

# ESTUDIO INMUNOCITOQUIMICO DE LAS HORMONAS DE LA ADENOHIPOFISIS HUMANA

## II. HORMONA PROLACTINA

G. ESCOVAR, H. HANSSEN, G. URIBE

**Se describe la detección inmunocitoquímica de la hormona prolactina a nivel de la *pars distalis* de la adenohipófisis humana por intermedio del método de peroxidasa antiperoxidasa aplicado a tejidos de pituitarias obtenidas en autopsias o en procedimientos quirúrgicos. Se estudian las características histoquímicas de las células de prolactina y su ultraestructura. Finalmente, se discute el significado de este procedimiento en el diagnóstico y diferenciación de adenomas de la pituitaria y se señalan los mecanismos de acción de esta hormona a nivel subcelular y su papel en la lactación.**

### INTRODUCCION

La prolactina es una hormona hipofisiaria simple que promueve el desarrollo de la glándula mamaria y la lactación (1). También, se le ha comprobado participación en el mantenimiento del cuerpo lúteo en los roedores y por lo cual fue llamada con anterioridad hormona luteotropina (2). En la pituitaria de numerosas especies animales (roedores y gatos entre otros), las células productoras de prolactina cuando se tiñen con azocarmina y naranja G, se revelan como células acidófilas siendo predominantes las células de tipo carmín cuando la secreción de prolactina está incrementada. En los humanos las células generadoras de prolactina que se encuentran en "descanso", únicamente pueden ser diferenciadas por métodos inmunocitoquímicos; mientras que las células de prolactina hipertróficas, hiperplásicas o hiperreactivas pueden hasta cierto grado distinguirse sin la utilización de estos métodos (3). Está bien demostrado que los tumores de la glándula pituitaria humana que se originan en células productoras de prolactina (prolactinomas) pueden

---

Dra. Genarina Escovar V.: Profesora Asistente, Departamento de Morfología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia; actualmente en entrenamiento: Department of Pathology, M.D. Anderson Hospital and Tumor Research Institute, Texas Medical Center, Houston, Texas, E.U.A.; Dr. Henry Hanssen V.: Profesor Asociado, Departamento de Microbiología y Parasitología, Sección de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia; actualmente en entrenamiento: Department of Virology, Baylor College of Medicine, Texas Medical Center, Houston, Texas, E.U.A.; Dr. Gonzalo Uribe Botero: Profesor Asistente, Department of Pathology, Baylor College of Medicine, Texas Medical Center; Staff Pathologist, Veterans Administration Hospital, Texas Medical Center, Houston, Texas, E.U.A.

Solicitud de separatas al Dr. Hanssen.

estimular la galactorrea no asociada con lactación postparto (4). También existe evidencia que sugiere que ciertos adenomas no funcionales de la hipófisis humana, los cuales se han clasificado como adenomas de tipo cromóforo, con frecuencia son inmunorreactivos con antisuero antiprolactina y ultraestructuralmente se han podido identificar como esencialmente compuestos de células de prolactina. Los niveles de prolactina en sangre de estos pacientes están elevados pero usualmente no presentan ningún otro signo clínico (5).

**Estructura y propiedades inmunoquímicas de la prolactina.** Los lactotrofos generan una proteína con un peso molecular de 25.000, variando el tamaño real de la cadena de aminoácidos de prolactina, de especie a especie (6). La estructura química de la hormona prolactina es muy similar a la estructura de la hormona del crecimiento, la cual también se ha considerado como lactotrófica. Las diferencias en la estructura molecular se basan en el número de puentes disulfuro establecidos en la unión de dos aminoácidos cisterna. La hormona prolactina posee tres puentes de azufre y carece de la configuración en forma de asa en su posición amido terminal, la cual sí está presente en la hormona del crecimiento (7). A pesar de la estrecha semejanza en la configuración química, estas dos hormonas poseen diferencias relevantes en la distribución de sus determinantes antigénicos, lo cual permite su diferenciación e identificación en la adenohipófisis.

**Histoquímica de los lactotrofos.** Los lactotrofos se han considerado como células acidófilas en la literatura clásica y se denominan como células et<sup>a</sup> ( ) en la clasificación de Romeis (8). Son células negativas con la coloración de ácido periódico de Schiff (PAS), se tiñen débilmente con el colorante naranja G, pero son fuertemente positivas a la eritrosina hasta el punto de haberseles considerado como células eritrosinofílicas (9).

