARQUHAR M.G., REID J.J., y DANIELL L.W. (1978).- Intracellular transport and packaging of prolactin: a quantitative electron microscope autoradiographic study of mammothrophs dissociated from rat pituitaries. *Endocrinology* 102:296-311.
- FELDMAN J.M., y PLONK J.W. (1978).- Effect of hiperprolactinemia on pituitary-adrenal function. *Hormone Res.* 9:1-11.
- FELDMAN J.M. (1979).- Effect of metastatic cancer on platelet monoamine-oxidase activity and serotonin metabolism. *Cancer* 44: 1751-1756.
- FERIN M., ANTUNES J.L., ZIMMERMAN E., DYRENFURTH I., FRANTZ A.G., ROBINSON A., y CARMEL P.W. (1977).- Endocrine function in female Rhesus Monkeys after hypothalamic disconnection. *Endocrinology* 101:1611-1620.
- FERLAND L., FUXE K., ENEROTH P., GUSTAFSSON J.A., y SKETT P. (1977).- Effects of Methionine-Enkephalin in prolactin release and catecholamine levels and turnover in the median eminence. *Eur. J. Pharmacol.* 43:89-90.
- FERRARI C., CALDARA R., ROMUSSI M., RAMPINI P., TELLOLI P., ZAA-TAR S., y CURTARELLI G. (1978).- Prolactin supression by serotonin antagonists in man: futher evidence for serotonergic control of prolactin secretion. *Neuroendocrinology* 25:319-328.
- FINE S., y FROHAM L.A. (1977).- Loss of CNS dopaminergic inhibition of prolactin secretion in patients with hyperprolactinemia-amenorrhea (H.A.) associated with pituitary tumors. *Clin. Res.* 25: 294 A.
- FINKELSTEIN J.W., WU.R.H.K., y BOYAR R. (1974).- Program 56 th Annu. Meet. *Endocrine Soc. Abstract n° 363.* Citado por WEITZMAN E.D., BOYAR R.M., KAPEN S., y HELLMAN L. (1975). The relationships of sleep stages to neuroendocrine secretion and biological rhythmus in man. *Recent. Prog. Hormone Res.* 31:399-446 .

- FISHMAN J. (1976).- The catecol estrogens. *Neuroendocrinology* 22:263-374.

- FLÜCKIGER E. (1978).- Ergot alkaloids and the modulation of hypothalamic function. En *Pharmacology of the Hypothalamus*. Ed. B. Cox, I.D. Morris y A.H. Weston. p 137-159. Mc Millan Press. Londres.

- FLUCKIGER E., VIGOURET J.M., y WAGNER H.R. (1978).- Ergot compounds and prolactin secretion. En *Progress in Prolactin. Physiology and Pathology*. Ed. C. Robyn y M. Harter. p 383-396. Elsevier/North Holland, Amsterdam y New York.

- FLUCKIGER E., y DEL POZO E. (1978).- Influence on the endocrine system. En *Ergot Alkaloids and Related Compounds. Handbook of Experimental Pharmacology*. Ed. B. Bende y H.O. Schild. p 615-690. Springer Verlag, Heidelberg.

- FORD J.J., y YOSHINAGA K. (1975).- The role of prolactin in the luteothropic process of lactating rats. *Endocrinology* 96:335-339.

- FORSYTH I.A., BESSER G.M., EDWARDS C.R.W., FRANCIS L., y MYERS R.P. (1971).- Plasma prolactin activity in inappropriate lactation. *Br. Med. J.* 3:225-227.

- FORSYTH I.A. (1972).- Usse of rabbit mammary gland organ culture system to detect lactogenic activity in blood. En *lactogenic Hormones*. Ed. G.E.W. Wolstenholme y J. Knight. p 151-167. Churchill Livingstone. Londres.

- FORSYTH I.A., y PARK L. (1973).- The bioassay of human prolactin. En *Human Prolactin*. Ed. J.L. Pasteels y C. Robyn. p 71-81. Excerpta Medica. Amsterdam.

- FOTHERBY K. (1974).- Pituitary gonadotrophin production and breast cancer. En Mammary Cancer and Neuroendocrine Therapy. Ed. B.A. Stoll. p 123-135. Butterworths. Londres.
- FUTHERBY K., y JAMES F. (1974).- Tumor response and the completeness of pituitary ablation. En Mammary Cancer and Neuroendocrine Therapy. Ed. B.A. Stoll. p 312-325. Butterworths. Londres.
- FRAME L.T., WILEY L., y ROGOL A.D. (1979).- Indirect immunofluorescent localization of prolactin to the cytoplasm of decidua and trophoblast cells in human placental membranes at term. J. Clin. Endocrinol. Metab. 49:435-437.
- FRANCIS M.J.O., y HILL D.J. (1975).- Prolactin-stimulated production of somatomedin by rat liver. Nature 255:167-168.
- FRANKS S., RALPHS D.N.L., SEAGROATT V., y JACOBS H.S. (1974).- Prolactin concentrations in patients with breast cancer. Brit. Med. J. 4:320-321.
- FRANTZ A.G., y KLEINBERG D.L. (1970).- Prolactin: evidence that it is separate from growth hormone in human blood. Science 170:745-749.
- FRANTZ A.G., KLEINBERG D.L., y NOEL G.L. (1972)^a.- Physiological and pathological secretion of human prolactin studied by in vitro bioassay. En Lactogenic Hormones. Ed. G.E.W. Wolstenholme y J. Knight. p 137-150. Churchill Livingstone, Edimburgo y Londres.
- FRANTZ A.G., KLEINBERG D.L., y NOEL G.L. (1972)^b.- Studies on prolactin in man. Rec. Prog. Horm. Res. 28:527-573.
- FRANTZ W.L., y TURKINGTON R.W. (1972).- Formation of biologically active ¹²⁵I-prolactin by enzyme radioiodination. Endocrinology 91:1545-1548.

- FRANTZ A.G. (1973).- The regulation of prolactin secretion in humans. En *Frontieres in Neuroendocrinology*. Ed. W.F. Gannong y L. Martini. p 337-374. Oxford University Press. New York, Londres. Toronto.

- FRANTZ A.G., HABIF D.V., HYMAN G.A., SUH H.K., SASSIN J.F., ZIMMERMAN E.A., NOEL G.L., y KLEINBERG D.L. (1973).- Physiological and pharmacological factors affecting prolactin secretion, including its suppression by L-dopa in the treatment of breast cancer. En *Human Prolactin*. Ed. C. Robyn y J.L. Pasteels. p 273-290. Excerpta Medica/American Elsevier, Amsterdam y New York.

- FRANTZ A.G. (1976).- Bioassay and radioimmunoassay of prolactin. En *Hormones in Human Blood*. Ed. H.N. Antoniades. p 449-463. Harvard University Press. Cambridge.

- FRANTZ A.G. (1977).- The assay and regulation of prolactin in humans. En *comparative Endocrinology of Prolactin*. Ed Horst-Dieter Dellman, J.A. Johnson y David M. Klachko. p 95-133. Plenum Press. New York, Londres.

- FRANTZ A.G., y KLEINBERG D.L. (1978).- The pathophysiology of hyperprolactinemic states and the role of newer ergot compounds in their treatment. *Fed. Proc.* 37:2192-2196.

- FRANTZ A.G. (1979).- Rhythms in prolactin secretion. En *Endocrine Rhythms*. Ed. D.T. Krieger. p 175-186. Raven Press. New York.

- FREEMAN M.E., y NEILL J.D. (1972).- The pattern of prolactin secretion during pseudopregnancy in the rat: a daily nocturnal surge. *Endocrinology* 90:1292-1300.

- FREEMAN R., LEV-GUR M., BOYAR R.M., y SCHULMAN H. (1976).- Studies of maternal plasma prolactin and amniotic fluid prolactin. *Obstet. Gynecol.* 47:282-286.

- FREEMAN C.S., y TOPPER Y.J. (1978).- Progesterone is not essential to the differentiative potential of mammary epithelium in the male mouse. *Endocrinology* 103:186-192.
- FREEMAN M.E., y STERMAN J.R. (1978).- Ovarian steroid modulation of prolactin surges in cervically stimulated ovariectomized rats. *Endocrinology* 102:1915-1920.
- FREEMAN M.E. (1979).- A direct effect of the uterus on the surges of prolactin induced by cervical stimulation in the rat. *Endocrinology* 105:387-390.
- FRIESEN H., GUYDA H., y HARDY J. (1970).- Biosynthesis of human growth hormone and prolactin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 31:611-624.
- FRIESEN H., y GUYDA H. (1971).- Biosynthesis of monkey growth hormone and prolactin "in vitro". *Endocrinology* 88:1353-1362.
- FRIESEN H., GUYDA H., y HWANG P. (1971).- Prolactin synthesis in primates. *Nature (New Biol)*. 232:19-20.
- FRIESEN H., HWANG P., GUYDA H., TOLIS G., TYSON H., y MYERS R. (1972).- A Radioimmunoassay for human prolactin. En *Prolactin and Carcinogenesis*. Eds. A.R. Boyns y K. Griffiths p 64-80. Alfa-Omega-Alfa, Cardiff, Gales.
- FRIESEN H., WEBSTER B.R., HWANG P., GUYDA H., MUNRO R.E., y READ L. (1972).- Prolactin synthesis and secretion in a patient with the Forbes Albright syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 34:192-199.
- FRIESEN H., GUYDA H., y HWANG P. (1972).- Functional evaluation of prolactin: a guide to therapy. *J. Clin. Invest.* 51:706-709.
- FRIESEN H. (1972).- Prolactin: its physiologic role and therapeutic potential. *Hosp. Pract.* 7:123-128.

- FRIESEN H., BELANGER C., GUYDA H., y HWANG P. (1972).- The synthesis and secretion of placental lactogen and pituitary prolactin. En *Lactogenic Hormones*. Ed. G.E.W. Wolstenholme y J. Knight. p 83-103. Churchill Livingstone. Edimburgo y Londres.
- FRIESEN H., HWANG P., y GUYDA H. (1972).- The purification of human and monkey prolactin. En *Endocrinology. Proc. IV. Inter. Congress of Endocrinology*. Washington. Ed. R.O. Scow. p 610-615. Excerpta Medica/American Elsevier. Amsterdam y New York.
- FRIESEN H., SHOME B., BELANGUER C., HWANG P., GUYDA H., y MYERS R. (1972).- The synthesis and secretion of human and monkey placental lactogen (HPL and MPL) and pituitary prolactin (HPr and MPr). En *Growth and Growth Hormone*. Ed. A. Pecile y E.E. Müller. p 224-258. International Congress. Series No. 244. Excerpta Medica, Amsterdam.
- FRIESEN H., y HWANG P. (1973).- Human Prolactin. *Ann. Rev. Med.* 24:251-270.
- FRIESEN H., GUYDA H., y HWANG P. (1976).- Primate prolactins: human and monkey and clinical applications. En *Methods in Radioimmunoassay of Peptide Hormones*. Ed. R.S. Yalow. p 126-137 North-Holland. Amsterdam, Londres.
- FRIESEN H.G. (1976).- The role of prolactin in breast cancer. En *Breast Cancer: A Multidisciplinary Approach*. Eds. C.S.E. Arneault, P. Beurd y L. Israel. p 143-149. Springer Verlag. Berlin y New York.
- FURTH J., CLIFTON K.H. (1966).- Experimental pituitary tumors. En *The Pituitary Gland*. Eds. G.W. Harris y B.T. Donovan, p. 460-497. Butterworths, Londres.
- FURTH J. (1969).- Pituitary cybernetics and neoplasia. *Harvey Lectures* 63:47-71.

- FURTH J. (1972).- Prolactin and carcinogenesis. En Prolactin and Carcinogenesis. Ed. A.R. Boyns y K. Griffiths. p 137-142. Alfa-Omega-Alfa. Cardiff, Gales.
- FURTH J. (1973).- The role of prolactin in mammary carcinogenesis. En Human Prolactin Ed. J.L. Pasteels y C. Robyn. p 233-248. Excerpta Medica. New York.
- FUXE K., y HÖKFELT T. (1970).- En The Hypothalamus. Ed. L. Martini, M. Motta, y F. Fraschini. p 123-138. Academic Press, New York.
- FUXE K., HÖKFELT T., y NILSSON O. (1972).- The affect of constant light and androgen-sterilization on the amine turnover of the tubero-infundibular dopamine-neurons: blockade of cyclic activity and induction of a persistent high dopamine turnover in the median eminence. Acta Endocrinológica. 69:625-639.
- FUXE K., HÖKFELT T., ENEROTH P., GUSTAFSSON J.A., y SKETT P. (1977).- Prolactin-like immunoreactivity: localization in new terminals of rat hypothalamus. Science 196:899-900.
- FUXE K., ANDERSON K., HÖKFELT T., AGNATI L.F., ÖGREN S.O., ENEROTH P., GUSTAFSSON J.A., y SKETT P. (1978).- Prolactin-monoamino interactions in rat brain and their importance in regulation of LH and prolactin secretion. En Progress in Prolactin. Physiology and Pathology. Ed. C. Robyn y N. Harter. p 95-110. Elsevier North-Holland, Amsterdam, New York.
- FUXE K., FREDHOLM B.B., ÖGREN S.O., AGNATI L.F., HÖKFELT T., y GUSTAFSSON J.A. (1978).- Pharmacological and biochemical evidence for the dopamine agonistic effect of bromocriptine. Acta Endocrinológica 88. Sup. 216:27-56.
- FUXE K., FREDHOLM R.B., ÖGREN S., AGNATI L.F., HÖKFELT T., y GUSTAFSSON J. (1978)^a.- Ergot drugs and central monoaminergic mechanisms: a histochemical, biochemical and behavioral analysis. Fed. Proc. 37:2181-2191.

- GALA R.R., y LOGINSKY S.J. (1973).- Correlation between serum prolactin levels and incidence of mammary tumors induced by 7,12-dimethylbenzanthracene in the rat. J. Natl. Cancer Inst. 51:593-597.
- GALLO R.V., RABII J., y MOBERG G.P. (1975).- Effect of methysergide, a bloque of serotonin receptors, on plasma prolactin levels in lactating and ovariectomized rats. Endocrinology 97:1096-1105.
- GARCIA BARRENO P. (1976).- Factores etiopatogénicos del cancer de mama. Rev. Clin. Española. 143:307-321 y 323-338.
- GARCIA M., y ROCHEFORT H. (1978).- Androgen effects mediated by estrogen receptor in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced rat mammary tumors. Cancer Res. 38:3922-3929.
- GARTHWAITE T.L., y HAGEN T.C. (1979).- Evidence that serotonin stimulates a prolactin-releasing factor in the rat. Neuroendocrinology 29:215-220.
- GASS G.H., BROWN J., y OKEY A.B. (1974).- Carcinogenic effects of oral diethylstilbestrol on C3H male mice with and without the mammary tumor virus. J. Natl. Cancer Inst. 53:1369-1370.
- GAUTVIK K.M., y TASHJIAN A.H. (1973).- Effects of cations and colchicine on the release of prolactin and growth hormone by functional pituitary tumor cells in culture. Endocrinology 93:793-799.
- GAUTVIK K.M., TASHJIAN A.H., KOURIDES I.A., WEINTRAUB B.D., GRAEBER C.T., MALOOF F., SUZUKI K., y ZUCKERMAN J.E. (1974).- Thyrotropin-releasing hormone is not the sole physiologic mediator of prolactin release during suckling. New Engl. J. Med. 290:1162-1165.

- GAUTVIK K.M., y KRIZ M. (1976).- Effects of prostaglandins on prolactin and growth hormone synthesis and secretion in cultured rat pituitary cells. *Endocrinology* 98:352-358.
- GAY V.L., y TOMACARI R.L. (1974).- Follicle-stimulating hormone secretion in the female rat: cyclic release is dependent on circulating androgen. *Science* 184:75-77.
- GELATO M., MARSHALL S., BOUDREAU M., BRUNI J., CAMPBELL G.A., y MEITES J. (1975).- Effects of thyroid and ovaries on prolactin binding activity in rat liver. *Endocrinology* 96:1292-1296.
- GERSHENGORN M.C., MARCUS-SAMUELS B.E., y GERAS E. (1979).- Estrogens increase the number of thyrotropin-releasing hormone receptors on mammotropic cells in culture. *Endocrinology* 105: 171-176.
- GIANNATTASIO G., ZANINI A., y MELDOLESI J. (1975).- Molecular organization of rat prolactin granules. I. In vitro stability of intact and "membraneless" granules. *J. Cell. Biol.* 64:246-250.
- GIBORI G., y RICHARDS J.S. (1978).- Dissociation of two distinct luteotropic effects of prolactin: regulation of luteinizing hormone-receptor content and progesterone secretion during pregnancy. *Endocrinology* 102:767-774.
- GIBSON S.L., y HILL R. (1976).- Influence of hormonal alteration of host on estrogen binding capacity in 7,12-dimethylbenz (a) anthracene-induced mammary tumors. *Cancer Res.* 36-3736-3741.
- GIUSTI G., BASSI F., BORSI L., CATTANEO S., GIANNOTTI P., LANZA L., PAZZAGLI M., VIGIANI C., y SERIO M. (1977).- Prolactin and human reproduction. Eds. P.G. Crosignani y C. Robyn. p 239-244. Academic Press. New York.

- GIUSTI G., BASSI F., FORTI G., GIANNOTTI P., CALABRESI E. PAZZAGLI M., FIORELLI G., MANNELLI M., MISCIGLIA N., y SERIO M. (1978).- Effects of prolactin on androgen secretion by the human adrenal cortex. En Progress in Prolactin: Physiology and Pathology. Ed. C. Robyn y M. Harter. p 293-304. Elsevier North-Holland. Amsterdam, New York.
- GOLD M.S., DONABEDIAN R.K., y REDMOND D.E. (1978).- Effect of piperoxane on serum prolactin: possible role of epinephrine-mediated synapses in the inhibition of prolactin secretion. Endocrinology 102: 1183-1189.
- GOLD M.S., REDMOND D.E., y DONABEDIAN R.K. (1979).- The effects of opiate agonist and antagonist on serum prolactin in primates: possible role for endorphins in prolactin regulation. Endocrinology 105:284-289.
- GOLD P., FREEMAN J.O., y GOLD J. (1972).- Human antiCEA antibodies detected by radioimmuno-electrophoresis. Nature (New Biol). 239: 60-62.
- GOLDMAN A.S., SHAPIRO B.H., y NEUMANN F. (1976).- Role of testosterone and its metabolites in the differentiation of the mammary gland in rats. Endocrinology 99:1490-1495.
- GOLDSTEIN M., LEE J.Y., NAKAMURA S., BATTISTA A.F., LIEBERMAN A., FUXÉ K. (1978).- Dopaminephilic properties of ergot alkaloids. Fed. Proc. 37:2202-2206.
- GOLDSTEIN J., Van HAELST L., BRUNO O.D. y L'HERMITE M. (1979).- Effect of cyproheptadine on thyrotrophin and prolactin secretion in normal man. Acta Endocrinológica 92:205-213.
- GOLUBOFF L.G., y EZRIN C. (1969).- Effect of pregnancy on the somatotroph and the prolactin cell of the human adenohypophysis. J. Clin. Endocrinol. Metab. 29:1533-1538.

- GOMEZ E.T., y TURNER C.W. (1936).- Effect of hypophysectomy and replacement therapy on lactation in guinea pigs. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 34:404-406. Citado por TURNER C.W. (1977).
- GOMEZ PAN A., y HALL R. (1977).- Somatostatin (growth hormone-release inhibiting hormone). Clin. Endocrinol. Metab. 6:181-200.
- GOODYER C., HALL C. S.G., GUYDA H., ROBERT F., y GIROUD C.J.P. (1977).- Human fetal pituitary in culture: hormone secretion and response to somatostatin, luteinizing hormone releasing factor, thyrotropin releasing factor and dibutyryl cyclic AMP. J. Clin. Endocrinol. Metab. 45:73-85.
- GORINS A., y NETTER A. (1974).- La prolactine. Son dosage radio-immunologique dans les cancer du sein et les mastopathies benignes de la femme. Nouv. Press. Med. 3:73-75.
- GRAF K.J., NEUMANN F., y HOROWSKI R. (1976).- Effect of ergot derivative lisuride hydrogen maleate on serum prolactin concentrations in female rats. Endocrinology 98:598-605.
- GRAF K.J., HOROWSKI R., y EL ETREBY M.F. (1977).- Effect of prolactin inhibitory agents on the ectopic anterior pituitary and the mammary gland in rats. Acta Endocrinológica 85:267-278.
- GRAF K.J., SCHMIDT-GOLLWITZER M., KOCH U.J. LORENZ F., y HAMMERSTEIN J. (1978).- Hyperprolactinemia induced by cyproterone acetate in human subjects. Acta Endocrinológica 87, sup 215:96.
- GRANDISON L., y MEITES J. (1976).- Evidence for adrenergic mediation of cholinergic inhibition of prolactin release. Endocrinology 99:775-779.
- GRANDISON L., HODSON C., CHEN H.T., ADVIS J., SIMPKINS J., MEITES J. (1977).- Inhibition by prolactin of post-castration rise in LH. Neuroendocrinology 23:312-322.

- GRANDISON L., y GUIDOTTI A. (1979).- Aminobutyric acid receptor function in rat anterior pituitary: evidence for control of prolactin release. *Endocrinology* 105:754-759.
- GREELEY G.H., v KIZER J.S. (1979).- Evidence for adrenal involvement in the modulatory role of prolactin in Luteinizing hormone secretion in the male rat. *Endocrinology* 104:948-953.
- GREENBLATT R.B., COLLE M.L., y MAHESH V.B. (1976).- Ovarian and adrenal steroid production in the postmenopausal woman. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 47:383-387.
- GREENWOOD F.C., JAMES V.H.T., MEGGITT B.I., MILLER J.D., y TAILOR P.H. (1968).- Pituitary function in breast cancer. En *Prognostic Factors in Breast Cancer*. Ed. A.P.M. Forrest y P.B. Kunker. p 409. Williams and Wilkins. Baltimore.
- GREENWOOD F.C. (1972).- Evidence for the separate existence of a human pituitary prolactin: a review and results. En *Growth and Growth Hormone*. Ed A. Pecile y E.E. Muller. p 91-97. *Excerpta Medica*. Amsterdam.
- GREENWOOD F.C., SILER T.M., BRYANT G.D., y MORGENSTERN L.L. (1972).- Radioimmunoassay of human plasma prolactin: applications and problems. En *Prolactin and Carcinogenesis*. Ed. A.R. Boyns y K. Griffiths. p 98-106. Alfa-Omega-Alfa, Cardiff, Gales.
- GREENWOOD F.C., LINO C.G., y BRYANT G.D. (1973).- Current radioimmunoassay for human prolactin: a critical appraisal. En *Human Prolactin*. Ed. J.L. Pasteels y C. Robyn. p 82-89. *Excerpta Medica* Amsterdam.
- GREIBROKK T., HANSEN J., KNUDSEN R., LAM Y.K., y FOLKERS F. (1975).- On the isolation of a prolactin inhibiting factor (hormone). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 67:338-344.

- GREN M.R., y PASTEWKA J.V. (1978).- Lactoferrin is a marker for prolactin response in mouse mammary explants. *Endocrinology* 103: 1510-1513.
- GRIMM Y., y REICHLIN S. (1973).- Thyrotropin-releasing hormone (TRH): neurotransmitter regulation of secretion by mouse hypothalamic tissue in vitro. *Endocrinology* 93:626-631.
- GRINDELAND R.E., Mc CULLOCH W.A., y ELLIS S. (1969).- Radioimmunoassay of rat prolactin. En Program of the 51 Meeting of the Endocrine Society. p 44. Springfield. Illinois.
- GROSVENOR C.E., y TURNER C.W. (1958).- Pituitary lactogenic hormone concentration and milk secretion in lactating rats. *Endocrinology* 63:535-539.
- GROSVENOR C.E., y TURNER C.W. (1958).- Effects of oxytocin and blocking agents upon pituitary lactogen discharge in lactating rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 97:463-465. Citado por TURNER C.W. (1977).
- GUDELSKY G.A., ANNUNZIATO L., MOORE K.E. (1977).- Increase in dopamine content of the rat median eminence after long-term ovariectomy and its reversal by estrogen replacement. *Endocrinology* 101:1894-1897.
- GUDELSKY G.A., y PORTER J.C. (1979).- Release of newly synthesized dopamine into the hypophyseal portal vasculature of the rat. *Endocrinology* 104:583-587.
- GUERIN M.A., y LOIZZI R.F. (1978).- Inhibition of mammary gland lactosa secretion by colchicine and vincristine. *Am. J. Physiol.* 235:C177-C180.
- GUSTAFSSON J.A. y STENBERG A. (1975).- Influence of prolactin on the metabolism of steroid hormone in rat liver and adrenals. *Acta Endocrinológica* 78:545-553.

