

03068 1

15  
2Ej

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
**Colegio de Ciencias y Humanidades**  
**Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado**  
**Proyecto Académico de Maestría y Doctorado en Ciencias**  
**Fisiológicas**  
**Centro de Neurobiología**

**EVALUACION DE LA PARTICIPACION DE LA  
DOPAMINA SOBRE LOS EFECTOS NEOPLASICOS DEL  
17 B-ESTRADIOL EN LA ADENOHIPOFISIS DE LA  
RATA WISTAR**

**T E S I S**

**Que para Obtener el Título de Maestra en Ciencias  
Fisiológicas**

**Presenta**

**La Biol. Julieta Ponzanelli Velázquez**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**ESTE TRABAJO ESTA DEDICADO CON TODO MI AMOR Y MI  
CARIÑO A MI QUERIDO HIJO CESAR ALONSO, A QUIEN LE  
ESTOY MUY AGRADECIDA POR ACOMPAÑARME EN SU  
REALIZACION.**

El presente trabajo se realizó en el laboratorio del Dr. Gonzalo Martínez de la Escalera Lorenzo en el Centro de Neurobiología de la UNAM. Los miembros del jurado fueron : el Dr. Carlos Valverde Rodríguez, el Dr. Roberto Dominguez Casalá, la Dra. Carmen Aceves Velasco y la Dra. Ma. Teresa Morales Guzmán, además de mi director de tesis.

## INDICE

RESUMEN.....6

## INTRODUCCION

Generalidades de la Regulación Endócrina .....8

Regulación Endócrina de los Lactotrofos.....14

a ) El Sistema Dopaminérgico Hipotalámico.....14

b ) Otros Factores Inhibitorios y Estimulatorios.....16

c ) Características de la Prolactina.....17

## Los Prolactinomas y la Hiperprolactinemia

a ) Aspectos Clínicos.....19

b ) Prolactinomas Espontaneos en la Rata.....20

c ) Similitudes Entre los Prolactinomas del Humano y de la Rata..22

## Posibles Alteraciones en la Regulación de los Lactotrofos

Relacionadas con la Formación de los Prolactinomas y la

Hiperprolactinemia.....23

## Regulación Estrogénica de los Lactotrofos en Distintos Estadios

Fisiológicos y Clínicos.....26

a ) Ciclo Reproductivo en la Rata.....26

b ) Ciclo Reproductivo en la Mujer.....29

c ) Gestación.....30

d ) Lactancia.....31

e ) Envejecimiento.....32

Modificación Estrogénica de la Regulación Dopaminérgica sobre los Lactotropos.....	34
a ) Exposición Aguda a los Estrógenos y Sistema Dopaminérgico Hipotalámico.....	35
b ) Exposición Crónica a los Estrógenos y Sistema Dopaminérgico Hipotalámico.....	36
Efectos Directos.....	37
Efectos Indirectos.....	38
c ) Efectos de los Estrógenos sobre los Receptores Dopaminérgicos en los Lactotropos.....	39
Características del Prolactinoma Inducido por Estrógenos en la Rata	
a ) Características Morfofuncionales del Tumor.....	43
b ) Sensibilidad Variable a los Estrógenos entre las Ratas de Diversas Cepas.....	45
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	53
HIPOTESIS.....	54
OBJETIVO.....	54
PROCEDIMIENTOS.....	55
Diseños Experimentales.....	55
Animales.....	58
Manipulaciones	
a ) Ovariectomía.....	59
b ) Implantación de Cápsulas con 17 $\beta$ -estradiol.....	59

c ) Aplicación de Fármacos.....	60
Determinaciones.....	61
Análisis Estadístico.....	62
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>63</b>
1 ) Efectos del 17 $\beta$ -estradiol.....	63
1.1 ) Peso Adenohipofisiario.....	63
1.2 ) Concentración de Prolactina Adenohipofisiaria.....	65
1.3 ) Concentración de Prolactina en Sangre.....	67
2 ) Efectos del Antagonista Dopaminérgico Trifluoperazina y del Agonista Dopaminérgico Bromocriptina.....	70
2.1 ) Peso Adenohipofisiario.....	70
2.2 ) Concentración de Prolactina Adenohipofisiaria.....	72
2.3 ) Concentración de Prolactina en Sangre.....	74
3 ) Efectos del 17 $\beta$ -estradiol, del Antagonista Dopaminérgico Trifluoperazina y del Agonista Dopaminérgico Bromocriptina en el Peso Corporal.....	76
<b>DISCUSION.....</b>	<b>77</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>86</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>87</b>

## RESUMEN

La etiología de los tumores hipersecretores de prolactina ( PRL ) es aun poco conocida. Se ha sugerido que en el humano y la rata, el escape de la hipófisis de la influencia inhibitoria que ejerce el hipotálamo mediante la dopamina ( DA ) puede ser una causa en la generación de estos tumores. En la rata, las hormonas ováricas parecen tener una participación importante en la causalidad de estas patologías, ya que los estrógenos estimulan la formación de prolactinomas y la hipersecreción de prolactina. Los estrógenos, además de ejercer un efecto directo sobre la adenohipófisis ( AH ), modifican la regulación dopaminérgica sobre los lactotropos, aunque se desconoce su grado de participación sobre estos fenómenos. Asimismo, a pesar de que el efecto tumorigénico de los estrógenos sobre la adenohipófisis de la rata es ampliamente conocido, los mecanismos de disparo y control de la hiperplasia de los lactotropos parecen ser una característica altamente variable según la cepa de rata. Todavía no se tiene conocimiento sobre las causas de esta variación.

En estudios previos hemos observado que la implantación de estrógenos en ratas Wistar indujo un crecimiento rápido de la AH hasta alcanzar una meseta, mientras que la desimplantación de los animales fue seguida de una regresión inmediata del tumor.

Por ello, el propósito del presente trabajo fue analizar la participación dopaminérgica hipotalámica en los efectos neoplásicos que tiene el 17  $\beta$ -estradiol en la AH de la rata Wistar.

Para abordar estas preguntas, se realizó el bloqueo o el reforzamiento de la acción dopaminérgica mediante la manipulación farmacológica con antagonistas o agonistas de la DA, Trifluoperazina o Bromocriptina respectivamente, en animales a los que previamente se implantó en forma prolongada con 17  $\beta$ -estradiol y en animales a los que se les suspendió dicho tratamiento por diferentes tiempos.

Confirmamos que el tratamiento estrogénico induce el crecimiento de la AH hasta alcanzar una meseta en las ratas Wistar. Además, el estrógeno provocó una dinámica distinta en cada uno de los parámetros analizados ( peso de la adenohipófisis, concentración de prolactina en la glándula y en la sangre ).

Los resultados centrales de este trabajo mostraron que el bloqueo del tono dopaminérgico endógeno con Trifluoperazina no modificó la tasa de crecimiento de la AH inducido por el estrógeno en las ratas, así como tampoco la regresión resultante de la suspensión del estímulo estrogénico. Sin embargo, dicho fármaco aumentó temporalmente la concentración de PRL adenohipofisiaria y sanguínea en ratas estrogenizadas, así como

retrasó la caída en las concentraciones de PRL en sangre a consecuencia de la suspensión del estímulo estrogénico.

Por otra parte, el reforzamiento del tono dopaminérgico endógeno con Bromocriptina provocó una disminución en la tasa de crecimiento de la AH y redujo transitoriamente las concentraciones elevadas de AH en adenohipófisis y sangre de ratas estrogezadas. Asimismo aceleró la caída en las concentraciones de PRL circulante de ratas desimplantadas, si bien no modificó la pendiente de caída del peso adenohipofisiario.

Estos resultados permiten sugerir la presencia de un tono dopaminérgico funcional actuando sobre la AH de animales estrogezados que se detecta de manera temporal a causa de la dinámica que presentan cada una de las respuestas de la AH ( síntesis y secreción de prolactina ) por el estímulo estrogénico. La detección temporal del tono dopaminérgico puede deberse al estado de actividad máxima que alcanzan cada una de las respuestas de la glándula en un momento dado, más que a una regulación selectiva de dichas respuestas por el hipotálamo.

Resumiendo, los efectos estrogénicos sobre la AH de las ratas Wistar se acompañan de un tono dopaminérgico funcional que no afecta el crecimiento de la AH, aunque si otras funciones adenohipofisiarias como son la síntesis, almacenamiento y secreción de PRL.



## INTRODUCCION

### Generalidades de la Regulación Endócrina

Las funciones del cuerpo están reguladas en forma integrativa por dos sistemas principales de control : el nervioso y el hormonal o endócrino. En general, este último regula el metabolismo energético e hidromineral así como el crecimiento y reproducción del organismo mediante la producción y liberación de mensajeros químicos llamados hormonas. La mayor parte de las hormonas se producen y secretan en las glándulas endócrinas y son transportadas por la sangre hacia todo el cuerpo. Algunos efectos hormonales se producen en segundos, otros requieren días para iniciarse y pueden mantenerse desde segundos hasta meses (ver Guyton, 1988).

Con base en numerosas evidencias de tipo embriológico, anatómico y funcional, actualmente se reconoce que los sistemas nervioso y endócrino constituyen en realidad un sólo sistema de intercomunicación celular, cuya operación concertada integra, controla y regula prácticamente todas las funciones del organismo. Hasta la fecha, la unidad hipotálamo - hipófisis es el componente mejor estudiado del sistema neuroendócrino ( Pérez-Enríquez, & Valverde-R, 1982 ).

La unidad hipotálamo - hipófisis tiene grandes influencias sobre el metabolismo celular de carbohidratos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos; sobre el balance hídrico y electrolítico; sobre la diferenciación celular; sobre el crecimiento, la maduración, el metabolismo y la temperatura corporal; en la regulación de funciones cardiovasculares y en los fenómenos de reproducción y lactancia; en la pigmentación de la piel; en la modulación del comportamiento; en la resistencia al estrés e infecciones, etc. (ver Martin, 1985).

La hipófisis se halla alojada en la base del cráneo sobre una estructura ósea conocida como la silla turca y está unida al hipotálamo por el tallo hipofisario. Desde el punto de vista ontogénico, anatómico y fisiológico, en las aves y primates superiores la hipófisis se divide en dos porciones : la hipófisis

anterior o adenohipófisis ( AH ), y la hipófisis posterior o neurohipófisis. Un tercer lóbulo, " la pars intermedia ", se presenta muy desarrollado en otros organismos como los peces, los anfibios y los reptiles, y está moderadamente desarrollado en los mamíferos inferiores (ver Baker, 1974., Page, 1994)

En gran parte, la secreción de la hipófisis está controlada por señales hormonales y nerviosas provenientes del hipotálamo. La hipófisis posterior está formada principalmente por fibras nerviosas originadas en los núcleos paraventricular y supraóptico del hipotálamo, de tal forma que la secreción de este lóbulo está controlada por la interacción compleja de señales sinápticas que convergen en los núcleos mencionados (ver Guyton, 1988). En cambio, se ha descrito que en gran parte el funcionamiento de la AH está regulado a nivel central por factores humorales provenientes del hipotálamo. En este aspecto, el arreglo especial de neuronas tuberoinfundibulares de la parte inferior del hipotálamo, cuyos axones terminan en una región conocida como eminencia media, ejerce un control sobre la AH mediante la liberación de factores de tipo estimulatorio e inhibitorio que se transportan a la glándula a través de pequeños vasos porta del llamado sistema porta hipotálamo-hipofisiario (ver Lamberts, & MacLeod, 1990). La AH recibe la mayoría de su aporte sanguíneo a través de la circulación porta-hipofisiaria. En ella, la concentración de los factores hipotalámicos reguladores es varios órdenes de magnitud mayor que en la circulación periférica (Weiner, Elias, & Monnet, 1985). Por otra parte, gracias a estudios inmunocitoquímicos recientes, se ha sugerido que la función adenohipofisiaria también pudiera estar regulada por una red neuronal ya que en la AH del mono, del perro y de la rata se ha descrito la presencia de fibras nerviosas que contienen péptidos semejantes a la sustancia P, a la calcitonina y a la somatostatina. Estas fibras hacen contacto sináptico con células secretoras de la AH como son los somatotropos y los corticotropos ( Ju, Liu & Zhang, 1991 ). Además, parece que la inervación en la AH es dinámica puesto que algunas fibras nerviosas contienen proteínas como la neuromodulina que están implicadas en la regeneración y plasticidad neuronal (Paden, Moffet, & Benowitz, 1994 ).

En la adenohipófisis existen varios tipos de células, aproximadamente la mitad de ellas presentan una marcada actividad secretora. Así, se ha descrito que, en general, los somatotropos producen a la hormona de crecimiento ( GH ), los corticotropos a la corticotropina ( ACTH ) y sus derivados, los tirotropos a la hormona estimulante de la tiroides ( TSH ), los gonadotropos producen a la hormona luteinizante ( LH ) y a la hormona estimulante del folículo ( FSH ) y los lactotropos a la prolactina ( PRL ) ( ver Page, 1994 ). Sin embargo, la producción de las hormonas de la AH no es exclusiva de un tipo celular. Cada vez hay más evidencia de que en una célula puede existir la colocalización de hormonas derivadas aparentemente de líneas celulares distintas, como se ha demostrado en células adenohipofisiarias que almacenan tanto ACTH como TSH ( ver Page, 1994 ). Adicionalmente, se ha descrito la existencia de otro tipo celular, los somatomamotropos, capaces de sintetizar y secretar GH y PRL. Debido a que estas células preceden ontogénicamente a los lactotropos pero no a los somatotropos, se ha sugerido que bien pudieran ser células progenitoras de los lactotropos o una fase intermedia de conversión de somatotropos a lactotropos (ver Lamberts et al,1990). Además, en la AH existen células estelares o foliculares, que se consideraba servían sólo de sostén ( ver Baker, 1974 ). Aunque en la actualidad su función no es muy conocida, se ha propuesto que pueden participar en la comunicación intercelular, en procesos de fagocitosis ( ver Page, 1994 ), e incluso regular parácrinamente a las demás células secretoras pues producen mensajeros químicos, como es la interleucina 6, citocina capaz de estimular la secreción de ACTH ( Vankelecom, Carmeliet, Vandamm, Billiau, & Denef, 1989 ).

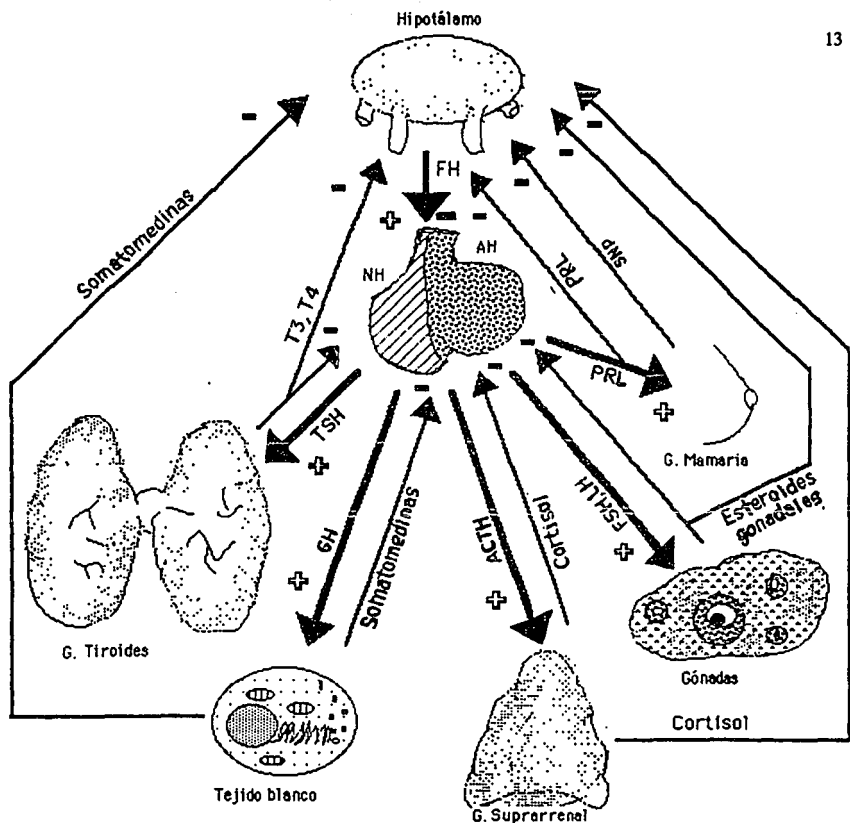
Cada vez aumenta la evidencia de que las células de la AH pueden controlar su propia actividad y diferenciación mediante una comunicación parácrina ya que se han observado conexiones funcionales entre ellas, por ejemplo entre lactotropos y gonadotropos ( Denef, & Andries,1983 ). Además, en la AH se ha demostrado la síntesis y la secreción de neuropéptidos clásicamente asociados al hipotálamo como son la somatostatina, la hormona liberadora de GH, la hormona liberadora de tirotropina ( TRH ) ( Peillon, Joubert, Le Dafniet, Pagesy, Brandi, Bayet, &

Leclère, 1992 ) y el péptido intestinal vasoactivo ( VIP ) ( Deneff, Baes, & Schramme, 1986 ). En las células de la AH también se expresan otros péptidos neurales como son la gastrina, la colecistoquinina, la sustancia P, la neurotensina A, la galanina, el neuropéptido Y, la neurotensina, la cromogranina A, entre otros ( Houben, & Deneff, 1990 ). La producción de estos factores parece tener significado funcional ya que el bloqueo de la acción de VIP ( Nagy, Mulchahey, & Neill, 1988 ) o de galanina ( Houben, et al, 1990 ) en células cultivadas de la AH disminuye la secreción de PRL.

La secreción hormonal de las células hipofisarias está regulada a distintos niveles y constituye parte importante de ejes endócrinos en los que operan mecanismos de retroalimentación, como son los ejes hipotálamo-hipófisis-órganos periféricos. Así, diversas hormonas provenientes del hipotálamo regulan la secreción de las hormonas de la hipófisis. Las hormonas hipofisarias, a su vez, son transportadas por la circulación periférica ejerciendo sus efectos en órganos blanco. Como respuesta de la comunicación hormonal, estos órganos blanco liberan también distintas hormonas que, además de participar en diversos procesos, retroalimentan nuevamente al sistema a nivel central e hipofisario.

Un ejemplo de ésto lo muestra el sistema hipotálamo-hipófisis-gónadas. La hormona hipotalámica liberadora de gonadotropinas ( GnRH ) actúa sobre los gonadotropos de la AH e induce la producción y secreción de las gonadotropinas FSH y LH. La FSH actúa sobre las gónadas estimulando la producción de hormonas sexuales como los estrógenos. Estos esteroides juegan un papel fundamental en los fenómenos de reproducción al promover, por ejemplo, la proliferación y diferenciación del tracto reproductivo y de la glándula mamaria en ciertos periodos, participan en el control de la maduración ósea, en el metabolismo del calcio, promueven la síntesis de varias proteínas del hígado, contribuyen a la regulación del metabolismo de lípidos y a la distribución de grasa etc. Además, los estrógenos retroalimentan negativamente al hipotálamo y a la hipófisis con lo que regulan, así, su propia producción (ver Martin, 1985).

Igualmente, como se ilustra en el esquemal, existen otros órganos blanco para las distintas hormonas producidas en la adenohipófisis, como son : la glándula tiroides para TSH, las glándulas suprarrenales para ACTH, y la glándula mamaria y prácticamente todos los tejidos del cuerpo para PRL y GH (ver Martin, 1985).



**Esquema 1.** Representación esquemática de la función de los sistemas de retroalimentación hipotálamo - hipófisis - principales órganos blancos. Las flechas con símbolos negativos representan la inhibición del sistema sobre la síntesis y secreción de factores reguladores, mientras que las flechas con símbolo positivo representan la estimulación del sistema. Adenohipófisis ( AH ), neurohipófisis ( NH ), glándula ( G ), factores hipotalámicos ( FH ), triyodotironina ( T<sub>3</sub> ), tetrayodotironina ( T<sub>4</sub> ), hormona estimulante de la tiroides ( TSH ), hormona de crecimiento ( GH ), hormona adrenocorticotrópica ( ACTH ), hormona estimulante del folículo ( FSH ), hormona luteinizante ( LH ), prolactina ( PRL ), sistema nervioso periférico ( SNP ).

## Regulación Endócrina de los Lactotropos

La mayoría de las células adenohipofisarias son reguladas por factores hipotalámicos de tipo estimulatorio. El bloqueo de la acción hipotalámica por medio de lesiones quirúrgicas en el tallo hipofisario, o electrolíticas en la eminencia media, o mediante el trasplante de la AH lejos del alcance hipotalámico ( bajo la cápsula renal, por ejemplo ), ocasiona que casi todas las estirpes celulares se atrofién y disminuyan su capacidad de producir y secretar hormonas (ver Martin, 1985). La excepción a ésto lo constituyen los lactotropos ya que, bajo las mismas condiciones, se estimula la síntesis y secreción de PRL (ver Lamberts, et al, 1990).

Es reconocido que los lactotropos se encuentran regulados predominantemente de forma inhibitoria por el hipotálamo. Dicha acción hipotalámica está mediada principalmente por la dopamina ( DA ) y se ejerce de manera tónica sobre la síntesis y secreción de PRL (ver Ben Jonathan, 1985; Lamberts, et al, 1990).

### a ) El Sistema Dopaminérgico - Hipotalámico.

La dopamina es una neurohormona sintetizada por algunas de las neuronas del sistema tuberoinfundibular del hipotálamo (TIDA), cuyos axones terminan en la eminencia media, región en la que se localiza el plexo capilar primario del sistema de circulación portal hipotálamo - hipofisario. La DA es liberada en dicho sistema porta y es transportada hacia la adenohipófisis. La concentración de DA en sangre portal es aproximadamente de 2 a 3 ng/ml en la rata hembra en el diestro ( Gudelski, Nansel, & Porter, 1981 ). Estas concentraciones son suficientes para inhibir la secreción de PRL *in vitro* ( Ben Jonathan, et al, 1977., Plosky, Gibbs, Neill, 1978). Los efectos dopaminérgicos sobre los lactotropos son mediados por receptores con 7 dominios transmembranales de tipo D 2, acoplados negativamente a distintos sistemas de transducción, como son el de la adenilato-ciclasa y el de fosfatos de inositol ( Martínez de la Escalera, et al, 1993 ).

La acción inhibitoria de la DA sobre la secreción de PRL está bien documentada. Varios estudios muestran que en condiciones

fisiológicas la concentración de DA en la sangre porta-hipofisiaria está inversamente relacionada a las concentraciones periféricas de PRL ( ver Lamberts, et al, 1990 ). Asimismo, cuando se refuerza esta influencia dopaminérgica con el empleo de agonistas, como son los derivados del ergot ( Bromocriptina, por ejemplo ), se observa una considerable disminución en la síntesis y secreción de PRL (Davies, Jacobi, Lloyd, & Meares, 1974; Lamberts, et al, 1990; Leong, Frawley, & Neill, 1983).

La capacidad de los agentes dopaminérgicos para inhibir la secreción de PRL se correlaciona con la afinidad de diversos agonistas dopaminérgicos por los receptores a DA en la AH ( Maurer, 1980 ). En un estudio se encontró que la administración del agonista dopaminérgico Bromocriptina redujo a más de la mitad la concentración de PRL circulante en ratas ovariectomizadas a los 5 días de tratamiento ( Phelps, & Hymer, 1988 ). De manera similar, la administración de este fármaco disminuyó a la tercera parte la concentración de la hormona en sangre a los 21 días ( Handa, & Rodriguez, 1991 ). Usando cultivos primarios de células de la AH de ratas macho se observó que la aplicación del agonista dopaminérgico dihidroergocriptina por 12 horas disminuyó la liberación de PRL en un 60 % ( West, & Dannies, 1980 ).