El presente estudio tiene como objetivo la identificación histoquímica e inmunocitoquímica de la hormona prolactina en la adenohipófisis humana.

## MATERIAL Y METODOS

**Obtención y preparación de tejidos.** Se obtuvieron tejidos adenohipofisarios de cinco casos quirúrgicos con sospecha de adenoma de la pituitaria. Adicionalmente se seleccionaron cinco pituitarias de autopsias sin patología tumoral o alteraciones de origen endocrino, las cuales fueron evaluadas como normales en estudios histológicos de hematoxilina-eosina. Las edades de los pacientes de todos los casos estudiados estuvieron comprendidas entre un rango de 20 a 50 años de edad. Los tejidos fueron embebidos en parafina, realizándose cortes histológicos de 4 mieras de espesor.

**Reacciones histoquímicas e inmunocitoquímicas.** En todos los casos estudiados se realizaron coloraciones de hematoxilina-eosina y eritrosina (10), como también el método de peroxidasa antiperoxidasa (PAP) (11), ampliamente descrito por Escovar et al. (12). El procedimiento inmunocitoquímico fue realizado utilizando consecutivamente los siguientes antisueros: suero de conejo antihormona prolactina humana (Calbiochem-Behring Corp., CA, E.U.A.); IgG de cabra anticonejo (Cappel Lab., PA, E.U.A.) y suero de conejo peroxidasa antiperoxidasa (Cappel Lab.).

La peroxidasa endógena presente en los tejidos fue removida previa realización del método PAP, utilizando metanol absoluto y peróxido de hidrógeno al 0,3% (13). Con el fin de asegurar la especificidad de la reacción PAP, fueron utilizados los siguientes controles, en la detección de la hormona prolactina en las células adenohipofisarias: 1) sustitución del primer antisuero por suero preinmune; y, 2) adsorción del suero antiprolactina con la hor-

mona prolactina (Calbiochem-Behring Corp.) (12), realizándose posteriormente el método PAP con el antisuero adsorbido.

Los resultados de las reacciones histoquímicas e inmunocitoquímicas fueron observadas con microscopía de luz, empleándose película Ektachrome, ET 135-20 tungsteno (Eastman Kodak, N.Y.) para las fotografías.

Se utilizó además del método PAP, el procedimiento de inmunofluorescencia aplicado a tejido de adenohipófisis en cortes de parafina, según método de Qualman et al. (13), descrito por Escovar et al. (12). En su aplicación fueron utilizados los siguientes antisueros: suero de conejo anti-prolactina humana (Calbiochem-Behring Corp., CA, E.U.A.); IgG de cabra anti-conejo conjugada con fluoresceína (Dako Lab., N.Y., E.U.A.). Las láminas fueron montadas en elvanol, examinadas con microscopio de fluorescencia y fotografiadas con película Ektachrome ASA 400 (EL-135-66, Kodak; revelado especial ES-P<sub>1</sub>).

**Preparación del material para microscopía electrónica.** Segmentos de adenohipófisis fijados en solución de glutaraldehído al 2,5% durante 2 horas, fueron posteriormente procesados según el método descrito por Escovar et al. (12). Las secciones ultrafinas fueron teñidas con solución saturada de acetato de uranilo y citrato de plomo. Se utilizó para el estudio de ultraestructuras un microscopio Philips, modelo 301.

## RESULTADOS

**Hallazgos histoquímicos e inmunocitoquímicos.** El uso del colorante naranja G-eritrosina permite diferenciar las células productoras de prolactina de las células acidófilas que producen hormona del crecimiento, debido a que las primeras toman un color rojo fuerte en el citoplasma, mientras que las segundas se tiñen de

color naranja (12). Sin embargo, este tipo de reacción sólo detecta células que contienen gran cantidad de hormona citoplasmática.

Mediante el uso del método inmunocitoquímico de peroxidasa antiperoxidasa (PAP) fue posible detectar la hormona prolactina tanto en células con gran concentración de la hormona, como en células que contienen poco almacenamiento de la misma. Este procedimiento permitió distinguir dos tipos celulares asociados con la producción de prolactina. Uno de los tipos corresponde a células grandes poliédricas o elongadas, densamente granuladas, situadas sin preferencia especial en la *pars distalis* (Figura 1).