- GUYDA H., y FRIESEN H. (1971).- The separation of monkey prolactin from monkey growth hormone by affinity chromatography. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 42:1068-1075.
- GUYDA H., HWANG P., y FRIESEN H. (1971).- Immunologic evidence for monkey and human prolactin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 32: 120-123.
- HAAGENSEN C.S. (1973).- La clasificación clínica del carcinoma de mama y la elección del tratamiento en Enfermedades de la Mama Ed. C.S. Haagensen. p 670-728. Editorial Beta. S.P.L. Buenos Aires.
- HAEGELE P., PETIT J.C., HERDLY J., PILLEMENT P., y EBER M. (1978).- Diagnostic and prognostic use of carcinoembryonic antigen in human mammary carcinoma. En *Clinical Application of Carcinoembryonic antigen assay*. Ed. B.P. Krebs, C.M. Lalanne y M. Schneider. p 243-254. Excerpta Medica, Amsterdam, Oxford.
- HAGEN E.O. (1966).- The induction of mammary tumors in male mice by pituitary implants. *Arch. Pathol.* 82:425-429.
- HAGEN C., OLGAARD K., McNEILLY A.S. y FISHER R. (1976).- Prolactin and the pituitary gonadal axis in male uraemic patients on regular dialysis. *Acta Endocrinológica* 82:29-38.
- HAGEN C., KEHLET H., y BINDER Ch. (1978).- Diurnal variation in plasma cortisol and prolactin in patients with Cushing's syndrome. *Acta Endocrinológica* 88:737-743.
- HAHN D.W., y TURNER C.W. (1966).- Effect of corticosterone and aldosterone upon milk yield in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 121: 1056-1058. Citado por TURNER C.W. (1977).
- HAMMARSTROM S., ENGVALL E., y SUNDBLAD G. (1976).- En *Health Control in Detection of Cancer*. Ed. H. Bostrom, T. Larson y N. Ljungstedt. p 24-39. Almqvist y Wiksell Estocolmo. Citado por PRITCHARD y col. 1978.

- HANDWERGER S., PANG E.C., ALOJ S.M., y SHERWOOD L.M. (1972).- Correlations in the structure and function of human placental lactogen and human growth hormone. Modification of the disulfide bonds. *Endocrinology* 91:721-727.
- HANSEN H.J., LANCE K.P., y KRUPY J. (1971).- Demonstration of an ion sensitive antigenic site on carcinoembryonic antigen using zirconyl phosphate gel. *Clin. Res.* 19:143.
- HAOUR F., y LANG B. (1979).- Role of recepteurs hormonaux dans la regulation du corps jaune. *Ann. d'Endocrinol. (Paris)*. 40:264-276.
- HARADA Y. (1976).- Pituitary role in the growth of metastasizing MRMT-1 mammary carcinoma in rats. *Cancer Res.* 36:18-22.
- HARAN-GHERA N. (1961).- The role of mammothrophin in mammary tumor induction in mice. *Cancer Res.* 21:790-795.
- HARMS P.G., OJEDA S.R., y Mc CANN S.M. (1973).- Prostaglandin involvement in hypothalamic control of gonadotropin and prolactin release. *Science* 181:760-761.
- HARMS P.G., LANGLIER P., y Mac CANN S.M. (1975).- Modification of stress-induced prolactin release by dexamethasone or adrenalectomy. *Endocrinology* 96:475-478.
- HARRIS A.R.C., SMITH M.S., ALEX S., SALHANICK H.A., VAGENAKIS A. G., y BRAVERMAN L.E. (1978).- Pyridoxine (B₆) induced inhibition of prolactin release in the female rat. *Endocrinology* 102:362-366.
- HARVEY S., SCANES C.G., CHADWICK A., y BOLTON N.J. (1978).- The effect of thyrotropin-releasing hormone (TRH) and somatostatin (GHRH) on growth hormone and prolactin secretion in vitro and in vivo in the domestic fowl. *Neuroendocrinology* 26:249-260.
- HAUG E., y GAUTVIK K.M. (1976).- Radioimmunoassay of rat prolactin and its use in measuring prolactin production by cultered pituitary cells. *Acta Endocrinológica* 82:282-297.

- HAUG E., y GAUTVIK K.M. (1976)^a.- Effects of sex steroids on prolactin secreting rat pituitary cells in culture. *Endocrinology* 99:1482-1489.
- HAUG E. (1979).- Progesterone supression of estrogen-stimulated prolactin secretion and estrogen receptor levels in rat pituitary cells. *Endocrinology* 104:429-437.
- HAYASHIDA T., LICHT P., y NICOLL C.S. (1973).- Amphibian pituitary growth hormone and prolactin. Immunochemical relatedness to rat growth hormone. *Science* 182:169-171.
- HAYEK A., DRISCOLL S.G., y WARSHAW J.B. (1973).- Endocrine studies in anencephaly. *J. Clin. Invest.* 52:1636-1641.
- HEALY D.L., y BURGER H.G. (1978).- Sustained elevation of serum prolactin by metoclopramide: a clinical model of idiopathic hyperprolactinemia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 46:709-714.
- HEINOMEN O.P., SHAPIRO S., TUOMINEN L., y TURUNEN M.I. (1974).- Reserpine use in relation to breast cancer. *Lancet* 2:675-677.
- HEMS G. (1970).- Epidemiological characteristics of breast cancer in middle and late stage. *British. J. Cancer.* 24:226-234.
- HENDERSON B.E., GERKINS V., ROSARIO I., CASAGRANDE J., y PIKE M. (1975).- Elevated serum levels of estrogen and prolactin in daughters of patients with breast cancer. *New Engl. J. Med.* 293: 790-795.
- HERBERT D.C., HAYASHIDA T. (1970).- Prolactin localization in the primate pituitary by immunofluorescence. *Science* 169:378-379.
- HERBERT D.C., CISNEROS P.L., y RENNELS E.G. (1977).- Morphological changes in prolactin cells of male rats after testosterone administration. *Endocrinology* 100:487-495.

- HERBERT D.C., ISHIKAWA H., y RENNELS E.G. (1979).- Evidence for the autoregulation of hormone secretion by prolactin. *Endocrinology* 104:97-100.

- HERLANT M., y PASTEELS J.L. (1976).- Histophysiology of human anterior pituitary. *Methods. Achiev. Exp. Pathol* 3:250-260.

- HEUSON J.C., WAELBROECH-Van GAVER C., y LEGROS N. (1970).- Growth inhibition of rat mammary carcinoma and endocrine changes produced by 2-Br- α -ergocryptine, a suppressor of lactation and nidation. *European J. Cancer* 6:353-356.

- HEUSON J.C., COUNE A., y STAQUET M. (1972).- Clinical trial of 2-Br- α -Ergocryptine (CB-154) in advanced breast cancer. *European J. Cancer* 8:155-156.

- HILF R., BELI C., GOLDENBER H., y MICHEL I. (1971).- Effect of fluphenazine HCL on R3230AC mammary carcinoma and mammary gland of the rat. *Cancer Res.* 31:1111-1117.

- HILF R., MICHEL I., y BELL C. (1976).- Biochemical and morphological response of normal and neoplastic mammary tissue to hormonal treatment. *Recent. Prog. Horm. Res.* 23:229-295.

- HILL P., WINDER E.L., KUMAR H., HELMAN P., RONA G., y KUNO K. (1976).- Prolactin levels in populations at risk for breast cancer. *Cancer Res.* 36:4102-4106.

- HILL-SAMLI M., y Mac LEOD R.M. (1974).- Interaction of thyrotropin-releasing hormone and dopamine on the release of prolactin from the rat anterior pituitary in vitro. *Endocrinology* 95:1189-1192.

- HILLIARD J., y EATON L.W.M. (1971).- Estradiol 17 β , progesterone and 20 α hidroxypregn-4-en-3-ona in rabbit ovarian venous plasma. II. From mating trough implantation. *Endocrinology* 89:582-527.

- HIRAI H. (1977).- A collaborative clinical study of carcinoembrvoni antigen in Japan. *Cancer Res.* 37:2267-2274.
- HIRVONEN E., RANTA T., y SEPPALA M. (1976).- Prolactin and thyrotropin releasing hormone in patients with secondary amenorrhea the effect of bromocriptine. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 42:1024-1030.
- HOBBS J.R., De SOUZA I., SALIH H., y RAGGATT P. (1974).- Selection of hormone-dependent breast cancers. *Brit. J. Surg.* 61:785-786.
- HOFFMAN A.R., SASTRY B.V.R., y AXELROD J. (1979).- Catechol estrogen. Synthesis in rat tissues in vitro. *Endocrinology* 104: 209 A.
- HÖKFELT T. (1967).- The possible ultrastructural identification of tuberoinfundibular dopamine-containing nerve endings in the median eminence of the rat. *Brain Res.* 5:121-123. Citado por Mac LEOD R.M. 1976.
- HÖKFELT T., y FUXE K. (1972).- Effects of prolactin and ergot alkaloids on the tuberoinfundibular dopamine (DA) neurons. *Neuroendocrinology* 9:100-122.
- HOLCOMB H.H., COSTLOW M.E., BUSCHOW R.A., y MIGUIRE W.L. (1977).- Prolactin binding in rat mammary gland during pregnancy and lactation. *Biochim. Biophys. Acta* 428:104-112.
- HOLDAWAY I.M., y FRIESEN H.G. (1976).- Correlation between hormone binding and growth response of rat mammary tumor. *Cancer Res.* 36: 1562-1568.
- HOLDAWAY I.M., y FRIESEN H.G. (1977).- Hormone binding by human mammary carcinoma. *Cancer Res.* 37:1946-1952.
- HOLL T.C. (1974).- Ectopic synthesis and paraneoplastic syndromes. *Cancer Res.* 34:2083-2091.

- HOLLANDER V.P., y DIAMOND E.J. (1978).- Hormonal control in animal breast cancer. En *Endocrine Control in Neoplasia*. Ed. R. K. Sharma y W.E. Criss p 39-119. Raven Press, New York.
- HOLST S., y TURNER C.W. (1939).- Lactogen content of the anterior pituitary of growing rabbits and guinea pigs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 41:198-200. Citado por TURNER C.W. (1977).
- HOLT J.A., RICHARDS J.S., MIDGLEY A.R., y REICHERT L.E. (1976).- Effect of prolactin on LH receptor in rat luteal cells. *Endocrinology* 98:1005-1013.
- HOLTZMAN S., STONE J.P., y SHELLABARGER C.J. (1979).- Influence of diethylstilbestrol treatment on prolactin cells of female AC1 and Sprague-Dawley rats. *Cancer Res.* 39:779-784.
- HOROWSKI R., y GRÄF K.J. (1975).- Prolactin secretion in rats under the influence of different agents acting on the dopaminergic system. *Acta Endocrinológica. Sup.* 199:203.
- HOROWSKI R., y WACHTEL H. (1976).- Direct dopaminergic action of lisuride hydrogen maleate, an ergot derivative, in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 36:373-376.
- HOROWSKI R., y GRÄF K.J. (1976).- Influence of dopaminergic agonist and antagonists on serum prolactin concentrations in the rat. *Neuroendocrinology* 22:275-286.
- HORROBIN D.F., CURSTYN P.B., LLOYD I.J., DURKIN N., LIPTON A., y MUIRURI K.L. (1971).- Actions of prolactin on human renal function. *Lancet* 2:352-354.
- HORROBIN D.F., MTABAJI J.P., y MANKU M.S. (1976).- Physiological cortisol levels block the inhibition of vascular reactivity produced by prolactin. *Endocrinology* 99:406-410.

- HORROBIN D.F. (1977).- En Prolactin Vol. 5 p 45. Churchill Livingstone Montreal.

- HORROBIN D.F., MANKU M.S., KARMALI A.I., ALLY M., KARMAZYN M., MORGAN C.O., y SWIF T. (1978).- Prostaglandins as second messengers of prolactin action. Implications for studies on prolactin. En Progress in Prolactin: Physiology and Pathology. Ed. C. Robyn y M. Harter. p 189-200. Elsevier/North-Holland, Amsterdam, New York.

- HORWITZ K.A., y Mc GUIRE W.C. (1977).- Progesterone and progesterone receptors in experimental breast cancer. Cancer. Res. 37:1733-1738.

- HUGGINS C. (1978).- Two principles in endocrine therapy of cancers: Hormone deprivation and hormone interference. En Endocrine Control in Neoplasia. Ed R.K. Sharma y W.E. Criss. p 1-9 Raven Press. New York.

- HUMMEL B.C.W., BROWN G.M., HWANG P., y FRIESEN H. (1975).- Human and monkey prolactin and growth hormone: separation of polymorphic forms by isoelectric focusing. Endocrinology 97:855-867.

- HUNTER W.M., y GREENWOOD F.C. (1962).- Preparation of iodine-131 labelled human growth hormone of high specific activity. Nature 194:495-497.

- HUNTER W.M. (1976).- Growth hormone. En Hormone Assay and their Clinical Application. Ed. J.A. Loraine y E. Trevor Bell. p 221-284. Churchill-Livingstone. Edimburgo, Londres, New York.

- HURST V., y TURNER C.W. (1942).- Lactogenic hormone content of anterior pituitary gland of albino mouse as compared to other species. Endocrinology 31:334-339.

- HURST V., MEITES J., y TURNER C.W. (1942).- Assay of adrenals for lactogenic hormones. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 49:592-594. Citado por TURNER C.W. (1977).

- HUTCHISON R.E. (1978).- Prolactin and parental behavior in birds and mammals. En Progress in Prolactin. Physiology and Pathology. Eds. C. Robyn y M. Harter. p 243-252. Elsevier/North-Holland, Amsterdam, New York.
- HWANG P., FRIESEN H., HARDY J., y WILANSKY D. (1971).- Biosynthesis of human growth hormone and prolactin by normal pituitary glands and pituitary adenomas. J. Clin. Endocrinol. Met. 33:1-7.
- HWANG P., GUYDA H., y FRIESEN H. (1971).- A radioimmunoassay for human prolactin. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 68:1902-1906.
- HWANG P., GUYDA H., y FRIESEN H.G. (1972).- Purification of human prolactin. J. Biol. Chem. 247:1955-1958.
- HWANG P., ROBERSTON M., GUYDA H., y FRIESEN H. (1973).- The purification of human prolactin from frozen pituitary glands. J. Clin. Endocrinol. Metab. 36:1110-1118.
- HWANG P., MURRAY J.B., JACOBS J.W., NIALL H.D., y FRIESEN H. (1974).- Human amniotic fluid prolactin. Purification by affinity chromatography and amino-terminal sequence. Biochemistry 13:2354-2358.
- HWANG P., FRIESEN H.G., y GUYDA H.J. (1974).- Assay of human prolactin and factors affecting its serum concentrations. En Mammary Cancer and Neuroendocrine Therapy. Ed. B.A. Stoll. p 179-196. Butterworths. Londres.
- HYMER W.C., SYNDER J., WILFINGER W., SWANSON N., and DAVIS J.A. (1974).- Separation of pituitary mammothrophs from the female rat by velocity sedimentation at unit gravity. Endocrinology, 95: 107-122.
- HYMER W.C., Mc SHAN W.H., y CHRISTIANSEN R.B. (1961).- Electron microscope studies of the anterior pituitary glands from lactating and estrogen-treated rats. Endocrinology 69:81-90.

- HYMER W.C., SNYDER J., WILFINGER W., SWANSON N., y DAVIS J.A. (1974).- Separation of pituitary mammothrophs from the female rat by velocity sedimentation at unit gravity. *Endocrinology* 95:107-122.
- HYMER W.C., SNYDER J., WILFINGER W., BERGLAND R., FISHER B., y PEARSON O. (1976).- Characterization of mammothrophs separated from the human pituitary gland. *J. Natl. Cancer. Inst.* 57:995-1002.
- HYYPPÄ M., y WURTMAN R.J. (1973).- Biogenic amines in the pituitary gland: What is their origin and function?. *Pituitary indoleamine En Drug Effects on Neuroendocrine Regulation*. Ed. E. Zimmerman, W.H. Gispen, B.H. Marks y D. De Wied, p 211-215. Elsevier, New York.
- IP.C., y DAO T.L. (1978).- Effect of estradiol and prolactin on galactosyl transferase and α -Lactalbumin activities in rat mammary gland and mammary tumor. *Cancer Res.* 38:2077-2083.
- ISAAC R., MERCERON R.E., CAILLENS G., RAYMOND J.P., y ARDAILLOU R. (1978).- Effect of parathyroid hormone on plasma prolactin in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 47:18-23.
- ISAACSON P., y JUDD M.A.(1977).- Immunohistochemistry of carcino-embryonic antigen: characterization of cross-reactions with other glycoproteins. *Gut* 18:779-785.
- IWASAKI Y., KATO Y., OHGO S., ABE H., IMURA H., HIRATA F., SENOH S. TOKUYAMA T., y HAYAISHI O. (1978).- Effects of indoleamines and their newly identified metabolites on prolactin release in rats. *Endocrinology.* 103:254-258.
- JACOBS L.S., SNYDER P.J., WILBERG J.F., UTIGER R.D., y DAUGHADAY W.H. (1971).- Increased serum prolactin after administration of synthetic thyrotropin-releasin hormone (TRH) in man. *J. Clin. Endocrinol. Met.* 33:996-998.

- JACOBS L.S., MARIZ I.K., y DAUGHADAY W.H. (1972).- A mixed heterologous radioimmunoassay for human prolactin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 34:484-490.
- JACOBS L.S. (1974).- Prolactin. En *Methods of Hormone Radioimmunoassay*. Eds. B. M. Jaffe y H.R. Behrman. p 87-102. Academic Press, New York.
- JACOBS L.S. (1977).- The role of prolactin in mammatogenesis and lactogenesis. En *Comparative Endocrinology of Prolactin*. Ed. H. D. Dellman, J.A. Johnson y D.M. Klachko. p 173-191. Plenum Press, New York y Londres.
- JAFFE R.B., L'HERMITE M., y MIDGLEY A.R.H. (1972).- Discussions on studies on prolactin in man. *Recent. Prog. Hormone Res.* 28:574.
- JAKESZ R., KOLB R., REINER G., CHAPUT B., y SCHEMPER M (1979).- The relationship between CEA-serum level and CEA-content in tumors of the human breast. En *Carcino-Embryonic Proteins*. Vol. II. Ed. F.G. Lehmann p 127-132. Elsevier, North-Holland. Amsterdam.
- JAQUET P., GRISOLI F., GUBOUT M., LISSITZKY J.C., y CARAYON P. (1978).- Prolactin secreting tumors. Endocrine status before and after surgery in 33 women. *J. Clin. Endocrinol. Met.* 46:459-466.
- JARA ALBARRAN A. (1970).- Cortisol en plasma. Tesis Doctoral. Universidad Complutense. Madrid.
- JENSEN E.V., y De SOMBRE E.R. (1972).- Estrogens and progestins. En *Biochemical Actions of Hormones*. Ed. G. Litwack. Vol 2. p 215-255. Academic Press. New York, Londres.
- JENSEN E.V., y De SOMBRE E.R. (1973).- Estrogen-receptor interaction. *Science* 182:126-134.
- JENSEN H.M., RICE J.R., y WELLINGS S.R. (1976).- Preneoplastic lesions in the human breast. *Science*. 191:295-297.

- JESKE W., (1979).- The effect of metoclopramide, TRH and L-dopa on prolactin secretion in pituitary adenoma and in "functional" galactorrhea syndrome. *Acta Endocrinológica* 91:385-396.
- JICK H., SLONE D., SHAPIRO S., HEINONEN O.P., HARTZ S.C., MIETTINEN O.S., VESSEY M.P., LAWSON D.H., y MILLER R.R. (1974).- Reserpine and breast cancer. *Lancet* 2:669-671.
- JIMENEZ A.E., VOOGT J.L., y CARR L.A. (1977).- Plasma luteinizing hormone and prolactin levels and hypothalamic catecholamine synthesis in steroid-treated ovariectomized rats. *Neuroendocrinology* 23:341-351.
- JIMENEZ A.E., VOOGT J.L., y CARR L.A. (1978).- L-3-4 dihydroxyphenylalanine (L-dopa) as an inhibitor of prolactin release. *Endocrinology* 102:166-174.
- JOBIN M., FERLAND L., y LABRIE F. (1976).- Effect of pharmacological blockade of ACTH and TSH secretion on the acute stimulation of prolactin release by exposure to cold and ether stress. *Endocrinology* 99:146-151.
- JOHANSSON R. (1976).- Effect of prolactin, growth hormone and insulin on the uptake and binding of dihydrotestosterone to the cultured rat ventral prostate. *Acta Endocrinológica* 81:854-864.
- JONES G.E., BROWNSTONE A.D., y BOYNS A.R. (1976).- Isolation of canine prolactin by polyacrylamide gel electrophoresis. *Acta Endocrinológica* 82:691-705.
- JONES G.E., y BOYNS A.R. (1976).- Oestradiol stimulation of prolactin release from canine pituitary in culture. *Acta Endocrinológica* 82:706-709.
- JONES M.K., RAMSAY I.D., BOOTH M., y COLLINS W.P. (1977).- Hormone concentrations in postmenopausal patients with breast cancer. *Clin. Oncol.* 3:177.

- JORDAN R.M., y KENDALL J.N. (1978).- Dissociation of plasma and CSF prolactin heterogeneity. *Acta Endocrinológica* 89:38-47.
- JORDAN V.C. (1979).- The pharmacology of Tamoxifen. En *Antihormones*. Ed. M.K. Agarwal. p 235-252. Elsevier, North-Holland, Amsterdam, New York.
- JOSIMOVICH J.B., BOCELLA L., y LEVITT M.J. (1971).- Detection of a lactogenic antigen in serum by antibodies to chemically modified human chorionic somatomammotropin. *J. Clin. Endocrinol.* 33:77-86.
- JOSIMOVICH J.B., WEISS G., y HUTCHINSON D.L. (1974).- Sources and disposition of pituitary prolactin in maternal circulating amniotic fluid, fetus and placenta in the pregnant Rhesus monkey. *Endocrinology* 94:1364-1371.
- JOSIMOVICH J.B., WEFISKO K., BOCELLA L., y TOBON H. (1977).- Binding of prolactin by fetal Rhesus cell membrane fractions. *Endocrinology* 100:557-563.
- JOUVET M (1974).- Monoaminergic regulation of the sleep-waking cycle in the cat. En *The Neurosciences, Third study Program*. Ed. F.D. Schmith y F.G. Worden p 499. M.I.T. Press, Cambridge.
- JUVERT A.V., TALBOTT T.M., y MAYCROFT T.M. (1978).- Characteristics of adenocarcinomas of the colorectum with low levels of preoperative plasma carcinoembryonic antigen (CEA). *Cancer* 42:635-639.
- KAGANOWICZ A., FARKOUH N.H., FRANTZ A.G., y BLAUSTEIN A.U. (1979).- Ectopic human growth hormone in ovaries and breast cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 48:5-8.
- KALRA S.P., KALRA P.S., CHEN C.L., y CLEMENS A. (1978).- Effect of norepinephrine synthesis inhibitors and a dopamine agonist on hypothalamic LH-RH. Serum gonadotrophin and prolactin levels in gonadal steroid treated rats. *Acta Endocrinológica* 89:1-9.

- KAMBERI I.A., MICAL R.S., y PORTER J.C. (1971)^a.- Effect of anterior pituitary perfusion and intraventricular injection of catecholamines on prolactin release. *Endocrinology* 88:1012-1020.
- KAMBERI I.A., MICAL R.S., y PORTER J.C. (1971)^b.- Effects of melatonin and serotonin on the release of FSH and prolactin. *Endocrinology* 88:1288-1293.
- KAMBERI I.A., MICAL R.S., y PORTER J.C. (1971)^c. Pituitary portal vessel infusion of hypothalamic extract and release of LH, FSH, and prolactin. *Endocrinology* 88:1294-1299.
- KAMBERI I.A., MICAL R.S. y PORTER J.C. (1971).- Hypophysial portal vessel infusion: in vivo demonstration of LRF, FRF, and PIF in pituitary stalk plasma. *Endocrinology* 89:1042-1046.
- KANEMATSU S., HILLIARD J., y SAWYER C.H. (1963).- Effect of reserpine on pituitary prolactin content and its hypothalamic site of action in the rabbit. *Acta Endocrinologica* 44:467-474.
- KANN G., CARPENTIER M.C., FEBRE J., MARTINET J., MAUBON M., MEUSNIER C., PALY J., y VERMEIRE N. (1978).- Lactation and prolactin in sheep, role of prolactin in initiation of milk secretion. *En Progress in Prolactin. Physiology and Pathology*. Eds. C. Robyn y M. Harter P. 201-212. Elsevier North-Holland, Amsterdam, New York.
- KAPLAN S.L., GRUMBACH M.M., y AUBERT M.L. (1976).- The ontogenesis of pituitary hormones and hypothalamic factors in the human fetus: Maturation of central nervous system and regulation of anterior pituitary function. *Recent. Prog. Hormone Res.* 32:161-243.
- KARMALI R.A., y HORROBIN D.F. (1976).- The effect of prolactin on the response of human lymphocytes to phytohaemagglutinin. *Br. J. Obstet. Gynaec.* 83:904-907.

- KATO H., VELASCO M.E., y ROTHCHID I. (1978)^a. - The role of the hypothalamus in the tonic secretion of prolactin induced by oestrogens in the rat. *Acta Endocrinológica* 89:417-424.
- KATO H., VELASCO M.E., y ROTHCHILD I. (1978)^b. - Effects of medial hypothalamic deafferentation on prolactin secretion in pseudopregnant rats. *Acta Endocrinológica* 89:425-431.
- KAWAKAMI M., HIGUCHI T., y MATSUURA M., (1979). - Immobilization stress and prolactin secretion in male rats. Possible roles of dopamine and TRH. *Neuroendocrinology* 29:262-269.
- KEEP P.A., LEAKE B.A., y ROGERS G.T. (1978). - Extraction of CEA from tumor tissue, fetal colon and patient's sera, and the effect of perchloric acid. *Br. J. Cancer* 37:171-182.
- KEIGHTLEY D.D., y OKEY A.B. (1973). - Effects of dimethylbenzanthracene and dihydrotestosterone on estradiol-17 β binding in rat mammary cytosol fraction. *Cancer Res.* 33:2637-2642.
- KELLY P.A., BRADLEY C., SHIU R.P.C., MEITES J., y FRIESEN H.G. (1974). - Prolactin binding to rat mammary tumor tissue (38197). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 146:816-819.
- KELLY P.A., POSNER B.I., y FRIESEN H.G. (1975). - Effects of hypophysectomy, ovariectomy, and cycloheximide on specific binding sites for lactogenic hormones in rat liver. *Endocrinology* 97:1408-1415.
- KELLY P.A., FERLAND L., LABRIE F., y De LEAN A. (1976). - Hormonal control of liver prolactin receptors. En *Current Topics in Molecular Endocrinology Vol. 3. Hypothalamus and Endocrine Functions*. Eds. F. Labrie, J. Meites y G. Pelletier. p 321-335. Plenum Press, New York.