La DA y sus agonistas ejercen también un control negativo sobre la transcripción del gen de PRL. La DA y el agonista  $\delta$ -ergocriptina reducen los niveles de RNA mensajero para PRL y en consecuencia inhiben la síntesis de la hormona en células cultivadas de la AH ( Maurer, 1980 ). La  $\delta$ -ergocriptina inhibió la transcripción de dicho gen en un 70-80 % después de 45 minutos de incorporarse a los cultivos hipofisarios ( Maurer, 1981), mientras que la inhibición máxima de la síntesis de PRL se observó después de 3-4 días de tratamiento ( Maurer, 1980 ). Resultados semejantes sobre la síntesis de la hormona se obtienen en respuesta a la administración *in vivo* de Bromocriptina por 2 días ( Brocas, Coevorden, Seo Refetoff, & Vassart, 1981 ). De la misma forma, la  $\delta$ -ergocriptina inhibió *in vivo* la transcripción de PRL en un 50-80 % al cabo de 1 hora de inyectada ( Shull, & Gorsky, 1986 ).

En forma consistente con lo hasta ahora expuesto, tanto *in vivo* como *in vitro*, la síntesis y la secreción de PRL aumentan de



forma drámatica con el empleo de agentes que bloquean la acción dopaminérgica, como son los que impiden su síntesis (  $\alpha$  metil p-tirosina ) o los que compiten por los receptores dopaminérgicos D2 ( Trifluoperazina, Haloperidol, Perfenazina, etc. ) ( ver Lamberts, et al, 1990 ).

b ) Otros Factores Inhibitorios y Estimuladores.

Existen también otros factores hipotalámicos capaces de inhibir la secreción de PRL, como son el ácido  $\gamma$  - aminobutírico ( GABA ), la somatostatina, y un péptido relacionado con la hormona liberadora de gonadotropinas, entre otros (ver Lamberts, et al, 1990). Además, hay evidencia de que en la regulación de la síntesis y secreción de PRL participan también hormonas hipotalámicas de tipo estimulatorio como son la TRH, la serotonina, el VIP, entre otras (ver Lamberts, et al, 1990). En general se ha observado, que la PRL ejerce efectos de retroalimentación negativos sobre su propia secreción ya que estimula a las neuronas TIDA con lo que aumenta la síntesis y liberación de DA (ver Lamberts, et al, 1990., Selmanoff, 1985; Simpkins, & Gabriel, 1984).

Los factores hipotalámicos de tipo inhibitorio o estimulatorio actúan como intermediarios de estímulos fisiológicos como son : la succión, el ciclo luz-oscuridad y el estrés, y también en procesos biológicos como son : la lactancia, el ciclo circádico y el ciclo ovulatorio, en los que igualmente participan otras hormonas como los estrógenos y la progesterona. Estos últimos alcanzan a la AH a través de la circulación sistémica y alteran la regulación directa del hipotálamo sobre la glándula (Franks, 1983; ver Lamberts, et al, 1990).

Los estrógenos estimulan la síntesis, y secreción de PRL y tienen un efecto hipertrófico y mitogénico sobre los lactotopos, tanto *in vivo* (Franks, 1983; Gersten, & Baker, 1970; Kannan, 1987; Lloyd, Meares, & Jacobi, 1975; Lloyd, 1983; Lloyd, Cano, & Landefeld, 1988; Wiklund, Wertz, & Gorski, 1981) como *in vitro* (Lieberman, Maurer, Claude, & Gorski, 1982; Lloyd, 1983; West, & Dannies, 1980).

Aunque de magnitud menor, su actividad *in vitro* sugiere un efecto directo del estrógeno sobre la AH de la rata que podría explicarse por el mecanismo general de acción que comparten con el resto de las hormonas esteroides ( Landers, & Spelsberg, 1992 ). A modo general, las hormonas esteroides atraviesan la membrana plasmática de las células por difusión debido a su carácter fuertemente hidrofóbico. En el citoplasma o en el núcleo, según el caso, se encuentran receptores que se unen de forma específica a las hormonas esteroideas formando complejos que posteriormente sufren procesos conocidos como de "transformación" que los hacen muy afines por el núcleo celular, en donde se acumulan y se unen a la cromatina en determinados sitios con lo que inducen, finalmente, la expresión de genes específicos.

Como veremos más adelante, además de los efectos directos, los estrógenos regulan también a los lactotopos mediante mecanismos indirectos al alterar la acción de neuronas hipofisiotrópicas, ya sea favoreciendo o contrarrestando la regulación inhibitoria que ejerce el hipotálamo, o favoreciendo la regulación por agentes estimulatorios, como son los secretagogos (ver Franks, 1983; ver Lamberts, et al, 1990; Sortino, & Wise, 1989). Incluso, se ha encontrado que los estrógenos inducen la producción de diversos factores de crecimiento en ciertos órganos ( cerebro, riñón, hígado, útero ) capaces de estimular la proliferación y funcionamiento de los lactotopos (Sirbasku, 1978). Otra hormona que también tiene influencia sobre los lactotopos es la progesterona, contrarrestando el efecto estimulatorio que los estrógenos tienen sobre la liberación de PRL (Chen, & Meites, 1970).

### c ) Características de la Prolactina.

La importancia que tiene el entendimiento de la regulación de la función secretora y del crecimiento de los lactotopos, se pone de relieve por lo siguiente : la prolactina es la más versátil de todas las hormonas de la hipófisis, tanto por el número como por la diversidad de procesos fisiológicos que regula (ver Leong, et al, 1983). En los vertebrados se han reportado 85 distintos efectos de la PRL (ver Nicoll, 1974), lo que indica la importancia de esta

hormona en la fisiología y evolución de los vertebrados. El efecto de la PRL sobre la glándula mamaria es el que se ha estudiado más ampliamente. En los mamíferos, la prolactina juega un papel decisivo en la preparación y mantenimiento de la glándula mamaria para la síntesis y secreción de la leche durante la lactancia (ver Clapp, 1984; Leong, et al, 1983), de ahí que también se la haya llamado hormona mamotrópica o lactogénica (ver Nicoll, 1974).

La prolactina no es una entidad molecular única sino una familia de variantes moleculares que difieren, unas de otras, en su actividad biológica e inmunológica (ver Lamberts, et al, 1990; Leong, et al, 1983). Tal parece que diferentes formas moleculares de PRL son preferencialmente liberadas en respuesta a diferentes estímulos fisiológicos y patológicos (ver Lamberts, et al, 1990; Pellegrini, et al, 1988). Esto podría explicar en parte, las considerables discrepancias que existen respecto a la cuantificación del contenido de PRL en la glándula hipofisiaria y en la sangre usando diferentes sistemas de bioensayos, de métodos electroforéticos y de radioinmunoanálisis (ver Lamberts, et al, 1990). Igualmente, se ha sugerido la existencia de una heterogeneidad funcional de los lactotropos en la glándula adenohipofisiaria normal, con base en resultados obtenidos con métodos de separación celular, como son los de sedimentación y al análisis del patrón de secreción de PRL de células individuales ante diferentes procesos fisiológicos (ver Lamberts, et al, 1990). No sería de extrañar que en determinadas condiciones patológicas, como es la formación de tumores hipersecretorios de PRL, prevalezcan algunas de las "subpoblaciones" de lactotropos. Al menos ésto es posible para las variantes moleculares de la PRL ya que se ha descrito que en algunas mujeres hiperprolactinémicas predominan en sangre prolactinas de alto peso molecular como es la " grande - grande " ( Fraser, & Guang, 1990 ). En prolactinomas humanos también se ha observado la producción de variantes glicosiladas de la PRL ( Pellegrini, Gunz, Ronin, Fenouillet, Peyrat, Delori, & Jaquet, 1988 ).

## Los Prolactinomas y la Hiperprolactinemia

### a ) Aspectos Clínicos.

La importancia manifiesta del estudio de los tumores y de las alteraciones en la secreción de la glándula hipofisiaria se hace evidente por la incidencia que alcanzan y el impacto que tienen sobre la población humana en edad reproductiva. A continuación se expondrán algunos datos epidemiológicos que hablan de la relevancia del problema.

Los desórdenes de la hipófisis mas frecuentes en la práctica clínica son los que involucran a las alteraciones de tipo proliferativo y secretor de las células secretoras de PRL, que originan las patologías conocidas como prolactinomas e hiperprolactinemia (ver Kannan, 1987; Kovacs, & Horvath, 1985; Sherman, et al, 1978; Thorner, 1982). Se sabe que los tumores de la hipófisis representan el 10 % de todas las neoplasias intracraneales (ver Kannan, 1987; Sherman, et al, 1978) y que incluso el examen rutinario de la glándula durante las autopsias revela una tasa de prevalencia de microadenomas en la población hasta del 25 (ver Kannan, 1987) y 27 % (ver Lamberts, et al, 1990). Se estima que la incidencia de prolactinomas es de 10 a 20 veces mayor en las mujeres que en los hombres (Franks, & Nabarro, 1977). Por otro lado, la aparición del cuadro hiperprolactinéxico en mujeres se asocia en gran medida, con la presencia de este tipo de tumores adenohipofisarios (Aono, 1988; Franks, et al, 1977). Así, se presume que el desarrollo de estos prolactinomas es responsable, por lo menos, del 30 % de los casos de mujeres con hipersecreción de PRL (Aono, 1988). La hiperprolactinemia se ha encontrado en el 70 % de los pacientes con anomalías de la silla turca que no presentan hipersecreción de la hormona de crecimiento ni de la hormona corticotrópica (Franks, et al, 1977; Sherman, et al, 1978).

Actualmente, se reconoce a la hiperprolactinemia y a los tumores hipersecretorios de prolactina como una de las causas principales del síndrome de galactorrea - oligomenorrea en mujeres y de infertilidad e impotencia en hombres (ver Kannan, 1987; Kovacs, et al, 1985). Se considera que la hiperprolactinemia

es la segunda causa de amenorrea secundaria (ver Kannan, 1987), llegando a producir hasta el 40% de los casos (Sherman, & Fraser, 1977). Aproximadamente del 25 al 30% de los casos de infertilidad en la mujer se deben a dicha alteración (ver Kannan, 1987). En los hombres, la hiperprolactinemia se presenta como la causante del 5 al 25 % de los casos de impotencia (ver Kannan, 1987).

Estos datos justifican el interés por estudiar los mecanismos que producen estas alteraciones ya que la población en edad reproductiva es en buena medida la más vulnerable.

#### b ) Prolactinomas Espontaneos en la Rata.

En la rata, la formación de tumores adenohipofisarios, particularmente aquellos hipersecretores de prolactina, es una característica del envejecimiento a la vez que representan la patología más común a edad avanzada (Ito, et al, 1972; Lee, DeLellis, Blount, Nunnemacher, & Wolfe, 1982; Trouillas, Girod, Claustrat, Curé, & Dubois, 1982)

Existen reportes de que estas alteraciones proliferativas en las ratas de diversas cepas (Wistar, Sprague-Dawley, Holtzman, Long-Evans, etc.) son más frecuentes en las hembras que en los machos (Ito, et al, 1972; Lee, et al, 1982; Trouillas, et al, 1982). Este fenómeno se correlaciona de igual forma en los humanos (ver Franks, et al, 1977), lo que pone de manifiesto una asociación entre la incidencia de la patología y el sexo, estando, evidentemente implicados las concentraciones circulantes de hormonas estrogénicas, de las que las hembras son preponderantemente productoras (Huang, Marshall, & Meites, 1976; ver Wilson, et al, 1985).

En la rata las alteraciones proliferativas de los lactotropos comienzan a manifestarse desde mediana edad ( más de 10 meses de vida ) y son comunes cuando los animales envejecen ( más de 24 meses de edad ) (Ito, et al, 1972; Lee, et al, 1982; Trouillas, et al, 1982). Esto se correlaciona con lo observado en el hombre ya que la expresión de dichas alteraciones aumenta conforme avanza la edad (Furth, Ueda, & Clifton, 1973; Meites, 1988).

Por otra parte, tanto la formación de tumores espontáneos de la adenohipófisis en ratas como aquellos inducidos por el tratamiento estrogénico en estos animales, se presentan como un fenómeno altamente variable según el tipo de cepa de rata e, incluso, según el grupo de ratas analizado perteneciente a una misma cepa (De Nicola, Lawzewitsch, Kaplan, & Libertun, 1978; Holtzman, Stone, & Shellabarger, 1979; Ito, 1976; Kaplan, & De Nicola, 1976; Lloyd, 1983; Stone, Holtzman, & Shellabarger, 1979; Trouillas, et al, 1982; Wiklund, et al, 1981). En el cuadro 1 se resumen algunos de los datos sobre la incidencia de estos tumores espontáneos de los lactotopos en las ratas de diversas cepas.

Cuadro 1. Incidencia de prolactinomas espontaneos en ratas de distintas cepas.

Cepa	Sexo	Edad (meses)	Incidencia	Autor
Wistar/ Furth/Ico	♂ ♀	< 10	32.7 %	Trouillas, et al, 1982
"	♀	"	74.2 %	"
"	♂ ♀	28-32	56.2 %	"
"	♀	"	88.8 %	"
Charles-River	♂	25	70.0 %	Ito, et al, 1972
Long-Evans	♂	36	50.0 %	Lee, et al, 1982

### c ) Similitudes Entre los Prolactinomas del Humano y de la Rata.

Debido a las características morfológicas y a las respuestas farmacológicas similares que presentan, no es de extrañar que ya algunos autores (Lee, et al, 1982; Trouillas, et al, 1982) hayan propuesto al modelo de tumoración espontánea que involucra a los lactotrofos de la rata como un modelo útil para el estudio de dicha patología en humanos.

En su mayoría ambos prolactinomas, el de humanos y el de roedores, se presentan como adenomas hemorrágicos, es decir, muy vascularizados (Weiner, et al, 1985). Las células que predominan en el tumor presentan pocos gránulos y en su mayoría son positivas a la inmunotinción con anticuerpos anti-PRL y presentan el retículo endoplásmico rugoso bien desarrollado (Kovacs, et al, 1985; Trouillas, et al, 1982).

Sin embargo, en todos los tumores de este tipo existe una variación estructural considerable, lo que ha llevado a algunas personas a tratar de clasificarlos como micro y macroadenomas y como adenomas lactotrópicos densa y pobremente granulados (ver Kannan, 1987; Kovacs, et al, 1985; Lamberts, et al, 1990; Thorner, 1982). Además de las variaciones morfológicas, también se han observado variaciones funcionales puesto que algunos pacientes responden a la terapia farmacológica o quirúrgica, mientras que para otros estos procedimientos resultan ineficientes (ver Kannan, 1987; Lamberts, et al, 1990; Thorner, 1982). Con base en estas variaciones se puede sugerir que existen distintos mecanismos de regulación por los cuales se estarían generando estas patologías, entre los que posiblemente se encuentran alteraciones en la regulación que el hipotálamo ejerce sobre los lactotrofos, especialmente mediante la dopamina (Vertosick, 1985), o bien en los que la acción directa e indirecta de factores periféricos, como es el caso de los esteroides ováricos, pudiera ejercer un papel importante (ver Franks, 1983).

Muchos de los casos de hiperprolactinemia pueden originarse por la presencia de prolactinomas no detectados. En realidad, se requieren de estudios más finos en el escrutinio de la glándula adenohipofisiaria. Como mencionan Furth y colaboradores (1973 ), no hay que perder de vista que los tumores

de la hipófisis parecen ser más frecuentes en el humano y en la rata de lo que se reporta en la literatura, ya que no se realiza el examen rutinario de la glándula en necropsias y a que de hecho muchos tumores son microscópicos, de lenta evolución y comúnmente se presentan como "adenomas silenciosos".

### **Posibles Alteraciones en la Regulación de los Lactotropos Relacionadas con la Formación de Prolactinomas y la Hiperprolactinemia**

Hasta la fecha, la etiología de los tumores adenohipofisarios hipersecretores de prolactina en humanos y roedores es poco conocida. Sin embargo, existen suficientes evidencias que permiten suponer que el origen de dicha patología obedece, al menos en parte, a disfunciones en cualquiera de los sistemas hipotalámicos o periféricos que regulan a la adenohipófisis.

Para muchos autores la fisiopatogenia común en todos los desórdenes que involucran a la hiperprolactinemia parece ser un defecto en los mecanismos de regulación que ejerce el hipotálamo, en especial la dopamina, sobre los lactotropos (Furth, et al, 1973; ver Kannan, 1987; Kovacs, et al, 1980; Lamberts, & Thorner, 1985; ver Lamberts, et al, 1990; Thorner, 1982., Vertosick, 1985). Esto se basa en que lesiones en el tallo hipofisario, así como el trasplante de la AH de ratas a sitios alejados de la influencia hipotalámica ( como es la cápsula renal ), y el empleo de drogas antagonistas de la DA, inducen hipersecreción de PRL (ver Kannan, 1987; Lamberts, et al, 1990; Martin, 1985; Weiner, et al, 1985). Así, se han planteado hipótesis alternativas. Por un lado, se piensa que podrían encontrarse dañadas las neuronas TIDA y que, por lo tanto, el aporte de esta hormona a los lactotropos estaría reducido. Como quiera que sea la ausencia del factor inhibitorio induciría una hiperestimulación funcional de los lactotropos. Por otra parte, se postula que un estado de insensibilidad de los receptores a DA en estas células podría ser también el responsable de la hipersecreción de PRL o de la hiperplasia de los lactotropos (Vertosick, 1985).



Otra propuesta sobre cómo se podrían generar los prolactinomas en el humano y en la rata la hace el grupo de R. Weiner (Weiner, et al, 1985., Weiner, Findell, Ferrara, Clapp, & Schechter, 1988). Se ha observado que en la mayoría de los casos, en el tumor adenohipofisario del humano y de la rata, existe la formación adicional de vasos provenientes de la carótida (Kaplan, et al, 1976; Weiner, et al, 1985). Estos vasos estarían supliendo a la AH de una irrigación adicional de sangre periférica, lo que traería como consecuencia una disminución de la concentración de DA que llega a la AH por el sistema porta - hipofisario, lo que ocasiona finalmente un "escape" de los lactotrofos al tono inhibitorio dopaminérgico. Sin embargo, no se contempla la posibilidad de que la vascularización adicional observada sea consecuencia de los requerimientos que entraña el mismo crecimiento tumoral.

Aunque estas hipótesis podrían explicar en un momento dado, las disfunciones halladas en la maquinaria sintética y secretora del lactotrofo hasta la fecha no hay información contundente que explique si, por sí sola, la deficiencia del factor dopaminérgico pueda provocar cambios en la tasa de división celular de los lactotrofos. En un estudio (Cronin, Cheung, Weiner, & Goldsmith, 1982) se observó que lesiones en el hipotálamo medio basal en ratas ovariectomizadas - que carecen de esteroides ováricos - incrementaron la secreción de PRL y aumentaron el volumen adenohipofisario ocupado por los lactotrofos. Sin embargo, no se discriminó si dicho aumento se debe a una hipertrofia o a una hiperplasia celular.

Por otro lado, la suposición de alteraciones hipotalámicas explica parcialmente el problema, ya que no en todos los casos el tratamiento clínico con agonistas dopaminérgicos, como la Bromocriptina, resulta exitoso (ver Kannan, 1987; MacLeod, 1982). Además, si bien la administración de agentes dopaminérgicos puede resolver en alguna medida el problema, esto no necesariamente quiere decir que una alteración en la acción dopaminérgica sea la causa primaria de dicha patología. La administración de dosis tan elevadas de estos fármacos hace responder al sistema favorablemente, impidiéndonos conocer los mecanismos reales del origen de la patología.

En realidad, el fenómeno debe analizarse de forma integrativa, entendiéndolo como el resultado de la interacción de múltiples y diversos factores actuando quizás bajo condiciones distintas. En este sentido, valdría la pena pensar que alteraciones en los sistemas de regulación periférica sobre la AH, como los que se ejercen mediante la acción de los estrógenos, podrían también participar en la inducción y/o regulación del proceso de tumoración adenohipofisiaria.

Como se detalla más adelante, tanto en el hombre como en la rata, existen distintos estados fisiológicos en los que los estrógenos mantienen una regulación importante sobre los lactotopos (Amenomori, Chen, & Meites, 1970; Ito, Martin, Grindeland, Takizawa, & Furth, 1971; Lu, Hopper, Vargo, & Yen, 1979; Neill, Freeman, & Tillson, 1971). Además, se sabe que en la rata la administración de estrógenos en estos animales induce el desarrollo de prolactinomas (Clifton, & Meyer, 1956; De Nicola, et al, 1978; Gersten, et al, 1970; Holtzman, et al, 1979; Kaplan, et al, 1976; Lloyd, 1983; Nakagawa, Obara, & Tashiro, 1980; Wiklund, & Gorski, 1982; Wiklund, et al, 1981). En este contexto, el uso de esteroides ováricos en la población humana, con fines anticonceptivos y terapéuticos, ha despertado una polémica sobre la posible participación de estas hormonas en el desarrollo de alteraciones en los lactotopos.

Como ya se mencionó, la acción estrogénica puede ser directa sobre los lactotopos, y/o indirecta al modificar la regulación inhibitoria y estimulatoria que ejerce el hipotálamo, a la vez que promueve la participación de otros factores de tipo estimulatorio capaces también de actuar en la AH (Cramer, Parker, & Porter, 1979; Sirbasku, 1978; Sortino, et al, 1989).

## Regulación Estrogénica de los Lactotropos en Distintos Estadios Fisiológicos y Clínicos

Los estrógenos tienen numerosos efectos y a distintos niveles sobre el funcionamiento de los lactotropos, que van desde la secreción hasta la proliferación celular. Existe muy poca información sobre los mecanismos que regulan la proliferación de estas células. Sobre el proceso de transcripción de la PRL existe información de hace una década. Es en el estudio de los procesos de secreción en donde se cuenta con una gran cantidad de trabajos. En su mayoría, se trata de experimentos de corto plazo por lo práctico que resultan. Es por ésto, que en algunos de los casos quedará mejor expuesto lo relacionado a la síntesis y secreción de PRL pero no por ello hay que perder de vista la posibilidad de que estos efectos se ejerzan a distintos niveles.

### a) Ciclo Reproductivo en la Rata.

La síntesis y secreción de PRL varía a lo largo del ciclo estral de la rata y que las concentraciones de estrógenos circulantes durante este período parecen ser uno de los principales factores que regulan dicho fenómeno (Amenomori, et al, 1970; ver Franks, 1983; Ito, et al, 1971; Neill, et al, 1971; Shimokawa, Hattori, Imai, Kato, & Wakabayashi, 1988).

La elevada concentración de estrógenos circulantes durante la tarde del proestro es uno de los principales responsables de la secreción masiva de PRL y de LH en ese periodo (ver Franks, 1983; Ito, et al, 1971; Lamberts, et al, 1990; Neill, et al, 1971). Esta hipersecreción de PRL en el proestro puede bloquearse con la administración de antiestrógenos, como el Tamoxifén (Jordan, Koerner, & Robison, 1975) o de anticuerpos contra estrógenos (Neill, et al, 1971). El contenido de PRL en la AH es mayor en la mañana que en la tarde del proestro cuando alcanza su nivel más bajo como resultado de su liberación masiva a la circulación (Shimokawa, et al, 1988). Las concentraciones de ácido ribonucleico mensajero ( ARNm ) de PRL en la AH presentan un máximo en el proestro y otro en el estro; las primeras se explican

como resultado de la acción directa de los estrógenos, y las segundas como consecuencia de la estimulación en la proliferación de los lactotopos, inducida también por estas hormonas (Shimokawa, et al, 1988; Yamamoto, et al, 1986). De igual forma, la concentración más baja de PRL en sangre se observa durante el diestro II (Ito, et al, 1971), y coincide con la concentración más baja de estrógenos circulantes (Döhler, & Wuttke, 1975).

