MONOGRAFIAS MEDICAS

CONTROL NEUROENDOCRINO DE LA LACTANCIA

FLAVIO MENA *

La diferenciación de los estados fisiológicos particulares que constituyen las fases del ciclo reproductor de los mamíferos se hace posible merced a la jerarquización de mecanismos neuroendocrinos. En efecto, cada fase del ciclo, incluida entre ellas la lactancia, está caracterizada tanto por la acción de mecanismos específicos de tipo neural como por el desarrollo de algunos mecanismos endocrinos de carácter general. La coincidencia de la especificidad de unos y el desarrollo de los otros conduce, eventualmente, a la jerarquización de la función en cuestión. Esto, por consiguiente, permite tanto el que la función se lleve a cabo, como el que se le pueda diferenciar de otros estados similares del mismo ciclo reproductor. Así mismo, es de suponerse que las diferencias entre las especies, en cuanto a operación de mecanismos neuroendocrinos se refiere, sean debidas también a fenómenos de jerarquización funcional de tales mecanismos.

Durante la lactancia, los estímulos específicos más importantes que la madre recibe de la cría son aquellos que repercuten en el pezón y que se reciben sobre receptores específicos que se activan por la succión, así como otros de tipo exteroceptivo y que son recibidos por órganos sensoriales especiales. Estos

estímulos son los responsables de la mayoría de los ajustes endocrinos, metabólicos y conductuales que se desarrollan en el animal lactante para proveer las condiciones que permiten el desarrollo óptimo de la cría.

Los mecanismos de secreción endocrina que se desarrollan específicamente durante la lactancia, en buena parte debido a la acción de los estímulos antes señalados, son principalmente los relacionados con la síntesis y liberación a la circulación de las hormonas hipofisarias. Por una parte están las hormonas del lóbulo anterior de la hipófisis, que por activación de las células epiteliales del parénquima mamario estimulan la síntesis de la leche, y por la otra está la oxitocina, del lóbulo posterior hipofisario, que tiene a su cargo fundamentalmente la evacuación de la leche hacia el exterior.

A continuación se revisan los posibles mecanismos involucrados en la acción de la succión y de la estimulación exteroceptiva sobre la función de la hipófisis y de la glándula mamaria y la manera en que su interacción a lo largo del ciclo de lactancia determina el mantenimiento y eventual declinación y cese de la función. Entre los diversos mecanismos hormonales que intervienen se atribuye gran preponderancia a la prolactina, gracias a la importancia fundamental de esta hormona en los mecanismos de iniciación y mantenimiento de la secreción de leche en muchas especies.

* Departamento de Fisiología. Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México.

El estudio de la prolactina ha progresado mucho en la actualidad, merced a la incorporación de técnicas radioinmunológicas y de cultivo de tejidos, al grado de que gran parte del conocimiento moderno acerca de la regulación neuroendocrina de la prolactina en la lactancia ha servido como modelo a las investigaciones, que luego se han llevado a cabo sobre otras hormonas entre ellas las del lóbulo anterior de la glándula pituitaria.

Influencia de la succión

A. General

La succión periódica de los pezones que la cría realiza después del parto es un mecanismo indispensable para mantener la función secretora de la mama y su desarrollo a lo largo de toda la lactancia; de la succión depende también el desarrollo de la compleja interacción entre madre y cría que es característica de la lactancia normal. La separación de la madre de su cría afecta de modo capital, tanto la secreción láctea como la conducta maternal, sobre todo si la operación se lleva a cabo al principio de la lactancia.¹ Si el periodo de separación no es muy prolongado, es posible reestablecer la función que empezaba a perderse. Muy interesante es, al respecto, que tanto la secreción láctea como la conducta maternal puedan prolongarse por periodos mayores que en el destete normal, reemplazando en la camada de la madre las crías por otras más jóvenes.²⁻⁵

Hacia el final del periodo de la lactancia disminuye la capacidad de las glándulas mamarias para secretar leche, lo cual coincide con relaciones conductuales de contacto menos frecuentes entre la madre y las crías. Se produce así una independencia gradual: la camada —desde el punto de vista metabólico— tiende a ser autosuficiente. Todos estos cambios se reflejan en algunas especies en disminución de los periodos de succión. Así, en ratones, el tiempo de permanencia de la madre en el nido disminuye a lo largo del periodo que se extiende desde el parto hasta el 15o. día del postparto. El decremento ocurre de modo paralelo a la disminución en el tiempo promedio de cada periodo de succión.⁶ Se han observado cambios similares en la perra. En ratas también se ha observado que la frecuencia de la succión declina con el progreso de la lactancia. La sustitución de las crías de la madre por otras más jóvenes, sin embargo, mantiene alta la frecuencia de succión, mientras que el reemplazo de crías de 12 días de edad por propias crías en el quinto día postparto reproduce la declinación rápida de la frecuencia de succión que normalmente se observa al final de la lactancia.⁷