- KELLY P.A., FERLAND L., y LABRIE F. (1978).- Endocrine control of prolactin receptors. En Progress in Prolactin. Physiology and Pathology. Eds. C. Robyn. y M. Harter. p 59-68 Elsevier North-Holland, Amsterdam, New York.
- KELLY P.A., LEBLANC G., y DJIANE J. (1979).- Estimation of total prolactin-binding sites after in vitro desaturation. Endocrinology 104:1631-1638.
- KELLY P.A., LABRIE F., y ASSELIN J. (1979).- The role of prolactin in tumor development. En Influences of Hormones in Tumor Development. Ed. J.A. Kellen y R. Hilf Vol. II p 157-194. CRC Press, Boca Raton Florida.
- KENNAWAY E.L., y HIEGER I. (1930).- Carcinogenic substances and their fluorescence spectra. Brit. S. Med. 1:1044. Citado por FURTH (1973).
- KENNAWAY D.J., Mc CULLOCH G., MATTHEWS C.D., y SEAMARK R.F. (1979). Plasma melatonin, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone prolactin and corticoids in two patients with pinealoma. J. Clin. Endocrinol. Metab. 49:144-145.
- KENNEDY B.G., y ARMSTRONG D.T. (1972).- Extra-ovarian effect of prolactin on vaginal mucification in the rat. Endocrinology 90: 815-822.
- KENNEDY B.J., y KIANG D.T. (1972).- Hypophysectomy in the treatment of advanced cancer of the male breast. Cancer 29:1606-1612.
- KHOO S.K. (1978).- Carcinoembryonic antigen in cancer of the female genital tract. A clinical appraisal. En Clinical Application of Carcinoembryonic Antigen Assay. Ed. B.P. Krebs, C.M. Lalanne y M. Schneider. p 302-314. Excerpta Medica. Amsterdam, Oxford.
- KIEFFER J.D., MIREL R.D., MOVER H., ERBAN J., y MALOOF F. (1978).- Decreased thyroid function and high plasma prolactin levels in rats of the Buffalo Strain. Endocrinology 102:1506-1510.

- KIEFER K.A., y MALARKEY W.B. (1978).- Size heterogeneity of human prolactin in CSF and serum: Experimental conditions that alter gel filtration patterns. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 46:119-124.
- KIM U., y FURTH J. (1960).- Relation of mammary tumors to mammotropes. II. Hormone responsiveness of 3-methylcholanthrene induced mammary carcinomas. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 103:643-645. Citado por KIM y FURTH (1976), y por WELSH y NAGASAWA (1977).
- KIM U., FURTH J. (1976).- The role of prolactin in carcinogenesis. *Vitam. Horm.* 34:107-136.
- KING R.J.B., GORDON J., MARX J., y STEGGLES A.N. (1971).- Localization and nature of sex steroids receptors within the cell. En *Basic Actions of sex Steroids on Target Organs*. Ed. P.O. Hubinot, F. Leroy y P. Galand. p 21-43. Karger, Basel.
- KIRSCHNER M.A. (1977).- The role of hormones in the etiology of human breast cancer. *Cancer* 39:2716-2726.
- KLAIBER M.S., GRUENSTEIN M., MERANZE D.R., y SHIMKIN M.B. (1969).- Influence of hypothalamic lesions on the induction and growth of mammary cancers in Sprague-Dawley rats receiving 7,12-Dimethylbenzanthracene. *Cancer Res.* 29:999-1001.
- KLEDZIK G.S., BRADLEY C.J., y MEITES J. (1974).- Reduction of carcinogen induced mammary cancer incidence in rats by early treatment with hormones or drugs. *Cancer Res.* 34:2953-2956.
- KLEDZIK G.S., MARSHALL S., CAMPBELL G.A., GELATO M., y MEITES J. (1976).- Effects of castration, testosterone, estradiol, and prolactin on specific prolactin-binding activity in ventral prostate of male rats. *Endocrinology* 98:373-379.
- KLEDZIK G.S., BRADLEY C.J., MARSHALL S., CAMPBELL G.A., y MEITES J. (1976).- Effects of high doses of estrogen on prolactin-binding activity and growth of carcinogen-induced mammary cancers in rats. *Cancer Res.* 36:3265-3268.
- KLEINBERG D.L., y FRANTZ A.G. (1971).- Human prolactin measurement in plasma by in vitro bioassay. *J. Clin. Invest.* 50:1557-1568.

- KLEINBERG D.L., NOEL G.L., y FRANTZ A.G. (1977).- Galactorrhea: A study of 235 cases including 48 with pituitary tumors. New. Eng. J. Med. 296:589-600.

- KLEINBERG D.L., TODD J., y GROVERS M.L. (1977).- Studies on human α -lactalbumin: radioimmunoassay measurements in normal human breasts and breast cancer. J. Clin. Endocrinol. Metab. 45: 1238-1250.

- KLEINBERG D.L., TODD J., y NIEMANN W. (1979).- Evidence that prolactin stimulates α -lactalbumin production in mammary tissue from premenarcheal Rhesus monkeys. Endocrinology 104:1569-1573.

- KLEVJER-ANDERSON P., y BUEHRING G.C. (1976).- Hormone responsiveness of human mammary epithelium. Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 17:87.

- KNAZEK R.A., y SKYLER J.S. (1976).- Proceedings of the Third International Symposium on Growth Hormone. Milan. Septiembre 1975 Excerpta Med. Int. Congr. Ser. 381:386.

- KNAZEK R.A., LIU S.C., y GULLINO P.M. (1977).- Induction of lactogenic binding sites in the liver of the snell dwarf mouse. Endocrinology 101:50-58.

- KNIGHT P.J., HAMILTON J.M., y SCANES C.G. (1977).- Homologous radioimmunoassay for canine prolactin. Acta Endocrinologica 85: 736-743.

- KOBAYASHI S., SAITO K., y NAGAI R. (1978).- The estrogen and progesterone receptors in human breast cancer with concomitant assay of plasma estradiol 17β , progesterone and prolactin. En Proc. XII Congreso Internacional del Cancer. Libro n° 3, p 82, Mesa de Trabajo n°99, resumen 13. Buenos Aires.

- KOCH Y., LU K.H., y MEITES J. (1970).- Biphasic effects of catecholamines on pituitary prolactin release in vitro. Endocrinology 87:673-675.

- OENIG M.P., ZUPPINGER K., y LICHTI B. (1977).- Hiperprolactinemia as a cause of delayed puberty: successful treatment with bromocriptine. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 45:825-828.
- KOIKE T.I., BOND G.C., PASLEY J.N., y LLERENA L. (1977).- The effect of ergocornine on water and sodium metabolism in female rats. *Comparative Endocrinology of Prolactin*. Eds. H.D. Dellman, J.A. Johnson y D.M. Klachko. p 201-203. Plenum Press, New York.
- KOLODNY R.C., JACOBS L.S., y DAUGHADAY W.H. (1972).- Mammary stimulation causes prolactin secretion in non-lactating women. *Nature* 238:284-286.
- KORDON C., BLAKE C.A., TERKEL J., y SAWYER C. (1973).- Participation of serotonin containing neurons in the suckling-induced rise in plasma prolactin levels in lactating rats. *Neuroendocrinology* 13:213-223.
- KORENMAN S.G., SHERMAN B.M., y KORENMAN J.C. (1978).- Reproductive hormone function: the perimenopausal period and beyond. *Clin. Endocrinol. Metab.* 7:625-643.
- KRAMER J., y BEN-DAVID M. (1978).- Prolactin suppression By (-) A-9-Tetrahydrocannabinol (TCH): Involvement of serotonergic and dopaminergic pathways. *Endocrinology* 103:452-457.
- KRANTZ M., ARIEL N., y GOLD P. (1979).- CEA biology and chemistry: characterization of partial proteolysis fragments. *En Carcino-Embrionic Proteins*. Ed. F.G. Lehman. Vol. I p 17-24. Elsevier North-Holland. Amsterdam, New York.
- KRIEGER D.T., y GLICK S.M. (1974).- Sleep EEG stages and plasma growth hormone concentrations in states of endogenous and exogenous hypercortisolemia or ACTH elevation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 39:986-1000.

- KRIEGER D.T., HOWANITZ P.J., y FRANTZ A.G. (1976).- Absence of nocturnal elevation of plasma prolactin concentrations in Cushing's disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 42:260-272.

- KRULICH L., QUIJADA M., EILLNER P. (1971).- Localization of prolactin inhibiting factor (PIF), P-releasing factor (PRF), growth hormone RF (GRF) and GIF activites in the hypothalamus of the rat. Program of the 53. Meeting of the Endocrine Society. San Francisco, Calif. p 83.

- KRULICH L., VIJAYAN E., COPPINGS R.J., GIACHETTI A., Mc CANN S.M., y MAYFIELD M.A. (1979).- On the role of the central serotoninergetic system in the regulation of the secretion of the thyrotropin and prlactin: thyrotropin-inhibiting and prolacting-releasing effects of 5-hydroxytryptamine and quipazine in the male rat. *Endocrinology* 105:276-283.

- KRUPEY J., WILSON T., FREEDMAN S.O., y GOLD P. (1972).- The preparation of purified carcinoembryonic antigen (CEA) of the human digestive system from large quantities of tumor tissue. *Immunochimistry* 9:617-622.

- KUHN N.J. (1969).- Progesterona withdrawal as the lactogenic trigge in the rat. *J. Endocrinol.* 44:39-54.

- KUHN E., KRULICH L., FAWCETT C.P., y Mc CANN S.M. (1974).- The ability of hypothalamic extracts to lower blood prolactin levels in lactating rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 146:104-108.

- KWA H.G. (1965).- Isolation of prolactin from sub-cellular fraction of trasplanted pituitary tumors. *Acta Endocrinológica. Sup.* 100:165

- KWA H.G., VERHOFSTADT F., y Van Der BENT E.M. (1967).- Radioimmuno-assay of mouse prolactin based upon a protein isolated from prolactin-producing pituitary tumors. *Acta Physiol. Pharmacol. Neerl.* 14:514. Citado por BRYANT G. y GREENWOOD F.C. 1976.

- KWA H.G., y VERHOFSTAD F. (1968).- Studies on radioimmunoassay of prolactin. En. Progress in Endocrinology. Ed. C. Gual. p 979. Excerpta Medica. Amsterdam.
- KWA H.G., Van Der GUGTEN A.A., y VERHOFSTAD F. (1969).- Radioimmunoassay of rat prolactin. Prolactin levels in plasma of rats with spontaneous pituitary tumours, primary oestrone-induced pituitary tumours or pituitary tumour transplants. Eur. J. Cancer. 5:571-579.
- KWA H.G., VERSTRAETEN A.A., y SCHEIDJE-BAKKER M.G.M. (1972).- Isolation of prolactin from the "granular fraction" of pituitary-tumor transplants: improved method for the isolation of mouse and rat prolactin for radioimmunoassay. Eur. J. Cancer 8:33-38.
- KWA H.G., De JONG-BAKKER M., ENGELSMAN E., y CLETON F.J. (1974).- Plasma prolactin in human breast cancer Lancet. 1:433-435.
- KWA H.G., CLETON F., De JONG-BAKKER M., BULBROOK R.D., HAYWARD J.L., y WANG D.Y. (1976).- Plasma prolactin and its relationship to risk factors in human breast cancer. Intern. J. Cancer 17:441-447.
- LA BELLA F., KRASS M., FRITZ W., VIVIAN S., SHIN S., y QUEEN G. (1971).- Isolation of cytoplasmic granules containing growth hormone and prolactin from bovine pituitary. Endocrinology 89: 1094-1102.
- LABRIE F., LEMAIRE S., y COURTE C. (1971).- Adenosine 3',5'-monophosphate-dependent protein kinase from bovine anterior pituitary gland. I. Properties. J. Biol. Chem. 246:7293-7302.
- LABRIE F., GAUTHIER M., PELLETIER G., BORGEAT P., LEMAY A. y GOUGE J.J. (1973).- Role of microtubules in basal and stimulated release of growth hormone and prolactin in rat adenohypophysis in vitro. Endocrinology 93:903-914.
- LABRIE F., PELLETIER G., BORGEAT P., DROUIN J., FERLAND L., y BELANGER A. (1976).- Mode of action of hypothalamic regulatory hormones in the adenohypophysis. En Frontiers in Neuroendocrinology. Ed. L. Martini y W.F. Ganong. Vol. 4 p 63-93. Raven Press, New York.

- LABRIE F., LAGACE L., DROUIN J., De LEAN A., KELLY P.A., FERLAND L., BAULIEU M., RAYMOND V., DUPONT A., y CUSAN L. (1977).- Action des oestrogenes au niveau de l'adenohypophyse et l'hypothalamus. En les Oestrogenes p 3-23. Masson. París, Barcelona.
- LABRIE F., BEAULIEU M., FERLAND L., RAYMOND V., Di PAOLO T., CARON M.G., VEILLEUX R., DENIZEAU F., EUVRARD C., RAYNAUD J.P., y BOISSIER J.R. (1979).- Control of prolactin secretion at the pituitary level: a model for postsynaptic dopaminergic systems. En Central Nervous System Effects of Hypothalamic Hormones and Other Peptides. Ed. R. Collu, A. Barbeau, J.R. Ducharme y J.G. Rochefort. p 207-234. Raven Press, New York.
- LABRIE F., BORGEAT P., DROUIN J., BEAULIEU M., LAGACE L., FERLAND L., y RAYMOND V. (1979).- Mechanism of action of hypothalamic hormones in the adenohypophysis. Ann. Rev. Physiol. 41:555-569.
- LACHELIN G.C.L., ABU-FADIL S., y YEN S.S.C. (1977).- Functional delineation of hiperprolactinemic-amenorrhea. J. Clin. Endocrinol. Metab. 44:1163-1174.
- LAL S., De la VEGA C.E., SOURKES T.L., y FRIESEN H.G. (1973).- Effect of apomorphine on growth hormone, prolactin, luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone levels in human serum J. Clin. Endocrinol. Metab. 37:719-724.
- LAMBERTS S.W.J., y BIRKENHAGER J.C. (1976).- Bromocriptine in Nelson syndrome and Cushing's disease. Lancet 2:811.
- LAMBERTS S.W.J., y Mac LEOD R.M. (1978).- The interaction of the serotonergic and dopaminergic systems on prolactin secretion in the rat. The mechanism of action of the "specific" serotonin receptor antagonist metysergide. Endocrinology 103:287-295.
- LAMBERTS S.W.J., y Mac LEOD R.M. (1979).- The inability of bromocriptine to inhibit prolactin secretion by transplantable rat pituitary tumors: observations on the mechanism and dynamics of the autofeedback regulation of prolactin secretion. Endocrinology 104:65-70.

- LANCRANJAN I., WIRZ-JUSTICE A., PÜHRINGER W., y Del POZO E. (1972).- Effect of 1-5 hydroxytryptophan infusion on growth hormone and prolactin secretion in man. J. Clin. Endocrinol. Metab. 45:588-593.
- LANCRANJAN I., Del POZO E., y OHNHAUS E. (1978).- Inhibitory effect of guanfacine, a central α -adrenoceptor agonist, on prolactin secretion stimulated by insulin-induced hypoglycemia. J. Clin. Endocrinol. Metab. 47:671-674.
- LASKA E.M., SIEGEL C., MEISNER M., FISCHER S., y WANDERLANG J. (1975).- Matched-pair study of reserpine use and breast cancer. Lancet 2:296-300.
- LAWSON D.M., y GALA R.R. (1975).- The influence of adrenergic, dopaminergic, cholinergic and serotonergic drugs on plasma protein levels in ovariectomized oestrogen-treated rats. Endocrinology 36:313-318.
- LAWSON D.M., y GALA R.R. (1976).- The interaction of dopaminergic and serotonergic drugs on plasma prolactin in ovariectomized, estrogen-treated rats. Endocrinology 98:42-47.
- LAWSON D.M., y GALA R.R. (1978).- The influence or pharmacological manipulation of serotonergic and dopaminergic mechanisms on plasma prolactin in ovariectomized, estrogen-treated rats. Endocrinology 102:973-981.
- LEAVITT W.W., KIMMEL G.L., y FRIEND J.P. (1973).- Steroid hormone uptake by anterior pituitary cells suspensions. Endocrinology 92:94-103.
- LEBLANC H., LACHELIN G.C.L., ABU-FADIL S., y YEN S.S.C. (1976).- Effects of dopamine infusion on pituitary hormone secretion in humans. J. Clin. Endocrinol. Metab. 43:668-674.

- LEBOVITZ H.E., BOYD A.E., y FELDMAN J.M. (1972).- Endocrine effects of dopamine and L-Dopa. En *Endocrinology. Proc. IV. Inter. Congress of Endocrinology, Washington*. Ed. R.D. Scow. p 150-155. Excerpta Medica/American Elsevier, Amsterdam y New York.

- LECLERQ G., HEUSON J.C., De BOEL M.C., y MATTHEIEM W.H. (1975).- Destrogen receptors in breast cancer: a changing concept. *Brit. Med. J.* 1:185-189.

- LEEBAW W.F., LEE L.A., y WOOLF P.D. (1978).- Dopamine effects basal and augmented pituitary hormone secretion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 47:480-487.

- LEEBAW W.F., LEE L.A., y WOOLF P.D. (1978)^a. The effects of the dopamine agonist, lergotriple mesylate on prolactin secretion in women. *Acta Endocrinologica* 87:12-18.

- LEGROS N., y HEUSON J.C. (1978).- Hormone action in breast cancer explants. En *Endocrine Control in Neoplasia*. Ed. R.K. Sharma y W.E. Criss. p 169-187. Raven Press, New York.

- LEHTOVIRTA P., RANTA T., SEPPALA M (1978).- Pyridoxine treatment of galactorrhea-amenorrhoea syndrome. *Acta Endocrinológica* 87: 682-686.

- LEIGHTON P.C., Mc NEILLY A.S., y CHARD T. (1976).- Short-term variati in blood levels of prolactin in women. *J. Endocrinol* 68:177-178.

- LEIS H.P., y RACITI A (1976).- The search for women at high risk. En *Risk Factors in Breast Cancer*. Ed. B.A. Stoll p 207-225. William Heinemann Medical Books. Londres.

- LEMAIRE S., PELLETIER G., y LABRIE F. (1971).- Adenosine 3' 5' mono-phosphate-dependent protein Kinase from bovine anterior pituitary gland II. Subcellular distribution *J. Biol. Chem.* 246:7303-7310.

- LEMBERGER L. (1978).- The pharmacology of ergots: past and present. Fed. Proc. 37:2176-2180.
- LEUNG B.S., KRIPPAEHNE W.W., y FLETCHER W.S. (1974).- Prognostic value of estrogen-receptor to endocrine ablation in cancer of the breast. Surg. Gynecol. Obstet. 139:525-528.
- LEUNG B.S., SASAKI G.H. (1975).- On the mechanism of prolactin and estrogen action in 7-12, dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary carcinoma in the rat II. In vivo tumor responses and estrogen receptor. Endocrinology 97:564-572.
- LEUNG B.S., SASAKI G.H., y LEUNG J.S. (1975).- Estrogen-prolactin dependency in 7,12 dimethylbenz(a)anthracene-induced tumors. Cancer Res. 35:621-627.
- LEUNG B.S. (1978).- Prolactin and estrogen dependency in human breast cancer cell. En Proc. XII Congreso Internacional del Cancer. Libro n° 3, pag. 82, Mesa de Trabajo n° 69, resumen II. Buenos Aires 1978.
- LEUNG B.S. (1978)^a.- Hormonal dependency of experimental breast cancer. En Hormones Receptors and Breast Cancer. Ed. W.L. Mc GUIRE p 219-261. Raven Press, New York.
- LEVY C.L., y CARLSON H.E. (1978).- Decreased prolactin reserve in hemochromatosis J. Clin. Endocrinol. Metab. 47:444-446.
- LEWIS A.A., y TURNER C.W. (1941).- Effect of stilbestrol on lactogenic content of pituitary and mammary glands of female rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48:439-443. Citado por TURNER C.W. (1977).
- LEWIS U.J., CHEEYER E.V., y HOPKINS W.C. (1970).- Kinetic study of the deamidation of growth hormone and prolactin Biochem. Biophys. Acta 214:498-508.
- LEWIS U.J., SINGH R.N.P., y SEAVEY B.K. (1971).- Human prolactin isolation and some properties. Biochem. Biophys. Res. Commun 44:1169-1176.

- LEWIS U.J., SINGH R.N.P., SINHA Y.N., y VANDERLAAN W.P. (1971).- Electrophoretic evidence for human prolactin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 33:153-156.
- LEWIS U.J., SINGH R.N.P., y SEAVEY B.K. (1972).- Problems in the purification of human prolactin. En *Prolactin and Carcinogenesis*. Eds. A.R. Boyns y K. Griffiths. p 4-12. Alfa-Omega-Alfa Cardiff, Gales.
- LEWIS V.J., y SINGH R.N.P. (1973).- Recovery of prolactin from human pituitary glands. En *Human Prolactin*. Ed J.L. Pasteels y C. Robyn. p 1-10. Excerpta Medica/American Elsevier. Amsterdam y New York.
- LEWIS U.J., SINGH R.N.P., SEAVEY B.K., y LAMBERT T.H. (1974).- Enzymically modified human growth hormone and the diabetogenic activity of human growth hormone. En *Advances in Human Growth Hormone Research*. Ed S. Raiti. p 349-363. DHEW Publication, Washington. D.C.
- LEWIS D. y HALLOWES R.C. (1974).- Correlation between the effects of hormones in the synthesis of DNA in explants from induced rat mammary tumours and the growth of the tumors. *J. Endocrinol.* 62:225-240.
- LEWIS D., y HALLOWES R.C. (1976).- The possible use of histoculture for in vitro culture of human biopsies. En *The Human Tumors in Short Term Culture*. Ed. P.P. Dendy. p 219-226. Academic Press. Londres.
- L'HERMITE M., DELVOYE P., NOKIN J., VEKEMANS M., y ROBIN C. (1972).- Human prolactin secretion as studied by radioimmunoassay: Some aspects of its regulation. En *Prolactin and Carcinogenesis*. Eds A.R. Boyns., K. Griffiths. p 81-97. Alfa-Omega-Alfa, Cardiff, Gales.
- L'HERMITE M., y ROBYN C. (1972).- Prolactine hypophysaire humaine: detection radioimmunologique et taux au cours de la grossesse. *Ann. d'Endocrinologie (Paris)*. 38:357-360.

- L'HERMITE M., STAVRIC V., y ROBYN C. (1972).- Human pituitary prolactin during pregnancy and postpartum as measured in serum by a radioimmunoassay. *Acta Endocrinologica Supp* 159:37 (Abstracto).
- L'HERMITE M. (1973).- The present status of prolactin assay in clinical practice. *Clin. Endocrinol. Metab* 2:423-449.
- L'HERMITE M. (1976).- En Hormone Assays and their Clinical Application. Ed. J.A. Loraine y E.T. Bell. p 293-332. Churchill Livingstone, Edimburgo.
- L'HERMITE M., MICHAUX-DUCHENE A., y ROBYN C. (1979).- Tiapride-induced chronic hyperprolactinaemia interference with the human menstrual cycle. *Acta Endocrinologica* 92:214-227.
- LI C.H., DIXON J.S., LO T.B., SCHMIDT K.D., y PANKOV Y.A. (1970).- Studies on pituitary lactogenic hormone XXX. The primary structure of the sheep hormone. *Arch. Biochem. Biophys.* 141:705-737.
- LI C.H. (1972).- Recent Knowledge concerning the chemistry of lactogenic hormones. En *Ciba Foundation Symposium on Lactogenic Hormones*. Ed Wolstenholme G.E.W. y J. Knigth. p 7-26. Churchill Livingstone. Edimburgo y Londres.
- LI C.H. (1973).- Pituitary lactogenic hormone studies. XXXIV. Amino acid sequence of the porcine hormone. *J. Inter. Res. Commun.* 1:19-27.
- LI C.H., y YANG W. (1975).- The effect of bovine growth hormone on the growth of mammary tumors in hypophysectomized rats. *Life Sci.* 15:761-764.
- LIBERTUM C., y McCANN S.M. (1976).- The possible role histamine in the control of prolactin and gonadotropin release. *Neuroendocrinology* 20:110-120.
- LIBERTUM C., KAPLAN S.E., y De NICOLA A.F. (1979).- Progesterone negative feedback on prolactin secretion: importance of the brain control and estradiol. *Neuroendocrinology* 28:64-70.