Como se resume en el cuadro 2, las concentraciones de PRL circulante reportadas durante el ciclo estral de la rata varían según las distintas cepas de rata. Incluso, se reportan diferencias en la concentración de PRL circulante en el ciclo estral en una misma cepa de rata en diferentes laboratorios (Ito, et al, 1971), lo cual nos habla de que a pesar de existir un comportamiento general se presentan variaciones entre grupos de organismos aislados reproductivamente y aún entre individuos. En términos generales, se observa que las concentraciones más elevadas de PRL durante el ciclo estral van de 2 a 6 veces a aquellas encontradas en el diestro II (Amenomori, et al, 1970; Ito, et al, 1971).

Cuadro 2. Concentración de prolactina circulante ( ng/ml ) durante el ciclo estral de la rata.

Cepa	Proestro	Diestro II	Autor
Wistar/Furth	120.7 ± 24.7	20 ± 3.4	Ito, et al, 1971
Sprague-Dawley	68.5 ± 7.4	27.6 ± 5	Amenomori, et al, 1970

Los estudios en animales ovariectomizados también apoyan que los estrógenos regulan la secreción de PRL. En estos animales, las concentraciones de PRL circulante disminuyen

significativamente y pueden restablecerse con la administración de estrógenos (Amenomori, et al, 1970; Franks, 1983; Huang, et al, 1976; Ito, et al, 1971). Esto se observa de igual forma en la concentración de ARNm de PRL en la AH ( Polak, et al, 1988 ).

En ratas de mediana edad ( 10 a 12 meses de edad ) la ovariectomía por un periodo prolongado ( por más de 7 meses ) provocó una notable disminución de la secreción de PRL y también redujo la proporción de lactotopos, incluso por debajo de lo encontrado en ratas jóvenes ( 2 a 3 meses de edad ) . Aunque el primer parámetro se revierte con la aplicación de estrógenos, como ya se mencionó, en estas células queda ligeramente suprimida la respuesta al secretagogo TRH y aumentada la sensibilidad a DA. Se observa, que de alguna forma la presencia de los esteroides ováricos durante la vida del animal tiene un efecto marcado sobre la proliferación y la susceptibilidad de los lactotopos (Sortino, et al, 1989).

Otro dato que sugiere que los estrógenos modifican las concentraciones de PRL en sangre de los roedores se observa en los ratones hipogonádicos. Estos ratones carecen de una regulación central como resultado de una mutación que impide la transcripción del gen de la hormona liberadora de gonadotropinas ( GnRH ), por lo que tienen una marcada deficiencia en la síntesis de gonadotropinas ( FSH y LH ) lo que se traduce en hipogonadismo e hipoestrogenismo. Las hembras presentan baja concentración de PRL en AH y en sangre, que se elevan con la administración de estrógenos ( Stanley, Curtis, Sheward, Roberts, & Fink, 1986).

Finalmente, en las ratas macho adultas la concentración de PRL circulante es baja y no sufre fluctuaciones, lo mismo que la concentración de estrógenos en sangre (Amenomori, et al, 1970; Döhler, et al, 1975).

## b ) Ciclo Reproductivo en la Mujer.

En cuanto al comportamiento cíclico de la concentración de PRL en el ciclo reproductivo de la mujer existe poco consenso hasta el momento. Algunos estudios indican poca variación durante el ciclo menstrual mientras que otros reportan concentraciones elevadas de PRL en paralelo a las de LH (ver Franks, 1983), o por lo menos considerablemente más elevadas durante la fase lútea del ciclo (ver Wilson, et al, 1985).

Igualmente se considera dudosa la relación que existe entre la ingesta de estrógenos ( anticonceptivos orales ) y el desarrollo de prolactinomas y de hiperprolactinemia (Davis, Selby, & Jeffcoate, 1984; Friesen, & Vrontakis, 1988; Kannan, 1987). Se ha reportado que las concentraciones de PRL en sangre son similares tanto en mujeres que ingieren estas hormonas como en las que no (Davis, et al, 1984). Sin embargo, hay que tener presente que los métodos que se utilizan para la detección de la PRL no son capaces de detectar todas las variantes que resultan del procesamiento natural de la hormona y que pudieran estar involucradas durante la génesis y/o regulación, no sólo de los tumores adenohipofisarios, sino también de otros tumores como son los de la glándula mamaria (Weiner, et al, 1988).

Algunos estudios sugieren que más que el uso de estas hormonas para el control de la natalidad, es su empleo para corregir trastornos de la menstruación el que implica un riesgo significativo en la génesis del prolactinoma (Shy, McTiernan, Daling, & Weiss, 1983). Por otro lado, es factible pensar que la presencia adicional de estrógenos pudiera causar la expresión de lesiones preexistentes en la adenohipófisis (Sherman, et al, 1978).

Existe, sin embargo, una elevada incidencia de prolactinomas en personas que ingieren estrógenos para corregir su fenotipo sexual (Friesen, et al, 1988; Gooren, Assies, Asscheman, de Slegte, & van Keseel, 1988).

Finalmente, además de existir mecanismos directos por los que los esteroides ováricos regulan el ciclo reproductivo, también hay evidencia de que estas hormonas participan de forma

indirecta alterando el comportamiento de neuronas neurohipofisiotrópicas, como veremos en otro capítulo.

### c ) Gestación

La gestación es una de las situaciones fisiológicas que mejor reflejan la regulación que los estrógenos ejercen sobre la función de los lactotrofos. Es sabido que durante el embarazo el aumento en el tamaño de la adenohipófisis así como en el número de lactotrofos y en la secreción de PRL están correlacionados con el aumento en la concentración de estrógenos en sangre (Friesen, et al, 1988; ver Kannan, 1987; ver Lamberts, et al, 1990; Sherman, et al, 1978). Las concentraciones de estradiol en sangre se elevan progresivamente desde el comienzo del embarazo ( cuarta semana ) y alcanzan valores hasta de 130 ves mayores hacia la semana 38 de gestación. Asimismo, las concentraciones de PRL circulante se elevan 19 veces durante el mismo intervalo (ver Wilson, et al, 1985). Este aumento en los niveles de PRL depende directamente de los estrógenos, puesto que en mujeres con deficiencia de sulfatasa placentaria, que a su vez presentan bajas concentraciones de estrógenos en sangre, existen también concentraciones disminuidas de PRL circulante (ver Franks, 1983). Por otra parte, en mujeres embarazadas, previamente tratadas por un prolactinoma, reaparece nuevamente el tumor (ver Kannan, 1987), lo que indica la alta susceptibilidad de este tejido a la presencia de estrógenos.

Por el contrario, en la rata gestante las concentraciones de PRL en adenohipófisis y en sangre, así como las concentraciones de ARNm de PRL en la AH, están disminuidos durante la mayor parte del tiempo, y se elevan significativamente uno o dos días antes del parto (Amenomori, et al, 1970; Chen, et al, 1970; Ito, et al, 1971; Polak, et al, 1988). Una posible explicación de ello, es que las concentraciones de estrógenos en la sangre venosa del ovario permanecen bajas durante la mayor parte de la gestación y sólo se elevan al final de este periodo, al mismo tiempo que las concentraciones de progesterona decaen, la cual se ha encontrado inhibe la acción estimulante de los estrógenos sobre la liberación de PRL (Amenomori, et al, 1970; Chen, et al, 1970; Ito, et al, 1971).

Una explicación adicional, es que durante el periodo de la gestación se encuentran sumamente elevadas las concentraciones de DA en sangre porta-hipofisiaria ( 20 ng/ml ) pero éstas caen ( 7 ng/ml ) el día del parto ( Ben Jonathan, Oliver, Weiner, Mical & Porter, 1977 ).

#### d) Lactancia.

En los mamíferos, la lactancia constituye la última fase del ciclo reproductivo en la cual la secreción de un compuesto con propiedades nutritivas, la leche, asegura la supervivencia de los neonatos y por lo tanto de la especie (ver Cowie, & Tindal, 1971., Tucker, 1988).

La lactancia se instala y depende de la interacción concertada de diversos mecanismos neuroendócrinos entre los cuales destacan el estímulo neurogénico de la succión y la secreción del complejo hormonal conocido como " complejo galactopoiético " ( ver Clapp, 1984 ). Aunque los componentes del complejo varían de acuerdo con las especies, la PRL es esencial en todas ellas y durante este periodo fisiológico es cuando se detectan más elevadas la síntesis y secreción de PRL (Amenomori, et al, 1970; Polak, et al, 1988; ver Wilson, et al, 1985).

El mecanismo de regulación de la secreción de PRL durante la lactancia ha sido descrito detalladamente (Grosvenor, Maiweg, & Mena, 1970). Se trata de un reflejo neuroendócrino que se inicia con el estímulo neurogénico de la succión y que activa a nivel de la unidad hipotálamo - hipofisiaria la síntesis y secreción de las hormonas del complejo galactopoiético. En particular, para el caso de la PRL, la succión disminuye la liberación de DA a sangre porta-hipofisiaria, lo que genera la secreción masiva de PRL hacia la circulación (Grosvenor, et al, 1970 ). En términos generales, se ha encontrado que el estímulo de la succión genera impulsos nerviosos que convergen en el sistema nervioso central ( SNC ) y terminan por modificar la actividad de las neuronas TIDA. Como consecuencia de ésto, ocurre inmediatamente una disminución transitoria en las concentraciones de DA que alcanzan a la AH, lo que permite una respuesta potenciada de la secreción de PRL en los lactotopos por factores liberadores de PRL, como el TRH



(Martínez de la Escalera, & Weiner, 1988). En otras palabras, es el escape transitorio a la acción dopaminérgica lo que potencia la acción estimuladora de la liberación de PRL por varios secretagogos hipotalámicos (Martínez de la Escalera, et al, 1993).

Como se ha descrito, la PRL ejerce una retroalimentación negativa sobre su propio eje. Así, la hiperprolactinemia que ocurre en la lactancia, estimula la actividad de las neuronas TIDA con lo que aumenta la velocidad de recambio de DA, lo que finalmente se traduce en una considerable inhibición sobre la liberación de PRL (ver Lamberts, et al, 1990).

En el modelo de la lactancia es en donde mejor se ha estudiado la regulación hipotalámica de la secreción de PRL porque permite el control experimental preciso del estímulo, en este caso la succión. Este modelo ha dado pauta a otros estudios en los que se reduce la influencia de la DA sobre los lactotopos con el fin de evaluar mecanismos de regulación a nivel celular como son los de la señalización mediada por segundos mensajeros (Martínez de la Escalera, et al, 1993).

#### e ) Envejecimiento.

A diferencia de lo que ocurre en la lactancia, en el envejecimiento los estrógenos parecen tener una participación importante en las alteraciones de tipo proliferativo y secretor que involucran a los lactotopos. Aunque la aparición del cuadro hiperprolactinéxico y el desarrollo de prolactinomas son patologías que resaltan por el impacto que tienen en la población en edad reproductiva, se ha observado que su incidencia aumenta con el envejecimiento (Furth, et al, 1973; Meites, 1988). Esto es especialmente evidente en la rata (Ito, et al, 1971; Lee, 1972; Lu, et al, 1979; Trouillas, et al, 1982).

En algunos de los casos estas patologías se consideran resultado de posibles defectos en el control dopaminérgico inhibitorio que ejerce el hipotálamo sobre los lactotopos (ver Franks, 1983; Lamberts, et al, 1990; Shy, et al, 1983). En ratas hembra viejas disminuye la síntesis y el contenido de DA en la eminencia media, así como el contenido de DA en el sistema porta-hipofisario, en paralelo al aumento de PRL en sangre (Estes &

Simpkins, 1980., Gudelsky, Nansel & Porter, 1981 a ). Sin embargo, existen otros estudios que refutan lo anterior. Se ha observado que ratas hembra viejas hipersecretoras de PRL aumenta el aporte dopaminérgico sobre la AH y que este aumento no resulta de una reducción del metabolismo de la amina en la glándula ( Demarest, Moore & Riegle, 1985 ).

La mayor incidencia de prolactinomas durante la vejez resulta paradójica, ya que durante esta etapa de la vida las concentraciones de estrógenos se encuentran disminuídas (Huang, et al, 1976). Sin embargo, se piensa que, como resultado de una larga exposición a estas hormonas durante la vida reproductiva del animal puede haber un estado de hipersensibilidad en los lactotropos y que, incluso, pudieron haber tenido lugar efectos acumulativos sobre las células de la AH, entre ellos de tipo mitogénico, que se expresarían posteriormente en la vida del animal (Sortino, et al, 1989). Se ha descrito que la ovariectomía a temprana edad previene la hiperprolactinemia que se observa en ratas de edad avanzada, mostrando de nuevo que la exposición prolongada a los esteroides ováricos durante la vida del animal tiene implicaciones en la expresión de esta patología (Huang, et al, 1976).

### **Modificación Estrogénica de la Regulación Dopaminérgica Sobre los Lactotropos.**

La regulación de la síntesis y secreción de PRL involucra probablemente una interacción compleja entre esteroides ováricos y factores hipotalámicos estimuladores e inhibidores (Heiman, & Ben Jonathan, 1982 a). Los estrógenos son capaces de modificar la influencia dopaminérgica sobre la AH tanto en condiciones fisiológicas como experimentales. Según diversos estudios, los estrógenos pueden estimular o inhibir la influencia dopaminérgica sobre los lactotropos mediante efectos directos o indirectos. Los estrógenos actúan a distintos niveles e involucran desde alteraciones en la velocidad de recambio de la DA en el hipotálamo basal y variaciones en sus concentraciones en sangre portal, hasta alteraciones en los receptores dopaminérgicos en la AH. Sin embargo, en la actualidad, existen datos conflictivos en términos de la magnitud y sentido del cambio inducido por los estrógenos en la regulación dopaminérgica sobre la AH.

Asimismo, existen opiniones discrepantes acerca de si los estrógenos regulan de manera directa o indirecta al sistema dopaminérgico. Los efectos directos sobre las neuronas TIDA pueden explicarse por la presencia de receptores a estrógenos en estas neuronas ( Sar,1984 ). En cambio, los efectos indirectos parecen estar mediados principalmente por los niveles circulantes de PRL que, a su vez, son dependientes de los estrógenos. Como se sabe, la PRL ejerce una retroalimentación negativa sobre su propia síntesis y secreción al estimular la actividad de las neuronas TIDA (Selmanoff, 1985). Así, se ha propuesto que los estrógenos, al elevar las concentraciones de PRL en sangre, aumentan el recambio y la liberación de DA hipotalámica ( Gudelsky, Nansel, & Porter, 1981 b). Sin embargo, existe una postura contraria que plantea que la hiperprolactinemia provoca una desensibilización de las neuronas TIDA. Así, se sugiere que los estrógenos, al elevar permanentemente las concentraciones de PRL circulante, inhiben

indirectamente el sistema dopaminérgico hipotalámico ( Smythe, & Brandstater, 1980., Simpkins, & Gabriel, 1984 ).

#### a ) Exposición Aguda a Estrógenos y Sistema Dopaminérgico Hipotalámico.

Son más las comunicaciones que muestran que periodos cortos de estrogenización - menos de 1 semana - provocan una disminución en la síntesis y liberación de DA por el hipotálamo.

Se sabe que las concentraciones de DA en la sangre porta-hipofisaria varían a lo largo del ciclo estral de la rata. El aumento de secreción de PRL en la tarde del proestro se acompaña de una disminución en la concentración de DA en sangre portal ( baja de 3.8 ng/ml en el estro a aproximadamente 1 ng/ml en el proestro ) ( Ben Jonathan, et al, 1977 ). Cramer y cols., 1979 a, han sugerido que esta disminución de DA en la sangre portal en la tarde del proestro es el resultado de la acción estrogénica que precede al aumento de secreción de PRL en dicho periodo. Esto lo apoyan con la observación de que una inyección de 17- $\beta$  estradiol en ratas hembra ovariectomizadas disminuye, 24 horas después, la concentración de DA a valores semejantes a los encontrados en la tarde del proestro. Además, los estrógenos son capaces de reducir la sensibilidad de los lactotropos a la DA durante el ciclo estral, pues las adenohipófisis de ratas sacrificadas en la mañana del proestro - cuando las concentraciones de estrógenos se encuentran más elevadas - secretan más PRL en presencia de DA que las glándulas de ratas en las demás fases del ciclo ( Brandi, Joannidis, Peillon, & Joubert, 1990 ).

Por otro lado, la administración de diferentes tipos de estrógenos por periodos cortos ( 2 ó 3 ) días en ratas hembra, disminuye la síntesis de DA en la eminencia media del hipotálamo ( medida como la acumulación del precursor DOPA - 3,4-dihidroxifenilalanina ) ( Wise, Rance & Barraclough, 1981; Lofstrom, Eneroth, Gustafsson, & Skett, 1977 ). Sin embargo, en forma contradictoria, otros estudios reportan que tratamientos estrogénicos cortos ( 3 - 6 días ) aumentan la actividad de las neuronas TIDA, medida como la síntesis ( Demarest, & Moore,

1980; Demarest, Riegle, & Moore, 1984 ) y recambio de DA en la eminencia media ( Wiesel, Fuxe, Hokfelt, Agnati, 1978 ).

Los estrógenos pueden reducir la influencia inhibitoria de la DA sobre los lactotropos no sólo al disminuir la cantidad de la neurohormona que llega a la AH, sino también al aumentar la influencia de factores estimuladores o secretagogos de PRL. Así, una sola dosis de estradiol es capaz, a los 3 días, de disminuir en un 50 % la concentración de DA en sangre portal y aumentar la concentración de TRH hasta en un 240 % ( de Greef, Klootwijk, Karels, & Visser, 1985). Además, se sabe que los estrógenos inducen un aumento en el número de receptores a TRH en los lactotropos ( Sortino, et al, 1989 ).

En células adenohipofisarias cultivadas los estrógenos son capaces también de antagonizar casi por completo los efectos inhibitorios de la DA sobre la síntesis ( Maurer, 1982 b ) y secreción de PRL ( Raymond, Beaulieu, & Labrie, 1978., Nansel, Gudelsky, Raymond, & Porter, 1981 ).

#### b ) Exposición Crónica a Estrógenos y Sistema Dopaminérgico Hipotalámico.

Como se ha mencionado, aun no se conoce con certeza cuáles son los efectos y cómo actúan los estrógenos a largo plazo sobre el sistema dopaminérgico. Algunos autores proponen que la exposición crónica a estrógenos provoca, en forma directa, una inhibición marcada de la actividad de las neuronas TIDA ( Arita, & Kimura, 1987., Arita, Kojima, & Kimura, 1989., Demarest, et al, 1984 ). Sin embargo, otros autores consideran que los estrógenos afectan el funcionamiento de las neuronas TIDA de manera indirecta mediante la hiperprolactinemia que ellos mismos provocan. Además y según los autores, se considera que estos efectos mediados por PRL pueden estimular ( Gudelsky, et al, 1981 b ) o inhibir la actividad de las neuronas TIDA ( Smythe, et al, 1980 ).

### Efectos Directos.

Los estudios que sugieren que los estrógenos tienen efectos directos de tipo inhibitorio sobre las neuronas TIDA plantean que se requiere la presencia sostenida del estímulo estrogénico para mantener inhibida la actividad dopaminérgica, y que al suspender dicho estímulo la actividad neuronal se recupera. Esto se basa en la observación de que una única dosis de estradiol en ratas Wistar aumenta - a las 3 semanas - la concentración de PRL en sangre a la vez que disminuye la síntesis de DA en la eminencia media y su liberación al medio. Sin embargo, una vez diluido el efecto estrogénico - lo cual consideran a las 12 semanas de iniciado el tratamiento - los valores en los parámetros anteriores se invierten ( Arita, et al, 1987., Arital, et al, 1989 ). Para explicar este hecho, se propone que los estrógenos median estos efectos de manera directa y superan la acción facilitadora que tiene la PRL sobre la síntesis de DA porque en ratas hipofisectomizadas, el tratamiento estrogénico produce la misma inhibición sobre el sistema dopaminérgico. En otro estudio se observó que el tratamiento estrogénico hasta por 12 y 18 días - mediante implantes - mantiene baja la concentración de DOPA en la eminencia media a pesar de las altas concentraciones de PRL circulante, con lo que sugieren que el estrógeno disminuye la capacidad de las neuronas TIDA para responder a la PRL. Basan su hipótesis en que el tratamiento crónico con el antagonista dopaminérgico haloperidol eleva marcadamente la concentración de PRL circulante al igual que la concentración de DOPA en la eminencia media, sugiriendo que no es la presencia continua de PRL la que desensibiliza a las neuronas TIDA ( Demarest, et al, 1984 ).

En la literatura, existen otros estudios que muestran que el tratamiento estrogénico a largo plazo tiene también un efecto inhibitorio sobre el sistema dopaminérgico, sin embargo no se aclara si este efecto es directo o indirecto. Por ejemplo, en un estudio se encontró que el tratamiento estrogénico por 4 semanas a ratas Fischer 344 disminuyó de manera permanente la actividad de las neuronas TIDA - medida como acumulación de [ <sup>3</sup> H ] DA en la eminencia media -, ya que aun despues de la suspensión de dicho tratamiento, la actividad neuronal se mantuvo baja

( Gottschall, Sarkar, & Meites, 1986 ). Por otra parte se propone que en ratas con tumores adenohipofisarios - inducidos por estrógenos al cabo de 6 meses de tratamiento - se presenta un defecto en los mecanismos de producción de la DA, ya que se almacena poca DA en la eminencia media, y la hiperprolactinemia persiste aun con el uso de agentes que liberan DA de sus almacenes neuronales ( con nomifensina ). Además, el uso del antagonista de la DA domperidona eleva las concentraciones de PRL en sangre a pesar de que la Bromocriptina sí las disminuye ( Casanueva, Cocchi, Locatelli, Flauto, Zambotti, Bestetti, Rossi, & Muller, 1982 ).

### Efectos Indirectos.

Los estudios que sugieren que los estrógenos afectan de manera indirecta a las neuronas TIDA plantean dos posturas opuestas : una que considera que el efecto estrogénico mediante la hiperprolactinemia estimula la actividad de las neuronas TIDA; y la otra que postula una inhibición en dicha actividad.

El papel indirecto de los estrógenos estimulando la actividad dopaminérgica a largo plazo se ha documentado principalmente en dos estudios. La administración de estrógenos aumenta 2.5 veces la concentración de DA en sangre porta - hipofisaria y disminuye la cantidad de DA asociada a gránulos de PRL en la AH de ratas ( Gudelsky, et al, 1981 b). Un resultado semejante se obtiene al inyectar PRL intracerebroventricularmente a ratas ( Gudelsky, & Porter, 1980 ). En este mismo contexto, existen numerosos estudios que apoyan la noción de que la hiperprolactinemia secundaria a el transplante de tumores hipersecretorcs de PRL o de adenohipófisis a sitios ectópicos; o bien por la administración de la hormona o de antagonistas dopaminérgicos, estimula la actividad de las neuronas TIDA tanto a corto como a largo plazo ( Cramer, Parker, & Porter, 1979 b; Gudelsky, et al, 1980., Selmanoff, 1985., Gonzalez, & Porter, 1988 ). Igualmente, existen estudios que muestran que la hipoprolactinemia secundaria a la hipofisectomía o al tratamiento con Bromocriptina, disminuye la actividad de las neuronas TIDA ( Demarest, K., Riegler, G. D., & Moore, K. E., 1985 ). Esto contrasta con la proposición de otros

autores acerca de que los estrógenos tienen un efecto directo o indirecto de tipo inhibitorio y a largo plazo sobre las neuronas TIDA. Quizas, sería interesante diseccionar hasta qué punto el efecto estimulador de la hiperprolactinemia sobre el sistema dopaminérgico se sobrepone al efecto directo inhibitorio que se ha descrito tienen los estrógenos a largo plazo sobre dicho sistema.