La otra forma de células productoras de prolactina corresponde a células pequeñas o de tamaño medio, angulares o elongadas con abundantes procesos citoplasmáticos y con frecuencia se pueden encontrar formando grupos (Figura 2). Aparentemente este último tipo de células se encuentra ampliamente distribuido en el lóbulo anterior de la adenohipófisis siendo más numerosas en los bordes posterolaterales de la *pars distalis*. Estas células se han descrito como células en estado de síntesis activa (14).

Dos de los adenomas estudiados fueron inmunorreactivos en la detección de

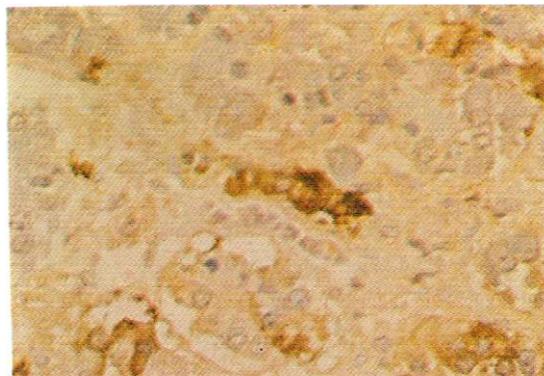
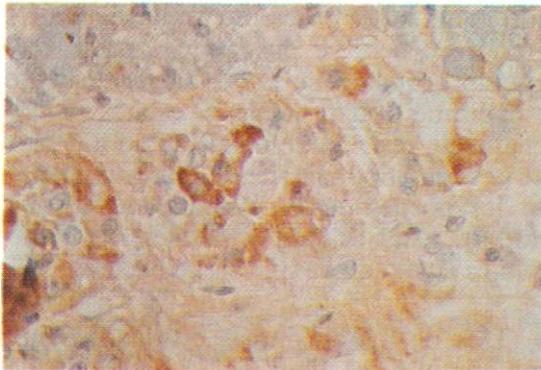
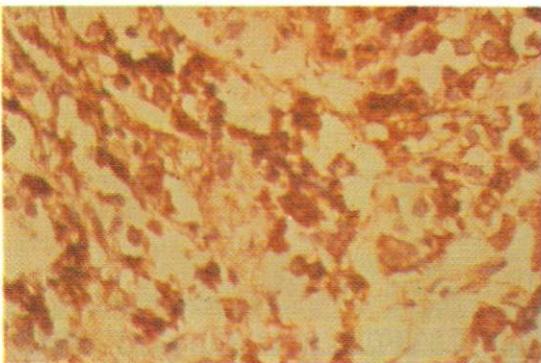


Figura 1. Reacción inmunocitoquímica PAP positiva para la hormona prolactina en células de adenohipófisis humana. Nótese la morfología celular poliédrica o elongada.

hormona prolactina. Uno de estos adenomas se consideró un prolactinoma puro, ya que la inmunorreacción realizada posteriormente para detectar otras hormonas adenohipofisarias tales como hormona adrenocorticotrópica (ACTH), hormona del crecimiento (GH), hormonas luteotrópicas (FSH, LH) resultó negativa. El otro adenoma estudiado, además de resultar inmunorreactivo para la hormona prolactina, fue también positivo en su producción de la hormona del crecimiento. La Figura 3 ilustra la reacción PAP positiva en un caso de prolactinoma puro en una adenohipófisis humana. La aplicación del método de inmunofluorescencia indirecta aplicada a tejidos en parafina permitió la detección de la hormona prolactina en los casos estudiados, sin embargo, este método comparado con el método PAP, no



**Figura 2.** Reacción PAP positiva para la hormona prolactina en células de adenohipófisis humana. Nótese la morfología celular angular con procesos citoplasmáticos o redonda.