- LIEBELT A.G., y LIEBELT R.A. (1961).- Effects of a single pituitary isograft on mammary tumorigenesis in mice. *Cancer Res.* 21:86-91.
- LIM V.S., KATHAPALIA S.C., y FROHMAN L.A. (1979).- Hyperprolactinemia and impaired pituitary response to suppression and stimulation in chronic renal failure: reversal after transplantation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 48:101-107.
- LIN F.K., BANERJEE M.R., y CRUMP L.R. (1976).- Cell cycle-related hormone carcinogen interaction during chemical carcinogen induction of nodule-like mammary lesions in organ culture. *Cancer Res.* 36:1607-1614.
- LINEBAUGH B.E., y RILLEMA J.A. (1978).- Actions of insulin and hydrocortisone on macromolecular synthesis in primary epithelial cell cultures from mouse mammary glands. *Endocrinology* 105:806-811.
- LINZELL J., y PEAKER M. (1971).- Mechanism of milk secretion. *Physiol. Rev.* 51:564-597.
- LIPPMAN M.E., y BOLAN G. (1975).- Oestrogen-responsive human breast cancer in long term tissue culture. *Nature* 256:592-593.
- LIPPMAN M.E., OSBORNE G.K., KNAZEK R., y YOUNG N. (1977).- In vitro model systems for the study of hormone dependent human breast cancer. *New. Engl. J. Med.* 296:154-159.
- LIPSON L.G., BEITINS I.Z., KORNBLITH P.D., Mc ARTHUR J.W., FRIESEN H.G., KLIMAN B., y KJELLBERG R.N. (1978).- Tissue culture studies on human pituitary tumors: radioimmunoassayable anterior pituitary hormone in the culture medium. *Acta Endocrinologica* 88:239-249.
- LOCATELLI V., COCCHI D., FIRGERIO C., BETTI R., KROGSGAARD-LARSEN P., RACAGNI G., y MÜLLER E.E. (1979).- Dual γ -aminobutyric acid control of prolactin secretion in the rat. *Endocrinology* 105:778-785.

- LOCKETT M.F. (1965).- A comparison of the direct renal actions of pituitary growth and lactogenic hormones. *J. Physiol.*, (London) 181:192-199.
- LOCKETT M.F., y NAIL B. (1965).- A comparative study of the renal actions of growth and lactogenic hormones in rats. *J. Physiol.* (London). 180:147-156.
- LOEW D.M., VIGOURET J.M., y JATON A.L. (1976).- Neuropharmacological investigations with two ergot alkaloids, hydergine and bromocriptine. *Postgrad. Med. J.* 52 Supp 1:40-46.
- LOEWNSTEIN J.E., MARIZ I.K., PEAKE G.T., y DAUGHADAY W.H. (1971).- Prolactin bioassay by induction of N-acetyl-lactosamine synthetase in mouse mammary gland explants. *J. Clin. Endocrinol.* 33/2:217.
- LÖFSTROM A., ENEROTH P., GUSTAFSSON J.A., y SKETT P. (1977).- Effets of estradiol benzoate on catecholamine levels and turnover in discrete areas of the median eminence and the limbic forebrain, and serum luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and prolactin concentrations in the ovariectomized female rat. *Endocrinology* 101:1559-1569.
- LO GERFO P., y PENNINGTON G. (1975).- Current status of carcino-embryonic antigen. *En Progress in clinical Cancer*. Vol 6. Ed. I.M. Ariel. p 65-71. Grune and Stratton. Londres.
- LONGSCOPE C., y PRATT J.H. (1978).- Relationship between urine and plasma estrogen ratios. *Cancer Res.* 38:4025-4028.
- LU K.H., AMENOMORI Y., CHEN C.L., y MEITES J. (1970).- Effects of central acting drugs on serum and pituitary prolactin levels in rats. *Endocrinology* 87:667-670.
- LU K.H., KOCH Y., y MEITES J. (1971).-Direct inhibition by ergocor-nine of pituitary prolactin release. *Endocrinology* 89:229-233.

- LU K.H., y MEITES J. (1972).- Effects of L-dopa on serum prolactin and PIF in intact and hypophysectomized, pituitary-grafted rats. *Endocrinology* 91:868-872.
- LU K.H., SHAAR C.J., KORTRIGHT K.H., y MEITES J. (1972).- Effects of synthetic TRH on in vitro and in vivo prolactin release in the rat. *Endocrinology* 91:1540-1545.
- LU K.H., GRANDISON L., HUANG H.H., MARSHALL S., y MEITES J. (1977). Relation of gonadotropin secretion by pituitary grafts to spermatogenesis in hypophysectomized male rats. *Endocrinology* 100:380-386.
- LUTTERBECK P.M., PRYOR J.S., VARGA L., y WENNER R. (1971).- Treatment of nonpuerperal galactorrhea with an ergot alkaloid *Br. Med. J.* 3:228-229.
- LYONS W.R. (1937).- The preparation and assay of mammothrophin. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 5:198-209. Citado por NICOLL (1974).
- Mac CALLUN R.W., SOWERS J.R., HERSHMAN J.M., y STURDEVANT R.A.L. (1976).- Metoclopramide stimulates prolactin secretion in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 92:1148-1152.
- Mac CANN S.M., KRULICH L., OJEDA S.R., y VIJAYAN E. (1978).-Control of prolactin release by putative synaptic transmitters. *En Progress in Prolactin. Physiology and Pathology.* Eds C. Robyn y M. Harter. p 137-148. Elsevier North-Holland, Amsterdam, New-York.
- Mac CORMICK G.M., y MOON R.C. (1965).- Effect of pregnancy and lactation on growth of mammary tumours induced by 7,12-dimethylbenzanthracene (DMBA). *Brit. J. Cancer* 19:166.
- Mac CORMICK G.M., y MOON R.C. (1967).- Hormones influencing postpartum growth of 7,12-Dimethylbenzanthracene-induced rat mammary tumors. *Cancer Res.* 27:626-631.

- Mac DONALD J.K., CALLAHAN P.X., ELLIS S., y SMITH R.E. (1971).- Polypeptide degradation by dipeptidyl aminopeptidase I (CathepsinC) and related peptidases. En Tissue Proteinases. Ed A.J. BARRET y J.T. Dingle. p 69-107, North-Holland, Amsterdam.
- Mac DONELL L.A., POTTER P.E., y LESLIE R.A. (1978).- Localized changes in blood-brain barrier permeability following the administration of antineoplastic drugs. Cancer. Res. 38:2930-2934.
- Mac FAYDEN I.J., PRESCOTT R.J., GROOM G.V., FORREST A.P.M., GOLDER M.P., FAHMY D.R., y GRIFFITHS K. (1976).- Circulating hormone concentrations in women with breast cancer. Lancet I: 1100-1102.
- Mac GUIRE W.L., y JULIAN J.A. (1971).- Comparison of macromolecular binding of estradiol in hormone-dependent and hormone-independent rat mammary carcinoma. Cancer Res. 31:1440-1445.
- Mac GUIRE W.L., JULIAN J.A., y CHAMNESS G.C. (1971) .- A dissociation between ovarian dependent growth and estrogen sensitivity in mammary carcinoma. Endocrinology 89:969-973.
- Mac GUIRE W.L. (1973).- Estrogen receptors in human cancer. J. Clin. Invest. 52:73-77.
- Mac GUIRE W.L., CHAMNESS G.C., COSTLOW M.E., y SHEPHERD R.E. (1974).- Hormone dependence in breast cancer. Metabolism 23:75-99.
- Mac GUIRE W.L. (1975).- Endocrine therapy of breast cancer. Ann. Rev. Med. 26:353-363.
- Mac GUIRE W.L., CARBONE P.P., y VOLLMER E.P. (EDITORES) (1975).- Estrogen Receptors in Human Breast Cancer. Raven Press, New York.
- Mac GUIRE W.C., RAYNAUD J.P., y BAULIEU E.E. (Editores) (1977).- Progesterone Receptors in Normal and Neoplastic Tissues. Raven Press, New York.

- Mac GUIRE W.L., HORWITZ K.B., PEARSON O.H., y SEGALOF A. (1977).- Current status of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *Cancer* 39:2934-2947.
- Mac GUIRE W.L., HORWITZ K.B., ZAVA D.T., GAROLA R.E., y CHAMNESS G.C. (1978).- Hormones in breast cancer: update 1978. *Metabolism*, 27:487-501.
- Mac GUIRE W.L., ZAVA D.T., HORWITZ K.B., y CHAMNESS G.C. (1978).- Steroid receptors in breast tumors. Current status. En *Current Topics in Experimental Endocrinology*. Eds L. Martiny y V.H.T. James p 94-129. Academic Press, New York, London.
- Mac INTOSH E.N. (1976).- Treatment of women with the galactorrhea amenorrhea syndrome with pyridoxine (vitamin B6). *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 42:1192-1195.
- Mac KENNA T.J., CLICK A.D., COBB C.A., y JACOBS L.S. (1978).- Galactorrhea and hypogonadism associated with a radiologically inapparent prolactin-secreting pituitary tumor. *Acta Endocrinologica* 87:225-233.
- Mac LEOD R.M., ALLEN M.S., y HOLLANDER V.P. (1964).- Hormonal requirements for the growth of mammary adenocarcinoma (MTW9) in rats. *Endocrinology* 75:249-258.
- Mac LEOD R.M., SMITH M.C., y De WITT G.W. (1966).- Hormonal properties of transplanted tumors and their relation to the pituitary gland. *Endocrinology* 79:1149-1156.
- Mac LEOD R.M., De WITT G.W., y SMITH M.C. (1968).- Suppression of pituitary gland hormone content by pituitary tumor hormones. *Endocrinology* 82:889-894.

- Mac LEOD R.M., y ABAD A. (1968).- On the control of prolactin and growth hormone synthesis in rat pituitary glands. *Endocrinology* 83:799-806.
- Mac LEOD R.M., ABAD A., y EIDSON L.L. (1969).- In vivo effect of sex hormones on the in vitro synthesis of prolactin and growth hormone in normal and pituitary tumor-bearing rats. *Endocrinology* 84:1475-1483.
- Mac LEOD R.M. (1969).- Influence of norepinephrine and catecholamine-depleting agents on the synthesis and release of prolactin and growth hormone. *Endocrinology* 85:916-923.
- Mac LEOD R.M., y LEHMEYER J.E. (1972).- Regulation of the synthesis and release of prolactin. In *Lactogenic Hormones*. Ed G.E.W. Wolstenholme y J. Knights. p 53-82. Churchill Livingstone, Edimburgo y Londres.
- Mac LEOD R.M., y LEHMEYER J.E. (1973).- Pituitary gland, alpha-adrenergic receptors, and their function in prolactin secretion. *Endocrinology* 92:A-50 (abstracto).
- Mac LEOD R.M. (1974).- Regulation of pituitary function by catecholamines. En *Mammary Cancer and Neuroendocrine Therapy*. Ed B.A. Stoll. p 139-159. Butterworths, Londres.
- Mac LEOD R.M., y LEHMEYER J.E. (1974)^a.- Studies on the mechanism of the dopamine-mediated inhibition of prolactin secretion. *Endocrinology* 94:1077-1085.
- Mac LEOD R.M., y LEHMEYER J.E. (1974).- Restoration of prolactin synthesis and release by administration of monoaminergic blocking agents to pituitary tumor bearing rats. *Cancer Res.* 34:345-350.

- Mac LEOD R.M. (1976).- Regulation of prolactin secretion. En *Frontiers in Neuroendocrinology*. Vol. 4, Eds L. Martini y W.F. Ganong. p 169-194. Raven Press, New York.
- Mac LEOD R.M., y LAMBERTS S.W.J. (1978).- Regulation of prolactin secretion by dopamine and serotonin-related drugs. En *Progress in Prolactin. Physiology and Pathology*. Eds C. Robyn y M. Harter. p 111-120. Elsevier North-Holland, Amsterdam, New York.
- Mac MAHON B., COLE P., y BROWN J. (1973).- Etiology of human breast cancer: a review. *J. Nat. Cancer Inst.* 50:21-42.
- Mac MURTRY J.P., y MALVEN P.V. (1974).- Experimental alterations of prolactin levels in goat milk and blood plasma. *Endocrinology* 95:559-564.
- Mac NEILLY A.S., EVANS G.E., y CHARD T. (1973).- Observations on prolactin levels during the menstrual cycle. En *Human Prolactin*. Ed. J.L. Pasteels y C. Robyn. p 231-232. Excerpta Medica (American Elsevier). Amsterdam y New York.
- Mac NEILLY A.S., y CHARD T. (1974).- Circulating levels of prolactin during the menstrual cycle. *Clin. Endocrinol.* 3:105-112.
- Mac NEILLY A.S., y FRIESEN H.G. (1978)^a.- Heterologous radioimmunoassay for rabbit prolactin. *Endocrinology* 102:1539-1547.
- Mac NEILLY A.S., y FRIESEN H.G. (1978)^b.- Prolactin during pregnancy and lactation in the rabbit. *Endocrinology* 102:1548-1554.
- Mac NEILLY A.S., ETCHS R.J., y FRIESEN H.G. (1978).- A heterologous radioimmunoassay for avian prolactin: application to the measurement of prolactin in the turkey. *Acta Endocrinológica* 89:60-69.
- Mac QUEEN-WILLIAMS M. (1935-36).- Decreased mammatropin in pituitary of thyroidectomized (maternalized) male rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 33:406-407. Citado por TURNER C.W. (1977).

- Mac SHAM W.H., y TURNER C.W. (1935).- Further purification of galactin, the lactogenic hormone. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 32:1655-1656. Citado por TURNER C.W. (1977).
- MACHLIN L.J., JACOBS L.S., CIRULIS N., KIMES R., y MILLER R. (1974).- An assay for growth hormone and prolactin-releasing activities using a bovine pituitary cell culture system. Endocrinology 95:1350-1358.
- MACK T.M., HENDERSON B.E., GERKINS V.R., ARTHUR M., BAPTISTA J., y PIKE M.C. (1975).- Reserpine and breast cancer in a retirement community New Engl. J. Med. 292:1366-1371.
- MAGRINI G., EBINER J.R., BURCKHARDT P., y FELDER J.R. (1976).- Study on the relationship between plasma prolactin and androgen metabolism in man. J. Clin. Endocrinol. Metab. 43:944-947.
- MALARKEY W.B., JACOBS L.S., y DAUGHADAY W.H. (1971).- Levodopa suppression of prolactin in nonpuerperal galactorrhea. New Engl. J. Med. 285:1160-1163.
- MALARKEY W.B., y JOHNSON J.C. (1976).- Pituitary tumors and hyperprolactinemia. Arch. Inter. Med. 136:40-44.
- MALARKEY W.B., SCHROEDER L.L., STEVENS V.C., JAMES A.G., y LANESE R.R. (1977).- Disordered nocturnal prolactin regulation in women with breast cancer. Cancer Res. 37:4650-4654.
- MALARKEY W.B., SCHROEDER L.L., STEVENS V.C., JAMES A.G., y LANESE R.R. (1977).- Twenty four-hour preoperative endocrine profiles in women benign and malignant breast disease. Cancer Res. 37:4655-4659.
- MALARKEY W.B., SCHROEDER L.L., STEVENS V.C., JAMES A.G., y LANESE R.R. (1977).- Disordered nocturnal prolactin regulation in women with breast cancer. Cancer Res. 37:4650-4654.

- MALTTHEIJ J.A.M. (1977).- Failure of sodium loading or deficiency to affect plasma prolactin in the male rat. *Acta Endocrinológica* 86:299-305.
- MALTZ B.L., BUCKMAN M.T., y PEAKE G.T. (1978).- Studies on autoregulation of prolactin secretion from perfused rat pituitary glands in the basal and thyrotropin releasing hormone-stimulated states. *Endocrinology* 103:480-485.
- MALVEN P.V. (1975).- Immediate release of prolactin and biphasic effects on growth hormone release following electrical stimulation of the median eminence. *Endocrinology* 97:808-815.
- MALVEN P.V. (1979).- Inhibition of prolactin release in conscious sheep following stimulation of nucleus accumbens and caudate nucleus. *Neuroendocrinology* 28:160-168.
- MALLAMPATI R.S., y JOHNSON D.C. (1973).- Serum and pituitary prolactin, LH, and FSH in androgenized female and normal rats treated with various doses of estradiol benzoate. *Neuroendocrinology* 11:46-56.
- MANKU M.S., HORROBIN D.F., KARMAZYN M., y CUNNANE S.C. (1979).- Prolactin and zinc effects on rat vascular reactivity: possible relationship to dihomo- γ -linolenic acid and to prostaglandin synthesis. *Endocrinology* 104:774-779.
- MANN D.R., KOROWITZ C.D., Mac FARLAND E.A., y COST M.G. (1976).- Interactions of the light-dark cycle, adrenal glands and time of steroid administration in determining the temporal sequence of LH and prolactin release in female rats. *Endocrinology* 99:1252-1262.
- MANNI A., TRUJILLO J.E., y PEARSON O.H. (1977).- Predominant role of prolactin in stimulating the growth of 7,12-dimethylbenz(a)-anthracene-induced rat mammary tumor. *Cancer Res.* 37:1216-1219.

- MARSHALL S., BRUNI J.F., y MEITES J. (1979).- Effects of hypophysectomy, thyroidectomy, and thyroxine on specific prolactin receptor sites in kidneys and adrenals of male rats. *Endocrinology* 104:390-395.
- MARTIN J.B., LAL S., TOLIS G., y FRIESEN H.G. (1974).- Inhibition by apomorphine of prolactin secretion in patients with elevated serum prolactin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 39:180-182.
- MARTIN J.B. (1976).- Brain regulation of growth hormone secretion. En *Frontiers in Neuroendocrinology*. Vol. 4. Ed L. Martini y W.F. Ganong. p 129-168. Raven Press. New York.
- MARTINI L. (1977).- Recent views on the control of anterior pituitary function. *Acta Endocrinológica Sup.* 214, Vol. 85:19-32.
- MASALA A., DELITALA G., DEVILLA L., ALAGNA S., y ROVASIO P.P. (1979).- Enhancement of insulin-induced prolactin secretion by fluoxetine in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 49:350-352.
- MASTERS J.R.W., SANGSTER K., SMITH I.I., y FORREST A.P.M. (1976).- Human breast carcinomata in organ culture: the effect of hormones. *Br. J. Cancer* 33:564-566.
- MASTERS J.R., SANGSTER K., y SMITH H. (1976).- Effect of hormones on the maintenance of human breast carcinomas in organ culture. *Br. J. Surg.* 63:162-163.
- MATSUMOTO G., y SUGANO H. (1978).- Human breast cancer and hormone receptors. En *Endocrine Control in Neoplasia*. Ed R.K. Sharma y W. E. Criss. p 191-208. Raven Press, New York.
- MATSUMOTO T., HORIUCHI N., SUDA T., TAKAHASHI H., SHIMAZAWA E., y OGATA E. (1979).- Failure to demonstrate stimulatory effect of prolactin on vitamin D metabolism in vitamin-D-deficient rats. *Metabolism*, 28:925-927.

- MAURER R.A., y GORSKI J. (1977).- Effects of estradiol-17 β and pimozide on prolactin synthesis in male and female rats. *Endocrinology* 101:76-84.
- MEDINA D. (1973).- Preneoplastic lesions in mouse mammary tumorigenesis. En *Methods in Cancer Research*. Ed H. Busch. p 3-53. Academic Press, New York.
- MEDINA D., IRAMAIN C.A., y CLARK J.H. (1975).- Hormone dependence and estradiol receptors in the D. Serie of mammary nodule outgrowth lines and tumors. *Cancer Res.* 35:2355-2360.
- MEDINA D. (1976).- Preneoplastic lesions in murine mammary cancer. *Cancer Res.* 36:2589-2595.
- MEDINA D. (1977).- Tumor formation in preneoplastic mammary nodule lines in mice treated nafoxidine, testosterone, and 2-Bromo- α ergocryptine. *J. Natl. Cancer. Inst.* 58:1107-1110.
- MEDINA D., O'BRYAN S.B., WANER M.R., SINHA Y.N., Van DERLAAN W.P., Mac CORMACK S., y HAHN P. (1977).- Mammary tumorigenesis in chemical carcinogen treated mice. VII. Prolactin and progesterone levels in BALB/C mice. *J. Natl. Cancer. Inst.* 59:213-219.
- MEIER A.H. (1977).- Prolactin, the liporegulatory hormone. En *Comparative Endocrinology of Prolactin*. Ed H.E. Dellman., J.A. Johnson, y D.M. Klanchko. p 153-171. Plenum Press, New York.
- MEITES J., y TURNER C.W. (1942).- III. Can estrogen account for the precipitous increase in the lactogen content of the pituitary following parturition?. *Endocrinology* 30:726-733.
- MEITES J., y TURNER C.W. (1942).- IV. Influence of suckling on lactogen content of pituitary of postpartum rabbits. *Endocrinology* 31:340-344.

- MEITES J., y TURNER C.W. (1948).- Studies concerning the induction and maintenance of lactation. I. The mechanism controlling the initiation of lactation at parturition. Mo. Agr. Exp. Sta. Res. Bull 415. Citado por TURNER C.W. (1977).
- MEITES J., y TURNER C.W. (1960).- En Hormone Assay. Ed C.W. Emmens. p 237-260. Academic Press, New York.
- MEITES J., y KRAGT C.L. (1964).- Effects of a pituitary Homotransplant and thyroxine on body and mammary growth in immature hypophysectomized rats. Endocrinology 75:565-570.
- MEITES J. (Editor). (1970).- Direct studies of the secretion of the hypothalamic hypophysiotropic hormones. En Hypophysiotropic Hormones of the Hypothalamus. p 261-281. Williams and Wilkins, Baltimore.
- MEITES J. (1972).- Relation of prolactin and estrogen to mammary tumorigenesis in the rat. J. Nat. Cancer Inst. 48:1217-1224.
- MEITES J., LU K.H., WUTTKE W., WELSCH C.W., NAGASWA H, y QUADRY J.K. (1972).- Recent studies on functions and control of prolactin secretion in rats. Recent. Prog. Hormone. Res. 28:471-526.
- MEITES J., y CLEMENS J.A. (1972).- Hypothalamic control of prolactin secretion. Vitamins and Hormones. 30:162-221.
- MEITES J. (1973).- Control of prolactin secretion in mammals. En Human Prolactin. Ed. J.L. Pasteels y C. Robyn. p 105-118. Excerpta Medica (American Elsevier, Amsterdam). New York.
- MEITES J. (1977).- Evaluation of research on control of prolactin secretion. En Comparative Endocrinology of Prolactin. Eds. H.D. Dellman, J.A. Johnson y D.M. Klachko. p 135-152. Plenum-Press, New York, London.

- MEITES J., LU K.H., GRANDISON L., HODSON C., y SIMPKINS J. (1978).- Relation of prolactin to gonadotropin secretion during postpartum lactation and after castration. En *Progress in Prolactin. Physiology and Pathology*. Eds. C. Robyn y M. Harter. p 149-164. Elsevier North-Holland, Amsterdam, New York.
- MENA F., ENJALBERT A., CARBONELL L., PRIAM M., y KORDON C. (1976).- Effect of suckling on plasma prolactin and hypothalamic monoamine levels in the rat. *Endocrinology* 99:445-451.
- MARIMEE T.J., FINEBERG S.E., y TYSON J.E. (1969).- Fluctuations of human growth hormone secretion during menstrual cycle: response to arginine. *Metabolism* 18:606-608.
- MERINO J. (1977).- Estudios experimentales en tumor hipofisario MTT-F4.- Patogenia de la hipertensión. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.
- MIDGLEY A.R., y JAFFE R.B. (1972).- Circulating human prolactin: a radioimmunologic analysis. En *Endocrinology. International Congress Series n^o 273*. Ed R.O.S. COW. p 629-635. Excerpta Medica, Amsterdam.
- MILLER W.R. (1976).- In vitro effects of prolactin upon testosterone metabolism by rat mammary adenocarcinomata. *European J. Cancer* 12: 679-682.
- MILLINGTON D.S., GOLDBERGER M.P., COWLEY T., LONDON D., ROBERTS H., BUTT W.R., y GRIFFITHS K. (1976).- In vitro synthesis of steroids by a feminising adrenocortical carcinoma: Effect of prolactin and other protein hormones. *Acta Endocrinologica* 82:561-571.
- MINTON J.P., y DICKEY R.P. (1973).- Levodopa test to predict response of carcinoma of the breast to surgical ablation of endocrine glands. *Surg. Gynecol. Obstet.* 136:971-974.

- MINTON J.P. (1974).- The response of breast cancer patients with bone pain to L-Dopa. *Cancer* 33:358-363.
- MIODUSZEWSKA O., KOSZAROWSKI T., y GORSKI C. (1968).- The influence of hormones on breast cancer in vitro in relation to the clinical course of the disease. En: *Prognostic Factors in Breast Cancer*. Ed A.P.M. Forrest y P.B. Kunkler. p 347-353. Williams and Wilkins, Baltimore.
- MIODUSZEWSKI R., GRANDISON L, y MEITES J. (1976).- Stimulation of prolactin release in rats by GABA. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 151: 44-46.
- MISHKINSKY J., KHANZAN K., y SULMAN F.G. (1968).- Prolactin releasing activity of the hypothalamus of postpartum rats. *Endocrinology* 82:611-613.
- MITTRA I., HAYWARD J.L., y Mac NEILLY A.S. (1974).- Hypothalamic-pituitary-thyroid axis in breast cancer. *Lancet* 1:885-891.
- MIYABO S., ASATO T., y MIZUSHIMA N. (1977).- Prolactin and growth hormone responses to psychological stress in normal and neurotic subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 44:947-951.
- MOBBS B.G., y JOHNSON I.E. (1974).- Estrogen-binding in vitro by DMBA induced rat mammary tumors: Its relationship to hormone responsiveness. *European J. Cancer* 10:757-763.
- MOLINNATI G.M., MASSARA F., STRUNIA E., PENNISI F., SCASSELLATI G.A., y VANCHERI L. (1969).- Radioimmunoassay of human growth hormone. *J. Nucl. Biol. Med.* 13:26-33.
- MONACO M.E., BRONZERT D.A., TORMEY D.C., WAALKES P., y LIPPMAN M.E. (1977).- Casein production by human breast cancer. *Cancer Res.* 37:749-754.