Los trabajos que plantean una participación indirecta de los estrógenos de tipo inhibitorio sobre la actividad de las neuronas TIDA se basan en que en ratas tratadas por 4 semanas, el estrógeno disminuye en un 50 % la concentración de DA en el hipotálamo medio basal. Este efecto es bloqueado por la hipofisectomía o por la administración de Bromocriptina, lo que sugiere que la hiperprolactinemia media dicha respuesta ( Smythe, et al,1980 ).

c ) Efectos de los Estrógenos sobre los Receptores Dopaminérgicos en los Lactotropos.

Existen varios estudios que sugieren que los estrógenos regulan directamente el número y función de los receptores a DA en la AH. La mayoría de ellos coinciden en que el estímulo estrogénico disminuye el número de receptores sin modificar su afinidad, mientras que otros muestran una alteración en el acoplamiento del receptor respecto a su sistema de transducción.

Se han encontrado variaciones en el número de receptores a DA en la AH durante el ciclo estral de la rata. En la actualidad no está claro el papel que pudieran tener los estrógenos y, nuevamente, en la literatura encontramos dos posturas opuestas. El hallazgo de que el número de receptores adenohipofisarios a DA aumenta en la tarde del proestro ha llevado a proponer que la disminución de DA al igual que la de otros ligandos ( insulina, adrenalina ) induce la expresión de sus propios receptores ( Heiman, et al, 1982 a ). Otro estudio, sin embargo, ha observado que el número de receptores disminuye en la tarde del proestro. Ya que esta disminución ocurre después de que los estrógenos alcanzan su concentración más elevada en la circulación, se piensa que parte del efecto desensibilizador que los estrógenos tienen



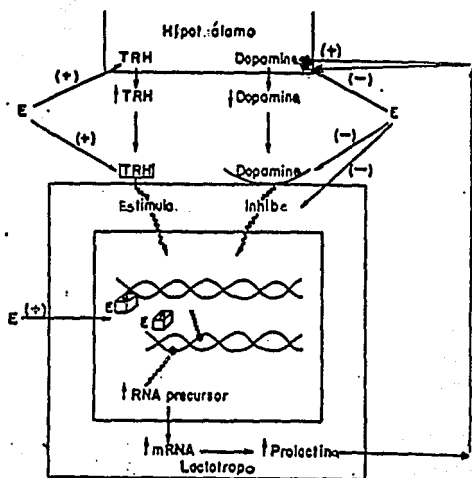
sobre el sistema dopaminérgico en los lactotrofos se expresa también en una disminución del número de receptores a DA ( Pasqualini, Lenoir, El Abed, & Kerdelhué, 1984 ).

Aunque existen algunos reportes negativos ( Cronin, Cheung, Beach, Faure, Goldsmith, & Wainer, 1980., Pilotte, Burt, & Barraclough, 1984 ), lo que está mejor documentado es que el tratamiento estrogénico tanto *in vivo* como *in vitro* disminuye el número de sitios de unión a DA en la AH. La administración de estradiol a ratas por 5 días así lo hace ( Heiman & Ben Jonathan, 1982 b ). Algunos estudios reportan 2 sitios de unión a DA, uno de alta y otro de baja afinidad. Los sitios de baja afinidad, que se encontró median la mayor inhibición sobre los lactotrofos, desaparecen después de 1 mes de tratamiento estrogénico o de 2 horas de periferfusión con el esteroide en adenohipófisis de ratas intactas ( Bression, Brandi, Pagesy, Le Dafniet, Martinet, Brailly, Michard, & Peillon, 1985 ). En un estudio reciente en cultivos primarios de células de la AH de ratas lactantes tratadas por 5 días con estradiol se observó disminución en el número de receptores dopaminérgicos de dos subtipos - D2/415 y D2/444 - sin que se modificara la proporción de uno y otro ( Kukstas, Domec, Bascles, Bonnet, Verrier, Israel, & Vincent, 1991 ).

Además de los efectos mencionados, se ha sugerido que los estrógenos son capaces de atenuar el acoplamiento funcional del receptor dopaminérgico con su sistema efector en el lactotrofo, ya que dichos receptores dopaminérgicos se mantienen en baja afinidad y se bloquea parcialmente el efecto inhibitorio que la DA tiene sobre la acción estimulante de VIP con la administración de dietilestilbestrol ( DES ) a ratas por 6 semanas ( Munemura, Agui, & Sibley, 1989 ).

Toda la información revisada hasta aquí revela que la regulación funcional de los lactotrofos es sumamente compleja, ya que intervienen distintos sistemas hormonales que a la vez interactúan entre sí modificando su influencia respectiva. Así, los estrógenos son capaces de estimular o inhibir, tanto en forma directa como indirecta, la influencia que la DA tiene sobre los lactotrofos. Por el momento, no sabemos hasta qué punto lo anterior pueda contribuir al origen o mantenimiento de los prolactinomas. En el esquema 2 se intenta resumir la modulación

tanto directa como indirecta que los estrógenos tienen sobre dos sistemas hipotalámicos que regulan la actividad de los lactotropos : uno inhibidor - mediado por la DA - y otro activador - mediado por TRH.



**Esquema 2.** Se ilustra la regulación directa e indirecta de los estrógenos (E) sobre la producción de prolactina ( PRL ) en los lactotrofos. La regulación directa está mediada por receptores nucleares ( R ) que inducen la expresión del gen de PRL. La regulación indirecta involucra el efecto inhibitor (-) o estimulador (+) de los estrógenos sobre el sistema dopaminérgico así como el efecto estimulador de la acción de la tiroliberina ( TRH ) sobre los lactotrofos ( modificado de Shull & Gorsky, 1986 ).

## Características del Prolactinoma Inducido por Estrógenos en la Rata

### a) Características Morfofuncionales.

Por sus similitudes histológicas y funcionales con los prolactinomas en el humano, los tumores espontáneos hipersecretorios de PRL de ratas viejas son un modelo de estudio adecuado y útil para ayudar a comprender la etiopatogenia de esta neoplasia (Trouillas, et al, 1982). Sin embargo, el estudio del modelo animal difícilmente podrá arrojar alguna luz sobre la etiología de los prolactinomas en ambas especies, ya que nos enfrentamos a un fenómeno espontáneo en el que es difícil controlar el estímulo tumorigénico y en el que se desconoce cuáles animales presentan la patología. Además, ni siquiera se podría monitorear el crecimiento tumoral y, si este fuera el caso, consumiría mucho tiempo.

Por otra parte, está comprobado que la administración de estrógenos en ratas provoca el desarrollo de prolactinomas que muestran similitudes morfológicas y funcionales con los prolactinomas humanos (Ito, 1976; ver Kannan, 1987), además de acompañarse, en algunos de los casos, del desarrollo de tumores mamarios y/o de trastornos en la lactancia (Clifton, & Furth, 1961; Friesen, et al, 1988; Stone, et al, 1979). Este hecho permite disponer de un modelo útil porque el fenómeno es altamente repetitivo, tiene una rápida evolución, y se puede manipular a conveniencia controlando múltiples variables.

Así pues, numerosos estudios coinciden en que el tratamiento agudo o crónico con estrógenos en ratas hembra y macho aumenta el metabolismo general, el tamaño y el peso de la AH, e induce hipertrofia e hiperplasia de los lactotropos; así como un aumento de la transcripción, síntesis y secreción de PRL (De Nicola, et al, 1978; Furth, et al, 1973; Gersten, et al, 1970; Gottschall, et al, 1986; Holtzman, et al, 1979; Kannan, 1987; Lloyd, 1983; Nakagawa, et al, 1980; Stone, et al, 1979; Wiklund, et al, 1982; Wiklund, et al, 1981). Igualmente, se ha comprobado que la suspensión del estímulo estrogénico provoca la involución tumoral

de la glándula y la reversión de todos los parámetros anteriormente señalados (Gottschall, et al, 1986; Wiklund, et al, 1982; Wiklund, et al, 1981).

En la mayoría de los casos, estos tumores se muestran hemorrágicos y cuando son muy grandes llegan a ser invasivos (Furth, et al, 1973; Kovacs, et al, 1980). Con la ayuda del microscopio electrónico y con técnicas de inmunohistoquímica se ha observado que estos tumores, antes catalogados como cromóforos, en realidad en su mayoría constan de células productoras de PRL (De Nicola, et al, 1978). Existe marcada hipertrofia e hiperplasia celular, con un contenido moderado de figuras mitóticas (Clifton, et al, 1956; De Nicola, et al, 1978; Gersten, et al, 1970; Lloyd, 1983). La mayoría de las células presentan núcleo grande y nucleolo bien definido, retículo endoplásmico rugoso y un aparato de Golgi muy hipertrofiados que ocupan la mayor parte del volumen celular. El número de gránulos secretorios varía de moderado a reducido, y son de forma irregular pero de gran tamaño lo que sugiere una acelerada actividad secretoria (Clifton, et al, 1956; De Nicola, et al, 1978; Lloyd, 1983). Como se observa, estas características son semejantes a las halladas en prolactinomas espontáneos en el hombre y en la rata (Kaplan, et al, 1976; Kovacs, et al, 1980; Trouillas, et al, 1982).

Hasta la fecha, no existe consenso acerca del tipo de crecimiento observado en la AH de ratas tratadas con estrógenos. De acuerdo al término arbitrario utilizado por Clifton y Meyer (1956), la gran mayoría de los autores (Clifton, et al, 1956; De Nicola, et al, 1978; Furth, et al, 1973; Holtzman, et al, 1979; Kaplan, et al, 1976; Nakagawa, et al, 1980; Stone, et al, 1979; Wiklund, et al, 1982; Wiklund, et al, 1981; Yamamoto, et al, 1986) lo consideran un crecimiento de tipo tumoral. Otros autores (ver Willis, 1948) opinan que un tipo de crecimiento hiperplásico como éste no debe ser llamado "tumor" porque cesa en cuanto se retira el estímulo que lo produjo. Si bien esto último es cierto, hay que mencionar que este tipo de proliferación celular puede dar lugar a verdaderos tumores autónomos, cuyo trasplante sucesivo permite, finalmente, el crecimiento de dicho tejido en un ambiente hormonal normal e incluso en uno carente de esteroides ováricos

como es el caso de ratas gonadectomizadas. Aún así, algunos de estos tumores retienen su respuesta a los estrógenos (Clifton, et al, 1961).

Así, y no obstante que hasta la fecha no existe un criterio morfológico para diferenciar un crecimiento hiperplásico de uno tumoral, en esta tesis y con fines prácticos, nos referiremos a esta patología como un prolactinoma o tumor de los lactotropos.

Es una observación común el que el peso corporal de ratas sometidas al tratamiento estrogénico aumenta en menor proporción que el de ratas intactas (Lloyd, 1982., Stone, et al, 1979., Wiklund, et al, 1981., Nakagawa, et al, 1980 ).

Puesto que la PRL y la GH son hormonas de una misma familia ( Miller, & Eberhardt, 1983 ), existe la inquietud de si los estrógenos regulan también el funcionamiento de los somatotropos. La administración de estrógenos a ratas provoca en la AH una ligera reducción en el número de somatotropos y de otros tipos celulares ( De Nicola, et al, 1978., Lloyd, 1983 ) pero tiene poco o ningún efecto sobre la transcripción del gen de la hormona de crecimiento (Shull, et al, 1986), sobre la síntesis de esta hormona (Kaplan, et al, 1976., Wiklund, et al, 1981., Maurer, et al, 1977) y sobre el contenido de ésta en la glándula y en la circulación (Nakagawa, et al, 1980).

#### b) Sensibilidad Variable a los Estrógenos entre las Ratas de Diversas Cepas.

A pesar de que el desarrollo de prolactinomas en ratas tratadas con estrógenos es un fenómeno ampliamente conocido, es importante destacar que los mecanismos de disparo y/o control de la hiperplasia de los lactotropos exhiben una amplia variabilidad ya que la sensibilidad a los estrógenos es dramáticamente distinta según la cepa de rata (Furth, et al, 1973; Holtzman, et al, 1979; Kannan, 1987; Sherman, et al, 1978; Wiklund, et al, 1981).

Hay que aclarar que resulta sumamente confuso interpretar y comparar la información acerca de los efectos estrogénicos en la AH de las ratas de distintas cepas e incluso en la AH de las ratas pertenecientes a una misma cepa ya que los datos difieren

discretamente según los distintos laboratorios debido al tipo de agente estrogénico empleado, a las dosis, forma de administración así como al tipo de vehículo con el que se aplica el estrógeno, a los distintos periodos de exposición al esteroide, a los parámetros que se miden y, por su puesto, a las variaciones genéticas que existen entre las ratas de distintas cepas.

En términos generales, se ha encontrado que las ratas de la cepa Fischer 344 son las más sensibles al efecto estrogénico por lo que la AH adquiere un gran tamaño ( 10 veces respecto a los testigo ) rápidamente ( 7 semanas ) además de que se producen y secretan enormes cantidades de PRL ( hasta 100 veces más que los testigo ) (Ver cuadro 3).

Si bien hay estudios que consideran que las ratas de la cepa Wistar presentan el mismo tipo de respuesta que la observada en las ratas Fischer 344 (Lloyd, 1983), hay que mencionar que lo encontrado en la literatura ( ver cuadro 4 ) revela más variaciones al respecto (Lloyd, et al, 1988; Lloyd, Colman, Fields, & Nath, 1987; Nakagawa, et al, 1980; Niwa, Minase, Hashi, & Mori, 1987; Osamura, & Watanabe, 1986). En general, se observa que las ratas Wistar presentan una respuesta menor a los estrógenos que las ratas Fischer 344 ya que a pesar de una larga exposición a estas hormonas ( 9 - 24 semanas ) el crecimiento de su AH es menor ( 4 - 6 veces respecto a los testigo ) y la producción de la PRL no es tan marcada ( de 8.3 a 50 veces más que los testigo ). Las ratas de la cepa ACI presentan una respuesta semejante a la de las ratas Wistar (cuadro 5).

En el otro extremo de la gama de sensibilidad a los estrógenos, las ratas de la cepa Sprague-Dawley presentan una respuesta pobre a estas hormonas por lo que el crecimiento de su AH es pequeño o incluso nulo ( 0 - 2 veces mayor al de los testigo) y se produce poca PRL independientemente del periodo de exposición al esteroide ( 1- 30 semanas ) ( Ver cuadro 6 ).

Finalmente, los estrógenos producen efectos disociables en las ratas de la cepa Holtzman ya que se estimula inmediata y marcadamente la producción de PRL ( 8 semanas ) mientras que se requiere de un tratamiento prolongado ( 45 semanas ) antes de poder observar crecimiento alguno de la AH ( Ver cuadro 7 ).

Cuadro 3. Variación en las respuestas de la adenohipofisis de las ratas Fischer 344 ante el tratamiento estrogénico.

TRATAMIENTO				ADENOHIPOFISIS					PRL SANGRE*	CITA
AGENTE/VIA	TIEMPO semanas	DOSIS	PESO *	LACTO- POS *	ADN *	PROTEINAS TOTALES*	PRL *			
E 2/Implante	4		5		5 contenido			65	1	
DES/Implante	7		10		2 síntesis			65 - 100	2	
"	"		10			10 síntesis			3	
"	8	A1 menos 2,5 mg	10		10 contenido		7 síntesis		4	
"	"	"			2 síntesis				5	
"	12		10	2.3				80	6	

\* Aumento en veces respecto al grupo testigo.

PRL=prolactina; ADN=ácido desoxirribonucleico; DES=diétilstilbestrol; E 2=17 $\beta$ -estradiol  
 1 ) Gottschall, et al, 1986; 2 ) De Nicola, et al, 1978; 3 ) Kaplan, et al, 1976; 4 ) Wiklund, et al, 1981;  
 5 ) Wiklund, et al, 1982; 6 ) Lloyd, 1983.



Cuadro 4. Variación en las respuestas de la adenohipofisis de ratas Wistar ante el tratamiento estrogénico.

TRATAMIENTO			ADENOHIPOFISIS			PRL SANGRE <sup>±</sup>	CITA
AGENTE/VIA	TIEMPO semanas	DOSIS	PESO *	LACTOTRO-POS *	PRL *		
DES/Implante	3		2				1
"	9		6	2			2
E 2/Implante	10	40 mg	4			24	3
dipropionato E2/inyecciones	24	5 mg/4 semanas	4			8.3	4
"	16	5 mg/2 semanas	6			50	5
valerato E2/inyecciones	7 semanas después del tratamiento	2 mg/3.5 semanas /21semanas	21		9.3 contenido	30	6

\* Aumento en veces respecto al grupo testigo.

PRL=prolactina; DES=diétiestilbestrol; E 2=17 $\beta$ -estradiol  
 1 ) Lloyd, et al, 1988; 2 ) Lloyd, et al, 1987; 3 ) Yamamoto, et al, 1986; 4 ) Osamura, et al, 1986; 5 ) Niwa, et al, 1987; 6 ) Nakagawa, et al, 1980.

Cuadro 5. Variación en las respuestas de la adenohipófisis de las ratas ACI ante el tratamiento estrogénico.

TRATAMIENTO			ADENOHI POFISIS	PRL SANGRE*	CITA
AGENTE/VIA	TIEMPO semanas	DOSIS	PESO *		
DES/Implante	4	5 mg	0.5	39	1
"	8	"	2	16	1
"	30	"	5	15	1

\* Aumento en veces respecto al grupo testigo.

PRL=prolactina; DES=diétiléstilbestrol

1) Holtzman, et al, 1979.

Cuadro 6. Variación en las respuestas de la adenohipófisis de las ratas Sprague-Dawley ante el tratamiento estrogénico.

TRATAMIENTO			ADENOHIPOFISIS			PRL SANGRE*	CITA
AGENTE/VIA	TIEMPO	DOSIS	PESO *	ADN *	PRL *		
E 2/implante	9 semanas		2			28	1
DES/implante	30 semanas	5 mg	0			3.6	2
DDES / Inyección	3 días	10 mg / 1 dosis		4 síntesis			3
"	6 días	12 mg / 1 dosis		2 # mitosis			4
benzoato E 2 / Inyecciones	6 días	1 µg / 1 día	0.5		3 contenido	10	5

\* Aumento en veces respecto al grupo testigo.

PRL=prolactina; DES=dietilstilbestrol; DDES= dipropionato de DES; E 2=17β-estradiol  
1 ) Weiner, et al, 1985; 2 ) Holtzman, et al, 1979; 3 ) Jacobi, Lloyd, & Meares, 1977;4 ) Lloyd, et al, 1975; 5 ) Chen, et al, 1970

Cuadro 7. Variación en las respuestas de la adenohipofisis de las ratas Holtzman ante el tratamiento estrogénico.

TRATAMIENTO			ADENOHIPOFISIS			CITA
AGENTE/VIA	TIEMPO	DOSIS	PESO	ADN	PRL	
DES/Implante	8 semanas	Al menos 2.5 mg	0	0	7	1
DES/Implante	45 semanas		10	contenido	sfntesis	2

\* Aumento en veces respecto al grupo testigo.  
 PRL=prolactina; ADN=ácido desoxirribonucleico; DES=diétilstilbestrol.  
 1 ) Wiklund, et al, 1981; 2 ) Clifton, et al, 1956.

Con el fin de conocer los mecanismos por los cuales los estrógenos inducen la gran variedad de respuestas de crecimiento tumoral de la AH en las ratas de diversas cepas es que en un estudio inicial caracterizamos el fenómeno de inducción tumoral de la AH por el tratamiento estrogénico en las ratas de dos cepas, la Wistar y la Sprague-Dawley, ubicadas en los extremos opuestos de la gama de sensibilidad a los estrógenos - lo que permite hacer comparaciones - y a las que tenemos acceso en el Centro de Neurobiología de la UNAM.

Así, el tratamiento estrogénico mediante implantes de silastic conteniendo 17  $\beta$ -estradiol, indujo el crecimiento de la AH en las ratas hembra Wistar y no así en las Sprague-Dawley. Específicamente, el estímulo estrogénico provocó un aumento progresivo del peso de la AH de las ratas Wistar que alcanzó una estabilización a las 4 semanas de tratamiento. Dicho aumento fue del doble respecto a los valores del grupo de ratas ovariectomizadas. Otro parámetro de crecimiento, como es el contenido de proteína total en la AH, siguió un comportamiento paralelo al del peso de la glándula, mientras que el contenido de ADN total en la AH fue semejante pero de la mitad de magnitud. Asimismo, las concentraciones de PRL circulante de ratas Wistar aumentaron progresivamente hasta alcanzar un máximo a las 4 semanas de tratamiento estrogénico, en donde fueron aproximadamente 100 veces superiores a los valores de los grupos testigo. Dichas concentraciones mostraron una disminución posterior - a las 9 semanas. Por otra parte, la suspensión abrupta del estímulo estrogénico por la desimplantación de los animales provocó la reversión de todos los parámetros inducidos por el estrógeno.

Como se ve, el empleo de las ratas Sprague-Dawley del Centro de Neurobiología en el estudio de los mecanismos por los cuales los estrógenos inducen el prolactinoma resulta inconveniente, ya que la manipulación experimental en estas ratas aporta poca información debido a la pobre respuesta de su sistema adenohipofisario. En cambio, el estímulo estrogénico tuvo efectos notorios en la AH de las ratas Wistar; es por ésto, que en el presente trabajo se eligió a la cepa Wistar como el animal de estudio.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como se puede ver de lo expuesto, existe una gran rogenidad en las respuestas de crecimiento y funcionamiento tejido adenohipofisario al estímulo estrógeno.

Parte de la regulación estrogénica en el crecimiento tumoral la AH puede explicarse por los efectos directos que estas onas tienen sobre los lactotrofos como lo muestran diversos dios realizados en células dispersas de la AH, en los que se rva una estimulación de la síntesis y contenido de ADN, de m a PRL, de la secreción de PRL en los lactotrofos, así como aumento en el número de estas células ( Lloyd, 1983; erman, et al, 1982; West, et al, 1980 ). Además, los lactotrofos antan receptores a estrógenos, los cuales se ha determinado an la transcripción del gen de PRL al unirse al " elemento de uesta a estrógenos ", localizado en la región regulatoria del e PRL a más de 1 kpb del sitio de inicio de la transcripción gen ( Seyfred, & Gorsky, 1990 ). Respecto a los mecanismos

los que los estrógenos inducen la proliferación de los otrofos aun no se conoce nada. Sin embargo, estudios en rsos tejidos ( endometrio, glándula mamaria ) muestran que s hormonas tienen la capacidad de inducir la expresión de es cuyos productos participan activamente en la diferenciación roliferación celular como son los proto-oncogenes " fos " y n " ( Weisz, Cicatiello, Persico, Scalona, & Bresciani, 1990; enberg, & Ziff, 1984 ). La expresión alterada de estos y otros to-oncogenes se correlaciona positivamente con la generación diversos cánceres ( Weber, & McClure, 1987 ).

Por otra parte, existe fuerte evidencia de que los estrógenos ran la influencia dopaminérgica hipotalámica que se ejerce re los lactotrofos. Muchos estudios muestran que en la rata amientos prolongados con los estrógenos inhiben, directa o irectamente, la influencia dopaminérgica hipotalámica sobre los otrofos ( Arita, et al, 1987., Arita, et al, 1989, Demarest, et al, S, Gottschall, et al, 1986; Casanueva, et al, 19882; Smythe, et 1980 ). También se reporta que la hiperprolactinemia, undaria o no al tratamiento estrogénico, aumenta la actividad

de las neuronas TIDA ( Gudelsky, et al, 1980; Cramer, et al, 1979 b; Selmanoff, 1985; Gonzalez, et al, 1988 ).

## HIPOTESIS

Por lo anterior, es que pensamos que una participación dopaminérgica hipotalámica, modulada por los estrógenos, puede explicar en parte el particular tipo de crecimiento adenohipofisiario observado en las ratas Wistar del Centro de Neurobiología inducido por el tratamiento estrogénico.