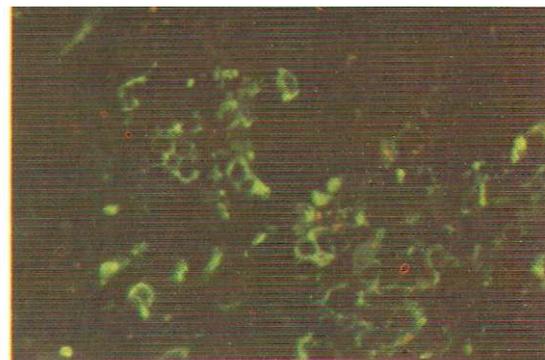


**Figura 3.** Reacción PAP fuertemente positiva en la detección de prolactina en un prolactinoma en adenohipófisis humana.

permite una visualización nítida de los elementos celulares como para establecer diferencias morfológicas de una célula a otra. La Figura 4 ilustra la reacción de inmunofluorescencia positiva en el citoplasma de células productoras de hormona prolactina.

Se obtuvieron reacciones negativas cuando se realizó la sustitución del primer antisuero por suero preinmune, o al realizarse adsorción del suero antiprolactina con la hormona prolactina, tanto en la prueba de PAP como en la prueba de inmunofluorescencia indirecta.

En los humanos, los lactotrofos presentan gránulos secretorios citoplasmáticos electrodensos, pleomórficos, con los diámetros más grandes de todas las células adenohipofisarias (600-900 nm aun cuando algunos gránulos pueden alcanzar diámetros mayores, hasta de 1.200 nm). En la fase de reposo celular, el retículo endoplásmico se encuentra moderadamente desarrollado y organizado en cisternas paralelas con abundantes ribosomas. Las mitocondrias son esféricas con criptas laminares y matriz finamente granular. Durante la lactación, las células lactotrópicas son más prominentes y el aparato de Golgi se encuentra bien desarrollado y en posición yuxtannuclear, consistiendo en un complejo de cisternas dispuestas en niveles concéntricos, siendo las más exter-



**Figura 4.** Reacción de inmunofluorescencia positiva para la hormona prolactina en células de adenohipófisis humana.

nas de forma vacuolar. El núcleo es generalmente esférico u oval con un contorno ligeramente irregular. La cromatina es finamente granular con agregados de heterocromatina. El nucléolo es prominente y electrodens. La Figura 5, ilustra varios de estos hallazgos ultraestructurales en una célula de prolactina en la adenohipófisis humana.

### DISCUSION

Las células productoras de prolactina constituyen cerca del 15 al 25% de las células de la adenohipófisis. Se encuentran distribuidas al azar a lo largo de la *par distalis* aunque son más notorias y numerosas en los puentes posterolaterales cerca al lóbulo posterior. Mediante el uso del método inmunocitoquímico de peroxidasa antiperoxidasa (PAP) ha sido posible en el presente estudio identificar específicamente

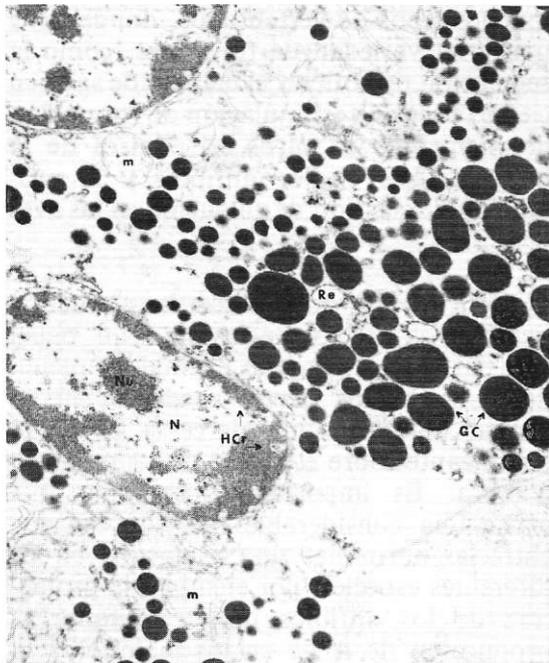


Figura 5. Hallazgos ultraestructurales en una célula productora de hormona prolactina en la adenohipófisis humana. Nótese: gránulos citoplasmáticos (GC) grandes, retículo endoplásmico (Re), mitocondrias (m), núcleo (N), nucléolo (Nu), heterocromatina (HCr).

las células productoras de hormona prolactina, distinguiéndolas de las células acidófilas productoras de la hormona del crecimiento. Además y de acuerdo con lo encontrado por otros autores (15-17), fue posible la identificación de dos tipos celulares relacionados con la producción de la hormona prolactina, los cuales parecen tener asociación con los estados de síntesis celular activa. La aplicación del método de inmunofluorescencia en la detección de la hormona prolactina en los casos estudiados permitió la localización de la hormona a nivel intracitoplasmático; sin embargo, al compararse estos hallazgos con los obtenidos mediante el método PAP, se debe anotar que este último permite una visualización más nítida de todos los elementos celulares en el tejido siendo más fácil establecer diferencias morfológicas de una célula inmunorreactiva a otra.