- MONACO M.E., y LIPPMAN M.E. (1978).- Interaction between hormones and human breast cancer in long-term tissue culture. En *Endocrine Control in Neoplasia*. Ed. R.K. Sharma y W. E. Criss. p 209-231. Raven Press, New York.
- MONNE J., RUIBAL A., OLIVAN A., y SOLE A. (1976).- Nuestro primeros resultados en la dosificación de prolactina en el cáncer de mama. *Oncología* 80 1:64-68.
- MOON R.C., y TURNER C.W. (1959).- Effect of reserpine on oxytocin and lactogen discharge in lactating rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 101:332-335. Citado por TURNER C.W. (1977).
- MORGAN L., RAGGAT P.R., De SOUZA L., SALIH H., y HOBBS J.R. (1977).- Prolactin receptors in human breast tumors. *J. Endocrinol.* 73:17P.
- MORGAN W.W., y HERBERT D.C. (1978).- Elevation of serum prolactin levels after the inhibition of serotonin uptake. *Endocrinology* 103:1016-1022.
- MORISHIGE W.K., y ROTHCHILD I. (1974).- Temporal aspects of the regulation of corpus luteum function by luteinizing hormone, prolactin, and placental luteotrophin during the first half of pregnancy in the rat. *Endocrinology* 95:260-274.
- MORTIMER C.H., BESSER G.M., Mac NEYLLI A.S., MARSHALL J.C., HARSOULIS P., TUNBRIDGE W.M.G., GOMEZ-PAN A., y HALL R. (1973).- Luteinizing hormone and Folliclestimulating hormone releasing test in patients with hypothalamic-pituitary-gonadal dysfunction. *Br. Med. J.* 4:73-77.
- MÜCKLER H., FRANKUS E., y MORE E. (1970).- Experimental investigations with 1-(Morpholinomethyl)-4 phthalimido-piperidindione-2,6 and drostanolone propionate in dimethylbenzanthracene-induced tumors of Sprague-Dawley rats. *Cancer Res.* 30:430-438.

- MÜHLBOCK O., y BOOT L.M. (1959).- Induction of mammary cancer in mice without the mammary tumor agent by isografts of hypophyses. *Cancer Res.* 19:402-412,
- MÜLLER E.E., GENAZZANI A.R., MURRU S., y FIORETTI P. (1977).- Effect of piribedil on plasma prolactin levels in women with puerperal or pathological hyperprolactinaemia. *Acta Endocrinologica* 86: 33-41.
- MÜLLER E.E., PANERAI A.E., COCCHI D., GIL-AD I., ROSSI G.L., y OLGIATI V.R. (1977).- Growth hormone releasing activity of thyrotropin releasing hormone in rats with hypothalamic lesions. *Endocrinology* 100:1663-1671.
- MÜLLER O.A., FINK R., WERDER K.J., y SCRIBA P.C. (1978).- Hypersecretion of ACTH, growth hormone and prolactin in a patient with pituitary adenoma. *Acta Endocrinologica. Sup.* 215:4-5.
- MÜLLER-SCHWEINITZER E., y WEIDMANN H. (1978).- Basic pharmacological properties. En *Ergot Alkaloids and Related Compounds. Handbook of Experimental Pharmacology.* Ed. B. Bende y H.O.Schild. p 87-232. Springer Verlaq. Heidelberg.
- MURAD T.N., y Von HAAM E. (1972).- Studies of mammary carcinoma induced by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene administration. *Cancer Res.* 32:1404-1415.
- MURAKI T., NAKADATE H., TOKUNAGA T., KATO R., y MAKINO T. (1979).- Effect of narcotic, analgesics and naloxone on proestrous surges of LH, FSH and prolactin in rats. *Neuroendocrinology* 28:241-247.
- MURALIDHAR K., MANECKJEE R., y MOUDGAL N.R. (1977).- Inhibition of in vivo pituitary release of luteinizing hormone in lactating rats. Exogenous prolactin. *Endocrinology* 100:1137-1142.

- MUROTA, S., y HOLLANDER V.P. (1972).- Role of ovarian hormones in the growth of transplantable mammary carcinoma. *Endocrinology* 89:560-564.
- MURRAY R.M.L., MOZAFFARIAN G., y PEARSON O.H. (1972).- Prolactin levels with L-Dopa treatment in metastatic breast carcinoma. En *Prolactin and Carcinogenesis*. Ed A.R. Boyns y K. Griffiths. p 158-161. Alfa-Omega-Alfa, Cardiff, Gales.
- NAFTOLIN F., RYAN K.J., DAVIES I.J., REDDY V.V., FLORES F., PETROZ., KUNH M., WHITE R.J., TAKOAKA Y., y WOLIN L. (1975).- The formation of estrogens by central neuroendocrine tissues. *Recent Prog. Hormon. Res.* 31:295-319.
- NAGASAWA H., y MEITES J. (1970).- Effects of a hypothalamic estrogen implant on growth of carcinogen-induced mammary tumors in rats. *Cancer Res.* 30:1327-1329.
- NAGASAWA H., y YANAI R. (1970).- Effects of prolactin or growth hormone on growth of carcinogen-induced mammary tumors of adeno-ovariectomized rats. *Intern. J. Cancer* 6:488-495.
- NAGASAWA H., y YANAI R. (1971).- Reduction by pituitary isograft of inhibitory effect of large dose of estrogen on incidence of mammary tumors induced by carcinogen in ovariectomized rats. *Inter. J. Cancer* 8:463-467.
- NAGASAWA H., y YANAI R. (1972).- Promotion of prolactin release in rats by dibutyryl adenosine 3',5'-monophosphate. *J. Endocrinol.* 55:215-216.
- NAGASAWA H., y YANAI R. (1973).- Effect of human placental lactogen on growth of carcinogen-induced mammary tumors in rats. *Intern. J. Cancer* 11:131-137.

- NAGASAWA H., YANAI R., SHODONO., NAKAMURA T., y TANABE Y. (1974).- Effect of neonatally administered estrogen or prolactin on normal and neoplastic mammary growth and serum estradiol-17 β level in rats. *Cancer Res.* 34:2643-2646.
- NAGASAWA H., y YANAI R. (1974).- Frequency of mammary cell division in relation to age: its significance in the induction of mammary tumors by carcinogen in rats. *J. Natl. Cancer Inst.* 52:609-610.
- NAGASAWA H., y YANAI R. (1974)^a.- Effects of estrogen and/or pituitary graft on nucleic acid synthesis of carcinogen-induced mammary tumors in rats. *J. Natl. Cancer Inst.* 52:1219-1222.
- NAGASAWA H., YANAI R., TANIGUCHI H., TOKUZEN R., y NAKAHARA W. (1976).- Two-way selection of a stock of Swiss-Albino mice of mammary tumorigenesis: Establishment of two new strains (SHN and SLN). *J. Natl. Cancer Inst.* 57:425-430.
- NAGASAWA H., y YANAI R. (1976).- Mammary nucleic acids and pituitary prolactin secretion during prolonged lactation in mice. *J. Endocrinol.* 70:389-395.
- NAGASAWA H., YANAI R., y TANIGUCHI H. (1976).- Importance of mammary gland DNA synthesis on carcinogen-induced mammary tumorigenesis in rats. *Cancer Res.* 36:2223-2226.
- NAGASAWA H., MORI T., YANAI R., BERN H.A., y MILLS K.T. (1978).- Long-term effects of neonatal hormonal treatments on plasma prolactin levels in female BALB/c \times C3H and BALB/C mice. *Cancer Res.* 38:942-945.
- NAGAY R., KATAOKA M., KOBAYASHI S., ISHIHARA K., TOBIOKA N., NAKASHIMA K., NARVIE M., SAITO K., y SAKUMA S. (1979).- Estrogen and progesterone receptors in human breast cancer with concomitant assay of plasma 17 β -estradiol, progesterone and prolactin levels. *Cancer Res.* 39:1835-1840.

- NAGEL T.C., FREINKEL N., BELL R.H., FRIESEN H., WILBER J.F., y METZGER B.E. (1973).- Gynecomastia, prolactin, and other peptides hormones in patients undergoing chronic hemodialysis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 36:428-432.
- NAKANE P.K. (1968).- Simultaneous localization of multiple tissue antigens using the peroxidase-labeled antibody method: a study on pituitary glands of the rat. *J. Histochem. Cytochem.* 16:557.
- NAKANE P.K. (1975).- Identification of anterior pituitary cells by immunocytochemistry. En *The Anterior Pituitary*. Ed A. Tixier-Vidal y M.G. Farguard. p 45-61. Academic Press, New York.
- NAKANE H., FAWCETT C.P., y Mac CANN S.M. (1976).- Enzymatic dissociation and short term culture of isolated rat anterior pituitary cells for studies on the control of hormone secretion. *Endocrinology* 98: 278-288.
- NAMER M., HERY M., BONET C., ABBES M., KREBS B.P., BOUBLIL J.L., Mac DONALD E.A., LALANNE C.M., y RAMOILI A. (1978).- Interest of carcino-embryonic antigen in the follow-up and treatment of breast cancer. En *Clinical Application of Carcinoembryonic Antigen Assay*. Ed. B.P. Krebs, C.M. Lalanne y M. Schneider. p 255-262. Excerpta Medica Amsterdam. Oxford.
- NARDICCI N.J., y Mac GUIRE W.L. (1977).- Casein and α -lactalbumin messenger RNA in experimental breast cancer. *Cancer Res.* 37:1186-1190
- NATHAN R.S., SACHAR E.J., LANGER G., TABRIZI M.A., y HALPERN F.S. (1979).- Diurnal variation in the response of plasma prolactin, cortisol, and growth hormone to insulin-induced hypoglycemia in normal men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 49:231-235.
- NEGRO-VILAR A., SAAD W.A., y Mac CANN S.M. (1977).- Evidence for a role of prolactin in prostate and seminal vesicle growth in immature male rats. *Endocrinology* 100:729-737.

- NEGRO-VILAR A., OJEDA S.R., ADVIS J.P., y Mac CANN S.M. (1979).- Evidence for noradrenergic involvement in episodic prolactin and growth hormone release in ovariectomized rats. *Endocrinology* 105:86-91.
- NEILL J.D. (1970).- Effect of "stress" on serum prolactin and luteinizing hormone levels during the estrous cycle of the rat. *Endocrinology* 87:1192-1197.
- NEILL J.D., FREEMAN M.F., y TILLSON S.A. (1971).- Control of the proestrus surge of prolactin and LH secretion by estrogen in the rat. *Endocrinology* 89:1448-1453.
- NEUMAN E.S., PETRAS S.G., GEORGIADIS A., y HANSEN H.H. (1974).- Interrelation ship of carcinoembryonic antigen an colon carcinoma antigen-III. *Cancer. Res.* 34:2125-2130.
- NEVEU T., STAEBLER D., CHAVANEL G., y BURTIN P. (1975).- Study of the antigen cross reactivity between carcinoembryonic antigen and nonspecific cross reaction antiqens (NCA y NCA 2). *Br. J. Cancer* 31:524-527.
- NIALL H.D., HOGAN M.L., SAVER R., ROSEMBLUM I.Y., y GREEMWOOD F.C. (1971).- Sequences of pituitary and placental lactoagenic and growth hormones: Evolution from/a/primordial peptide bi gene reduplication. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 68:866-869.
- NIALL H. (1972).- The chemistry of the human lactogenic hormones. En *Prolactin and Carcinogenesis*. Ed. K. Griffiths y A.R. Boyns. p 13-19. Alfa-Omega-Alca. Cardiff, Gales.
- NIALL H.D., HOGAN M.L., TREGEAR G.W., SEGRE G.V., HWANG P., y FRIESEN H., (1973).- The chemistry of growth hormone and the loctegenic hormones. *Recent Prog. Hormon. Res.* 29:387-404.

- NICOLL C.S. (1969).- Bioassay of prolactin. Analysis of the pigeon crop-assay response to systemic prolactin injection and improved method of response quantification. *Acta Endocrinologica* 60:91-100.
- NICOLL C.S., FIORINDO R.P., Mac KENNEE C.T., y PARSONS J.A. (1970).- Assay of hypothalamic factors which regulate prolactin secretion. En *Hypophysiotropic Hormones of the Hypothalamus: Assay and Chemistry*. Ed J. Meites. p 115-180.- Williams and Wilkins, Baltimore.
- NICOLL C.S. (1971).- Aspects of the neural control of prolactin secretion. En *Frontiers in Neuroendocrinology*. Ed L. Martini y W.F. Ganong. p 291-330. Oxford University Press, New York.
- NICOLL C.S., y BERN H.A. (1972).- On the actions of prolactin among the vertebrates: is there a common denominator. En *Lactogenic Hormones*. Ed G.E.N. Wolstenholme y J. Knight. p 299-324. Churchill Livingstone. Edimburgo y Londres.
- NICOLL C.S. (1973).- En *Methods in Investigative and Diagnostic Endocrinology*. Ed S. A. Berson y R.S. Yalow. Vol. 2A, cap. 8: Prolactin; 3. Measurement, seccion 3.1.1. Biological and physico-chemical methods. p 570-577. North Holland/American Elsevier, Amsterdam y New York.
- NICOLL C.S. (1974).- Physiological actions of prolactin. En *Handbook of Physiology*. Seccion 7, Vol.4, parte 2. p 253-292. American Physiological Society, Washington.
- NICOLL C.S. (1978).- Comparative aspects of prolactin physiology: is prolactin the initial growth hormone in mammalian species also? En *Progress in Prolactin. Physiology and Pathology*. Eds. C. Robyn y M. Harte. p 175-188. Elsevier North-Holland. Amsterdam, New York

- NILES L.P., BROWN G.M., y GROTA L.J. (1977).- Effects of circulating melatonin and N-acetylserotonin on plasma prolactin levels. *Neuroendocrinology* 24:14-22.
- NILLIUS S.J. (1978).- Prolactin. *Acta Endocrinologica* 88, Sup.216: 99-110.
- NIR I., HIRSCHMANN N., GOLDHABER G., y SHANI J. (1979).- Pinealectomy-induced changes in blood and pituitary luteinizing hormone and prolactin levels during the last phase of pregnancy in rats. *Neuroendocrinology* 28:44-51.
- NISWINDER G.D., CHEN C.L., MIDGLEY A.R., MEITES J., y ELLIS S. (1969).- Radioimmunoassay for rat prolactin. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 130:793-798.
- NOBLE R.L., y CUTTS J.H. (1959). Mammary tumors of the rat: A review. *Cancer Res.* 19:1125-1139.
- NOEL G.L., SUH H.K., STONE G., y FRANTZ A.G. (1972).- Human prolactin and growth hormone release during surgery and other conditions of stress. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 35:840-851.
- NOEL G.L., SUH H.K., y FRANTZ A.G. (1973).- L-Dopa suppression of TRH-stimulated prolactin release in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 36:1255-1258.
- NOEL G.L., SUH H.K., y FRANTZ A.G. (1974).- Prolactin release during nursing and breast stimulation in postpartum and non-postpartum subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 38:413-423.
- NOEL G.L., DIMOND R.C., WARTOFSKY L., EARLL J.M., y FRANTZ A.G. (1974).- Studies of prolactin and TSH secretion by continuous infusion of small amounts of thyrotropin-releasing hormone (TRH). *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 39:6-17.
- NOKIN J., VEKEMANS M., L'HERMITE M., y ROBYN C. (1972).- Circadian periodicity of serum prolactin concentration in man. *British Med. J.* 3:561-562.

- NOLIN J.M., y WITORSCH R.J. (1976).- Detection of endogenous immunoreactive prolactin in rat mammary epithelial cells during lactation. *Endocrinology* 99:949-958.
- NOLIN J.M. (1978).- Intracellular prolactin in rat corpus luteum and adrenal cortex. *Endocrinology* 102:402-406.
- NORTHRUP B.E., HYMER W.C., y BERGLAND R.M. (1975).- Changes in human pituitary prolactin cells in association with breast cancer. *Surg. Forum* 26:479-480.
- ODELL W.D., y WOLFSEN A.R. (1978).- Humoral syndromes associated with. *Ann. Rev. Med* 29:379-406.
- O'FALLON W.M., LABARTHE D.R., y KURLAND L.T. (1975).- Rauwolfina derivatives and breast cancer. *Lancet* 2:292-296.
- OGLE T.F. (1977).- Modification of serum luteinizing hormone and prolactin concentrations by corticotropin and adrenalectomy in ovariectomized rats. *Endocrinology* 101:494-497.
- OGLE T.F., y KITAY J.I. (1979).- Interactions of prolactin and adrenocorticotropin in the regulation of adrenocortical secretions in female rats. *Endocrinology* 104:40-44.
- OHGO S., KATO Y., CHIHARA K., e IMURA H. (1976).- Plasma prolactin responses to Hydrotropin-releasing hormone in patients with breast cancer. *Cancer* 37:1412-1416.
- OJEDA S.R., y Mac CANN S.M. (1974).- Development of dopaminergic and estrogenic control of prolactin release in the female rat. *Endocrinology* 95:1499-1505.
- OJEDA S.R., HARMS P.G., y Mac CANN S.M. (1974).- Effect of blockade of dopaminergic receptors on prolactin and LH release: Median eminence and pituitary sites of action: *Endocrinology* 94:1650-1657.

- OJEDA S.R., HARMS P.G., y Mac CANN S.M. (1974)^a. Central effect of prostaglandin E1 (PGE1) on prolactin release. *Endocrinology* 95:613-618.
- OJEDA S.R., HARMS P.G., y Mac CANN S.M. (1974)^b.-- Possible role of cyclic AMP and prostaglandin E1 in the dopaminergic control of prolactin release. *Endocrinology* 95:1694-1703.
- OJEDA S.R., KRULICH L., y Mac CANN S.M. (1974).-- Effect of an intraventricular injection of cyclic AMP on plasma prolactin and LH levels of ovariectomized estrogen-treated rats. *Neuroendocrinology* 16:342-354.
- OJEDA S.R., JAMESON H.E., y Mac CANN S.M. (1978).-- Effects of indomethacin and prostaglandin injections on plasma prolactin and growth hormone levels in rats. *Endocrinology* 102:531-539.
- OKA T., KANO K., y PERRY J.W. (1977).-- Spermidine and the development of mammary gland. In *Endocrinology. Proc. V. Inter. Congress of Endocrinology. Hamburgo. Ed. V.H.T. James. Vol. 1. p. 542-547. Excerpta Medica, Amsterdam y Oxford.*
- OLIVER C., MICAL R.S., y PORTER J.C. (1977).-- Hypothalamic-pituitary vasculature: evidence for retrograde blood flow in the pituitary stalk. *Endocrinology*. 101:598-604.
- O'MALLEY B.W. (1975).-- Hormones, genes and cancer, *Hospital Practice*. 10:65-73.
- ONDO J.G., y PASS K.A. (1976).-- The effects of neurally active amino acids on prolactin secretion. *Endocrinology*. 98:1248-1252.
- OSAMURA R.Y., WATANABE K., TERAMOTO A., HIRAKAWA K., KAWANO N., y MORII S. (1978).-- Male prolactin secreting pituitary adenomas in humans studied by peroxidase-labelled antibody method. *Acta Endocrinológica* 88:643-652.

- OSBORNE C.K., y LIPPMAN M.E. (1978).- Human breast cancer in tissue culture. The effects of hormones. En Breast Cancer. Advances in Research and Treatment. Vol, 2. Experimental Biology. Ed. W.L. Mac Guire. p 103-154. Plenum Press, New York, London.
- OSTERMAN P.O., FAGIUS J., y WIDE L. (1977).- Prolactin levels in the insulin tolerance test with and without pre-treatment with dexamethasone. Acta Endocrinológica 84:237-245.
- OSTLUND R.E., LEUNG J.T., HAJEK S.V., WINOKUR T., y MELMAN M. (1978).- Acute stimulated hormone release from cultured GH3 pituitary cells. Endocrinology 103:1245-1252.
- PALADE G.E. (1966).- Structure and function at the cellular level. J.A.M.A. 198:815-825.
- PALADE G.E. (1975).- Intracellular aspects of the process of protein secretion. Science 189:347-358.
- PAPAIOANNOU A.N. (1972).- Prolactin, levodopa, and immune response in breast cancer. Lancet 2:226.
- PAPAIOANNOU A.N. (1974).- En Etiology of Human Breast Cancer. Ed. A.N. Papaioannou. Cap.4: Immunologic Considerations. p 84-154. Springer Verlag. Berlin, Heidelberg, New York.
- PARKER D.C., ROSSMAN L.G., y Van DERLAAN E.F. (1973).- Sleep-related nyctohemeral and briefly episodic variation in human plasma prolactin concentrations. J. Clin. Endocrinol. Metab. 36:1119-1124.
- PARKER D.C., ROSSMAN L.G., y Van DERLAAN E.F. (1974).- Relation of sleep-entrained human prolactin release to REM-Non REM cycles. J. Clin. Endocrinol. Metab. 38:646-651.

- PARKER L.N., SACK J., FISHER D.A., y ODELL W.D. (1978).- The adrenarche; prolactin, gonadotropins, adrenal androgens, and cortisol. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 46:396-401.
- PARSONS J.A. (1970).- Effects of cations on prolactin and growth hormone secretion by rat adenohypophyses in vitro. *J. Physiol.* 210:973-987.
- PASS K.A., y ONDO J.G. (1977).- The effects of γ -aminobutyric acid on prolactin and gonadotropin secretion in the unanesthetized rat. *Endocrinology* 100:1437-1442.
- PASTEELS J.L. (1961).- Secretion de prolactine par l'hypophyse en culture de tissus. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris* 253:2140. Citado por MacLeod R.M. 1976.
- PASTEELS J.L. (1962).- Administration of hypothalamic extracts to the rat pituitary "in vitro", with a view to controlling the secretion of prolactin. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris*. 254:2664. Citado por MacLeod R.M. 1974.
- PASTEELS J.L., BRAUMAN H., y BRAUMAN J. (1963).- Etude comparee de la secretion d'hormone somatotrope par l'hypophyse humaine in vitro et de son activite lactogenique. *C.R. Acad. Sci. (Paris)* 256:2031. Citado en *Human Prolactin*. Ed. J.L. Pasteels y C. Robyn. Discusion p 34-47. *Excerpta Medica/American Elsevier, Amsterdam y New York*.
- PASTEELS J.L. (1971).- Tissue culture of human hypophyses: evidence of a specific prolactin in the human. En *Ciba Foundation Symposium. Lactogenic Hormones*. Ed G.E.W. Wolstenholme y J. Knight. pag 269-277. *Churchill Livingstone, Londres*.
- PASTEELS J.L., DANGUY A., FREROTTE M., y ECTORS F. (1971).- Inhibition de la secretion de prolactine par l'ergocornine et la 2-Br- α -ergocryptine; action directe sur l'hypophyse en culture. *Ann. Endocrinol. (Paris)*. 32:188-192.

- PASTEELS J.L. (1972).- Morphology of prolactin secretion. En Lactogenic Hormones. Ed. G.E.W. Wolstenholme y J. Knight. p 241-256. Churchill Livingstone, Londres y Edimburgo.

- PASTEELS J.L., GAUSSET P., ECTORS F., DANGUY A., ROBYN C., L'HERMITE M., y DUJARDIN M. (1972).- Histological, immunofluorescent and electron microscopic identification of prolactin-producing cells in the human pituitary. Proceeding 4° International Congress of Endocrinology. Washington D.C. Ed. R. Scow. p 616-621. Excerpta Medica, Amsterdam.

- PASTEELS J.L., GAUSSET P., DANGUY A., y ECTORS F. (1972).- Immunofluorescent studies on prolactin and the pituitary. En Prolactin and Carcinogenesis. Ed K. Griffiths y A.R. Boyns. p 128-136. Alfa-Omega-Alfa. Cardiff, Gales.

- PASTEELS J.L., GAUSSET P., DANGUY A., ECTORS F., NICOLL C.S., y VARAVUDHI P. (1972).- Morphology of the lactotropes and somatotropes of man and rhesus monkey. J. Clin. Endocrinol. Metab. 34:959-967.

- PASTEELS J.L., y ROBYN C., EDITORES (1973).- Human Prolactin. Excerpta Medica, Amsterdam.

- PASTEELS J.L., HEUSON J.C., HEUSON-STIENNON J., y LEGROS N. (1976).- Effects of insulin, prolactin progesterone, and estradiol on DNA synthesis in organ culture of 7,12-Dimethylbenz(A)-anthracene-induced rat mammary tumors. Cancer Res. 36:2162-2170.

- PASTEELS J.L., HEUSON-STIENNON J., DANGUY A., LEGROS N., y HEUSON J. L. (1978).- Recent experimental data on hormonal dependence of mammary tumors. En Progress in Prolactin. Physiology and Pathology. Eds C. Robyn y M. Harter. p 69-79. Elsevier North-Holland, Amsterdam, New York.

- PEAKE G.T., Mac KELL D.W., JARETT L., y DAUGHADAY W.H. (1969).- Ultrastructural, histologic and hormonal characterization of a prolactin-rich human pituitary tumor. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 29:1383-1393.
- PEARSON O.H., LLERENA O., SAMAN N., y GONZALEZ D. (1968).- Serum growth hormone and insulin levels in patients with breast cancer. En *Prognostic Factors in Breast Cancer*. Ed. A.P.M. Forrest y P.B. Kunker. p 421. Williams and Wilkins. Baltimore.
- PEARSON O.H., MURRAY B., y MOZAFFARIAN G. (1972).- Prolactin and experimental breast cancer. En *Prolactin and Carcinogenesis*. Ed A.R. Boyns y K. Griffiths. p 154-157. Alfa-Omega-Alfa. Cardiff, Gales.
- PEARSON O.H., y MANNI A. (1978).- Hormonal control of breast cancer growth in women and rats. En *Current topics in Experimental Endocrinology*. Eds. L. Martini y V.H.T. James. p 75-93. Academia Press. New York y Londres.
- PELLETIER G., LEMAY A., BERAUD G., y LABRIE F. (1972).- Ultrastructural changes accompanying the stimulatory effect of N6-monobutyryl adenosine 3', 5'-monophosphate on the release of growth hormone (GH), prolactin (PRL) and adrenocorticotrophic hormone (ACTH) in rat anterior pituitary gland in vitro. *Endocrinology* 91:1355-1371.
- PELLETIER G., ROBERT F., y HARDY J. (1978).- Identification of human anterior pituitary cells by immunoelectron microscopy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 46:534-542.
- PETERS J.M. (1977).- The importance of insulin, cortisol, progesterone and prolactin for the mammatrophic effect of pregnant rat serum. *Acta Endocrinologica* 85:548-558.