Específicamente, pensamos que en las ratas Wistar, la hiperprolactinemia secundaria al tratamiento estrogénico puede aumentar la actividad de las neuronas TIDA. Este aumento en la influencia inhibitoria dopaminérgica sobre los lactotrofos bien podría explicar el por qué una vez inducido el crecimiento de la AH por los estrógenos éste se estabiliza en un momento dado. De ser esto último el caso, esperamos que en las ratas Wistar estrogenizadas, el bloqueo de la influencia inhibitoria dopaminérgica con un antagonista a DA provoque un crecimiento progresivo de la AH en vez de una estabilización. Asimismo, esperamos que el bloqueo de la acción dopaminérgica con un antagonista a DA retarde la involución del tamaño de la AH que se consigue con la suspensión del tratamiento estrogénico. Además, en las ratas Wistar estrogenizadas, el reforzamiento de la acción inhibitoria dopaminérgica con un agonista a DA nos permitirá evaluar la capacidad de respuesta de los lactotrofos al estímulo inhibitorio de la DA endógena.

## OBJETIVO

Así, el objetivo del presente trabajo fue analizar la participación dopaminérgica hipotalámica en los efectos neoplásicos producidos por el 17  $\beta$ - estradiol en la adenohipófisis de la rata Wistar.

## PROCEDIMIENTOS

Con este propósito, analizamos el efecto del bloqueo o del reforzamiento de la influencia dopaminérgica, mediante el empleo del antagonista dopaminérgico Trifluoperazina o del agonista dopaminérgico Bromocriptina, sobre el parámetro de crecimiento y 2 de funcionamiento de la AH que fueron el peso de la AH así como la concentración de PRL en la AH y en la sangre. Esto se hizo en dos grupos experimentales. En el grupo A, sobre la inducción del crecimiento tumoral adenohipofisario, que consistió en estimular la proliferación de los lactotopos así como la síntesis y secreción de PRL mediante la implantación de los animales con cápsulas que contienen 17  $\beta$ -estradiol durante dos fases : una temprana ( hasta los 14 - 20 días de tratamiento ), cuando la AH de ratas Wistar presenta un crecimiento progresivo ante el estrógeno; y una tardía ( hasta los 30 - 36 días de tratamiento ), cuando el crecimiento de la AH de las ratas Wistar se ha estabilizado. En el grupo B, analizamos la respuesta a estos fármacos durante la regresión del funcionamiento adenohipofisario, que consistió en la involución de los parámetros inducidos por los estrógenos ocasionada por la desimplantación de los animales durante 6 días después de 30 días de estrogenización.

### Diseños Experimentales

#### GRUPO A

Los grupos testigo incluyeron a animales intactos, a animales a los que se privó permanentemente de estrógenos al ser ovariectomizados ( OVX ), y a animales OVX a los que se les estimuló la función adenohipofisaria con la estrogenización ( E2 ) hasta por 14 - 20 días y hasta por 30 - 36 días. Todos los grupos estuvieron integrados por 5 individuos cada uno.



A.1 ) Ratas exclusivamente ovariectomizadas.

- a ) OVX por 14 días
- b ) OVX por 14 + 4 días
- c ) OVX por 14 + 6 días
  
- d ) OVX por 30 días
- e ) OVX por 30 + 2 días
- f ) OVX por 30 + 4 días
- g ) OVX por 30 + 6 días

A.2 ) Inducción del prolactinoma por el tratamiento estrogénico.

- a ) OVX + E2 por 14 días
- b ) OVX + E2 por 14 + 4 días
- c ) OVX + E2 por 14 + 6 días
  
- d ) OVX + E2 por 30 días
- e ) OVX + E2 por 30 + 2 días
- f ) OVX + E2 por 30 + 4 días
- g ) OVX + E2 por 30 + 6 días

Los grupos de animales tratados con antagonistas o agonistas dopaminérgicos incluyeron a ratas a las que se bloqueó la influencia del sistema dopaminérgico con la administración de Trifluoperazina ( 0.3 mg/100 g peso corporal/día vía ip. ) durante las fases temprana ( 14 - 20 días ) y tardía ( 30 - 36 días ) de tratamiento estrogénico; y por otro, a ratas a las que se reforzó la influencia del sistema dopaminérgico con la administración de Bromocriptina ( 0.3 mg/100 g peso corporal/día vía sc. ) durante las fases mencionadas. En ambos casos se siguieron los mismos esquemas temporales que en A.1 y A.2.

**A.3 ) Aplicación de Trifluoperazina ( TFP ) después de la inducción del prolactinoma por el tratamiento estrogénico.**

- a ) OVX + E2 por 14 días y luego TFP por 4 días
- b ) OVX + E2 por 14 días y luego TFP por 6 días
- c ) OVX + E2 por 30 días y luego TFP por 2 días
- d ) OVX + E2 por 30 días y luego TFP por 4 días
- e ) OVX + E2 por 30 días y luego TFP por 6 días

**A.4 ) Aplicación de Bromocriptina ( BRO ) después de la inducción del prolactinoma por el tratamiento estrogénico.**

- a ) OVX + E2 por 14 días y luego BRO por 4 días
- b ) OVX + E2 por 14 días y luego BRO por 6 días
- c ) OVX + E2 por 30 días y luego BRO por 2 días
- d ) OVX + E2 por 30 días y luego BRO por 4 días
- e ) OVX + E2 por 30 días y luego BRO por 6 días

### GRUPO B.

El grupo testigo consistió de ratas ovariectomizadas e implantadas con 17  $\beta$ -estradiol hasta por 30 días y subsecuentemente desimplantadas ( - E 2 ) por 2, 4 ó 6 días.

**B.1 ) Regresión del prolactinoma por la desimplantación.**

- a ) OVX + E2 por 30 días y luego - E2 por 2 días
- b ) OVX + E2 por 30 días y luego - E2 por 4 días
- c ) OVX + E2 por 30 días y luego - E2 por 6 días

Los grupos experimentales consistieron, por un lado de animales a los que se bloqueó la influencia del sistema dopaminérgico por la administración de Trifluoperazina ( 0.3 mg/100 g peso corporal/día vía ip. ) durante la regresión de los

efectos estrogénicos provocados por la desimplantación; y por otro, de animales a los que se reforzó el efecto dopaminérgico por medio de la administración de Bromocriptina ( 0.3 mg/100 g peso corporal/día vía sc. ) durante el mismo fenómeno.

B.2 ) Administración de Trifluoperazina ( TFP ) durante la desimplantación .

- a ) OVX + E2 por 30 días y luego - E2 + TFP por 2 días
- b ) OVX + E2 por 30 días y luego - E2 + TFP por 4 días
- c ) OVX + E2 por 30 días y luego - E2 + TFP por 6 días

B.3 ) Administración de Bromocriptina ( BRO ) durante la desimplantación .

- a ) OVX + E2 por 30 días y luego - E2 + BRO por 2 días
- b ) OVX + E2 por 30 días y luego - E2 + BRO por 4 días
- c ) OVX + E2 por 30 días y luego - E2 + BRO por 6 días

### Animales

En nuestro estudio empleamos ratas hembra reproducidas endogámicamente por largos periodos ( más de 10 años ) en el bioterio del ahora Centro de Neurobiología, UNAM, y derivadas tempranamente de Wistar. Convenimos trabajar con ratas sexualmente maduras dado que la génesis del prolactinoma se manifiesta como una patología de la reproducción. Si bien la rata hembra Wistar comienza su ciclo estral fértil aproximadamente a los 42 días de edad, con un peso corporal promedio equivalente a los 88 g (Harkness, & Wagner, 1977), se pretende que también estén por completar su madurez sexual, la cual se estima entre los 85 a 90 días de edad ó 180-200 g de peso corporal (Hafez, 1970). Por otra parte, es conveniente el evitar trabajar con ratas viejas porque presentan una alta tasa de prolactinomas "espontáneos" (Ito, et al., 1972; Lee, 1972; Trouillas, et al., 1982).

Los animales se mantuvieron en condiciones constantes de humedad y temperatura, bajo un ciclo de 12 hrs. luz y 12 hrs.

oscuridad, y se alimentaron ad libitum con alimento preparado para roedores y agua.

### Manipulaciones

#### a ) Ovariectomía.

El objetivo de realizar la ovariectomía es conseguir la eliminación de la fuente endógena de estrógenos en los animales, lo que permite asegurar que los resultados obtenidos por el tratamiento estrogénico se deban exclusivamente a dicho manejo.

Para realizar la ovariectomía se anestesian a las ratas con éter y se afeitan dorsalmente cubriendo una extensión de aproximadamente 8 cm de largo y 4 cm de ancho. Se practica una incisión dorsal en la piel desinfectada con alcohol a 1.5 cm por debajo de la última costilla. Se procede a separar, por disección roma, la piel de la capa muscular en dirección diagonal anterolateral y a continuación se realizan dos incisiones ventrolaterales, de medio centímetro cada una, sobre la pared muscular para extirpar cada uno de los ovarios. Finalmente, se sutura la incisión sobre piel.

#### b ) Implantación de Cápsulas con 17 $\beta$ -estradiol.

Se escogió al 17  $\beta$ -estradiol como el agente estrogénico porque se trata de una hormona que se produce naturalmente en los animales. Aunque existen muchos trabajos (Clifton, et al., 1956; De Nicola, et al., 1978; Holtzman, et al., 1979; Kaplan, et al., 1976; Lloyd, 1983; Stone, et al., 1979; Wiklund, et al., 1981) en los que se utiliza a una hormona estrogénica de tipo sintético, el DES, para inducir la formación del prolactinoma en la rata, también se ha reportado que el mismo efecto lo tiene el 17  $\beta$ -estradiol (Gottschall, et al., 1986; Nakagawa, et al., 1980; Niwa, et al., 1987; Osamura, et al., 1986; Weiner, et al., 1985; Wiklund, et al., 1981).

Consideramos que la mejor forma de aplicar el tratamiento estrogénico es mediante la implantación subcutánea de cápsulas de silastic ya que dicho material contiene un poro de tamaño adecuado para asegurar la liberación constante y prolongada del

estrógeno por el tiempo en el que el implante permanece en el animal. Por otro lado el manejo es sencillo y no resulta traumatizante para el animal. Se ha reportado que un implante de este tipo, conteniendo 2.5 mg de 17  $\beta$ -estradiol o de DES, es más que suficiente para inducir y mantener la formación del tumor adenohipofisiario en ratas Fischer 344 por un periodo de 8 semanas; así, se calcula que la tasa de liberación de la hormona es de 45  $\mu$ g por día. Hay que mencionar que el efecto observado en la glándula no se alteró con dosis mayores a las señaladas por el mismo periodo (Wiklund, et al., 1981). Pensamos que en nuestro caso, la implantación con una cápsula de silastic conteniendo aproximadamente 14 mg ( 13.8  $\pm$  0.1 mg ) de 17  $\beta$ -estradiol es más que suficiente para observar efectos durante el periodo de estudio.

Los implantes se preparan al cortar tubo de silastic ( Dow Corning, Nidland, MI, diámetro interno 0.076 y diámetro externo 0.125 pulgadas ) de 2 cm de largo, tapar un extremo con 1/2 centímetro de madera, agregando 1 cm de 17  $\beta$ -estradiol cristalino ( Sigma, Chemical Co, St. Louis, MO. ) y bloquear también el otro extremo con 1/2 centímetro de madera. Posteriormente se cubre cada punta con adhesivo médico silastic y se deja secar todo un día.

Los implantes se colocan subcutáneamente en la región anterodorsal del animal recién ovariectomizado por la misma inscisión realizada en la piel.

### c ) Aplicación de Fármacos.

En este estudio se escogió a la Bromocriptina ( 2 Bromo  $\beta$ -ergocriptina o CB-154) como el agente agonista dopaminérgico porque tiene una afinidad muy elevada por los receptores dopaminérgicos de tipo D 2 que son los que se encuentran presentes en los lactotrofos y son los que median los efectos dopaminérgicos del eje hipotálamo - hipófisis. Este fármaco es varias veces más potente que la DA ( ver Kannan, 1987 ; MacLeod, 1982 ) ya que tiene una afinidad 100 veces mayor por los receptores dopaminérgicos que la propia DA ( Maurer, 1980 ). Estas propiedades lo convierten en el medicamento ( Parlodel,

SANDOZ ) usado por excelencia en el tratamiento contra la hiperprolactinemia y los prolactinomas. Por otra parte, es el fármaco más ampliamente utilizado en estudios de investigación, lo que nos permite hacer comparaciones. Además, las dosis y vía de administración sugeridas ( 0.3 mg s.c./ 100 g c/24 hrs ) han sido probadas en ratas ( Lloyd, et al, 1975 ).

Así, se usaron comprimidos de Parlodel ( 2.5 mg c/u ) como fuente de Bromocriptina. Se pulverizaron y se disolvieron en etanol absoluto. Una vez disueltos se llevaron a un volumen igual con solución salina al 0.9 % y se obtuvo una solución final de 50 % de alcohol a una concentración de 0.3 mg / 100  $\mu$ l. Su administración a los animales fue en forma de inyecciones subcutáneas - una dosis por día - según el peso de los animales.

Por otra parte, utilizamos a la Trifluoperazina ( dihidrocloruro de trifluoperazina, Sigma ) como agente antagonista dopaminérgico ya que se puede usar a la misma concentración y frecuencia de administración que la Bromocriptina: 0.3 mg i.p./ 100 g c/24 hrs. Así, se prepararon soluciones de una concentración de 0.3 mg / 100  $\mu$ l con solución salina al 0.9 % y se administró una dosis al día por vía intraperitoneal según el peso de los animales. La Trifluoperazina es un neuroléptico ampliamente usado en la clínica para contrarrestar los efectos dopaminérgicos ya que tiene afinidad tanto por receptores dopaminérgicos de tipo D1 como D2.

Hay que mencionar que las soluciones de ambos fármacos se prepararon en fresco antes de ser administradas a los animales, ya que no son muy estables. Todos los animales fueron inyectados entre las 12 y las 15 hrs de cada día. Los animales de los grupos testigo fueron inyectados subcutáneamente con solución salina 0.9 %.

### Determinaciones

Las ratas fueron anestesiadas con éter y sacrificadas por decapitación. De la cabeza de cada animal se extrajo la hipófisis, se retiró a la neurohipófisis y se obtuvo el peso en fresco de la AH en una balanza analítica con precisión de décima de miligramo como una estimación de su grado de crecimiento. La AH se conservó a -

20 °C hasta su procesamiento posterior, que consistió en la homogenización del tejido por medio de la sonicación en una relación de 100 µl de buffer de carbonatos de sodio 0.05 M Tritón (X 100) 0.1 % por 1 mg de AH. En dichos homogenizados se determinó la concentración de PRL adenohipofisiaria por animal como un índice de producción de la hormona por los lactotrofos.

Ademas, se obtuvo el suero de cada animal, y se congeló a -20 °C hasta su empleo. En éste, se determinó la concentración de PRL en sangre, como un índice de la actividad secretora de los lactotrofos.

Las determinaciones de PRL en las muestras señaladas se realizaron mediante la técnica del radioinmunoanálisis ( RIA ) con reactivos provistos por el National Institute of Arthritis, Metabolic and Digestive Diseases ( NIAMDD ) mediante del Rat Pituitary Hormone Distribution Program, usando el anticuerpo S-9 y la preparación RP-3 como estandar. Todas las muestras se analizaron por duplicado. La dosis mínima detectable por tubo fue de 0.05 ng. La variación intraensayo del RIA fue del 3 % y la interensayo del 8 %. Para la determinación de PRL circulante se requirió desde 1 hasta 100 µl de suero por individuo por tubo, según el grupo experimental. Para la medición de PRL adenohipofisiaria se utilizaron 100 µl de diluciones individuales del homogenado de  $10^4$  ó  $10^5$  según el caso.

Finalmente, el peso corporal de cada animal fue monitoreado a lo largo del experimento.

### **Análisis Estadístico**

Las comparaciones entre grupos se analizaron con el método de estadístico de varianza ( ANOVA ) unifactorial, para una probabilidad mayor del 95 %, acoplado a la prueba de Fisher para comparaciones múltiples. Esto se realiza con la ayuda de un paquete estadístico (StatView-SE, Abacus Concepts Inc.) diseñado para el sistema Macintosh (Macintosh Classic, Apple Computers, Inc.).

## RESULTADOS

### 1 ) Efectos del 17 $\beta$ -estradiol.

#### 1.1 ) Peso Adenohipofisiario.

Encontramos que, en comparación a los grupos testigo de ratas ovariectomizadas, el tratamiento estrogénico provocó un crecimiento progresivo de la AH ( Figura 1 a ) que se estabilizó en el periodo tardío de experimentación ( entre los días 30 - 36 ) ( Figura 1 b ). El tamaño máximo alcanzado por la AH de animales estrogenizados fue aproximadamente del doble ( alrededor de 24 mg ) del observado en ratas ovariectomizadas ( alrededor de 10 mg ).

La suspensión del estímulo estrogénico al cabo de 30 días de tratamiento disminuyó inmediata y gradualmente el peso de la AH alcanzando valores estadísticamente comparables a los de ratas ovariectomizadas a los 6 días de la desimplantación ( Figura 1 c ).



PESO ADENOHIPOFISIARIO ( mg )

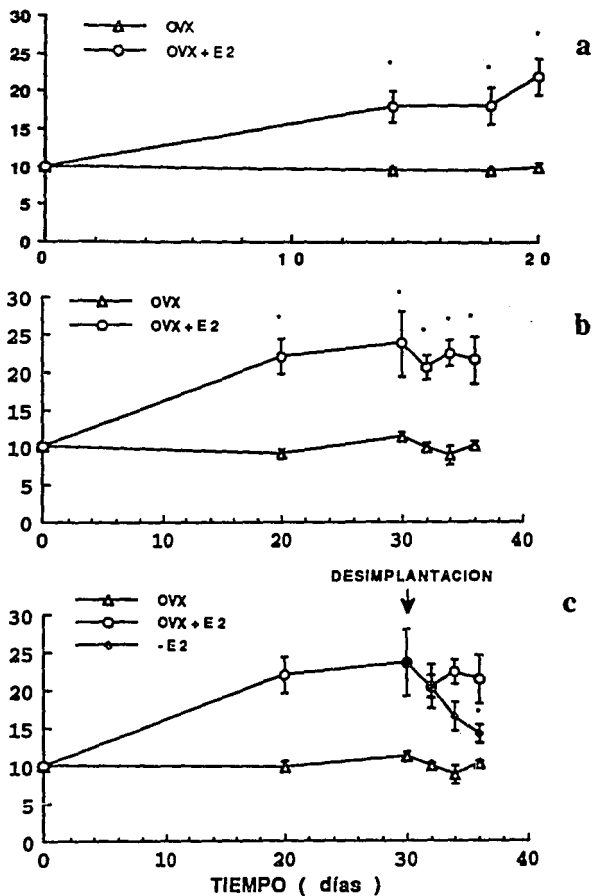


FIGURA 1. Efecto del tratamiento con 17  $\beta$ -estradiol (Implantes de silastic con 14 mg) sobre el peso adenohipofisario de ratas hembra Wistar. Grupos de ratas ovariectomizadas y estrogenizadas (OVX + E 2), y los grupos de ratas ovariectomizadas (OVX), fueron sacrificados al cabo de 14, 18 ó 20 día (s), o al cabo de 30, 32, 34 ó 36 días ( b ) de tratamiento. Otro grupo fue desimplantado por 2, 4 y 6 días después de 30 días de estrogenización (-E 2) ( c ). El grupo de ratas intactas se representa en el punto cero de las abscisas. Cada punto representa el promedio  $\pm$  EE de 5 animales. El asterisco denota diferencias estadísticamente significativas (  $p < 0.05$  ) respecto al testigo.

## 1.2 ) Concentración de Prolactina Adenohipofisiaria.

Como se ve en la figura 2, en comparación a los grupos testigo, cuya concentración de PRL en AH se mantuvo alrededor de  $10 \mu\text{g}/\text{mg}$  de AH, el estímulo estrogénico aumentó la concentración de PRL en la AH de ratas Wistar que, sin embargo, mostró una disminución espontánea parcial a la mitad después de los 30 días de tratamiento ( alrededor de  $35 \mu\text{g}/\text{mg}$  de AH ) ( Figura 2 b ) en relación al periodo temprano de experimentación ( alrededor de  $70 \mu\text{g}/\text{mg}$  de AH ) ( Figura 2 a ).

La desimplantación de los animales no produjo diferencias estadísticamente significativas en la concentración de PRL en AH respecto a lo que se observó en animales estrogenizados, aunque tiende a haber un aumento en este parámetro a los 6 días de desimplantación ( Figura 2 c ).

PROLACTINA ADENOHIPOFISIARIA

(  $\mu\text{g}/\text{mg}$  )

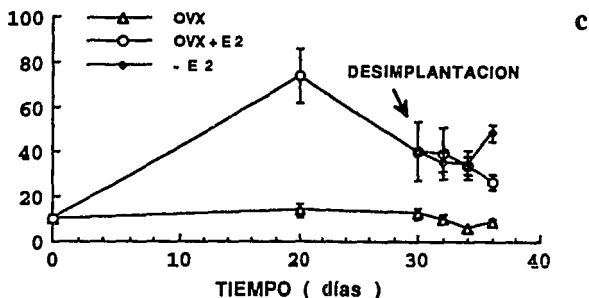
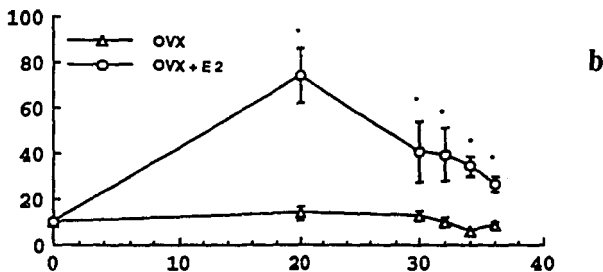
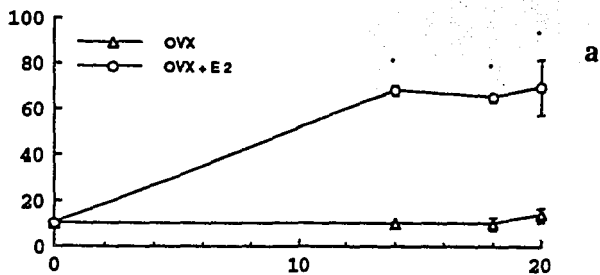


FIGURA 2. Efecto del tratamiento con 17  $\beta$ -estradiol ( implantes de silastic con 14 mg ) sobre la concentración de prolactina adenohipofisaria de ratas hembra Wistar. Grupos de ratas ovariectomizadas y estrogenizadas ( OVX + E 2 ), y los grupos de ratas ovariectomizadas ( OVX ), fueron sacrificados al cabo de 14, 18 ó 20 días ( a ), o al cabo de 30, 32, 34 ó 36 días ( b ) de tratamiento. Otro grupo fue desimplantado por 2, 4 y 8 días después de 30 días de estrogenización (-E 2) ( c ). El grupo de ratas intactas se representa en el punto cero de las abscisas. Cada punto representa el promedio  $\pm$  EE de 5 animales. El asterisco denota diferencias estadísticamente significativas (  $p < 0.05$  ) respecto al testigo.

### 1.3 ) Concentración de Prolactina en Sangre.

La concentración de PRL en sangre de ratas Wistar implantadas con 17  $\beta$ -estradiol aumentó aproximadamente 10 veces por arriba de los valores de ratas ovariectomizadas ( cerca de 100 vs. 10 ng/ml ) en el periodo temprano de tratamiento, si bien estas diferencias no son estadísticamente significativas por la alta dispersión de los datos ( Figura 3 a ). Durante el periodo tardío de experimentación observamos un aumento sustancial en la concentración de PRL circulante, que mostró valores de aproximadamente 100 veces por arriba de los grupos ovariectomizados ( cerca de 1,000 vs. 10 ng/ml ), aunque a los 36 días de estrogenización se presentó una disminución en dichos valores ( Figura 3 b ).