Es importante reconocer que las células productoras de prolactina presentan cambios notorios bajo diferentes condiciones fisiológicas y patológicas. En la adenohipófisis del feto y del recién nacido, las células de prolactina son numerosas presumiblemente debido al efecto estimulante de los estrógenos maternos (18). Con la cesación del efecto estrogénico, el número de células de prolactina decrece y permanece bajo durante la infancia. En las hembras un profundo incremento del número de lactotrofos es de nuevo aparente durante el embarazo y la lactación. Estos cambios representan una verdadera hiperplasia.

Existe evidencia de que algunas drogas, por ejemplo, los agonistas dopaminérgicos, los antagonistas dopaminérgicos, la reserpina y la clorpromazina, causan cambios en la secreción de prolactina y en la morfología de las células secretorias. Se ha estudiado también que el número de células inmunorreactivas con el antisero antiprolactina no es significativamente diferente entre el hombre y la mujer. Tampoco se ha podido evidenciar una dis-

minución de los lactotrofos en la senectud (19).

Los tumores que secretan prolactina son los más comunes entre los tumores de la pituitaria; esta afirmación parece ser válida para ambos sexos. Los prolactinomas en la mujer usualmente se presentan con amenorreas o galactorrea o ambas y se encuentran asociados con una elevación moderada de los niveles de prolactina (50-200 ng/ml) en la sangre (20). Las craneografías usualmente se interpretan como normales y anormalidades tales como erosión o ensanchamiento de la silla turca sólo son demostrables mediante tomografía computadorizada. En contraste con la mujer, los prolactinomas del hombre son considerablemente de gran tamaño al tiempo de su presentación y son detectables por diagnóstico radiológico (21).

En tumores de la pituitaria considerados como adenomas cromóforos, se ha podido demostrar inmunocitoquímicamente que son secretores de hormona prolactina. La dificultad en clasificar estas células como productoras de prolactina mediante el empleo de métodos histoquímicos tradicionales y de microscopía electrónica es explicable por la presencia de gránulos secretorios citoplasmáticos que no corresponden con los criterios usuales de la producción hormonal normal, como en casos de prolactinomas puros en los cuales se han observado la presencia de gránulos secretorios muy pequeños (22).

La comparación de los hallazgos morfológicos de las hormonas secretadas por adenomas, ha demostrado que el diámetro de los gránulos depende de la rapidez de formación y secreción de los mismos, más que de la naturaleza de la hormona producida. El diámetro de los gránulos aumenta durante el almacenamiento intracelular. Los adenomas con una rápida formación y secreción de gránulos presentan, por lo general, células poco granuladas y con gránulos pequeños; mientras que

aquellos adenomas con períodos prolongados de almacenamiento celular, contienen gránulos secretorios citoplasmáticos grandes y numerosos (23).

Sólo la aplicación de la inmunoelectromicroscopía (17) en el estudio ultraestructural de las células adenohipofisarias permite una clasificación específica, basada en la detección del contenido hormonal de los citados gránulos.

**Mecanismo de acción de la hormona prolactina.** Es importante recordar que cuando se discute el mecanismo de acción de las hormonas, se debe tener en cuenta que ellas pueden interactuar con diferentes órganos blanco y que sus respuestas pueden ser distintas. La prolactina resulta un ejemplo interesante de este tipo de acción. La prolactina y otras hormonas similares han sido altamente conservadas durante la evolución. Esta hormona que ha recibido su nombre por la habilidad de estimular la lactación en la hembra de los mamíferos, tiene hormonas relacionadas que existen en muchos tipos de vertebrados, donde tiene una gran variedad de funciones, como la regulación osmótica y el balance de sales en ciertos peces, la estimulación de formación de pigmentos en otros, el control de la metamorfosis en los anfibios y la promoción del sentido de anidación en las aves (24).