- PETERS R.R., y TUCKER H.A. (1978).- Prolactin and growth hormone responses to photoperiod in heifers. *Endocrinology* 103:229-234.
- PIERPAOLI W., y SORKIN E. (1975).- Immunological blockade of the hypophysis. En *Host Defenec in Breast Cancer*. Ed. B.A. Stoll. p 172-190. William Heinemann Medical Books. Londres.
- PILOTTE N.S., y PORTER J.C. (1979). Circulating luteinizing hormone and prolactin concentrations in intact or castrated male rats treated with 5-hydroxytryptamine. *Endocrinology* 105:875-878.
- PLANT T.M., KREY L.C., MOOSSY J., Mac CORMACK J.T., HESS D.L., y KNOBIL E. (1978).- The arcuate nucleus and the control of gonadotropin and prolactin secretion in the primate rhesus monkey (*Maccaca Mulata*). *Endocrinology* 102:52-62.
- PODMORE J., WILSON B., COWDEN E.A., BEASTALL G.H., y RATCLIFFE J.G. (1979).- Multiple hormones in human tumors. En *Carcino-Embryonic Proteins*. Ed F.G. Lehmann. Vol 1, p 457-463. Elseviér/ North Holland, Amsterdam y New York.
- POIRIER G., De LEAN A., PELLETIER G., LEMAY A., y LABRIE F. (1974).- Purification of adenohipophyseal plasma membranes and properties of associated adenylate cyclase. *J. Biol. Chem.* 249:316-322.
- PONTIROLI A.E., CASTEGNARO R., VETTARO M.P., VIVERTI G.C., y POZZA G. (1977).- Stimulatory effect of the dopa-decarboxylase inhibitor RO4-4602 on prolactin release; inhibition by L-dopa, metergoline, methysergide and 2-Br- α -ergocryptine. *Acta Endocrinológica* 84:36-44.
- PONTIROLI A.E., y POZZA G. (1978).- Histamine stimulates prolactin release in normal men. *Acta Edocrinológica* 88:23-28.

- PORTEUS S.E., y MALVEN P.V. (1974).- Stimulation of prolactin release in vivo by thyrotropin-releasing Hormone (TRH) through direct action on the ectopic rat pituitary. *Endocrinology* 94: 1699-1703.
- POSNER B.I., KELLY P.A., SHIU R.P.C., y FRIESEN H.G. (1974).- Studies of insulin, growth hormone and prolactin binding: tissue distribution, species variation and characterization. *Endocrinology* 95:521-531.
- POSNER B.I., KELLY P.A., y FRIESEN H.G. (1975).- Prolactin receptors in rat liver: possible induction by prolactin. *Science* 188:57-59.
- POSNER B.I. (1976).- Regulation of lactogen specific binding sites in rat liver: studies on the role of lactogens and estrogen. *Endocrinology* 99:1168-1177.
- POSNER B.I. (1977).- Growth hormone and prolactin receptors: characteristics and regulation. En *Endocrinology. Proc. V. Inter. Congress of Endocrinology, Hamburgo*. Ed. V.H.T. James. Vol 2. p 178-185. Excerpta Medica, Amsterdam y Oxford.
- POWELL B.L., DIAMOND E.J., KOPRAK S., y HOLLANDER V.P. (1977).- Prolactin binding in ovariectomy-responsive and ovariectomy-nonresponsive rat mammary carcinoma. *Cancer Res.* 37:1328-1332.
- POWELL B.L., y HOLLANDER V.P. (1978).- Studies on the dissociation of prolactin from mammary tumor membranes. *Endocrinology* 103:710-715.
- PRITCHARD D.G., TODD C.W., y EGAN M.L. (1978).- Chemistry of carcinoembryonic antigen. En *Methods in Cancer Research*. Vol 14. Ed H. Busch. p 55-85. Academic Press, New York.

- PURVES H.D. (1961).- Sex and International Secretions. Ed W.C. Young. p.161-239. Williams and Wilkins Company, Baltimore.

- QASBA P.K., y GULLINO P.M. (1977).- α -lactalbumin content of rat mammary carcinomas and the effect of pituitary stimulation. Cancer Res. 37:3792-2795.

- QUABBE H.J., GREGOR M., BUMKE-VOGT C., ECKHOF A., BOHLSCHIED P., y SCHOPPENHORST M. (1978).- 24-h. pattern of growth hormone, prolactin and cortisol in the Rhesus monkey. Acta Endocrinológica. Supl. 215:8-9.

- QUADRI S.K., y MEITES J. (1971).- Regression of spontaneous mammary tumors in rats by ergot drugs. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 138:999-1001.

- QUADRI S.K., CLARK J.L., y MEITES J. (1973).- Effects of LSD, paralyline and haloperidol on mammary tumor growth in rats. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 142:22-26.

- QUADRI S.K., KLEDZIK G.S., y MEITES J. (1973).- Effects of L-Dopa and methyl-dopa on growth of mammary cancers in rats. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 142:759-761.

- QUADRI S.K., KLEDZIK G.S., y MEITES J. (1974).- Counteraction by prolactin of androgen-induced inhibition of mammary tumor growth in rats. J. Nat. Cancer Inst. 52:875-878.

- QUADRI S.K., KLEDZIK G.S., y MEITES J. (1974)^a.- Enhanced regression of DMBA-induced mammary cancers in rats by combination of ergocornin with ovariectomy or high doses of estrogen. Cancer Res. 34:499-501.

- QUADRI S.K., NORMAN R.L., y SPIES H.G. (1976).- Increase in serum prolactin concentration following electrical stimulation of the preoptic area and medial basal hypothalamus in ovariectomized rhesus monkeys. En Prog. 58 Annual Meeting. Endocr. Soc. Abstr. 320.

- QUADRI S.K., NORMAN R.L., SPIES H.G. (1977).- Prolactin release following electrical stimulations of the brain in ovariectomized and ovariectomized estrogen-treated rhesus monkeys. *Endocrinology* 100:325-330.
- QUADRI S.K., OYAMA T., y SPIES H.G. (1979).- Effects of 17 β -estradiol on serum prolactin levels and on prolactin responses to thyrotropin-releasing hormone in female rhesus monkeys. *Endocrinology* 104:1649-1655.
- QUIGLEY M.E., JUDD S.J., GUILLILAND G.B., y YEN S.C.C. (1979).- Effects of a dopomine antagonist on the release of gonadotropin and prolactin in normal women with hyperprolactinemic anovulation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 48:718-720.
- QUIJADA M., ILLNER P., KRULICH L., y Mac CANN S.M. (1973).- The effect of catecholamines on hormone release from anterior pituitaries and ventral hypothalami incubated in vitro. *Neuroendocrinology* 13:151-163.
- RACADOT J., VILA-PORCILE E., PEILLON F., y OLIVER L. (1971).- Adenomes hypophysaires á cellules á prolactine. Etude structurale et ultrastructurale. Corrélations anatomo-cliniques. *Ann D'Endocrinologie (Paris)* 32:298-305.
- RAMALEY J.A., y CAMPBELL G.T. (1977).- Serum prolactin concentrations in the adrenalectomized rat.: Relationships to puberty onset. *Endocrinology* 101:890-897.
- RAMAY J.N., BURROW G.N., SPAULDING S.W., DONABEDIAN R.K., SPEROFF L., y FRANTZ A.G. (1976).- The effect of aspirin and indomethacin on the TRH response in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 43:107-114.
- RAMIREZ G., O'NEILL W.M., BLOOMER H.A., y JUBIZ W. (1977).- Abnormalities in the regulation of prolactin in patients with chronic renal failure. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 45:658-661.

- RAND H.R., ODELL W.D. (1971).- Studies on the measurement of bovine and porcine prolactin by radioimmunoassay and by systemic pigeon crop-sac bioassay. *Endocrinology* 88:991-1002.
- RAO P., ROBERTSON M., WINNICK M. y WINNICK T. (1967).- Biosynthesis of prolactin and growth hormone in slices of bovine anterior pituitary tissue. *Endocrinology* 80:1111-1119.
- RASTOGI G.K., DASH R.J., SHARMA B.R., SAWHNEY R.C., y SIALY R. (1976).- Circadian responsiveness of the hypothalamic-pituitary axis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 42:798-803.
- RATHNAM P., y SAXENA B.B. (1977).- Recovery of prolactin from acetone-dried human pituitary glands. *Endocrinology* 100:1403-1408.
- RATNER A., TALWALKER P.K., y MEITES J. (1965).- Effect of reserpine on prolactin inhibiting activity of rat hypothalamus. *Endocrinology* 77:315-319.
- RAUD H.R., y O'DELL W.D. (1971).- Studies of the measurement of bovine and porcine prolactin by radioimmunoassay and by systemic pigeon crop-sac assay. *Endocrinology* 88:991-1002
- RE R.N., KOURIDES I.A., RIDGWAY E.C., WEINTRAUB B.D., y MALOOF F. (1976).- The effect of glucocorticoid administration on human pituitary secretion of thyrotropin and prolactin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 43:338-346.
- REDMAN C.M., y SABATINI D.D. (1966).- Vectorial discharge of peptides released by puromycin from attached ribosomes. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 56:608-615.
- REECE R.P., y TURNER C.W. (1936).- Galactin content of the rat pituitary. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 35:60-62. Citado por TURNER C.W. (1977).

- REECE R.P., y TURNER C.W. (1937).- Effect of stimulus of suckling upon galactin content of the rat pituitary. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 35:621-622. Citado por TURNER C.W. (1977).
- REES L.H., BLOOMFIELD G.A., REES G.M., FRANKS L.M. y RATCLIFFE J.G. (1974).- Multiple hormones in bronchial tumor. J. Clin. Endocrinol. Metab. 38:1090-1097.
- REES H., y RATCLIFFE J.G. (1974).- Ectopic hormone production by nonendocrine tumors. Clin. Endocrinol. 3:263-299.
- REFETOFF S., FANG V.S., RAPOPORT P., y FRIESEN H. G. (1974).- Interrelationships in the regulation of TSH and prolactin secretion in man: effects of L-Dopa, TRH and thyroid hormone in various combinations. J. Clin. Endocrinol. Metab. 38:450-457.
- REINBERG A., LAGOGUEY M., CESSÉLIN F., TOVITOV Y., LEGRAND J.C.; DELASSALLE A., ANTREASSIAN J., y LAGOGUEY A. (1978).- Circadian and circannual rhythms in plasma hormones and other variables of five healthy young human males. Acta Endocrinológica 88:417-427.
- REINEKE E.P., BERGMAN A.J., y TURNER C.W. (1941).- Effect of thyroidectomy of young male goats upon certain AP hormones. Endocrinology 29:306-312.
- REITER R.J. (1974).- Pineal-anterior pituitary gland relationships. En MTP International Review of Science. Physiology. Series one Vol, 5: Endocrine Physiology. Eds A.C. Guyton y S.M. Mac Cann. p 227-308. Butterworths University Park Press. Londres y Baltimore.
- REITER R.J., BLASK D.E., y VAUGHAN M.K. (1975).- A counter antigonadotrophic effect of melatonin in male rats. Neuroendocrinology 19:72-80.
- REITER E.O., y ROOT A.W. (1978).- Effect of pyrodoxime on pituitary release of growth hormone and prolactin in childhood and adolescence. J. Clin. Endocrinol. Metab. 47:689-690.

- RELKIN R. (1972).- Neuroendocrinology, 9:278.
- REUTER A.M., KENNES F., GEVAERT Y., y FRANCHIMONT P. (1975).- Radioimmunoassay of human prolactin. Pathol. Biol. 23:761-767.
- REUTER A.M., KETELSLEGGERS J.C., HENDRICK J.C., y FRANCHIMONT P. (1978).- Radioimmunoassay of protein hormones: principles and methodology. Hormon. Res. 9:404-421.
- REVOL A. (1977).- Sources des oestrogènes chez la femme de la puberté a la ménopause. En Les Oestrogènes. Rapports présentés a la XIV réunion des endocrinologistes de langue française. Paris 15 y 16 Sept. 1977. p 95-107. Masson. Paris. Barcelona.
- REYES F.I., WINTER J.S.D., y FAIMAN C. (1972).- Pituitary-ovarian interrelationships during the puerperium. Am. J. Obstet. Gynecol. 114:589-594.
- REYES F.I., GOMEZ F., y FAIMAN C. (1977).- En Prolactin and Human Reproduction. ed P.G. Crosignani y C. Robyn. p 259-271. Academic Press, New York.
- REYNOSO G., MING CHU T., HOLYOKE D., COHEN E., NEMOTO T., WANG J.J., CHUANG J., GUINAN P., y MURPHY G.P. (1972).- Carcinoembryonic antigen in patients with different cancers. J.A.M.A. 220:361-365.
- RICHARDS J.E., SHYANALA G., y NANDI S. (1974).- Estrogen receptor in normal and neoplastic mouse mammary tissues. Cancer Res. 34: 2764-2772.
- RICHARDS J.S., y WILLIAMS J.J. (1976).- Luteal cell receptor content for prolactin (PRL) and luteinizing hormone (LH): Regulation by LH and PRL. Endocrinology 99:1571-1581.
- RICHARDSON F.L. (1967).- Effect of ovariectomy at different ages on development of mammary tumors in (C3H/RIII) F₁ mice. J. Natl. Cancer Inst. 39:347-354.

- RIDDLE O., BATES R.W., DYKSHORN S.W. (1933).- The preparation, identification, and assay of prolactin-a hormone of the anterior pituitary. *Am. J. Physiol.* 105:191-216. Citado por TURNER C.W. (1977).
- RILEY A.L., HAGEN T.C., STEFANIAK J.E. (1978).- Effect of prolactin of glomerular filtration rate. *Clin. Sci. Mol. Med.* 55:335-339.
- RILLEMA J.A. (1976).- Effects of prostaglandins on RNA and casein synthesis in mammary gland explants of mice. *Endocrinology* 99: 490-495.
- RILLEMA J.A., y WILD E.A. (1977).- Prolactin activation of phospholipase A activity in membrane preparations from mammary Glands. *Endocrinology* 100:1219-1222.
- RIMOIN D.L., HOLZMAN G.B., MERIMEE T.J., RABINOWITZ D., BARNES A.C., TYSON J.E.A., y Mac KUSIC V.A. (1968).- Lactation in the absence of human growth hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 28:1183-1188.
- RIVERA E.M., y BERN H.A. (1961).- Influence of insulin on maintenance and secretory stimulation of mouse mammary tissues by hormones in organ-culture. *Endocrinology* 69:340.
- RIVIER C., y VALE W. (1974).- In vivo stimulation of prolactin secretion in the rat by thyrotropin releasing factor, related peptides, and hypothalamic extracts. *Endocrinology* 95:978-983.
- RIVIER C., VALE W., LING N., BROWN M. y GUILLEMIN R. (1977).- Stimulation in vivo of the secretion of prolactin and growth hormone by β -endorphin. *Endocrinology* 100:238-241.
- RIVIER C., BROWN M., y VALE W. (1977).- Effect of neurotensin, substance P and morphine sulfate on the secretion of prolactin and growth hormone in the rat. *Endocrinology* 100:751-754.

- RIVIER C., y VALE W. (1977).- Effects of γ -aminobutyric acid and histamine on prolactin secretion in the rat. *Endocrinology* 101:506-511.
- RIVIER C., RIVIER J., y VALE W. (1978).- The effect of bombesin and related peptides on prolactin and growth hormone secretion in the rat. *Endocrinology* 102:519-522.
- ROBYN C., DELVOYE P., NOKIN J., VEKEMANS M., BADAWI M., PEREZ-LOPEZ E. R., y L'HERMITE M. (1973).- Prolactin and human reproduction. En *Human Prolactin*. Ed J.L. Pasteels y C. Robyn. p 167-188. *Excerpta Medica/American Elsevier*. Amsterdam y New York.
- ROBYN C. (1975).- Prolactin and breast cancer. *Pathol. Biol.* (Paris) 23:783-792.
- ROBYN C., DELVOYE P., VEKEMANS M., CAUFRIEZ A., MICHAUX-DEUCHENE A., y L'HERMITE M. (1977).- En *Progress in Reproductive Biology Vol II Clinical Reproductive Neuroendocrinology*. Eds. P.O. Hubinot, M. L'Hermite y C. Robyn. p. 204. Karger. Basilea.
- ROBIN P.E., y DALTON G.A. (1977).- The role of mayor endocrine ablation. En *Breast Cancer Management*. Ed B.A. Stoll. P 147-156. *William Heinemann Medical Book*, Londres.
- ROBBARD D., y LEWALD J.E. (1970).- Computer analysis of radioligand assay and radioimmunoassay data. *Acta Endocrinológica*. 64. Sup.147: 79-103.
- ROGERS G.T., SEARLE F., y BAGSHAW K.D. (1976).- Carcinoembryonic antigen: isolation of a sub-fraction with high specific activity. *Br. J. Cancer* 33:357-362.
- ROGOL A.D., y ROSEN S.W. (1974).- Prolactin of apparent large molecular size: the major immunoactive prolactin component in plasma of a patient with a pituitary tumor. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 38:714-717.

- ROGOL A., y CHRAMBACH A. (1975).- Radioidinated human pituitary and amniotic fluid prolactins with preserved molecular integrity. *Endocrinology* 97:406-417.
- ROGOL A.D., REEVES G.D., VARNA M.M., y BLIZZARD R.M. (1979).- Thyroid-stimulating hormone and prolactin responses to thyrotropin-releasing hormone during infusion of epinephrine and propranolol in man. *Neuroendocrinology* 29:413-417.
- ROLANDI E., BARRECA T., MASTURZO P., POLLERI A., INDIVIERI F., y BARABINO A. (1974).- Plasma prolactin in breast cancer. *Lancet* 2:845-846.
- ROLLAND R., GUNSALUS G.L., y HAMMOND J.M. (1976).- Demonstration of specific binding of prolactin by porcine corpore lutea. *Endocrinology* 98:1083-1091.
- RONNEKLIEN O.K., y Mac CANN S.M. (1975).- Effects of pinealectomy, anosmia and blinding on serum and pituitary prolactin in intact and castrated male rats. *Neuroendocrinology* 17:340-353.
- ROSE J.C., GOLDSMITH P.C., LOVINGER R., AUBERT M.L., KAPLAN S.L., y GANONG W.F. (1977).- Effect of electrical stimulation of the canine diencephalon on the secretion of ACTH, growth hormone (GH) and prolactin (P). *Neuroendocrinology* 23:223-235.
- ROSEN S.W., y WEINTRAUB B.D. (1977).- Ectopic prolactin and placental lactogen. En *Endocrinology. Proc. V Inter Congress of Endocrinology, Hamburgo*. Ed. V.H.T. James. Vol. 1, p 425-428. Excerpta Medica, Amsterdam y Orfox.
- ROTH J., GORDEN P., y BATES R.W. (1978).- Studies of growth hormone and prolactin in acromegaly. En *Growth Hormone*. Ed A. Pecile., y E.E. Muller, p. 124-128. Excerpta Medica, Amsterdam.

- ROUS P., y KIDD J. G. (1941).- Conditional neoplasms and subthreshold neoplastic states. *J. Exp. Med.* 73:365. Citado por FURTH J. (1973).
- ROWLAND D., STEELE M., y MOLTZ H. (1978).- Serotonergic mediation of the suckling-induced release of prolactin in the lactating rat. *Neuroendocrinology* 26:8-14.
- ROZENCWEIG M., HEUSON J.C., BILA S., L'HERMITE M., y ROBYN C. (1973). Effects of 2-Br- α -ergocryptine, L-dopa and cyclic imides on serum prolactin in postmenopausal women. *European J. Cancer* 9:657-664.
- RUBIN R.T., POLAND R.E., y TOWER B.B. (1976).- Prolactin-related-testosterone secretion in normal adult men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 42:112-116.
- RUBIN R.T., POLAND R.E., SOWERS J.R., y HERSHMAN J.M. (1978).- Influence of methyl-TRH-induced prolactin increase on serum testosterone levels in normal adult men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 46: 830-833.
- RUBIN R.T., POLAND R.E., SOBEL I., TOWER B.B., y ODELL W.D. (1978).- Effects of prolactin and prolactin plus luteinizing hormone on plasma testosterone levels in normal adult men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 47:447-452.
- RUTLIN E., HAUG E., y TORJENSEN P.A. (1977).- Serum thyrotrophin, prolactin and growth hormone, response to TRH during oestrogen treatment. *Acta Endocrinológica* 84:23-35.
- SACK J., FISHER D.A., GRAJWER L.A., LAM R.W., y WANG C.C. (1977).- The response of newborn sheep to TRH with and without somatostatin. *Endocrinology* 100:1533-1538.

- SAEED UZ ZAFAR M., MELLINGER R.C., FINE G., SZABO M., y FROHMAN L.A. (1979).- Acromegaly associated with a bronchial carcinoid tumor: evidence for ectopic production of growth hormone-releasing activity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 48:66-71.
- SAKAI S., BOWMAN P.D., YANG J., Mac CORMICK K., y NANDI S. (1979).- Glucocorticoid regulation of prolactin receptors on mammary cells in culture. *Endocrinology* 104:1447-1449.
- SALIH H., FLAX H., BRANDER W., y HOBBS J.R. (1972).- Prolactin dependence in human breast cancers. *Lancet* 2:1103-1105.
- SALIH H., MURTHY G.S., y FRIESEN H.G. (1979).- Stability of hormone receptors with fixation: Implications for immunocytochemical localization of receptors. *Endocrinology* 105:21-26.
- SANDOW J., y KONING H. (1978).- Chemistry of hypothalamic hormones. En *The Endocrine Hypothalamus*. Ed: S.J. Jeffcoate y J.S.M. Hutchinson. p 150-211. Academia Press, Londres, New York, San Francisco.
- SARFATY G., TALLIS G.M., MURRAY R.M.L., PITT P., GARDNER H., y LEPPARD P. (1977).- Hormonal concomitants of breast cancer: urinary androgen metabolites, plasma testosterone and prolactin. En *Endocrinology. Proc. V. Inter. Congress of Endocrinology*, Hamburgo. Ed. V.H.T. James. Vol. 2 p 399-404. Excerpta Medica, Amsterdam y Orfox.
- SASAKI G.H., y LEUN B.J. (1975).- On the mechanism of hormone action in 7-12 dimethylbenz(a)anthracene-induced rat mammary tumor I. Prolactin and progesterone effects on estrogen receptor in vitro. *Cancer* 35:645-651.
- SASSIN J.F., FRANTZ A.G., WERTZMAN E.D., y KAPEN S. (1972).- Human prolactin: 24-hour pattern with increased release during sleep. *Science* 177:1205-1207.

- SASSIN J.F., FRANTZ A., KAPEN S., y WEITZMAN E.D. (1973).- The nocturnal release of prolactin is dependent on sleep. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 37:436-440.
- SATO T., TAYA K., JYUJYO T., HIRONO M., y IGARASHI M. (1974).- The stimulatory effect of prostaglandins on luteinizing hormone release. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 118:875-876.
- SCHALLY A.V., DUPONT A., ARIMURA A., TAKAHARA J., REDDING T.W., CLEMENS J., y SHAAR C. (1976).- Purification of a catecholamine-rich fraction with prolactin release-inhibiting factor (PIF) activity from porcine hypothalamus. *Acta Endocrinológica* 82:1-14.
- SCHALLY A.V., REDDING T.W., ARIMURA A., DUPONT A., y LINTHICUM G.L. (1977).- Isolation of gamma-amino butyric acid from pig hypothalamus and demonstration of its prolactin release-inhibiting (PIF) activity in vivo and in vitro. *Endocrinology* 100:681-691.
- SCHAMS D., y KARG H. (1969).- Radioimmunologische bestimmung von prolaktin in blutserum vom rind. *Milchwissenschaft* 24:263. Citado por BRYANT G.D. y GREENWOOD F.C. 1976.
- SCHAMS D., y KARG H. (1970).- Untersuchungen über prolaktin in rinderbultmiteiner radioimmunologischen bestimmungsmethode. *Zentr. Veterinärmed A* 17:193. Citado por BRYANT G.D. y GREENWOOD F.C. 1976.
- SCHAMS D., y REINHARDT Y. (1974).- Influence of season on plasma prolactin level in cattle from birth to maturity. *Horm. Res.* 5:217-226.
- SCHAMS D. (1978).- Hormonal control of lactation. En *Breast-Feeding and the Mother*. Ciba Foundation, symposium 45. p 27-48. Elsevier Excerpta Medica North-Holland, Amsterdam.