Por otro lado, la desimplantación de los animales estrogenizados por 30 días ocasionó que los valores de PRL en sangre, súmamente elevados en ese momento, disminuyeran rápidamente y alcanzaran valores comparables a los del grupo ovariectomizado a los 6 días de la desimplantación ( Figura 3 c ).

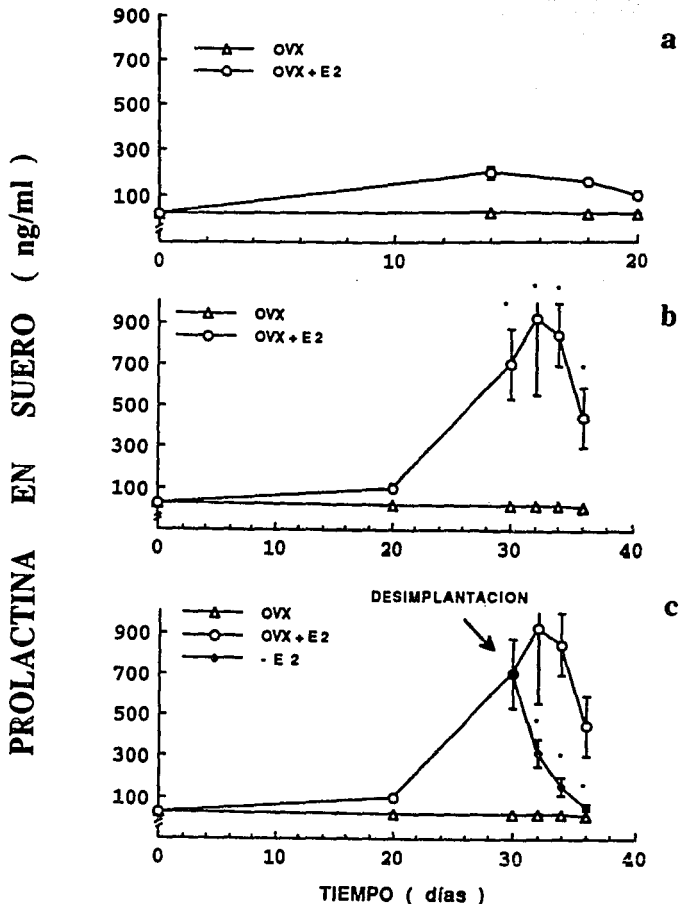


FIGURA 3. Efecto del tratamiento con 17  $\beta$ -estradiol ( Implantes de silastic con 14 mg ) sobre la concentración de prolactina en sangre de ratas hembra Wistar. Grupos de ratas ovariectomizadas y estrogénizadas ( OVX + E2 ), y los grupos de ratas ovariectomizadas ( OVX ), fueron sacrificados al cabo de 14, 18 ó 20 días ( a ), o al cabo de 30, 32, 34 ó 36 días ( b ) de tratamiento. Otro grupo fue desimplantado por 2, 4 y 6 días después de 30 días de estrogénización (-E2) ( c ). El grupo de ratas intactas se representa en el punto cero de las abscisas. Cada punto representa el promedio  $\pm$  EE de 5 animales. El asterisco denota diferencias estadísticamente significativas (  $p < 0.05$  ) respecto al testigo.

Hay que recordar que los estudios anteriores se hicieron con la finalidad de poder comparar, y así diseccionar, si los efectos ocasionados por los estrógenos sobre el tejido adenohipofisiario se acompañan de una influencia del sistema dopaminérgico. Para evaluar esto, es que en los experimentos centrales de este estudio bloqueamos o reforzamos al sistema dopaminérgico endógeno mediante el empleo del antagonista dopaminérgico Trifluoperazina o del agonista dopaminérgico Bromocriptina sobre dos fenómenos : uno de inducción del funcionamiento de la glándula por los estrógenos y otro de regresión de dicho funcionamiento ocasionado por la desimplantación.

## 2 ) Efectos del Antagonista Dopaminérgico Trifluoperazina y del Agonista Dopaminérgico Bromocriptina.

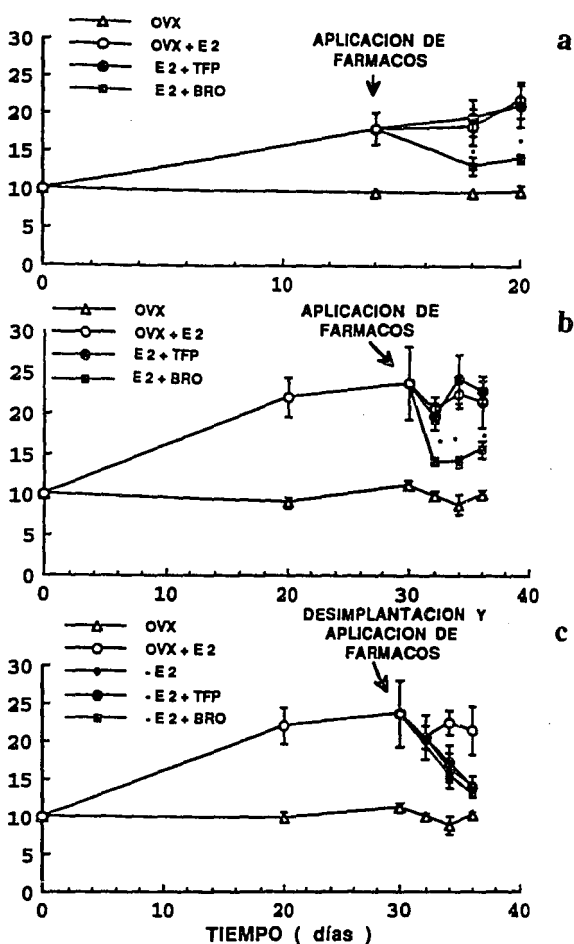
### 2.1 ) Peso Adenohipofisiario.

Los resultados medulares de este trabajo mostraron que el bloqueo de la influencia dopaminérgica con Trifluoperazina no modificó el peso de la AH de ratas Wistar estrogenizadas en ninguno de los periodos analizados ( Figura 4 a y b ). Sin embargo, un reforzamiento de la acción inhibitoria dopaminérgica con Bromocriptina provocó una disminución significativa, de más del 50 %, en el peso de la glándula adenohipofisiaria tan sólo 2 días de transcurrida su aplicación ( mismas figuras ).

Por otra parte, ni la Trifluoperazina ni la Bromocriptina alteraron la pendiente con la que disminuye el peso de la AH de animales desimplantados ( Figura 4 c ).

A pesar de lo anterior, el bloqueo de la acción dopaminérgica con Trifluoperazina en ratas Wistar estrogenizadas o desimplantadas tuvo efectos notorios tanto sobre la concentración de PRL en la glándula como en la circulación.

PESO ADENOHIPOFISIARIO ( mg )



71

FIGURA 4. Efecto del tratamiento con 17  $\beta$ -estradiol ( implantes de silastic con 14 mg ) y de la administración de Trifluoperazina (0.3 mg/100 g *ip*/día) o de Bromocriptina ( 0.3 mg/100 g *sc*/día ) sobre el peso adenohipofisario de ratas hembra Wistar. Grupos de ratas ovariectomizadas y estrogenizadas ( OVX + E2 ), y los grupos de ratas ovariectomizadas ( OVX ), fueron sacrificados a cabo de 14, 18 ó 20 días ( a ) o de 30, 32, 34 ó 36 días ( b ) de tratamiento. El grupo de ratas intactas se representa en el punto cero de las abscisas. Otros grupos fueron estrogenizados por 14 días y tratados con Trifluoperazina ( E2 + TFP ) o con Bromocriptina ( E2 + BRO ) por 4 ó 6 días antes de ser sacrificados ( a ). Otros grupos fueron estrogenizados por 30 días y luego E2 + TFP o E2 + BRO por 2, 4 ó 6 días antes de ser sacrificados ( b ). Finalmente, a otros grupos se les administró Trifluoperazina ( -E2 + TFP ) o Bromocriptina ( -E2 + BRO ) por 2, 4 ó 6 días después de desimplantados ( -E2 ) ( c ). Cada punto representa el promedio  $\pm$  EE de 5 animales. El asterisco denota diferencias estadísticamente significativas (  $p < 0.05$  ) respecto al testigo.



## 2.2 ) Concentración de Prolactina Adenohipofisiaria.

El bloqueo de la influencia dopaminérgica con Trifluoperazina en ratas estrogenizadas provocó aumentos marcados en la concentración de PRL adenohipofisiaria en el periodo tardío, momento en que dicha concentración presenta una disminución espontánea por el tratamiento estrogénico ( Figura 5 b ). Los valores inducidos por la Trifluoperazina sobrepasaron aproximadamente por 1 y 4 veces a los valores encontrados en las ratas estrogenizadas a los 2 y 6 días de que se administró el fármaco ( cerca de 70 y 170 vs. 35  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de AH). En este periodo, el reforzamiento de la acción dopaminérgica con Bromocriptina no produjo diferencias respecto a lo que se observó en animales estrogenizados ( Figura 5 b ).

En contraste, la administración de Trifluoperazina no produjo diferencias en la concentración de PRL en la AH respecto a los valores de los grupos estrogenizados en el periodo temprano, que es justamente en el cual los valores de este parámetro se encuentran más elevados por los estrógenos ( Figura 5 a ). En este momento, la administración de Bromocriptina produjo una disminución, aunque no significativa, en la concentración de PRL en la AH de ratas estrogenizadas ( Figura 5 a ).

Por otra parte, ni la administración de Trifluoperazina ni de Bromocriptina a ratas desimplantadas mostró diferencias en la concentración de PRL en la AH respecto a lo encontrado en animales únicamente desimplantados ( Figura 5 c ).

PROLACTINA ADENOHIPOFISIARIA (  $\mu\text{g}/\text{mg}$  )

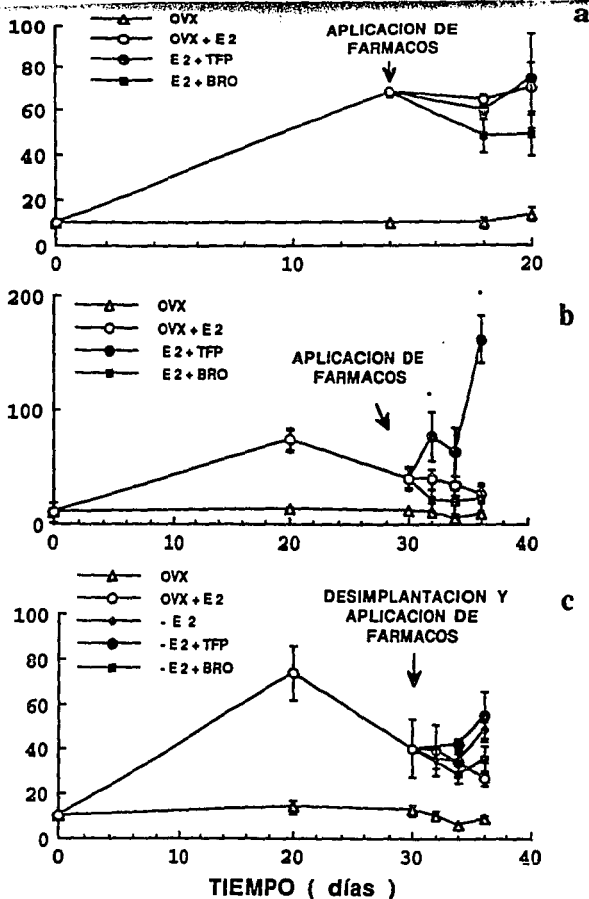


FIGURA 5. Efecto del tratamiento con 17  $\beta$ -estradiol ( implantes de silastic con 14 mg ) y de la administración de Trifluoperazina (0.3 mg/100 g ip./día) o de Bromocriptina ( 0.3 mg/100 g sc./día ) sobre la concentración de prolactina adenohipofisaria de ratas hembra Wistar. Grupos de ratas ovariectomizadas y estrogenizadas ( OVX + E 2 ), y los grupos de ratas ovariectomizadas ( OVX ), fueron sacrificados al cabo de 14, 18 ó 20 días ( a ) o de 30, 32, 34 ó 36 días ( b ) de tratamiento. El grupo de ratas intactas se representa en el punto cero de las abscisas. Otros grupos fueron estrogenizados por 14 días y tratados con Trifluoperazina ( E 2 + TFP ) o con Bromocriptina ( E 2 + BRO ) por 4 ó 6 días antes de ser sacrificados ( a ). Otros grupos fueron estrogenizados por 30 días y luego E 2 + TFP o E 2 + BRO por 2, 4 ó 6 días antes de ser sacrificados ( b ). Finalmente, a otros grupos se les administró Trifluoperazina ( - E 2 + TFP ) o Bromocriptina ( - E 2 + BRO ) por 2, 4 ó 6 días después de desimplantados ( - E 2 ) ( c ). Cada punto representa el promedio  $\pm$  EE de 5 animales. El asterisco denota diferencias estadísticamente significativas (  $p < 0.05$  ) respecto al testigo.

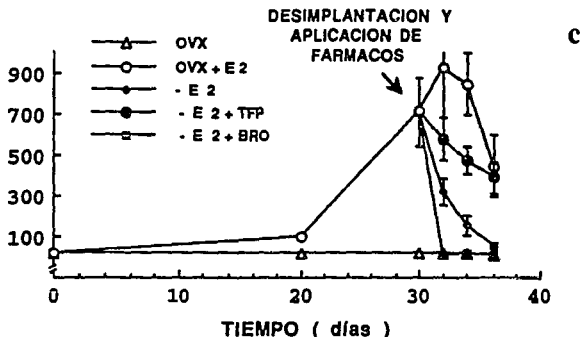
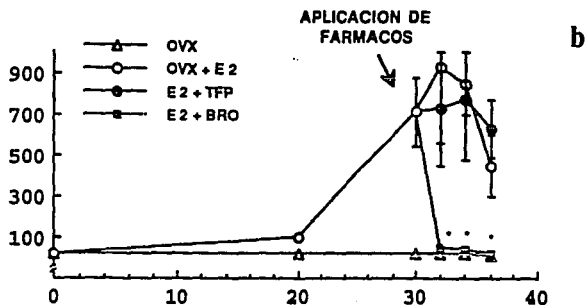
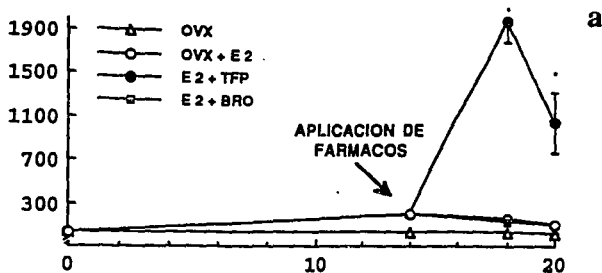
### 2.3 ) Concentración de Prolactina en Sangre.

El bloqueo de la influencia dopaminérgica con Trifluoperazina en ratas estrogenizadas aumentó dramáticamente la concentración de PRL en sangre en el periodo temprano, momento en que dicho parámetro se encontraba aun bajo ante el estímulo estrogénico ( Figura 6 a ). Estos aumentos rebasaron aproximadamente 20 ( cerca de 1, 900 ng/ml ) y 10 ( cerca de 1,000 ng/ml ) veces los valores de PRL circulante de ratas estrogenizadas a los 4 y 6 días de que se administró la Trifluoperazina. En este momento, la administración de Bromocriptina no produjo diferencias en este parámetro respecto a lo que se observó en ratas estrogenizadas ( Figura 6 a ).

En cambio, en el periodo tardío, la administración de Trifluoperazina no modificó los valores de PRL en sangre de ratas estrogenizadas, ya de por sí muy elevados en ese momento ( cerca de 1, 000 ng/ml ) ( Figura 6 b ), mientras que el reforzamiento de la influencia dopaminérgica con Bromocriptina produjo una caída inmediata y drástica en la concentración de PRL circulante que alcanzó los valores de los grupos ovariectomizados a los 2 días de la administración del agonista ( Figura 6 b ).

Ademas de producir aumentos en la concentración de PRL en la AH y en la sangre de ratas estrogenizadas, el bloqueo de la acción dopaminérgica con Trifluoperazina en ratas desimplantadas provocó una caída de la concentración de PRL en sangre con una pendiente menor que la que se observa en animales únicamente desimplantados ( Figura 6 c ).

PROLACTINA EN SUERO ( ng/ml )



**FIGURA 6.** Efecto del tratamiento con 17  $\beta$ -estradiol ( implantes de silastic con 14 mg ) y de la administración de Trifluoperazina (0.3 mg/100 g *ip*/día) o de Bromocriptina ( 0.3 mg/100 g *sc*/día ) sobre la concentración de prolactina adenohipofisaria de ratas hembra Wistar. Grupos de ratas ovariectomizadas y estrogenizadas ( OVX + E 2 ), y los grupos de ratas ovariectomizadas ( OVX ), fueron sacrificados al cabo de 14, 18 ó 20 días (a) o de 30, 32, 34 ó 36 días ( b ) de tratamiento. El grupo de ratas intactas se representa en el punto cero de las abscisas. Otros grupos fueron estrogenizados por 14 días y tratados con Trifluoperazina ( E 2 + TFP ) o con Bromocriptina ( E 2 + BRO ) por 4 ó 6 días antes de ser sacrificados ( a ). Otros grupos fueron estrogenizados por 30 días y luego E 2 + TFP o E 2 + BRO por 2, 4 ó 6 días antes de ser sacrificados ( b ). Finalmente, a otros grupos se les administró Trifluoperazina ( - E 2 + TFP ) o Bromocriptina ( - E 2 + BRO ) por 2, 4 ó 6 días después de desimplantados ( - E 2 ) ( c ). Cada punto representa el promedio  $\pm$  EE de 5 animales. El asterisco denota diferencias estadísticamente significativas (  $p < 0.05$  ) respecto al testigo.

### 3 ) Efectos del 17 $\beta$ -estradiol, del Antagonista Dopaminérgico Trifluoperazina y del Agonista Dopaminérgico Bromocriptina en el Peso Corporal.

Este parámetro aumentó en los animales estudiados, sin embargo en las ratas estrogenizadas se observó un aumento con menor pendiente que la observada en los animales ovariectomizados (Figura 7). La administración de Trifluoperazina tendió a aumentar el peso corporal de los animales estrogenizados mientras que la administración de Bromocriptina tendió a disminuirlo ( Figura 7 ).

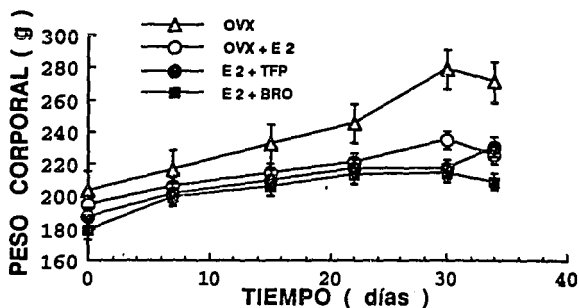


FIGURA 7. Efecto del tratamiento con 17  $\beta$ -estradiol ( implantes de silastic con 14 mg ) y de la administración de Trifluoperazina ( 0.3 mg/100 g ip./día ) o de Bromocriptina ( 0.3 mg/100 g sc./día ) sobre el peso corporal de ratas hembra Wistar. Los pesos corporales de grupos de ratas ovariectomizadas y estrogenizadas ( OVX + E2 ), y de los grupos de ratas ovariectomizadas ( OVX ), fueron monitoreados desde el día cero hasta el día 34 de tratamiento. Otros grupos fueron ovariectomizadas y estrogenizadas por 30 días y subsecuentemente tratados con Trifluoperazina ( E2 + TFP ) o con Bromocriptina ( E2 + BRO ) por 4 días antes de ser sacrificados. Cada punto representa el promedio  $\pm$  EE de 5 animales.

## DISCUSION

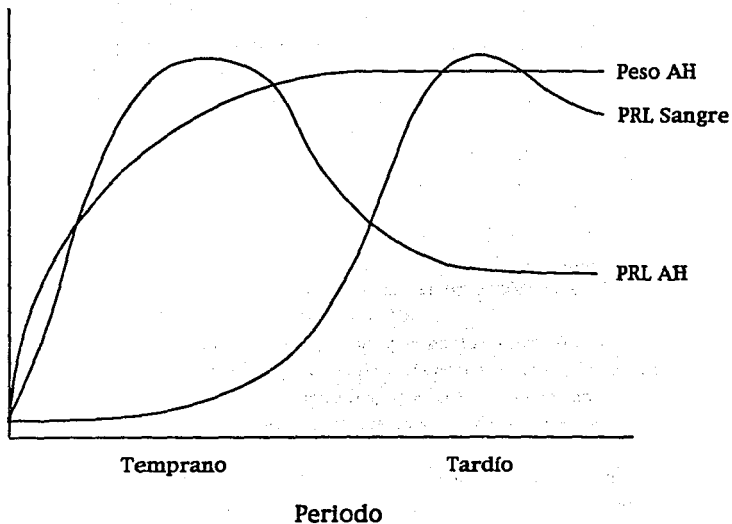
En confirmación a un trabajo previo ( Ponzanelli, 1991 ), encontramos que el tratamiento estrogénico mediante la implantación de cápsulas de silastic que contienen 17  $\beta$ -estradiol en las ratas Wistar produjo un aumento inmediato en el crecimiento de la AH que alcanzó una estabilización alrededor de las 4 semanas de tratamiento. Además, dicho estímulo elevó marcadamente la síntesis y la secreción de PRL.

En lo particular, observamos que el estrógeno tuvo efectos disociables temporalmente sobre el funcionamiento adenohipofisario ya que primero indujo una marcada síntesis y almacenamiento de la PRL en la AH - como se aprecia en el periodo temprano - y después estimuló la secreción masiva de la hormona - en el periodo tardío ( ver el esquema 3 ).

Para analizar la posible participación dopaminérgica en los efectos que el 17  $\beta$ -estradiol tiene en la AH de las ratas Wistar bloqueamos o reforzamos a la influencia dopaminérgica mediante el empleo de un antagonista - Trifluoperazina - o de un agonista - Bromocriptina - dopaminérgico.

Así, el bloqueo de la acción inhibitoria dopaminérgica con Trifluoperazina no fue capaz de modificar el crecimiento adenohipofisario de las ratas Wistar secundario al estímulo estrogénico ni tampoco modificó la regresión de este crecimiento después de la suspensión del estrógeno. En cambio, el reforzamiento de la acción inhibitoria dopaminérgica con Bromocriptina provocó una disminución considerable del crecimiento de la AH ( hasta del 50 % ).

Pensamos que hay dos explicaciones alternativas por las que el bloqueo de la acción dopaminérgica no modifica el crecimiento de la AH inducido por el estrógeno : primero, porque en las ratas Wistar estrogenizadas no existe un sistema dopaminérgico hipotalámico funcional o, segundo, porque el crecimiento de la AH no está afectado por una influencia dopaminérgica endógena.



**Esquema 3 .** Representación de la dinámica que presentan cada una de las respuestas adenohipofisarias en la rata Wistar : peso de la adenohipófisis ( AH ), concentración de prolactina ( PRL ) en AH y concentración de PRL en sangre, inducidas por el tratamiento estrogénico durante los periodos temprano y tardío.

La primer propuesta, acerca de la ausencia de un sistema dopaminérgico funcional en las ratas estrogenizadas, se apoya en la observación de que el reforzamiento de la acción dopaminérgica con Bromocriptina disminuyó el crecimiento de la AH de animales estrogenizados.