Aún en los mamíferos, la prolactina tiene otros efectos incluyendo un papel esencial en el desarrollo normal y función de los testículos de los roedores, efecto similar al efecto que ejerce la hormona luteinizante sobre el ovario de los roedores hembra. Es importante mencionar que existe una considerable reacción cruzada entre las hormonas tipo prolactina en las diferentes especies, por ejemplo, la prolactina de los anfibios puede estimular la producción de leche en los mamíferos lo cual sugiere que el control de la lactación evolucionó a partir de un sistema hormonal controlado preexistente (25).

**Mecanismos moleculares.** Los mecanismos moleculares por los cuales las proteínas u hormonas esteroides influyen sobre sus órganos blanco han comenzado a entenderse en forma razonable. Por estos recientes avances, las acciones subcelulares de la prolactina también empiezan a clarificarse. Existe un acuerdo general para pensar que el primer evento en la acción de la prolactina es su enlace a un receptor específico en la parte más externa de la membrana celular de la célula blanco. Sin embargo, los cambios subsecuentes inducidos como consecuencia de la formación de este complejo hormona-receptor, no están completamente establecidos.

En términos generales, la mayoría de las hormonas polipeptídicas actúan a través del tan mencionado segundo mensajero o AMP cíclico (AMPc), el cual a su vez activaría una proteína-quinasa específica para iniciar la medición de la respuesta final por parte de la célula estimulada (Figura 6). Se ha demostrado que la prolactina estimula los niveles de AMP a nivel prostático (26).

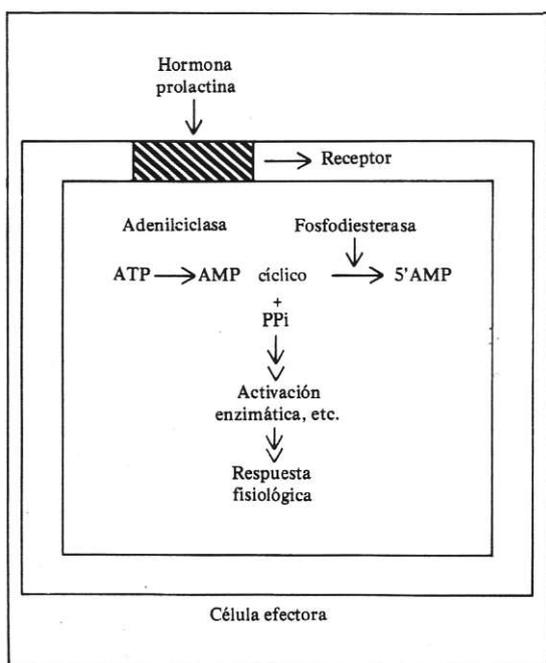


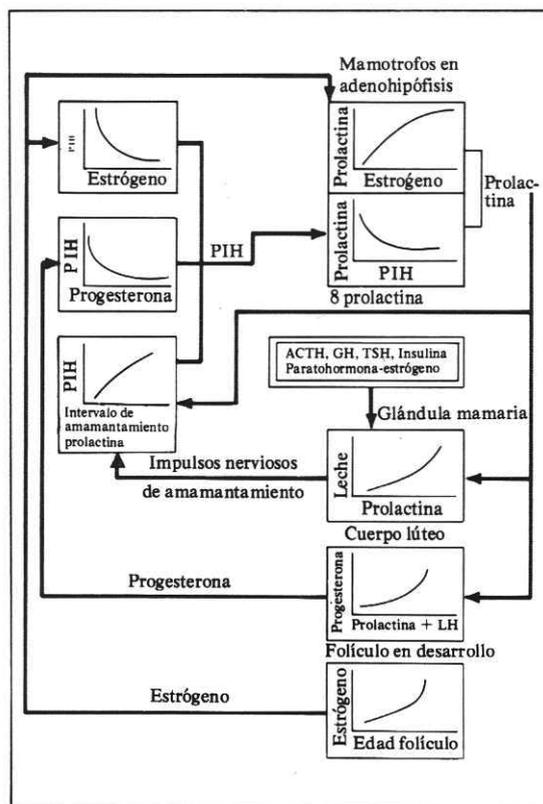
Figura 6. Mediación del AMP cíclico en la estimulación hormonal.