- SCHENKER J.G., BEN DAVID M., y POLISHUK W.Z. (1975).- Prolactin in normal pregnancy: relationships of maternal, fetal and amniotic fluid levels. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 125: 834-838.
- SCHLEUSENER A. (1976).- Methodological aspects for radioligand receptor assay for prolactin. *Acta Endocrinológica. Sup.* 202, Vol. 82:69-71.
- SCHMIDT-GOLLWITZER M., y SAXENA B.B. (1975).- Radioimmunoassay of human prolactin. *Acta Endocrinológica* 80:262-274.
- SCHULTZ K.D., CZYGAN P.J., DEL POZO E., y FRIESEN H.G. (1973).- Varying response of human metastasizing breast cancer to the treatment with 2-Br- α -ergocryptine (CB-154). Case Report. En *Human Prolactin*. Ed. C. Robyn y J.L. Pasteels. p 268-271. *Excerpta Medica*. Amsterdam.
- SCHWINNG G., MUHLEN A.V.Z., y VARNECKE U. (1976).- Effects of dexamethasone on thyrotrophin and prolactin plasma levels in rats. *Acta Endocrinológica* 82:486-491.
- SEGALOFF A. (1978).- Hormones and Mammary Carcinogenesis. En *Breast Cancer. Advances in Research and Treatment*. Vol 2, Experimental Biology. Ed. W.L. Mac Guire. p 1-22. Plenum Press, New York, Londres.
- SEKI K., SEKI M., OKAMURA T., y HUANG K. (1976).- Effect of clomiphene citrate on serum prolactin in infertile woman with ovarian dysfunction. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 124: 125-128.
- SELYE H., COLLIP J.B., y THOMPSON D,L. (1934).- Nervous and hormonal factors in lactation. *Endocrinology* 18:237-248.
- SEO H., REFETOFF S., MARTINO E., VASSART G., y BROCAS H. (1979).- The differential stimulatory effect of thyroid hormone on growth hormone synthesis and estrogen on prolactin synthesis due to accumulation of specific messenger ribonucleic acids. *Endocrinology* 104:1083-1090.

- SEPPÄLÄ M., HIRVONEN E., RANTA T., VIRKKUNEN P., y LEPPALUOTO J. (1975).- Raised serum prolactin levels in amenorrhea. Br. Med. J. 2:305-306.
- SEPPÄLÄ M., e HIRVONEN E. (1975).- Raised serum prolactin levels associated with hirsutism and amenorrhea. Br. Med. J. 4:144-145.
- SEPPÄLÄ M., HIRVONEN E., UNNERUS H.A., RANTA T., y LAATIKAINEN T. (1976).- Prolactin and testosterone: independent circulating levels in hyperprolactinemia and normoprolactinemic amenorrhea. The effect of prolactin suppression by bromocriptine. J. Clin. Endocrinol. Metab. 43:198-200.
- SEPPÄLÄ M., LEHTOVIRTA P., y RANTA T. (1977).- Discordant patterns of hyperprolactinemia and galactorrhea in secondary amenorrhea. Acta Endocrinologica 86:457-463.
- SHAAR C.J., y CLEMENS J.A. (1974).- The role of catecholamines in the release of anterior pituitary prolactin in vitro. Endocrinology 95:1202-1212.
- SHAFIE S., y BROOKS S.C. (1977).- Effect of prolactin on growth and the estrogen receptor level of human breast cancer cells (MCF-7) Cancer Res. 37:792-799.
- SHEARMAN R.P. (1971).- Prolonged secondary amenorrhea after oral contraceptive therapy. Lancet 2:64-66.
- SHELESNYAK M.C. (1954).- Am. J. Physiol. 179:301-304. Citado por FLÜCKIGER E., VIGOURET J.M., y WAGNER H.R. 1978.
- SHELLABARGER C.J. (1976).- Modifying factors in rat mammary gland carcinogenesis. En Biology of Radiation Carcinogenesis. Ed J.M. Yuhás, R.W. Tennant y J.D. Regan. p 31-43. Raven Press, New York.

- SHERIFF D., y GOVINDARAJULU P. (1978).- Role of prolactin on the development on the prepubertal testes of the rat. *Hormone Res.* 9:161-168.
- SHERMAN L., y KOLODNY H.D. (1974).- The effects of drugs on human hypophysiotrophic functions. En *Mammary Cancer and Neunendocryne Therapy*. Ed B. A. Stoll. p 369-400. Butterworths, Londres.
- SHERMAN B.M., STAGNER J.I., y ZAMUDIO R. (1977).- Regulation of lactogenic hormone binding in rat liver by steroid hormones. *Endocrinology* 100:101-107.
- SHERWOOD L.M. (1967).- Similarities in the chemical structure of human placental lactogen and pituitary growth hormone. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 58:2307-2314.
- SHERWOOD L.M. (1971).- Human prolactin. *New Engl. J. Med.* 284:774-777.
- SHET N.A., RANADIVE K.J., y SHET A.R. (1974).- In vitro binding of radioiodinated human placental lactogen to murine mammary gland. *European J. Cancer* 10:653-660.
- SHET N.A., RANADIVE K.J., SURAIYA J.N., y SHET A.R. (1975).- Circulating levels of prolactin in human breast cancer. *Br. J. Cancer.* 32:160-167.
- SHIINO M., WILLIAMS M.G., y RENNELS E.G. (1972).- Ultrastructural observation of pituitary release of prolactin in the rat by suckling stimulus. *Endocrinology* 90:176-187.
- SHILVEY J.E., GLASSMAN J.N.S., ENGVALL E., y TODD C.W. (1979).- Aminoacid sequence of CEA related antigens. En *Carcino-Embrionic Proteins*. Ed. F.G. Lehmann. Vol I. p 9-15. Elsevier North Holland, Amsterdam, New York.

- SHIN S.H. (1979).- Estradiol generates pulses of prolactin secretion in castrated male rats. *Neuroendocrinology* 29:270-275.
- SHIU R.P.C., KELLY P.A., y FRIESEN H.G. (1973).- Radioreceptor assay for prolactin and other lactogenic hormones. *Science* 180: 968-971.
- SHIU R.P.C. (1979).- Prolactin receptor in human breast cancer cells in long-term tissue culture. *Cancer Res.* 39:4381-4386.
- SHOME B., y PARLOW A.F. (1977).- Human pituitary prolactin. The entire linear amino acid sequence. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 45:1112-1115.
- SHUPNIK M.A., BAXTER L.A., FRENCH L.R., y GORSKI J. (1979).- In vivo effects of estrogen on ovine pituitaries: prolactin and growth hormone biosynthesis and messenger ribonucleid acid translation. *Endocrinology* 104:729-735.
- SILER T.M., MORGENSTERN L.L., y GREENWOOD F.C. (1972).- The release of prolactin and other peptide hormones from human anterior pituitary tissue culture. En *Lactogenic Hormones*. Ed G.E.W. Wolstenholme y J. Knight. p 207-217. Churchill Livingstone, Edimburgo y Londres.
- SILER-KHODR T.M., MORGENSTERN L.L., y GREENWOOD F.C. (1974).- Hormo synthesis and release from human fetal adenohipophysis "in vitro". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 39:891-905.
- SINGH R.N.P., SEAVEY B.K., RICE V.P., LINDSEY T.T., y LEWIS V.J. (1974).- Modified forms of human growth hormone with increased biological activites. *Endocrinology* 94:883-891.
- SINGHAKOWINTA A., POTTER H.G., BUROKER T.R., SAMAL B., BROOKS S.G. y VAITKEVICIUS V.K. (1976).- Estrogen receptor and natural course o breast cancer. *Ann. Surg.* 183:84-88.

- SINHA Y.N., SELBY F.W., LEWIS V.J., y Van DERLAAN W.P. (1973).- A homologous radioimmunoassay for human prolactin. J. Clin. Endocrinol. Metab. 36:509-516.
- SINHA Y.N., SELBY F.W., y Van DERLAAN W.P. (1974).- The natural history of prolactin and GH secretion in mice with high and low incidence of mammary tumors. Endocrinology 94:757-764.
- SINHA Y.N., SALOCKS C.B., LEWIS U.J., y Van DERLAAN W.P. (1974).- Influence of nursing on the release of prolactin and GH in mice with high and low incidence of mammary tumors. Endocrinology 95:947-954.
- SINHA Y.N., SALOCKS C.B., y Van DERLAAN W.P. (1975).- Prolactin and growth hormone levels in different inbred strains of mice: patterns in association with estrous cycle, time of day and perphenazine stimulation. Endocrinology 97:1112-1122.
- SINHA Y.N., SALOCKS C.B., WICKES M.A., y Van DERLAAN W.P. (1977).- Serum and pituitary concentrations of prolactin and growth hormone in mice during a twenty-four hour period. Endocrinology 100:786-791.
- SINHA D., COOPER D., y DAO T.L. (1973).- The nature of estrogen and prolactin effect on mammary tumorigenesis. Cancer Res 33:411-414.
- SINHA D., y DAO T.L. (1974).- A direct mechanism of mammary carcinogenesis induced by 7, 12-dimethylbenzanthracene. K. Nat. Cancer Inst. 53:841-846.
- SINHA D., y DAO T.L. (1975).- Site of origin of mammary tumors induced by 7, 12 dimethylbenzanthracene in the rat. J. Nat. Cancer Inst. 54: 1007-1009.
- SKYLER J.S., ROGOL A.D., LOVERNEBERG W., y KNAZEK R.A. (1977).- Characterization of growth hormone and prolactin produced by human pituitary in culture. Endocrinology 100:283-291.

- SLATOPOLSKY CANTIS M., WILDER J., y MEDICI R. (1978).- Prolactine in patients with carcinoma of the breast. En Proc. XII Congreso Internacional del Cancer. Libro n^o. 3, p 86, Mesa de Trabajo n^o. 49, resumen 21. Buenos Aires.
- SLUYSER M., Van NIE R. (1974).- Estrogen receptor content and hormone responsive growth of mouse mammary tumors. Cancer Res. 34:3253-3257.
- SLUYSER M., BOOT L.M., y ROPCKE C. (1978).- High estrogen and low progesterin receptor levels in outgrowths of hypophyseal isorafts. Cancer Res. 38:2859-2860.
- SMALSTING E.B., SAWYER B.D., y CLEMENS J.A. (1974).- Inhibition of rat prolactin release by apomorphine in vivo and in vitro. Endocrinology 95:123-129.
- SMITH R.E. y FARQUHAR M.G. (1970).- Modulation in nucleoside diphosphatase activity of mamotrophic cells of the rat adnohy-pophysis during secretion. J. Histochem. Cytochem. 18:237-250.
- SMITH M.S., y NEILL J.D. (1976).- A "critical period" for cervically-stimulated prolactin release. Endocrinology 98:324-328.
- SMITH R.D., HILF R., y SENIOR A. E. (1976).- Prolactin binding to mammary gland of 7, 12-Dimethylbenz(A)anthracene-induced mammary tumors, and liver in rats. Cancer Res. 36:3726-3731.
- SMITH R.D., HILF R., y SENIOR A.E. (1977).- Prolactin binding to R3230 AC mammary carcinoma and liver in hormone-treated and diabetic rats. Cancer Res. 37:595-598.
- SMITH R.D., HILF R., y SENIOR A.E. (1977).- Prolactin binding to 7, 12-dimethylbenz(A)anthracene-induced mammary tumors and liver in diabetic rats. Cancer Res. 37:4070-4074.

- SMITHLINE F., SHERMAN L., y KOLODNY Y. (1975).- Prolactin and breast carcinoma. *New Engl. J. Med.* 292:784-790.
- SNYDER S.H., e INNIS R.B. (1979).- Peptide neurotransmitters. *Ann. Rev. Biochem.* 48:755-782.
- SOROKIN J.J., ZUPCHIK H.Z., y ZAMCHECK N. (1973).- Carcinoembryonic antigen in colon cancer: absence in perchloric acid precipitates of plasma. *J. Natl. Cancer. Inst.* 51:1081-1083.
- SOULE H.D., VAZQUEZ J., LONG A., ALBERT S., y BRENNAN M. (1973).- A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *J. Nat. Cancer Inst.* 51:1409-1416.
- SOWERS J.R., HERSHMAN J.M., CARLSON H.E., PEKARY A.E., NAIR M.G., y BAUGH C.M. (1976).- Prolactin response to N^{3im}-methyl-thyrotropin releasing hormone in euthyroid subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 43:749-755.
- SOWERS J.R., HERSHMAN J.M., CARLSON H.E., PEKARY A.E., REED A.W., NAIR M.G., y BAUGH C.M. (1976).- Dose-response of prolactin and thyrotropin to N^{3im}-methyl-thyrotropin releasing hormone in euthyroid men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 43:856-860.
- SOWERS J.R., CARLSON H.E., BRAUTBAR N., y HERSHMAN J.M. (1977).- Effect of dexamethasone on prolactin and TSH responses to TRH and metoclopramide in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 44:237-241.
- SOWERS J.R., RAJ R.P., HERSHMAN J.M., CARLSON H.E., y Mac CALLUM R.W. (1977).- The effect of stressful diagnostic studies and surgery on the anterior pituitary hormone release in man. *Acta Endocrinologica* 86:25-32.

- SPAMPINTATO S., LOCATELLI V., COCCHI D., VICENTINI L., BAJUSZ S., FERRI S., y MÜLLER E.E. (1979).- Involvement of brain serotonin in the prolactin-releasing effect of opioid peptides. *Endocrinology* 105:163-170.

- SPECTOR S. (1973).- Radioimmunoassay. *Ann. Rev. Pharmacol.* 13:359-37

- SPIEGEL A.M., ROSEN S.W., WEINTRAUB B.D., y MARYNICK S.P. (1978).- Effect of intravenous pyridoxine on plasma prolactin in hyperprolactinemic subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 46:686-688.

- SPIES H.G., y CLEGG M.T. (1971).- Pituitary as a possible site of prolactin feedback in antoregulation. *Neuroendocrinology* 8:205-208.

- SPITZ I.M., LANDAU H., ALMALIACH V., ROSEN E., BRAUTBAR N., y RUSSELL A. (1977).- Diminished prolactin reserve. a case report. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 45:412-418.

- SPOOR H.J., HARTMAN F.A., y BROWNELL K.A. (1941).- Cortilactin, the lactation factor of the adrenal. *Am. J. Physiol* 134:12-18.

- SQUIRE P.G., STARMAN B., y LI C.H. (1963).- Studies of pituitary lactogenic hormone. XXII. Analysis of the state of aggregation of the ovine hormone by ultracentrifugation and exclusion chromatography. *J. Biol. Chem.* 238:1389-1395.

- STADLER J., FRANKE W.W. (1974).- Characterization of the colchicine binding of membrane fractions from rat and mouse liver. *J. Cell Biol.* 31:319-347.

- STAGNER J.I., JOCHIMSEN P.R., y SHERMAN B.M. (1977).- Lactogenic hormone binding to human breast cancer: correlation with estrogen receptor. *Clin. Res.* 25:302 A.

- STEER M.L. (1976).- Cyclic A.M.P. Ann. Surg. 184:107-115.
- STERENTAL A., DOMINGUEZ J.M., WEISSMAN C., y PEARSON O.H. (1963).- Pituitary role in the estrogen dependency of experimental mammary cancer. Cancer Res. 23: 481-484.
- STEFANO F.J., y DONOSO A.O. (1967).- Norepinephrine levels in the rat hypothalamus during the estrous cycle. Endocrinology 81:1405-1406.
- STEINER R.A., ILLNER P., ROLFS A.D., TOIVOLA P.T.K., y GALF C.C. (1978).- Noradrenergic and dopaminergic regulation of GH and prolactin in Babboons. Neuroendocrinology 26:15-31.
- STEPANAS A.V., SAMAAAN N.A., SCHULTZ P.N., y HOLOYE P.Y. (1978).- Endocrine studies in testicular tumor patients with or without gynecomastia: a raport of 45 cases. Cancer 41:369-373
- STOLL B.A. (1972).- Brain catecholamines and breast cancer. A hypothesis. Lancet 1:431.
- STONE J.P., HOLTZMAN S., y SHELLABARGER C.J. (1979).- Neoplastic responses and correlated plasma prolactin levels in diethylstilbestrol-treated ACI and Sprague-Dawley rats. Cancer Res. 39:773-778.
- STRATMANN I.E., EZRIN C., y SELLERS E.A. (1974).- Estrogen induced transformation of somatotrophs into mammo-trophs in the rat. Cell Tiss. Res. 152:229-238.
- STRAUCH G., BONNEFOUS S., PAULIAN B., ZAKS P., PAGES S.P., y BRICAIRE H. (1978).- Studies on epidemiology and mechamisms of hyperprolactinemic anovulation. En Progress in Prolactin. Physiology and Pathology Eds C. Robyn y M. Harter. p 267-280. Elsevier North Holland, Amsterdam, New York.

- STRICKER P., y GRVETER F. (1928).- Action du lobe anterior de l'hypophyse sur la monteé laiteuse. Compt. Rend. Soc. Biol. 99: 1978-1980. Citado por TURNER C.W. (1977).
- SUBRAMANIAN M.G., y GALA P.R. (1976)^a.-The influence of cholinergic, adrenergic and serotonergic drugs on the afternoon surge of plasma prolactin in ovariectomized estrogen-treated rats. Endocrinology 98:842-848.
- SUBRAMANIAN M.G., y GALA R.R. (1976)^b.- Further studies on the effects of adrenergic, serotonergic and cholinergic drugs on the afternoon surge of plasma prolactin in ovariectomized, estrogen-treated rats. Neuroendocrinology 22:240-249.
- SUH H.K., y FRANTZ A.G. (1974).- Size heterogeneity of human prolactin and pituitary extracts. J. Clin. Endocrinol. Metab. 39: 928-935.
- SUPLEMENTO MONOGRAFICO DEDICADO A BROMOCRIPTINA (1978).- Acta Endocrinológica 88, Sup 216:119-174.
- SUTHERS M.B., PRESSLEY L.A., y FUNDER J.W. (1976).- Glucocorticoid receptors: evidence for second non glucocorticoid binding site. Endocrinology 99:260-269.
- SWEARINGEN K.C., y NICOLL C.S. (1974).- Functions of prolactin in vertebrates. En Mammary Cancer and Neuroendocrine Therapy. Ed. B.A. Stoll. p 229-248. Butterworths, Londres.
- SWEENEY M.J., POORE G.A., KORNFELD E.C., BACH N.J., OWEN N.Y., y CLEMENS J.A. (1975).- Activity of 6-methyl-8substituted ergoline against the 7, 12-Dimethylbenzanthracene-induced mammary carcinoma. Cancer Res. 35:106-109.

SZABO M., y FROHMAN L.A. (1976).- Dissociation of prolactin-releasing activity from thyrotropin-releasing hormone in porcine stalk median eminence. *Endocrinology* 98:1451-1459.

SZABO M., NAKAWATASE C., KOVATHANA N., y FROHMAN L.A. (1977).- Effect of the dopa decarboxylase inhibitor MK 486 on L-dopa-induced inhibition of prolactin secretion: evidence for CNS participation in the L-dopa effects. *Neuroendocrinology* 24:24-34.

TAKAHARA J., ARIMURA A., y SCHALLY A.V. (1974).- Stimulation of prolactin and growth hormone release by TRH infused into a hypophysial portal vessel. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 146:831-835.

TAKAHARA J., ARIMURA A., y SCHALLY A.V. (1974)^b.- Suppression of prolactin release by a purified porcine PIF preparation and catecholamines infused into a rat hypophysial portal vessel. *Endocrinology* 95:462-465.

TAKAHARA J., ARIMURA A., y SCHALLY A.V. (1974)^c.- Effect of catecholamines on the TRH-stimulated release of prolactin and growth hormone from sheep pituitaries in vitro. *Endocrinology* 95:1490-1494.

TAKAHARA J., YUNOKI S., YAKUSHIJI W., YAMAUCHI J., YAMANE Y., y OFUJI T. (1977).- Stimulatory effects of gamma-hydroxybutyric acid on growth hormone and prolactin release in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 44:1014-1017.

TAKAHASI Y., KIPNIS D.M., y DAUGHADAY W.H. (1968).- Growth hormone secretion during sleep. *J. Clin. Invest.* 47:2079-2090.

TALWALKER P.K., y MEITES J. (1961).- Mammary lobulo-alveolar growth induced by anterior pituitary hormones in adreno-ovariectomized and adreno-ovariectomized-hypophysectomized rats. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 107:880-883. Citado por Nicoll (1974).

- TALWALKER P.K., RATNER A., y MEITES J. (1963).- In vitro inhibition of pituitary prolactin synthesis and release by hypothalamic extracts. *Am. J. Physiol.* 205:213-218.
- TARQUINI B., GHERI R., ANICHINI P., NERI B., y BURICCHI L. (1977).- Circadian study of immunoreactive prolactin in patients with cirrhosis of the liver. *Gastroenterology* 73:116-119.
- TCHAO R. (1974).- Role of steroid and pituitary hormones in tumor growth. En *Mammary Cancer and Neuroendocrine Therapy*. Ed. B.A. Stoll. p 249-264. Butterworths, Londres.
- TERRANOVA P.F., y GREENWALD G.S. (1978).- Steroid and gonadotropin responses to ergocryptine-suppressed prolactin secretion in hysterectomized, pseudopregnant hamsters. *Endocrinology* 103:845-853.
- THORNER M.O., Mac NEILLY A.S., HAGEN C., y BESSER G.M. (1974).- Longterm treatment of galactorrhea and hypogonadism with bromocriptine. *Br. Med. J.* 2:419-422.
- THORNER M.O., BESSER G.M., JONES A., DACIE J., y JONES A.E. (1975).- Bromocriptine therapy of female-infertility. A report of thirteen pregnancies. *Br. Med. J.* 4:694-697.
- THORNER M.O., y BESSER G.M. (1977).- In *Prolactin and Human Reproduction*. Ed P.G. Crosignani y C. Robyn. p 285-301. Academic Press, New York.
- TINDAL J.S. (1978).- Control of prolactin secretion. En *The Endocrine Hypthalamus*. Ed. S.L. Jeffcoate y J.S.M. Hutchinson. p 333-361. Academic Press, Londres, New York, San Francisco.
- TIXIER-VIDAL A., y PICART R. (1967).- Etude quantitative par radioautographique au microscopie electronique de l'utilisation de la DL-leucine-H3 par les cellules de l'hypophyse du canard en culture organotypique. *J. Cell. Biol.* 35:501-519.

- TOLIS G., LALIBERTE R., GUYDA H., y NAFTOLIN F. (1977).- The effectiveness of pyridoxine (B₆) to alter secretion of growth hormone and prolactin and absence of therapeutic effects on galactorrhoea-amenorrhoea syndromes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 44:1197-1199.
- TOLIS G., DENT R., y GUYDA H. (1978).- Opiates, prolactin, and the dopamine receptor. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 47:200-203.
- TOPPER Y.J. (1970).- Multiple hormone interactions in the development of mammary gland in vitro. *Recent. Progr. Hormone Res.* 26:287-308.
- TOUBEAU G., DESCLIN J., PARMENTIER M., y PASTEELS J.L. (1979).- Compared localizations of prolactin-like and adrenocorticotropin immunoreactivities within the brain of the rat. *Neuroendocrinology* 29:374-384.
- TOURNIAIRE J. (1979).- Hyperprolactinemic et insuffisance luteale. *Annales d'endocrinologie* 40:342-348.
- TURKINGTON R.W. (1971)^a.- Measurement of prolactin activity in human serum by the induction of specific milk proteins in mammary gland in vitro. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 33:210-216.
- TURKINGTON R.W. (1971)^b.- Ectopic production of prolactin. *The New England. J. of Medicine* 285:1455-1458.
- TURKINGTON R.W. (1972).- Molecular biological aspects of prolactin. *En Lactogenic Hormones* Ed. G.E.W. Wolstenholme y J. Knight. p III-127. Churchill Livingstone. Edimburgo.
- TURKINGTON R.W. (1972)^a.- Measurement of prolactin activity in human serum by the induction of specific milk proteins in vitro: results in various clinical disorders. *En Lactogenic Hormones*. Ed G.E.W. Wolstenholme y J. Knight. p 169-184. Churchill Livingstone, Edimburgo y Londres.

- TURKINGTON R.W. (1972)^b.- Phenothiazine stimulation test for prolactin reserve: the syndrome of isolated prolactin deficiency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 34:247-249.
- TURKINGTON R.W. (1972)^c.- Inhibition of prolactin secretion and successful therapy of the Forbes-Albright syndrome with L-dopa. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 34:306-311.
- TURKINGTON R.W., y FRANZ W.C. (1972).- The biochemical action of prolactin. En *Prolactin and Carcinogenesis*. Ed A.R. Boyns y K. Griffiths. p 39-47. Alfa-Omega-Alfa, Cardiff, Gales.
- TURKINGTON R.W., FRANTZ L. y MAJUMDER C.C. (1973).- Effector-receptor relations in the action of prolactin. En *Human Prolactin*. Eds. J.L. Pasteels y C. Robyn. p 24-34. Excerpta Medica, American Elsevier, Amsterdam, New York.
- TURKINGTON R.W. (1974).- Prolactin receptors in mammary carcinoma cells. *Cancer Res.* 34:758-763.
- TURNER C.W., y FRANK A.H. (1930).- The effect of the estrus producing hormone on the growth of the mammary gland. *Mo. Agr. Exp. Sta. Res. Bull.* 145. Citado por TURNER C.W. (1977).
- TURNER C.W., y REINEKE E.P. (1936).- A study of the involution of the mammary gland of the goat *Mo. Agr. Exp. Sta. Res. Bull.* 235. Citado por TURNER C.W. (1977).
- TURNER C.W., y MEITES J. (1941).- Effect of desoxycorticosterone on pituitary and lactogen content. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 47:232-234. Citado por TURNER C.W. (1977).
- TURNER C.W., YAMAMOTO H., y RUPPERT H.A. (1957).- Endocrine factors influencing the intensity of milk secretion. A. Estrogen, thyroxine, and growth hormone. *J. Dairy. Sci.* 40:37-49. Citado por TURNER C.W. (1977).