La primer alternativa también tiene apoyo en datos de la literatura en donde se muestra que los estrógenos inhiben directamente la influencia dopaminérgica hipotalámica sobre los lactotrofos al disminuir el funcionamiento de las neuronas TIDA ( Arita, et al, 1989; Demarest, et al, 1984 ) o al disminuir el número de receptores a DA en los lactotrofos ( Heiman, et al, 1982 b; Bressión, et al, 1985; Kukstas, et al, 1991 ). Creemos que si los estrógenos contrarrestan la influencia dopaminérgica sobre los lactotrofos no lo hacen mediante la disminución del número de receptores a DA ya que la Bromocriptina sí tiene efectos en la AH y éstos son mediados por receptores a DA.

Con lo expuesto, es de pensar que en las ratas Wistar está presente una influencia dopaminérgica endógena - mimetizada en nuestro estudio por la Bromocriptina, que además tiene un efecto citostático pues se contrarresta el crecimiento de la AH inducido por los estrógenos.

Sin embargo, gracias al análisis en conjunto de las demás respuestas adenohipofisarias inducidas por los estrógenos como son la síntesis y secreción de PRL es que, de manera conclusiva en el presente trabajo, apoyamos la segunda alternativa : que el crecimiento de la AH no está afectado por una influencia dopaminérgica endógena.

La última idea, de que en el crecimiento de la AH de la rata Wistar inducido por el estrógeno no participa una influencia dopaminérgica, se apoya en la demostración de que en las ratas Wistar estrogenizadas sí existe un tono dopaminérgico hipotalámico funcional acompañando a los efectos estrogénicos. En este estudio, sin embargo, dicho tono dopaminérgico fue detectado de manera temporal debido a la dinámica que presentan cada una de las distintas respuestas funcionales de la AH analizadas ( síntesis y secreción de PRL ) ante el estímulo estrogénico.

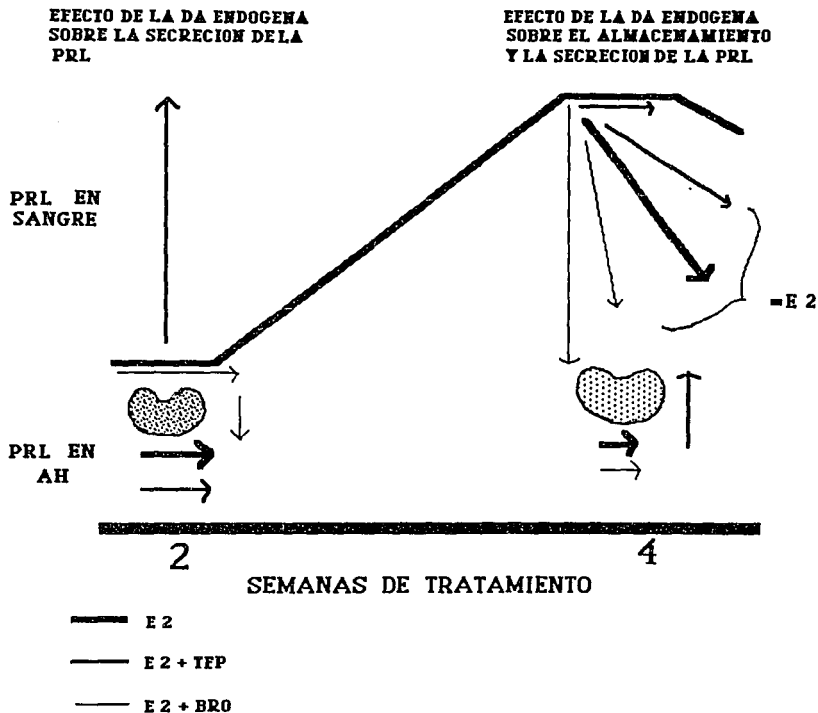
Así, fue evidente la presencia de un tono dopaminérgico durante el periodo temprano de experimentación ( entre los 14 -

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**



20 días ) debido a que el bloqueo de la acción dopaminérgica con Trifluoperazina incrementó marcadamente la concentración de PRL en sangre, misma que se encontraba modestamente elevada en ese momento por el estímulo estrogénico. Asimismo, la presencia de un tono dopaminérgico durante el periodo tardío de experimentación ( entre los 30 - 36 días ) quedó en evidencia gracias a que el bloqueo de la acción dopaminérgica con Trifluoperazina aumentó significativamente la concentración de PRL adenohipofisiaria en las ratas estrogenizadas cuyos valores, en ese momento, mostraban una disminución espontánea parcial. Además, el tono dopaminérgico funcional quedó manifiesto en el periodo tardío de experimentación gracias a que el bloqueo de la influencia dopaminérgica con Trifluoperazina disminuyó la pendiente en la caída de los niveles de PRL en sangre de ratas desimplantadas. Todo lo anterior se representa gráficamente en el esquema 4.

La detección temporal del tono dopaminérgico se explica por la existencia de una susceptibilidad variable a la influencia inhibitoria dopaminérgica que presentan cada una de las respuestas funcionales adenohipofisiarias ( síntesis y secreción de PRL ) inducidas por el estrógeno. Dicha susceptibilidad depende del estado en que se encuentran las respuestas adenohipofisiarias. Esto se apoya en que cuando dichas respuestas presentaron una magnitud elevada ante el estímulo estrogénico, el tono dopaminérgico - que siempre está presente - no las afectó, ya que al bloquear la influencia dopaminérgica estas respuestas no se modificaron. Por el contrario, cuando dichas respuestas adenohipofisiarias presentaron una estimulación modesta ante el estrógeno, el tono dopaminérgico - que siempre está presente - sí las afectó, ya que el bloqueo de la influencia dopaminérgica las aumentó, lo que indica una alta susceptibilidad de las respuestas a la DA en este momento. Esta susceptibilidad en las respuestas adenohipofisiarias puede explicarse con la idea de que, en un momento dado, dichas respuestas alcanzan un estado de funcionamiento máximo ante el estrógeno, en el cual no son capaces de ser estimuladas más allá a pesar del bloqueo de una influencia inhibitoria, como es la de la DA.



Esquema 4. Modelo esquemático que revela la presencia continua de un tono dopaminérgico funcional acompañando a los efectos estrogénicos (E2) y de la desimplantación (-E2), que se manifiesta temporalmente dependiendo de la dinámica de las funciones de la adenohipófisis (AH) (concentración de prolactina -PRL- en la AH y sangre), como lo demuestra el bloqueo de la influencia dopaminérgica con Trifluoperazina (TFP), mientras que un reforzamiento de dicha influencia se consiguió con Bromocriptina (BRO).

Basamos la idea de que las funciones adenohipofisarias que afectan a los lactotropos alcanzan en un momento dado un estado de actividad máxima por el hecho de que cuando dichas funciones presentan una magnitud baja ante el estímulo estrogénico, el bloqueo de la influencia dopaminérgica con Trifluoperazina provoca una elevación en la magnitud de las respuestas que asemeja el valor máximo que se obtiene únicamente con el estrógeno. Así, el bloqueo de la acción dopaminérgica en el periodo temprano de experimentación elevó la concentración de PRL en sangre a cerca de 1,000 y 2,000 ng/ml, mientras que el estrógeno por sí mismo la elevó a este nivel en el periodo tardío. Igualmente, el bloqueo de la acción dopaminérgica en el periodo tardío aumentó la concentración de PRL adenohipofisaria aproximadamente entre 70 - 170  $\mu\text{g}/\text{mg}$  AH, nivel semejante al que el estrógeno produjo en el periodo temprano. De la misma manera, pensamos que el bloqueo de la acción dopaminérgica con Trifluoperazina no afecta el tamaño de la AH en ningún periodo analizado porque la glándula presenta una respuesta máxima de crecimiento ante el estímulo estrogénico.

La pregunta que surge ahora es si el estímulo estrogénico modula de alguna manera al tono dopaminérgico hipotalámico que está presente en las ratas Wistar. Daría la impresión de que si éste fuera el caso, no lo hace mediante un aumento de la influencia inhibitoria dopaminérgica - como habíamos supuesto en la hipótesis de esta tesis.

Así pues, alternativamente a la idea de que el bloqueo de la acción dopaminérgica no afecta el crecimiento de la AH porque éste alcanza un nivel máximo por el estrógeno, se puede suponer que el tono dopaminérgico endógeno, aunque está presente, no es suficiente para contrarrestar el aumento en el tamaño de la AH que se induce con los estrógenos aunque sí los aumentos que se observan en la síntesis y la secreción de PRL. Esto se apoya, como ya dijimos, en que al reforzar a la acción dopaminérgica con Bromocriptina se observó una disminución considerable en el peso de la AH. Sin embargo, la idea anterior no es del todo satisfactoria, ya que únicamente cuando los parámetros funcionales de la AH ( síntesis y secreción de PRL ) estuvieron elevados por el

tratamiento estrogénico, la administración de Bromocriptina disminuyó estas respuestas. Recapitulando, pudiera ser que la Bromocriptina disminuye el tamaño de la AH debido a que la glándula presenta igualmente una estimulación máxima por el estrógeno.

Aun así, no podemos descartar que el estrógeno module en alguna medida al tono dopaminérgico. De ser este el caso, es probable que el estrógeno disminuya dicho tono, lo que explica la falta de efecto en el tamaño de la AH que se observa al bloquear a la DA endógena. En realidad, para contestar a lo anterior, necesitamos hacer estudios en los que se mida la producción de DA por el hipotálamo medio basal. Nuevamente, si el estrógeno provoca una disminución de la influencia dopaminérgica en la AH no pensamos que lo haga mediante una disminución del número de receptores a DA, como se describe en la literatura ( Heiman, et al, 1982 b; Bressión, et al, 1985; Kukstas, et al, 1991 ), ya que las respuestas funcionales de la glándula ( síntesis y secreción de PRL) están fuertemente inhibidas por el tono dopaminérgico endógeno lo que indica la presencia funcional de los receptores a DA mediando los efectos.

Creemos que es inaceptable la hipótesis inicial de esta tesis, en la que planteamos que el estrógeno aumenta indirectamente la influencia dopaminérgica hipotalámica sobre la AH mediante la hiperprolactinemia, ya que el crecimiento de la AH se estabiliza desde el periodo temprano de tratamiento mientras que la concentración de PRL en sangre se eleva mucho posteriormente.

En base a todo lo expuesto, podemos concluir que los efectos estrogénicos sobre el tejido adenohipofisiario de las ratas Wistar se acompañan de un tono dopaminérgico funcional que no afecta el crecimiento de la AH.

El problema de estudio al que nos enfrentamos ahora es determinar si el crecimiento de la AH inducido por el estrógeno en las ratas Wistar depende únicamente de mecanismos directos de estas hormonas sobre la glándula o también de mecanismos indirectos que no involucran la participación del tono dopaminérgico hipotalámico endógeno.

Las respuestas a estas interrogantes muy probablemente contribuyan a explicar la gran variabilidad que se presenta en el

crecimiento y funcionamiento en la AH de las ratas de distintas cepas ante el estímulo estrogénico.

Son escasos los estudios en donde se pretende responder a estas preguntas. En un intento, Wiklund y colaboradores, 1981, mostraron que en el crecimiento de la AH que se induce por estrógenos no parecen participar factores periféricos. El trasplante simultáneo, fuera del control hipotalámico, de las adenohipófisis de ratas de cepas con una alta y baja respuesta a estrógenos, como son las Fischer 344 y las Holtzman, a la cápsula renal de hospederos híbridos tratados previamente con estrógenos, revela un crecimiento del tejido adenohipofisiario característico de cada cepa, ésto es, las adenohipófisis de ratas muy susceptibles crecen notablemente, mientras que las de ratas con una baja respuesta crecen poco. Estos autores proponen que la explicación por la que se observa un crecimiento particular de la AH de las ratas estrogenizadas de distintas cepas reside a nivel de la glándula misma. Estos autores observan que la cruce entre las ratas descritas hace un momento crea híbridos con una respuesta adenohipofisiaria intermedia al estímulo estrogénico, en este caso se observa una estimulación inmediata de la síntesis de ADN en la AH que posteriormente cesa. Estos autores sugieren que dicho freno en la síntesis de ADN podría ocurrir sólo hasta que ciertos factores con actividad de tipo inhibitoria alcanzaran niveles intracelulares elevados ( Wiklund, et al, 1982 ). La búsqueda de factores intracelulares de tipo inhibitorio en la AH de ratas estrogenizadas puede resultar un poco desalentadora debido a que, hasta ahora, se sabe que los estrógenos tienen la capacidad de inducir la expresión de genes cuyos productos participan activamente en la diferenciación y proliferación celular como son los proto-oncogenes " fos " y " jun " ( Weisz, et al, 1984 ).

Aún así, ésto no excluye definitivamente la posible participación de factores parácrinos y autócrinos en la AH de los animales de cada cepa. Tal sería el caso de la generación de una forma molecular de la prolactina, de 16 kilodaltones ( Kd ), que tiene efectos inhibitorios sobre la proliferación de vasos capilares ( Ferrara, Clapp, & Weiner, 1991 ). Por otra parte, la formación de prolactinomas, tanto espontáneos como inducidos, se asocia a una vascularización adicional de la AH ( Weiner, et al, 1985 ). Así,

podríamos suponer que parte de la PRL generada en la AH por el estímulo estrogénico es en su forma de 16 Kd, la cual podría actuar localmente y reducir el aporte nutricional al tumor y, por lo tanto, su tamaño.

En el presente estudio determinamos que el 17  $\beta$ -estradiol tiene efectos marcados sobre la síntesis y sobre todo la secreción de PRL en las ratas Wistar. Es posible que estos resultados se expliquen en parte por una acción indirecta de los estrógenos al aumentar la influencia estimuladora del hipotálamo. Es sabido que los estrógenos aumentan la concentración del secretagogo TRH en sangre portal ( de Greef, et al, 1985 ) así como el número de receptores a este péptido en los lactotropos ( Sortino, et al, 1989 ).

Datos nuestros en ratas Wistar y Sprague-Dawley ( de éstas no mostrados ) muestran que el estímulo estrogénico tiene un efecto específico sobre el tejido adenohipofisiario ya que en ambas cepas la glándula presenta un comportamiento distinto mientras que el peso corporal lo hace igual : los animales ovariectomizados experimentan un gran aumento en su peso y los estrogenizados aumentan poco. Por otra parte, la administración de Trifluoperazina tiende a aumentar el peso de los animales mientras que la administración de Bromocriptina tiende a disminuirlo. La poca ganancia de peso en animales estrogenizados se puede explicar por el hecho de que los estrógenos tienen efectos estimulatorios sobre el centro de la saciedad - núcleo ventromedial - ubicado en el hipotálamo medio basal. Por otra parte la DA ejerce una importante regulación en el centro del hambre - núcleo lateral, ubicado en la misma zona ( Bray, & Fisler, 1985 ). Así, los animales estrogenizados disminuyen su peso al ser tratados con Bromocriptina posiblemente a causa del reforzamiento del efecto inhibitorio que la DA tiene sobre el centro del hambre ( Bray, et al, 1985 ), mientras que en los animales tratados con Trifluoperazina se estimula el centro del hambre.

## CONCLUSION

Los efectos estrogénicos sobre el tejido adenohipofisiario de las ratas Wistar se acompañan de un tono dopaminérgico funcional que no afecta el crecimiento de la AH aunque si otras funciones adenohipofisiarias como son la síntesis, almacenamiento y secreción de PRL.

## BIBLIOGRAFIA

- Amenomori, Y., Chen, C. L., & Meites, J. (1970). Serum prolactin levels in rats during different reproductive states. *Endocrinology* 86 : 506-510.
- Aono, T. (1988). Prolactinoma and female reproductive function. 407-414. In : K. Hoshino (Ed.), *Prolactin gene family and its receptors* . Elsevier Science Publishers B. V.
- Arita, J., & Kimura, F. ( 1987 ). Direct inhibitory effect of long term estradiol treatment on dopamine synthesis in tuberoinfundibular dopaminergic neurons : *In vitro* studies using hypothalamic slices. *Endocrinology*, 121 ( 2 ) : 692 - 698.
- Arita, J., Kojima, Y., & Kimura, F. ( 1989 ). Enhanced dopamine synthesis and release *in vitro* in the median eminence of rat hypothalamus are associated with involution of estradiol - induced pituitary tumors. *Endocrinology*, 124 ( 4 ) : 1998 - 2004.
- Baker, B. L. ( 1974 ). Functional cytology of the hypophyseal pars distalis and pars intermedia. 45-75. *Handbook of physiology. Section 7 : Endocrinology. Vol. IV The pituitary gland and its neuroendocrine control, part I. American Physiological Society, Washington, D. C.*
- Baulieu, E. E., & Kelly, P. A. ( 1990 ). *Hormones. From molecules to disease.* Hermann Publishers in Arts and Science. 697 pp.
- Ben-Jonathan, N. (1985). Dopamine : A prolactin-inhibiting hormone. *Endocrine Reviews*, 6(4), : 564-589.
- Ben-Jonathan, N., Oliver, C., Weiner, H. J., Mical, R. S., & Porter, J. C. ( 1977 ). Dopamine in hypophysial portal plasma of the rat during the estrous cycle and throughout pregnancy. *Endocrinology*, 100 : 452 - 458.
- Brandi, A. M., Joannidis, S., Peillon, F., & Joubert, D. ( 1990 ). Changes of prolactin response to dopamine during the rat estrous cycle. *Neuroendocrinology*, 51 : 449 - 454.
- Bray, G. A., & Fisler, J. S. ( 1985 ). Integration of energy intake and expenditure : The autonomic and adrenal hypothesis. In : Muller, E. E., MacLeod, R. M., & Frohman, L. A. ( Eds. ). *Neuroendocrine Perspectives, Vol. 4.* Elsevier Science Publishers. 219 - 242.



- Bression, D., Brandi, A. M., Pagesy, P., Le Dafniet, M., Martinet, M., Brailly, S., Michard, M., & Peillon, F. ( 1985 ). *In vitro* and *in vivo* antagonistic regulation by estradiol and progesterone of the rat pituitary doperidone binding sites : Correlation with ovarian steroid regulation of the dopaminergic inhibition of prolactin secretion *in vitro*. *Endocrinology*, 116 : 1905 - 1911.
- Brocas, H., Coevorden, A. V., Seo, H., Refetoff, S., & Vassart, G. ( 1981 ). Dopaminergic control of prolactin mRNA accumulation in the pituitary of the male rat. *Molecular Cell Endocrinology*, 22 : 25 - 30.
- Cassanueva, F., Cocchi, D., Locatelli, V., Flauto, C., Zambotti, F., Bestetti, G., Rossi, G. L., & Muller, E. ( 1982 ). Defective central system dopaminergic function in rats with estrogen - induced pituitary tumors, as assessed by plasma prolactin concentrations. *Endocrinology*, 110 ( 2 ) : 590 - 599.
- Clapp, C. (1984). Regulación de la secreción láctea durante la lactancia en la coneja. Tesis de doctorado en ciencias fisiológicas, Universidad Nacional Autónoma de México. 86 pags.
- Clifton, K. H., & Furth, J. (1961). Changes in hormone sensitivity of pituitary mammotropes during progression from normal to autonomous. *Cancer Research*, 21 : 913-920.
- Clifton, K. H., & Meyer, R. K. (1956). Mechanism of anterior pituitary tumor induction by estrogen. *The Anatomical Record*, 125 : 65-81.
- Cowie, A. T., & Tindal, J. S. ( 1971 ). The physiology of lactation. Arnol E. Publishers. LTD. Londres.
- Cramer, O. M., Parker, C. R., & Porter, J. C. (1979 a). Estrogen inhibition of dopamine release into hypophysial portal blood. *Endocrinology*, 104(2) : 419-422.
- Cramer, O. M., Parker, C. R., & Porter, J. C. (1979 b). Secretion of dopamine into hypophysial portal blood by rats bearing prolactin - secreting tumors or ectopic pituitary glands. *Endocrinology*, 105 ( 3 ) : 636 - 640.
- Cronin, M. J., Cheung, C. Y., Beach, J. E., Faure, N., Goldsmith, P. C., & Weiner, R. I. ( 1980 ). Dopamine receptors on prolactin secreting cells. In : MacLeod, R. M. & Scapagnini, U. ( Eds ). Central and

peripheral regulation of prolactin function. Raven Press, New York. 43 -58.

Cronin, M. J., Cheung, C. Y., Weiner, R. I., & Goldsmith, P. C. (1982). Mammotroph and gonadotroph volume percentage in the rat anterior pituitary after lesion of the medial basal hypothalamus. *Neuroendocrinology*, 34 : 140-147.

Chen, C. L., & Meites, J. (1970). Effects of estrogen and progesterone on serum and pituitary prolactin levels in ovariectomized rats. *Endocrinology*, 86 : 503-505.

Davies, C., Jacobi, J., Lloyd, H. M., & Meares, J. D. (1974). DNA synthesis and the secretion of prolactin and growth hormone by the pituitary gland of the male rat : Effects of diethylstilbestrol and 2-bromo- $\beta$ -ergocryptine methanesulphonate. *Journal of Endocrinology*, 61 : 411-417.

Davis, J. R. E., Selby, C., & Jeffcoate, W. J. (1984). Oral contraceptive agents do not affect serum prolactin in normal women. *Clinical Endocrinology*, 20 : 427-434.

de Greef, W. J., Klootwijk, W., & Karels, B. V., T. J. (1985). Levels of dopamine and thyrotrophin-releasing hormone in hypophysial stalk blood during an oestrogen-stimulated surge of prolactin in the ovariectomized rat. *Journal of Endocrinology*, 105 : 107-112.

Demarest, K., & Moore, K. E. (1980). Accumulation of L-DOPA in the median eminence : an index of tuberoinfundibular dopaminergic nerve activity. *Endocrinology*, 106 : 463-468.

Demarest, K., Riegler, G. D., & Moore, K. E. (1984). Long-Term treatment with estradiol induces reversible alteration in tuberoinfundibular dopaminergic neurons : a decreased responsiveness to prolactin. *Neuroendocrinology*, 39 : 193-200.

Demarest, K., Moore, K. E., & Riegler, G. D. (1985). Adenohypophysial dopamine content and prolactin secretion in the aged male and female rat. *Endocrinology*, 116 : 1316 - 1323.

Demarest, K., Riegler, G. D., & Moore, K. E. (1985). Hypoprolactinemia induced by hypophysectomy and long-term bromocriptine treatment decreases tuberoinfundibular dopaminergic neuronal activity and the responsiveness of the neurons to prolactin. *Neuroendocrinology*, 40 : 369-376.

De Nicola, A. F., Lawzewitsch, I., Kaplan, S. E., & Libertun, C. (1978). Biochemical and ultrastructural studies on estrogen-induced pituitary tumors in F344 rats. *Journal of the National Cancer Institute*, 61 : 753-763.

Denef, C., & Andries, M. (1983). Evidence for paracrine interaction between gonadotrophs and lactotrophs in pituitary cell aggregates. *Endocrinology*, 112 : 813-822.

Denef, C., Baes, M., & Schramme, C. ( 1986 ). Paracrine interactions in the anterior pituitary : role in the regulation of prolactin and growth hormone secretion. 115-148. In : W. Ganong, & L. Martini ( Ed ). *Frontiers in the Neuroendocrinology*. New York. Raven Press.

Döhler, K. D., & Wuttke, W. (1975). Changes with age in levels of serum gonadotropins, prolactin, and gonadal steroids in prepubertal male and female rats. *Endocrinology*, 97 : 898-907.

Eljarmak, D., Marchisio, a. M., Lis, M., & Collu, R. ( 1985 ). Presence of high affinity dopamine receptors in estrone-induced, prolactin-secreting rat pituitary adenomas : A model for human prolactinomas. *Hormone Research*, 21 : 107-116.

Estes, K. S., & Simpkins, J. W. ( 1980 ). Age - related alterations in catecholamine concentratio in discrete preoptic area and hypothalamic regions of the male rat. *Brain Research*, 194 : 556.

Ferrara, N., Clapp., & Weiner, R. I. ( 1991 ). The 16K fragment of prolactin specifically inhibits basal or fibroblast growth factor stimulated growth of capillary endothelial cells. *Endocrinology*, 129 : 896-900.