**El "segundo mensajero" media la acción de la prolactina en la glándula mamaria.** En 1973, Turkington (27) demostró que los nucleótidos cíclicos están comprometidos en la activación de enzimas proteíno-quinasas específicas, pero que no actúan como lo hace el "segundo mensajero", entre el complejo prolactina-receptor y el núcleo celular. Los nucleótidos cíclicos AMP y GMP están involucrados en la iniciación de la lactación y en la producción de las proteínas de la leche. También se ha hecho evidente que el GMP cíclico simula la acción de la prolactina estimulando la síntesis de ácido ribonucleico (ARN) en la glándula mamaria. Lo anterior sugiere que en períodos muy tempranos la acción de la prolactina en la célula epitelial de la glándula mamaria puede ser mediada por un incremento en los niveles de GMP cíclico (GMPc) y un decrecimiento en los niveles de AMP cíclico (AMPc).

**Mantenimiento de la lactación.** El proceso del mantenimiento de la lactación es un interesante ejemplo de la interacción entre el sistema nervioso y el sistema endocrino. La lactación es mantenida solamente si se liberan cantidades adecuadas de prolactina de la pituitaria anterior. La liberación está controlada por la hormona inhibitoria de la prolactina (PIH) originada en el hipotálamo, la cual a su vez está controlada por la estimulación táctil de los nervios sensoriales a nivel de los pezones. Por lo tanto, en el momento de cada amamantamiento se establece un mecanismo neurosecretor de retroalimentación temporal que inhibe la acción de PIH en el hipotálamo y ocasiona la liberación de prolactina, resultando en un estímulo de la síntesis de las proteínas y lípidos de la leche. Una representación esquematizada de los mayores controles de la lactación y la participación de la prolactina en este proceso se representa en la Figura 7 (28).

**SUMMARY**

The unlabeled peroxidase antiperoxidase method (PAP) was used to localize



**Figura 7.** Participación de la hormona prolactina en los controles de la lactación.

En el centro del esquema aparece la prolactina que estimula la producción de la leche y en combinación con la hormona luteinizante (LH) estimula la formación de progesterona, la cual a su vez disminuye la hormona inhibitoria de la prolactina (PIH).

La succión inhibe la liberación de PIH; por lo tanto, entre más largos sean los intervalos entre succión y succión, más alto serán los niveles de PIH. La prolactina también actúa directamente sobre el hipotálamo para incrementar el PIH. Los estrógenos actúan directamente sobre las células productoras de prolactina de la adenohipófisis para aumentar la producción de prolactina.

La hormona adrenocorticotropica (ACTH), la hormona del crecimiento (GH), la tiroxina, la insulina y la hormona paratiroidea también tienen efectos directos en la lactación a nivel de glándula mamaria.

prolactin hormone within the paraffin embedded sections of human adenohypophysis tissue obtained from autopsy and biopsy material.