- TURNER C.W. (1977).- Historical perspectives of lactogenic hormone (Prolactin). A summary of my research at the university of Missouri. En Comparative Endocrinology of Prolactin. Ed H.D. Dellmann, J.A. Johnson y D.M. Klachko. p 1-17. Plenum Press, New York y Londres.
- TURPEN C., y DUNN J.D. (1976).- The effect of surgical isolation or ablation of the medial basal hypothalamus on serum prolactin levels in male rats. Neuroendocrinology 20:224-234.
- TURPEN C., MORRIS M., y KNIGGE K.M. (1978).- Serum levels of prolactin, LH, and LH-RH after ablation of the medial basal hypothalamus. Hormon. Res. 9:73-82.
- TURPEN C., y DUNN J.D. (1978).- Pentobarbital anesthesia: interference in the effects of other pharmacological agents and of electrical stimulation on prolactin secretion. Hormon. Res. 9:83-90.
- TYSON J.E., FRIESEN H.G., y ANDERSON M.S. (1972).- Human lactational and ovarian response to endogenous prolactin release. Science 177:897-900.
- TYSON J.E., HWANG P., GUYDA H., y FRIESEN H.G. (1972).- Studies of prolactin secretion in human pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol. 113:14-20.
- TYSON J.E., KHOJANDI M., HUTH J., SMITH B., y THOMAS P. (1975).- Inhibition of cyclic gonadotropin secretion by endogenous human prolactin. Am. J. Obstet. Gynecol. 121:375-379.
- TYSON J.E., PEREZ A., y ZANARTU J. (1976).- Human lactational response to oral thyrotropin releasing hormone. J. Clin. Endocrinol. Metab. 43:760-768.
- VAITUKAITIS J.L., ROSS G.T., BRAUNSTEIN G.D., y RAYFORD P.L. (1976).- Gonadotropins and their subunits: basic and clinical studies. Recent Prog. Hormone Res. 32:289-331.

- VALE W., GRANT G., AMOSS M., BLACKWELL R., y GUILLEMIN R. (1972).- Culture of enzymatically dispersed anterior pituitary cells: Functional validation of a method. *Endocrinology* 91:562-572.
- VALE W., BLACKWELL R., GRANT G., y GUILLEMIN R. (1973).- TRF and thyroid hormones on prolactin secretion ty rat anterior pituitary cells in vitro. *Endocrinology* 93:26-33.
- VALE W., RIVIER C., BROWN M., CHAN L., y RIVIER J. (1976).- Application of adenohipophyseal cell cultures to neuroendocrine studies. En *Hypothalamus and Endocrine Function*. Ed. F. Labrie J. Meytes y G. Pelletier. p 397. Plenum Press, New York y Londres.
- VALVERDE C., y CHIEFFO V. (1971).- Prolactin releasing factor (s) in porcine hypothalamic extracts. Programa de la 53 Reunión de la Sociedad de Endocrinología. Abstracto pag. 84. San Francisco, California.
- VALVERDE C., CHIEFFO V., y REICHLIN S. (1972).- Prolactin-releasing factor in porcine and rat hypobhalamic tissue *Endocrinolgy* 91:982-993.
- VALLETTE G., BENASSAYAG C., BELANQUER L., NUÑEZ E.A., y JAYLE M.F. (1976).- Purification and interaction with estradiol 17- β . *Steroids* 28:423-435.
- Van Der GUGTEN A.A., SALA M., y KWA H.G. (1970).- Effect of oestrone pellet implantation on plasma levels of prolactin. *Acta Endocrinológica* 64:265-272.
- Van Der SCHOOT P., LANKHORST R.R., De ROO J.A., y De GREEF W.J. (1978).- Suckling sitmulus, lactation and supression of ovulation in the rat. *Endocrinology* 103:949-956.
- Van HAELST L., GOLSTEIN J., Van CANTER E., L'HERMITE M., y ROBYN C. (1973).- Etude simultanéé des variations circadiennes des taux sanguins de la thyreotropine (TSH) et de la prolactine hypophysaires chez l'home. *Comptes Ren.Acad. Sci. (Paris)*. 276:1875-1877.

- Van HEUVERSWIN J., FOLLEY S.J., y GARDNER W.V. (1939).- Mammary growth in male mice receiving androgens, estrogens and desoxycorticosterone acetate. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 41:389-392. Citado por TURNER C.W. (1977).
- Van LANDEGHEN A.A.J., y Van De WIEL D.F.M. (1978).- Radioimmunoassay for porcine prolactin: plasma level during lactation, suckling and weaning and after TRH administration. Acta Endocrinológica 88:653-667.
- Van LOON G.R., SOLE M.J., BAIN J., y RUSE J.L. (1979).- Effects of bromocriptine on plasma catecholamines in normal men. Neuroendocrinology 28: 425-434.
- Van MAANEN J.H., y SMELIK P.G. (1968).- Induction of pseudopregnancy in rats following local depletion of monoamines in the median eminence of the hypothalamus. Neuroendocrinology 3:177-186.
- VAUGHAN M.K., BLASK D.E., VAUGHAN G.M., y REITER R.J. (1976).- Dose-dependent prolactin releasing activity of arginine-vasotocin in intact and pinealectomized estrogen-progesterone treated adult male rats. Endocrinology 99:1319-1322.
- VAUGHAN M.K., LITTLE J.C., JHONSON L.Y., VAUGHAN G.M., y REITER R.J. (1977).- Stimulation of rat prolactin secretion in vivo by arginine vasotocin: influence of age of solution, nighttime administration and dose. Neuroendocrinology 24:35-44.
- VAUGHAN M.K., LITTLE J.C., JHONSON L.Y., BLASK E., VAUGHAN G.M., y REITER R.J. (1978).- Effects of melatonin and natural and synthetic analogues of arginine-vasotocin on plasma prolactin levels in adult male rats. Hormone Res. 9:236-246.
- VAUGHAN M.K., BLASK D.E., JHONSON L.Y., y REITER R.J. (1979).- The effect of subcutaneous injections of melatonin, arginine-vasotocin, and related peptides on pituitary and plasma levels of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and prolactin in castrated adult male rats. Endocrinology 104:212-217.

- VEKEMANS M., DELVOYE P., L'HERMITE M., y ROBYN C. (1972).- Evolution des taux seriques de prolactine on cours du cycle menstruel. Comptes. Rend. Acad. Sci. (Paris). 275:2247-2250.
- VEKEMANS M., y ROBYN C. (1975).- The influence of exogenous estrogen on the circadian periodicity of circulating prolactin in women. J. Clin. Endocrinol. Metab. 40:886-889.
- VEKEMANS M., DELVOYE P., L'HERMITE M., y ROBYN C. (1977).- Serum prolactin levels during de menstrual cycle. J. Clin. Endocrinol. Metab. 44:989-993.
- VERMEULEN A., SUY E., y RUBENS R. (1977).- Effect of prolactin on plasma DHEA (S) levels. J. Clin. Endocrinol. Metab. 44:1222-1223.
- VERMOUTH N.T., y DEIS R.P. (1972).- Prolactin release induced by prostaglandin F₂α in pregnant rats. Nature (New Biol.) 238:248-250.
- VICIAN L., SHUPNIK M.A., y GORSKI J. (1979).- Effects of estrogen on primary ovine pituitary cell cultures: stimulation of prolactin secretion, synthesis and preprolactin messenger ribonucleic acid activity. Endocrinology 104:736-743.
- VIGNERI R., PEZZINO V., FILETTI S., SQUATRITO S., CORSO A., MARICCHIOLO M., POLOSA P., y SCAPAGNINI V. (1977).- Thyrotropin and prolactin response to intraspinal TRH administration in man. Neuroendocrinology 23:171-180.
- VIGNON F., y ROCHEFORT H. (1976).- Regulation of estrogen receptors in ovarian-dependent rat mammary tumors I. Effects of castration and prolactin. Endocrinology 98:722-729.
- VIJAYAN E., y Mac CANN S.M. (1978)^a.- Re-evaluation of the role of catecholamines in control of gonadotropin and prolactin release. Neuroendocrinology 25:150-165.

- VIJAYAN E., y Mac CANN S.M. (1978).- The effect of systemic administration of dopamine and apomorphine on plasma LH and prolactin concentrations in conscious rats. *Neuroendocrinology* 25:221-235.
- VIJAYAN E., y Mac CANN S.M. (1979).- In vivo and in vitro effects of substance P and neurotensin on gonadotropin and prolactin release. *Endocrinology* 105:64-68.
- VILA-PORCILE E., OLIVIER L., y ROCADOT O. (1973).- Functional polarization of the prolactin cell an electron microscopic study in female rat during lactation and after weaning. En *Human Prolactin*. Eds. J. L. Pasteels y C. Robyn. p 56-59. Excerpta Medica, Amsterdam.
- VIVACQUA R.J., HAURANI F.I., y ERSLEV A.J. (1967).- "Selective" pituitary insufficiency secondary to busulfam. *Ann. Inter. Med.* 67:380-382.
- Van Der HAAR B.K., y GRECO A.E. (1979).- Lobulo-alveolar development of mouse mammary glands is regulated by thyroid hormones. *Endocrinology* 104:409-418.
- VOOGT J.L., y MEITES J. (1971).- Effects of an implant emicence of pseudopregnant rats on serum and pituitary LH, FSH, and prolactin. *Endocrinology* 88:286-292.
- VOOGT J.L., y CARR L.A. (1974).- Plasma prolactin levels and hypothalamic catecholamine synthesis during suckling. *Neuroendocrinology* 16:108-118.
- WAALKES T.P., GEHRKE C.W., TORMEY D.C., WOO K.B., KUO K.C., SNYDER J., y HANSEN H. (1978).- Biological markers in breast carcinoma. IV. Serum furose-protein ratio. Comparasion with carcinoembryonic antigen and human chorionic gonadotropin. *Cancer* 41:1871-1882.
- WAGNER S., y MANTEL N. (1978).- Breast cancer at a psychiatric hospital before and after the introduction of neuroleptic agents. *Cancer Res.* 38:2703-2708.

- WALSH S.W., MEYER R.K., WOLF R.C., y FRIESEN H.G. (1977).- Corpus luteum and fetoplacental functions in monkeys hypophysectomized during late pregnancy. *Endocrinology* 100:845-850.
- WALSH S.W., WOLF R.C., MEYER R.K., AUBERT M.L., y FRIESEN H.G. (1977)^a.- Chorionic gonadotropin, chorionic somatomotropin and prolactin in the uterine vein and peripheral plasma of pregnant Rhesus monkeys. *Endocrinology* 100:851-855.
- WALLIN J.D., y LEE P.A. (1976).- Effect of prolactin on diluting and concentrating ability in the rat. *Am. J. Physiol.* 230:1524-1530.
- WALLIS M. (1971).- Structural relationships among growth hormones and prolactins. *Biochem. J.* 125:54P-56P.
- WALLIS M. (1974).- The primary structure of bovine prolactin. *Fed. Eur. Biochem. Soc. Letter* 44:205-208.
- WANG D.Y. (1972).- Discussion in *Prolactin and Carcinogenesis*. p 51 Ed. A.R. Boys y K. Griffiths. Alfa-Omega-Alfa, Cardiff, Gales.
- WARBER J., ESKAY R.L., y PORTER J.C. (1976).- Prostaglandin-induced release of anterior pituitary hormones: structure-activity relationships. *Endocrinology* 98:1135-1141.
- WAREMBOURG M. (1977).- Fixation des steroïdes au niveau du système nerveux central et de l'hypophyse chez différents mammifères. *Annales D'endocrinologie* 38:41-54.
- WARNE G.L., FAIRLEY K.F., HOBBS J.B., y MARTIN F.I.R. (1973).- Cyclophosphamide-induced ovarian failure. *New Engl. J. Med.* 289:1159-1162.
- WATERS M.J., FRIESEN H.G., y BOHNET H.G. (1979).- Regulation of prolactin receptors by steroid hormones and use of radioligand assay in endocrine research. *En Receptors and Hormone Action Vol III*. Ed. L. Birnbaumer y B.M. O'Malley. p 457-477. Academic Press, New York.

- WARTOFSKY L., DIMOND R.C., NOEL G.L., FRANTZ A.G., y EARLL J.M. (1976).- Effect of acute increases in serum triiodothyronine on TSH and prolactin responses to TRH, and estimates of pituitary stores of TSH and prolactin in normal subjects and in patients with hypothyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 42:443-458.
- WATSON J.T., KRULICH L., y Mac CANN S.M. (1971).- Effect of crude rat hypothalamic extract on serum gonadotropin and prolactin levels in normal and orchidectomized male rats. *Endocrinology* 89:1412-1418.
- WATSON C.S., MEDINA D., y CLARK J.H. (1979).- Characterization and estrogen stimulation of cytoplasmic progesterone receptor in the ovarian-dependent MXT-3590 mammary tumor line. *Cancer Res.* 39:4098-4104.
- WATTERSON D.M., y MILLS J.B. (1974).- Effects of plasmin digestion of prolactin on biological activity. *Fed. Proc.* 33:1512 (abstracto).
- WEITZMAN E.D. (1976).- Biologic rhythms and hormone secretion patterns. *Hospital Practice* 11:79-86.
- WELLINGS R.S., y JENSEN H.M. (1973).- On the origin and progression of ductal carcinoma in the human breast. *J. Nat. Cancer Inst.* 50:1111-1118.
- WELLINGS R.S., JENSEN H.M., y MARCUM R.J. (1975).- An atlas of subgross pathology of the human breast with reference to possible precancerous lesions. *J. Natl. Cancer Inst.* 55:231-273.
- WELSCH C.W., CLEMENS J.A., y MEITES J. (1969).- Effects of hypothalamic and amygdaloid lesions on development and growth of carcinogen-induced mammary tumors in the female rat. *Cancer Res.* 29:1541-1549.

- WELSCH C.W., y MEITES J. (1969).- Effects of a norethynodrel-mestranol-combination (Enovid)^R on developmen and growth of carcinogen induced mammary tumors in female rats. *Cancer* 23:601-607.
- WELSCH C.W., JENKINS T.W., y MEITES J. (1970).- Increased incidence of mammary tumors in the female rat grafted with multiple pituitaries. *Cancer Res.* 30:1024-1029.
- WELSCH C.W., NAGASAWA H., y MEITES (1970).- Increased incidence of spontaneous mammary tumors in female rats with induced hypothalamic lesions. *Cancer Res.* 30:2310-2313.
- WELSCH C.W. (1971).- Growth inhibition of rat mammary carcinoma induced by Cis-Platinum Diammino-Dichloride-II. *J. Natl. Cancer Inst.* 47:1071-1078.
- WELSCH C.W., y GRIBLER C. (1973).- Prophylaxis of spontaneously developing mammary carcinoma in C3H/Hej female mice by suppression of prolactin. *Cancer Res.* 33:2939-2946.
- WELSCH C.W., y CLEMENS J.A. (1973).- 6Methyl-8 β -ergoline-acetonitrile-induced inhibition of mammary hyperplastic alveolar nodular development and growth in C3H/Hej female mice. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 142:1067-1071.
- WELSCH C.W., ITURRI G., y MEITES J. (1973).- Comparative effects of hypophysectomy, ergocornine and ergocornine-reserpine treatments on rat mammary carcinoma. *Intern. J. Cancer* 12:206-212.
- WELSCH C.W., y MEITES J. (1974).- Neuroendocrine control of murine mammary carcinoma. *En Mammary Cancer and Neuroendocrine Theraphy.* Ed. B.A. Stoll. p 25-26. Butterworths, Londres.
- WELSCH C.W., GRIBLER C., y CLEMENS J. (1974).- 6-Methyl-8 β -ergoline-acetonitrile (MEA)-induced suppression of mammary tumorigenesis in C3H/Hej female mice. *European J. Cancer* 10:595-600.

- WELSCH C.W., LOUKS G., FOX D., y BROOKS C. (1975).- Enhancement by prolactin of carcinogen induced mammary cancerigenesis in the male rat. Br. I. Cancer 32:427-431.
- WELSCH C.W., CALAF DE ITURRI G., y BRENNAN M.J. (1976).- DNA synthesis of human, mouse and rat mammary carcinoma in vitro: influence of insulin and prolactin. Cancer 38:1272-1281.
- WELSCH C.W., y Mac MANUS M.J. (1977).- Stimulation of DNA synthesis by human placental lactogen or insulin in organ cultures of benign human breast tumors. Cancer Res. 37:2257-2261.
- WELSCH C.W., ADAMS C., LAMBRECHT L.K., HASSETT C.C., y BROOKS C.L. (1977).- 17β -oestradiol and enovid^R mammary tumorigenesis in C3H/HeJ female mice: Counteraction by concurrent 2-bromo- α -ergocryptine. Br. J. Cancer 35:322-328.
- WELSCH C.W., LAMBRECHT L.K., y HASSETT C.C. (1977).- Brief Communication: suppression of mammary tumorigenesis in C3H/HeJ mice by ovariectomy or treatment with 2-bromo- α -ergocryptine: a comparison. J. Natl. Cancer Inst. 58:1135-1138.
- WELSCH C.W., y MEITES J. (1978).- Prolactin and mammary cancerigenesis. En Endocrine Control in Neoplasia. Eds R.K. Sharma y W.E. Criss. p 71-92. Raven Press, New York.
- WELSCH C.W., DOMBROSKE S.E., y Mac MANUS M.J. (1978).- Effects of insulin, human placental lactogen and human growth hormone on DNA synthesis in organ cultures of benign human breast tumors. Br. J. Cancer 38:258-262.
- WEST N.B., VERHAGE H.G., y BRENNER R.M. (1976).- Suppression of the estradiol receptor system by progesterone in the oviduct and uterus of the cat. Endocrinology 99:1010-1016.

- WIGGINS J.F., y FERNSTROM J.D. (1977).- L-dopa inhibits prolactin secretion in proestrous rats. *Endocrinology* 101:469-474.

- WIEDEMANN E., SCHWARTZ E., y FRANTZ A.G. (1976).- Acute and chronic estrogen effects upon serum somatomedin activity, growth hormone, and prolactin in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 42:942-952.

- WILSON L., BAMBURG J.R., MIZEL S.B., GRISHAN L.M., y CRESWELL K.M. (1973).- Interaction of drugs with microtubule proteins. *Fed. Proc.* 33:158-166.

- WILSON A., y CARR I. (1975).- Hormone sensitivity and breast cancer. *Lancet* 2:465

- WILSON R.G., BUCHAN R., ROBERTS M.M., FORREST A.P.M., BOYNS A.R., COLE E.N., y GRIFFITHS K. (1974).- Plasma prolactin and breast cancer. *Cancer* 33:1325-1327.

- WILLIS K.J., LONDON D.R., WARD H.W.C., BUTT W.R., LYNCH S.S., y RUDD B.R. (1977).- Recurrent breast cancer treated with the anti-estrogen tamoxifen: correlation between hormonal changes and clinical course. *Br. Med. J.* 1:425-428.

- WILLIAMS W.F., y TURNER C.W. (1954).- Intracellular localization of I¹³¹ tagged lactogenic hormone in mammary gland of the rabbit. *Proc. Soc. Biol. Med.* 85:524-525.

- WILLIAMS R.R., FEINLEI B.M., CONNOR R.J., y STEGENS N.L. (1978).- Case-control study of antihypertensive and diuretic use by women with malignant and benign breast lesions detected in a mammography screening program. *J. Natl. Cancer Inst.* 61:327-335.

- WILLOUGHBY J.O., BRAZEAU P., y MARTIN J.B. (1977).- Prolactin growth hormone and prolactin: effects of butaclamol, a dopamine receptor blocking agent. *Endocrinology* 101:1298-1303.

- WINTERS S.J., y LORIAUX D.L. (1978).- Supression of plasma luteinizing hormone by prolactin in the male rat. *Endocrinology* 102:864-868.
- WITORSCH R.J., y SMITH J.P. (1977).- Evidence for androgen-dependent intracellular binding of prolactin in rat ventral prostate gland. *Endocrinology* 101:929-938.
- WOLSTENHOLME G.E.W., y KNIGHT J. (1972).- Editores. *Lactogenic Hormones*. Churchill Livingstone, Edimburgo y Londres.
- WOOD P.J., SHAHWAN M.M., y MARKS S.V. (1975).- Radioimmunoassay of plasma prolactin. *The Lancet* 2:1040-1041.
- WOOLF P.D., LEE L.A., LEEBAW W., THOMPSON D., LILAVIVATHANA V., BRODOWS R., y CAMPBELL R. (1977).- Intracellular glucopenia causes prolactin release in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 45:377-383.
- WOOLF P.D., LEEBAW W.F., y LEE L.A. (1977).- Effects of CNS dopamine augmentation on stimulated prolactin secretion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 45:857-860.
- WUTTKE W., CASSELL E., y MEITES J. (1971).- Effects of ergocornine on serum prolactin and LH, and on hypothalamic content of PIF and LRF. *Endocrinology* 88:737-741.
- WUTTKE W., DÖHLER K.D., y GELATO M. (1976).- Estrogens and prolactin as possible regulators of puberty. *J. Endocrinol.* 68:391-396.
- WUTTKE W. (1977).- Regulation of prolactin secretion. En *Endocrinology. Proc. V. Inter. Congress of Endocrinology, Hamburgo*. Ed. V.H.T. James. Vol 2, p 287-290. Excerpta Medica, Amsterdam y Oxford.
- WUTTKE W., HÖHN K.G., HONMA K., HILGENDORF W., y LAMBERTS R. (1979).- Interrelationship between prolactin and ganadotropins. En *Central and Peripheral Regulation of Prolactin Function*. Ed. R.M. MacLeod, y U. Scapagnini. p 221-236. Raven Press, New York.

- YALOW R.S., y BERSON S.A. (1976).- Methods in radioimmunoassay of peptide hormones. Recopilado y Editado por R.S. Yalow. p 37-51. North-Holland, Amsterdam.
- YAMAJI T. (1974).- Modulation of prolactin release by altered levels of thyroid hormone. *Metabolism* 23:745-751.
- YANAI R., y NAGASAWA H. (1970).- Suppression of mammary hyperplastic nodule formation and pituitary prolactin secretion in mice induced by ergocornine or 2-bromo- α -ergocryptine. *J. Natl. Cancer Inst.* 45:1105-1112.
- YANAI R., y NAGASAWA H. (1971).- Enhancement by pituitary isografts of mammary hyperplastic nodules in adreno-ovariectomized mice. *J. Natl. Cancer Inst.* 46:1251-1255.
- YANAI R., y NAGASAWA H. (1972).- Inhibition of mammary tumorigenesis by ergot alkaloids and promotion of mammary tumorigenesis by pituitary isografts in adreno-ovariectomized mice. *J. Natl. Cancer Inst.* 48:715-719.
- YANAI R., y NAGASAWA H. (1973).- Enhancement by human placental lactogen of mammary hyperplastic nodules in ovariectomized mice. *Cancer Res.* 33:1642-1644.
- YANG J., ENAMI J., y NANDI S. (1977).- Regulation of mammary tumor virus production by prolactin in BALB/cfC3H mouse normal mammary epithelial cells in vitro. *Cancer Res.* 37:3644-3647.
- YEN S.S.C., y TSAI C.C. (1971).- The effect of ovariectomy on gonadotropin release. *J. Clin. Invest.* 50:1149-1153.
- YEN S.S.C. (1979).- Neuroendocrine regulation of the menstrual cycle. *Hospital Practice*, Marzo, 83-94.

- YOUNG S. (1961).- Induction of mammary carcinoma in hypophysectomized rats treated with 3-Methylcholanthrene, oestradiol 17 β , progesterone and growth hormone. *Nature* 190:356-357.
- ZAMBRANO D., y DEIS R.P. (1970).- The adenohipophysis of female rats after hypothalamic oestradiol implants: an electron microscopic study. *J. Endocrinol.* 47:101-110.
- ZAMCHECK N. (1976).- The present status of carcinoembryonic antigen (CEA) in diagnosis, detection of recurrence, prognosis and evaluation of therapy of colonic and pancreatic cancer. *Clin. Gastroenterol.* 5:625-638.
- ZANINI A., GIANNATTASIO G., y MELDOLESI J. (1974).- Studies on in vitro synthesis and secretion of growth hormone and prolactin II. Evidence against the existence of precursor molecules. *Endocrinology* 94:104-111.
- ZANINI A., GIANNATTASIO G., De CAMILLI P., PANERAI A.E., MULLER E.E., y MELDOLESI J. (1979).- Studies on rat pituitary homografts. I. in vitro biosynthesis and release of growth hormone and prolactin. *Endocrinology* 104:226-236.
- ZARATE A., CANALES E.S., SORIA J., RUIZ F., y Mac GREGOR C. (1972).- Ovarian refractoriness during lactation in women: effect of gonadotropin stimulation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 112:1130-1132.
- ZAVA D.T., y Mac GUIRE W.L. (1977).- Estrogen receptors in androgen-induced breast tumor regression. *Cancer Res.* 37:1608-1610.
- ZEILMAKER G.H. (1968).- Prolonged lactation in mice and its effect on mammary tumorigenesis. *Inter. J. Cancer.* 3:291-303.
- ZIMMERMAN E.A., DEFENDINI R., y FRANTZ A.G. (1974).- Prolactin and growth hormone in patients with pituitary adenomas: a correlative study of hormone in tumor and plasma by immunoperoxidase technique and radioimmunoassay. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 38:577-585.

- ZIPE W.B., PAYNE A.H., y KELCH R.P. (1978).- Prolactin, growth hormone, and luteinizing hormone in the maintenance of testicular luteinizing hormone receptors. *Endocrinology* 103:595-600.

- ZUMOFF B. (1978).- Plasma hormone concentrations in human breast and prostate cancer. En *Endocrine Control in Neoplasia*. Ed. R.K. Sharma y W.E. Criss. p 349-367. Raven Press, New York.