Franks, S. (1983). Regulation of prolactin secretion by oestrogens: physiological and pathological significance. *Clinical Science*, 65 : 457-462.

Franks, S., & Nabarro, J. D. (1977). Prevalence and presentation of hyperprolactinemia in patients with "functionless" pituitary tumours. *The Lancet*, i : 778-780.

Friesen, H. G., & Vrontakis, M. (1988). The influence of estrogen on pituitary prolactin cell proliferation and gene expression. 389-405 In : K. Hoshino (Ed.), *Prolactin gene family and its receptors*. Elsevier Science Publishers B.V.

- Furth, J., Ueda, G., & Clifton, K. H. (1973). The pathophysiology of pituitaries and their tumors : Methodological advances. 201-277 In : H. Bush (Ed.), Methods in cancer research . New York: Academic Press.
- Gersten, B. E., & Baker, B. L. (1970). Local action of intrahypophyseal implants of estrogen as revealed by staining with peroxidase-labeled antibody. American Journal of Anatomy, 128 : 1-20.
- Gibbs, D. M., & Neill, J. D. ( 1978 ). Dopamine levels in hypophysial stalk blood in the rat are sufficient to inhibit prolactin secretion *in vivo*. Endocrinology, 102 : 1895 - 1900.
- Gonzalez, H. A., & Porter, J. C. ( 1988 ). Mass and in situ activity of tyrosine hydroxylase in the median eminence : Effect of hyperprolactinemia. Endocrinology, 122 ( 5 ) : 2272 - 2277.
- Gooren, L. J. G., Assies, J., Asscheman, H., de Slegte, R., & van Keseel, H. (1988). Estrogen-induced prolactinoma in a man. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 66(2) : 444-446.
- Gottschall, P. E., Sarkar, D. K., & Meites, J. (1986). Persistence of low hypothalamic dopaminergic activity after removal of chronic estrogen treatment. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 181, : 78-86.
- Grosvenor, C. E., Maiweg, H., & Mena, F. (1970). Effect of non-suckling interval on the ability of prolactin to stimulate milk secretion in rats. American Journal of Physiology, 219 : 403-408.
- Gudelsky, G. A., & Porter, J. C. ( 1980 ). Release of dopamine from tuberoinfundibular neurons into pituitary stalk blood after prolactin or haloperidol administration. Endocrinology, 106 ( 2 ) : 526 - 529.
- Gudelsky, G. A., Nansel, D. D., & Porter, J. C. ( 1981 a ). Role of estrogen in the dopaminergic control of prolactin secretion. Endocrinology, 108 : 440 -444.
- Gudelsky, G. A., Nansel, D. D., & Porter, J. C. ( 1981 b ). Dopaminergic control of prolactin secretion in the aging male rat. Brain Research, 204 : 446.
- Guyton, A. C. (1988). Tratado de fisiología médica. Interamericana. McGraw-Hill, Barcelona (7 ed.).

- Hafez, E. S. (1970). Reproduction and breeding. Techniques for laboratory animals . Lea & Febiger, Philadelphia
- Handa, R. J., & Rodriguez, E. W. ( 1991 ). A characterization of estrogen's influence on anterior pituitary androgen receptor : Effect of bromocriptine treatment. Neuroendocrinology, 53 : 12 - 19.
- Harkness, J. E., & Wagner, J. E. (1977). The biology and medicine of rabbits and rodents. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Heiman, M. L., & Ben - Jonathan, N. ( 1982 a ). Dopaminergic receptors in the rat anterior pituitary change during the estrous cycle. Endocrinology, 111 : 37 - 41.
- Heiman, M. L., & Ben - Jonathan, N. ( 1982 b ). Rat anterior pituitary dopaminergic receptors are regulated by estradiol and during lactation. Endocrinology, 111 : 1957 -1060.
- Holtzman, S., Stone, J. P., & Shellabarger, C. J. (1979). Influence of diethylstilbestrol treatment on prolactin cells of female ACI and Sprague-Dawley rats. Cancer Research, 39 : 779-784.
- Houben, H., & Denef, C. ( 1990 ). Regulatory peptides produced in the anterior pituitary. Trends in Endocrinology and Metabolism, 1 ( 8 ) : 398 - 403.
- Huang, H., Marshall, S., & Meites, J. (1976). Capacity of old versus young female rats to secrete LH, FSH and prolactin. Biology of Reproduction, 14 : 538-543.
- Ito, A. (1976). Animal model of human disease. American Journal of Pathology, 83 : 423-424.
- Ito, A., Martin, J. M., Grindeland, R. E., Takizawa, S., & Furth, J. (1971). Mammotropic and somatotropic hormones in sera of normal rats and in rats bearing primary and grafted pituitary tumors. The Institute of Journal of Cancer, 7, : 416-429.
- Ito, A., Moy, P., Kaunitz, H., Kortwright, K., Clarke, S., Furth, J., & Meites, J. (1972). Incidence and character of the spontaneous pituitary tumors in strain CR and W/Fu male rats. Journal of the National Institute, 49 : 701-711.

Jordan, V. C., Koerner, S., & Robison, C. (1975). Inhibition of oestrogen-stimulated prolactin release by anti-oestrogens. *Journal of Endocrinology*, 65: 151-152.

Ju, G., Liu, S-J., & Zhang, X. ( 1991 ). Peptidergic innervation of the pars distalis of the adenohypophysis. *Neuroendocrinology*, 53 ( suppl 1 ) : 41-44.

Kannan, C. R. (1987). *The pituitary gland. Clinical surveys in endocrinology* . Plenum Publishing Corporation, New York.

Kaplan, S. E., & De Nicola, A. F. (1976). Protein and RNA synthesis in pituitary tumors from F344 rats given implants of estrogen. *Journal of the National Cancer Institute*, 56, : 37-42.

Kovacs, K., & Horvath, E. (1985). Morphology of adenohypophyseal cells and pituitary adenomas. 25-55 In : H. Imura (Ed.), *The pituitary gland* . New York: Raven Press.

Kovacs, K., Ilse, G., Ryan, N., McComb, D. J., Horvath, E., Chen, H. J., & Walfish, P. G. (1980). Pituitary prolactin cell hyperplasia. *Hormone Research*, 12 : 87-95.

Kukstas, L. A., Domec, C., Bascles, L., Bonnet, J., Verrier, D., Israel, J. M., & Vincent, J. D. ( 1991 ). Different expression of the two dopaminergic D 2 receptor, D2/415 and D2/444, in two types of lactotroph each characterised by their response to dopamine, and modification of expression by sex steroids. *Endocrinology*, 129 : 1101 - 1103.

Lamberts, S. W., & Thorner, M. O. (1985). Etiology of prolactinomas : An overview. 703-704 In : R. M. MacLeod, M. O. Thorner, & U. Scapagnini (Ed.), *Prolactin. Basic and clinical correlates*. Padova: Liviana Press.

Lamberts, S. W. J., & MacLeod, R. M. (1990). Regulation of prolactin secretion at the level of the lactotroph. *Physiological Reviews*, 70 (2) : 279-318.

Landers, J. P., & Spelsberg, T. C. (1992). New concepts in steroid hormone action : Transcription factors, pro-oncogenes, and the cascade model for steroid regulation of gene expression. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, 2 (1) : 19-63.

- Lee, A. E. (1972). Cell division and DNA synthesis in the mouse uterus during continuous oestrogen treatment. *Journal of Endocrinology*, 55 : 507-513.
- Lee, A. K., DeLellis, R. A., Blount, M., Nunnemacher, G., & Wolfe, H. J. (1982). Pituitary proliferative lesions in aging male Long-Evans rats. *Laboratory Investigation*, 47(6) : 595-602.
- Leong, D. A., Frawley, L. S., & Neill, J. D. (1983). Neuroendocrine control of prolactin secretion. *The Annual Review of Physiology*, 45 : 109-127.
- Lieberman, M. E., Maurer, R. A., Claude, P., & Gorski, J. (1982). Prolactin synthesis in primary cultures of pituitary cells : Regulation by estradiol. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 25 : 277-294.
- Lofstrom, A., Eneroth, P., Gustafsson, J. A., & Skett, P. ( 1977 ). Effects of estradiol benzoate on catecholamine levels and turnover in discrete areas of the median eminence and the limbic forebrain, and on serum luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and prolactin concentrations in the ovariectomized female rat. *Endocrinology*, 101 : 1559 - 1569.
- Lloyd, H. M., Meares, J. D., & Jacobi, J. (1975). Effects of oestrogen and bromocryptine on *in vivo* secretion and mitosis in prolactin cells. *Nature*, 255 : 497-498.
- Lloyd, R. V. (1983). Estrogen-induced hyperplasia and neoplasia in the rat anterior pituitary gland. *American Journal of Pathology*, 113 : 198-206.
- Lloyd, R. V., Cano, M., & Landefeld, T. D. (1988). The effects of estrogens on tumor growth and on prolactin and growth hormone mRNA expression in rat pituitary tissues. *American Journal of Pathology*, 133 : 397-406.
- Lloyd, R. V., Coleman, K., Fields, K., & Nath, V. (1987). Analysis of prolactin and growth hormone production in hyperplastic and neoplastic rat pituitary tissues by hemolytic plaque assay. *Cancer Research*, 47, :1087-1092.
- MacLeod, R. M. (1982). Monoaminas hipotalámicas y secreción de hormonas hipofisarias en condiciones normales y patológicas. 103-134 In : C. Valverde, G. Fanghanel, & F. Mena (Ed.), *Nuevos*

conceptos sobre fisiología y patología hipotálamo-hipofisiaria . México, D. F.: CONACyT.

Martin, C. R. (1985). Endocrine physiology . Oxford University Press, USA.

Martínez de la Escalera, G. (1984). Estudio del proceso de secreción de prolactina y su regulación en la rata lactante. Tesis de doctorado en ciencias fisiológicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Martínez de la Escalera, G., Guthrie, J., & Weiner, R. I. (1988). Transient removal of dopamine potentiates the stimulation of prolactin release by TRH but not VIP : Stimulation via Ca <sup>+</sup>/protein kinase C pathway. Neuroendocrinology, 47 : 38-45.

Martínez de la Escalera, G., & Weiner, R. I. (1988). Mechanism (s) by which the transient removal of dopamine regulation potentiates the prolactin-releasing action of thyrotropin-releasing hormone. Neuroendocrinology, 47 : 186-193.

Martínez de la Escalera, G., Hernández, M. E., & Ponzanelli, J. ( 1993 ). Transmisión de señales por suspensión física de mensajes tónicos. En : Comunicación Neuroendócrina. Bases Celulares y Moleculares. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A. C. - CONACyT. México, D. F. 219-238.

Maurer, R. A. ( 1980 ). Dopaminergic inhibition of prolactin synthesis and prolactin messenger RNA accumulation in cultured pituitary cells. Journal of Biological Biochemistry, 255 ( 17 ) : 8092 - 8097.

Maurer, R. A. ( 1981 ). Transcriptional regulation of the prolactin gene by ergocryptine and cyclic AMP. Nature, 294 : 94 - 97.

Maurer, R. A. (1982 a ). Estradiol regulates the transcription of the prolactin gene. The Journal of Biological Chemistry, 257(5) : 2133-2136.

Maurer, R. A. ( 1982 b ). Relationship between estradiol, ergocryptine, and thyroid hormone : Effects on prolactin synthesis and prolactin messenger ribonucleic acid levels. Endocrinology, 110 : 1515 - 1520.



- Maurer, R. A., & Gorski, J. (1977). Effects of estradiol-17 $\beta$  and pimozone on prolactin synthesis in male and female rats. *Endocrinology*, 101 : 76-84.
- Meites, J. (1988). Biological functions of prolactin in mammals. 123-130 In : K. Hoshino (Ed.), *Prolactin gene family and its receptors*. Elsevier Science Publishers B. V.
- Miller, W. L., & Eberhardt, N. L. ( 1983 ). Structure and evolution of the growth hormone gene family. *Endocrine Reviews*, 4 ( 2 ) : 97 -130.
- Munemura, M., Agui, T., & Sibley, D. R. ( 1989 ). Chronic estrogen treatment promotes a functional uncoupling of the D<sub>2</sub> dopamine receptor in rat anterior pituitary gland. *Endocrinology*, 124 : 346 - 355.
- Nagy, G., Mulchahey, J. F. & Neill, J. D. ( 1988 ). Autocrine control of prolactin secretion by vasoactive intestinal peptide. *Endocrinology*, 122 : 364-366.
- Nakagawa, K., Obara, T., & Tashiro, K. (1980). Pituitary hormones and prolactin-releasing activity in rats with primary estrogen-induced pituitary tumors. *Endocrinology*, 106 : 1033-1039.
- Nansel, D. D., Gudelsky, G. A., Reymond, M. J., & Potter, J. C. ( 1981 ). Estrogen alters the responsiveness of the anterior pituitary gland to the actions of dopamine on lysosomal enzyme activity and prolactin release. *Endocrinology*, 108 : 903 -907.
- Neill, J. D., Freeman, M. E., & Tillson, S. A. (1971). Control of the proestrus surge of prolactin and luteinizing hormone secretion by estrogens in the rat. *Endocrinology*, 89 : 1448-1453.
- Nicoll, C. S. (1974). Physiological actions of prolactin. 253-292 In : E. Knobil, & W. H. Sawyer (Ed.), *Handbook of physiology* . Washington, D. C.: American Physiological Society.
- Niwa, J., Minase, T., Hashi, K., & Mori, M. (1987). Immunohistochemical, electron microscopic and morphometric studies of estrogen-induced rat prolactinomas after bromocriptine treatment. *Virchows Archiv B*, 53 : 89-96.
- Osamura, R. Y., & Watanabe, K. (1986). Ultrastructural localization of prolactin in estrogen-induced prolactinoma of the rat pituitary. *Acta of Pathology Japan*, 36(8) : 1131-1137.

Paden, C. M., Moffett, C. W., & Benowitz, L. I. ( 1994 ). Innervation of the rat anterior and neurointermediate pituitary visualized by immunocytochemistry for the growth-associated protein GAP-43. *Endocrinology*, 134 ( 1 ) : 503 - 506.

Page, R. B. ( 1994 ). The anatomy of the hypothalamo-hypophysial complex. 1527-1619. In : E. Knobil, & J. D. Neill ( Ed ). *The Physiology of Reproduction*. Second edition. New York. Raven Press.

Pasqualini, C., Lenoir, V., El Abed, A., & Kerdelhué, B. ( 1984 ). Anterior pituitary dopamine receptors during the rat estrous cycle. *Neuroendocrinology*, 38 : 39 - 44.

Peillon, F., Joubert, D., Le Dafniet, M., Pagesy, P., Brandi, A., Bayet, .. & Li, J. ( 1992 ). Communication between human anterior pituitary cell. 111-114. In : R. Mornex., C. Jaffiol, & J. Leclère ( Ed ). *Progress in endocrinology. The proceedings of the ninth international congress of endocrinology*. Nice.

Pellegrini, I., Gunz, G., Ronin, C., Fenouillet, E., Peyrat, J. P., Delori, P., & Jaquet, P. (1988). Polymorphism of prolactin secreted by human prolactinoma cells : Immunological, receptor binding, and biological properties of the glycosylated and nonglycosylated forms. *Endocrinology*, 122(6) : 2667-2674.

Pérez-Enríquez, B., & Valverde-R, C. ( 1982 ). Aspectos embriogénicos y morfofuncionales.17 - 38. En : C. Valverde, G. Fanghanel, & F. Mena (Ed.), *Nuevos conceptos sobre fisiología y patología hipotálamo-hipofisiaria*. México, D. F.: CONACyT.

Pilotte, N. S., Burt, D. R., & Barraclough, C. A. ( 1984 ). Ovarian steroids modulate the release of dopamine into hypophysial portal blood and density of anterior pituitary [ <sup>3</sup> H ] spiperone - Binding sites in ovariectomized rats. *Endocrinology*, 114 ( 6 ) : 2306 - 2311.

Plostky, P. M., Gibbs, D. M., & Neill, J. D. ( 1978 ). Chromatographic electrochemical measurement of dopamine in the hypophysial stalk blood of rats. *Endocrinology*, 102 N° 1887-1894.

Polak, J. M., Steel, J. H., Hamid, Q., Van Noorden, S., Jones, P., Denny, P., Legon, S., & Bloom, S. R. (1988). *Dynamic endocrinology of the pituitary gland : A study of prolactin gene expression in immature, pregnant, lactating, ovariectomised and*

- thyroidectomised rats using in situ hybridisation and immunocytochemistry. 327-334 In : K. Hoshino (Ed.), Prolactin gene family and its receptors . Elsevier Science Publishers B. V.
- Ponzanelli, V. J. ( 1991 ). Regulación del crecimiento tumoral adenohipofisiario en distintas cepas de rata por estrógenos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Raymond, V., Beaulieu, M., & Labrie, F. ( 1978 ). Potent antidopaminergic activity of estradiol at the pituitary level on prolactin Release. *Science*, 200 : 1173 - 1175.
- Sar, M. ( 1984 ). Estradiol is concentrated in tyrosine hydroxylase - containing neurons in the hypothalamus. *Science*, 223 : 938 - 940.
- Selmanoff, M. (1985). Rapid effects of hyperprolactinemia on basal prolactin secretion and dopamine turnover in the medial and lateral median eminence. *Endocrinology*, 116(5) :1943-1952.
- Sherman, B. M., Harris, C. E., Schlechte, J., Duello, T. M., Halmi, N. S., van Gilder, J., Chapler, F. K., & Gvanner, D. K. (1978). Pathogenesis of prolactin-secreting pituitary adenomas. *The Lancet*, ii : 1019-1021.
- Sherman, R. P., & Fraser, I. S. (1977). Impact of new diagnostic methods on the differential diagnosis and treatment of secondary amenorrhoea. *The Lancet*, i : 1195-1197.
- Shimokawa, N., Hattori, M., Imai, K., Kato, Y., & Wakabayashi, K. (1988). Prolactin synthesis and secretion during rat estrous cycle and in separated mammatrophs. 251-254 In : K. Hoshino (Ed.), Prolactin gene family and its receptors. Elsevier Science Publishers B. V.
- Shull, J. D., & Gorski, J. (1986). The hormonal regulation of prolactin gene expression : An examination of mechanisms controlling prolactin synthesis and the possible relationship of estrogen to these mechanisms. *Vitamins and Hormones*, 43 : 197-249.
- Shy, K. K., McTiernan, A. M., Daling, J. R., & Weiss, N. S. (1983). Oral contraceptive use and the occurrence of pituitary prolactinoma. *Journal of American Medicine Association*, 249(16) : 2204-2207.

Simpkins, J. W., & Gabriel, S. M. (1984). Chronic hyperprolactinemia causes progressive changes in hypothalamic dopaminergic and noradrenergic neurons. *Brain Research Elsevier*, 309 : 277-282.

Sirbasku, D. A. (1978). Estrogen induction of growth factors specific for hormone-responsive mammary, pituitary, and kidney tumor cells. *Proceedings of the National Academic of Sciences USA*, 75(8) : 3786-3790.

Smythe, G. A., & Brandstater, J. F. ( 1980 ). Oestrogen - induced hyperprolactinemia in the rat : Reduced concentrations of hypothalamic dopamine and the effects of bromocriptine. *Austrian Journal of Biological Science*, 33 : 329 - 339.

Sortino, M. A., & Wise, P. M. (1989). Effects of age and long term ovariectomy on prolactin secretion, as assessed by the reverse hemolytic plaque assay. *Endocrinology*, 124 : 90-96.

Stanley, H. F., Curtis, A., Sheward, W. J., Roberts, J. L., & Fink, G. (1986). Prolactin messenger ribonucleic acid levels in the normal and hypogonadal mouse pituitary gland. *Endocrinology*, 119 : 2422-2426.

Stone, J. P., Holtzman, S., & Shellabarger, J. (1979). Neoplastic responses and correlated plasma prolactin levels in diethylstilbestrol-treated ACI and Sprague-Dawley rats. *Cancer Research*, 39 : 773-778.

Thorner, M. O. (1982). Hipersecreción de prolactina. 179-204 En : C. Valverde, G. Fanghanel, & F. Mena (Ed.), *Nuevos conceptos sobre fisiología y patología hipotálamo-hipofisiaria*. México, D. F.: CONACyT.

Trouillas, J., Girod, C., Claustrat, B., Curé, M., & Dubois, M. P. (1982). Spontaneous pituitary tumors in the Wistar/Furth/lco rat strain. *American Journal of Pathology*, 109 : 57-70.

Tucker, H. A. (1988). Lactation and its hormonal control. 2235-2264 In : E. Knobil, & J. D. Neill (Ed.), *The physiology of reproduction*. New York: Raven Press.

Vankelecom, H., Carmeliet, P., Vandamme, J., Biliau, A., & Deneef, C. ( 1989 ). Production of interleukin-6 by folliculo-stellate cells of the anterior pituitary gland in a histiotypic cell aggregate culture system. *Neuroendocrinology*, 49 : 102

- Vertosick, F. T. (1985). Role of defective dopaminergic inhibition of prolactin secretion in the pathogenesis of prolactinoma. *Neurosurgery*, 16(2) : 261-266.
- Weber, J., & McClure, M. (1987). Oncogenes and cancer. *British Medical Journal*, 294 : 1246-1248.
- Weiner, R., Findell, P., Ferrara, N., Clapp, C., & Schechter, J. (1988). Arteriogenesis and the etiology of prolactinomas. 559-566 In : H. Imura (Ed.), *Progress in endocrinology*. Elsevier Science Publishers B. V.
- Weiner, R. I., Elias, K. A., & Monnet, F. (1985). The role of vascular changes in the etiology of prolactin secreting anterior pituitary tumors. 641-653 In : R. M. MacLeod, M. O. Thoner, & U. Scapagnini (Ed.), *Prolactin. Basic and clinical correlates*. Padova: Liviana Press.
- Weisz, A., Cicatiello, L., Persico, E., Scalona, & Bresciani, F. (1990). Estrogen stimulates transcription of c - jun protooncogene. *Molecular Endocrinology*, 4 : 1041-1050.
- West, B., & Dannies, P. S. (1980). Effects of estradiol on prolactin production and dihydroergocryptine-induced inhibition of prolactin production in primary cultures of rat pituitary cells. *Endocrinology*, 106(4) : 1108-1113.
- Wiesel, F. A., Fuxe, K., Hokfelt, T., & Agnati, L. F. (1978). Studies on dopamine turnover in ovariectomized or hypophysectomized-female rats. Effects of 17  $\beta$ -estradiol benzoate, ethynodioldiacetate and ovine prolactin. *Brain Research*, 148 : 399-411.
- Wiklund, J., & Gorski, J. (1982). Genetic differences in estrogen-induced deoxyribonucleic acid synthesis in the rat pituitary: correlations with pituitary tumor susceptibility. *Endocrinology*, 111 : 1140-1149.
- Wiklund, J., Wertz, N., & Gorski, J. (1981). A comparison of estrogen effects on uterine and pituitary growth and prolactin synthesis in F344 and Holtzman rats. *Endocrinology*, 109 : 1700-1707.
- Wilson, J. D., & Foster, D. W. (1985). *Textbook of endocrinology* (7 ed.). W. B. Saunders Company, Philadelphia

Willis, R. A. (1948). Pathology of tumours . London Butterworth Publishers LTD, London.

Wise, P. M., Rance, N., & Barraclough, C. A. ( 1981 ). Effects of estradiol and progesterone on catecholamine turnover rates in discrete hypothalamic regions in ovariectomized rats. *Endocrinology*, 108 : 2186 - 2193.

Yamamoto, N., Seo, H., Suganuma, N., Matsui, N., Nakane, T., Kuwayama, A., & Kageyama, N. (1986). Effect of estrogen on prolactin mRNA in the rat pituitary. *Neuroendocrinology*, 42 : 494-497.