The immunocytochemical and ultrastructural characteristics of prolactin cells are analyzed as well as the application of this method to diagnose and evaluate pituitary tumors, and the subcellular mechanisms of action of prolactin and its major controls over lactation.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.— ENSOR DM. Comparative endocrinology of prolactin. London: Chapman and Hall Eds., First ed.; 1978: 129-192.
- 2.— WEIST WG, KIDWALL WR. The regulation of progesterone secretion by ovarian dehydrogenases. En: McKENON KW, ed. The gonads. New York: 1969: 295-326.
- 3.— WEISS L, CREEP RO. The hypophysis. En: Histology, fourth edition. New York: McGraw Hill; 1977: 1039-1066.
- 4.— BILLER BJ, AUBREY Bill, MARK E et al. Galactorrhea syndromes. En: POST KD, JACKSON IMD, REICHLIN S, eds. The pituitary adenoma. First edition. New York; 1980:65-90.
- 5.— TOLIS G, SOMMA M, VAN CAMPENHOUT J, FRIESEN H. Prolactin secretion in sixty-five patients with galactorrhea. Am J Obstet Gynecol 1974; 118:91.
- 6.— LEWIS UJ, SINGH RNP, SEA VERY BK. Human prolactin: isolation and some properties. Biochem biophys Res Comm 1971; 44: 1169-1176.
- 7.— LI CH. Recent knowledge of the chemistry of lactogenic hormones. En: WOLSTENHOLME GE, KNIGHT J, eds. Lactogenic hormones. London: Ciba Foundation; 1972: 7-22.
- 8.— ROMEIS B. Hypophyse. En: von MOLLENDORFF W, ed. Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. Berlin: Springer-Verlag OHG; 1940: 6 (pt 3).
- 9.— BROOKES LD. A stain for differentiating two types of acidophil cells in the rat pituitary. Stain Tech 1968; 43:41-42.
- 10.— LAMBERT C. Histopathology laboratory manual. The University of Texas System Cancer Center. M.D. Anderson Hospital and Tumor Institute. FUTCH HN, ed. 1979: 1-137.
- 11.— STERNBERGER LA, HARDY PH Jr et al. The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. J Histochem Cytochem 1970; 18: 315.
- 12.— ESCOVAR G, HANSEN H, URIBE G.: Estudio inmunocitoquímico de las hormonas de la adenohipófisis humana. I. Hormona del crecimiento. Acta Med Col 1981; 6: 257-270.
- 13.— QUALMAN SJ, KEREN DF. Immunofluorescence of deparaffinized trypsin-treated renal tissues. Lab Invest 1979; 6: 483-489.
- 14.— HALMI NS, PARSONS JA, ERLANDSEN SL, DUELLO T. Prolactin and growth hormone cells in the human hypophysis: a study with immunoenzyme histochemistry and differential staining. Cell Tiss Res 1975; 158: 497-507.
- 15.— MARTIN COMIN J, ROBYN C. Comparative immunoenzymatic localization of prolactin and growth hormone in human and rat pituitaries. J Histochem Cytochem 1976; 24: 1012-1016.
- 16.— BAKER BL, YU YY. An immunocytochemical study of human pituitary mammatropes from fetal life to old age. Am J Anat 1977; 148:217-239.
- 17.— KOVACS K, HORVATH E, CORENBLUM B et al. Pituitary chromophobe adenomas consisting of prolactin cells. A histologic, immunocytological and electron microscopic study. Virchows Arch Pathol Anat 1975; 366:113-123.

- 18.— BAKER BL, YU YY. An immunocytochemical study of human pituitary mammotropes from fetal life to old age. *Am J Anat* 1977; 148: 217-239.
- 19.— KOVACS K, RYAN N, HORVATH E, PENZ G, EZRIN C. Prolactin cells of the human pituitary gland in old age. *J Gerontol* 1977; 32: 534-540.
- 20.— JACOBS LS, DAUGHADAY WH. Pathophysiology and control of prolactin secretion in patients with pituitary and hypothalamic disease. En: PASTEELS JL, ROLYN C, eds. *Human prolactin. Excerpta*; 1973:189.
- 21.— WOLPERT SM. The Radiology of pituitary adenomas. An update. En: POST KD, JACKSON IMD, REICHLIN S, eds. *The pituitary adenoma* First ed. New York; 1980:287-320.
- 22.— KOVACS K, HORVATH E. Pituitary adenomas associated with hyperprolactinemia: morphological and immunocytochemical aspects. En: FAGLIA C, GIOVANELLI MA, MACLEOD RM, eds. *Pituitary microadenomas*. New York: Academic Press; 1980; 123.
- 23.— PASTEELS JL. Morphology of prolactin secretion. En: WOLSTENHOLME GE, KNIGHT J, eds. *Lactogenic* London: Ciba Foundation; 1971; 241.
- 24.— SACKI Y, TANAKE Y. Changes in prolactin content of fowl pituitary during broody periods and some experiments on the induction of broodiness. *Poult Sci* 1955; 34: 909-919.
- 25.— BERN HA, NICOLL CS. The comparative endocrinology of prolactin. *Recent Prog Horm Res* 1968; 24: 681-720.
- 26.— GOLDER MP, BOYNS AR, HARPER ME, GRIFFITHS K. An effect of prolactin on prostatic adenylate cyclase activity. *Biochem* 1972; 128: 725-727.
- 27.— TURKINGTON RW. Molecular biological aspects of prolactin. En: WOLSTENHOLMES GW, KNIGHT J, eds. *Lactogenic hormones*. London: Ciba Foundation; 1972:111-127.
- 28.— HAM RG, VEOMETT MJ. Hormonal mechanisms in cellular differentiation. En: *Mechanisms of development*. Toronto: The C.V. Mosby Co.; 1980; 428-473.