B. Influencia de la succión sobre la adenohipófisis

La participación de la adenohipófisis en los efectos que tiene la succión sobre la secreción láctea, como parte de un reflejo neuroendocrino, fue sugerida por primera vez por Selye,^{8,9} quien observó que la succión retarda la atrofia del epitelio alveolar en el curso de la involución de la mama, que de todos modos se provoca mediante la ligadura experimental de los conductos mamarios. Luego se postuló que la succión provocaba la liberación de prolactina por la adenohipófisis y que esta hormona mantenía la actividad secretora de la glándula, cosa que después fue comprobada por muchos investigadores. Así, se ha podido verificar que el efecto antagónico de la succión sobre la involución mamaria puede conseguirse por la administración de prolactina.^{10,11} En ratones puede antagonizarse la involución mamaria en glándulas no succionadas, provocando la irritación de los pezones por la aplicación local de trementina.¹⁰ Posteriormente se demostró en ratas que la sección espinal interrumpía la lactancia cuando las crías succionaban sólo las glándulas colocadas por debajo del nivel de la sección, mientras que la función continuaba si la succión incluía a aquellas situadas por encima de la lesión.¹² Estos resultados aseguran la existencia de un reflejo neuroendocrino y así mismo que el efecto de la succión no se ejerce directamente y de modo local sobre el pezón y la glándula.

C. Función de otras hormonas

La teoría de Selye y col.^{8,9} fue aceptada en sus términos generales y dio un decidido impulso a la investigación en el campo, aunque más tarde otros investigadores hicieron hincapié acerca de la importancia de otras hormonas.¹³ En efecto, ahora se sabe que, aparte de que la succión provoca la secreción de prolactina, como ya ha quedado ampliamente demostrado, la secreción de todas las otras hormonas hipofisarias se ve también influida por este estímulo.*

El análisis de los efectos de la succión sobre la liberación de las hormonas hipofisarias se ha basado en su medición por técnicas biológicas, químicas y radioinmunológicas, tanto en la sangre como en la hipófisis. Por otra parte los resultados de las determinaciones

* Sobre la liberación de las hormonas neurohipofisarias por la succión, véanse Bisset¹⁴ y Meites.¹⁵ Con respecto a la prolactina, véanse los estudios de Grosvenor y Turner,^{16,17} Holst y Turner,¹⁸ Reece y Turner¹⁹ y Selye.⁸ Para la hormona de crecimiento ver a Grosvenor y col.²⁰ y Sar y Meites.²¹ Para la hormona tirotrópica, Grosvenor.²² Para la corticotrópica, Denamur y col.,²³ Gregoire,²⁴ Tabaschnik y Trentin²⁵ y para la hormona estimulante de los melanocitos, Taleisnik y Orias.²⁶ Acerca de la acción inhibidora de la succión sobre la secreción de gonadotropinas en ratas y otras especies véanse Everett²⁷ y Rothchild.²⁸

hormonales se han cotejado con estudios de las células hipofisarias mediante microscopio de luz y el microscopio electrónico.*

D. *Influencia de otros estímulos*

Mucho se ha insistido en la influencia que ejerce el estímulo de la succión en la galactopoyesis, en el mecanismo hormonal subyacente y en la liberación de hormonas hipofisarias que mantienen la secreción y promueven la evacuación láctea. Pero en modo alguno puede afirmarse que sea éste el único mecanismo de que se dispone para satisfacer la demanda de la secreción mamaria. Se ha visto que algunas especies pueden mantener la función de secreción de la leche aun después de suspender la succión, siempre y cuando las glándulas se vacíen mediante la administración de oxitocina. Los diversos modos de bloqueo dan lugar a resultados que varían entre las especies. En ratas, conejas y gatas se bloquea la galactopoyesis en forma parcial o total cuando se interrumpe la succión permanentemente mediante sección espinal,^{12,34-37} mientras que se bloquea sólo parcialmente cuando la succión se realiza bajo anestesia.³⁸⁻⁴⁰ Es posible que los efectos colaterales del trauma en los animales espinales, particularmente la nutrición del animal, afecten la condición general de los animales e indirectamente la secreción láctea.^{32,35}

Por contraste con los efectos de supresión de las lesiones espinales observados en ratas, conejas y gatas, la interrupción de las vías centrales del reflejo neurohumoral —como es la sección del tallo hipofisario o la lesión en la región tuberal del hipotálamo con destrucción del sistema portahipofisario—se mostraron compatibles con rendimientos de leche normales en conejas en crianza, pero condicionado, como ya se dijo, a la administración de oxitocina.⁴¹ Tales resultados son coherentes con otros llevados a cabo en la rata lactante, con un trasplante hipofisario en la cápsula renal; en estas preparaciones se recoge un rendimiento casi normal de leche, siempre y cuando se traten con repetidas dosis de oxitocina.⁴²

En cabras y ovejas, procedimientos tales como la desconexión de las mamas del cerebro mediante la desnervación de la glándula mamaria o el trasplante de la misma, así como la sección espinal,⁴³⁻⁴⁸ son todas intervenciones experimentales que no interfieren con el rendimiento de leche; tampoco la anestesia interfiere.⁴⁰ Es, pues, razonable pensar en la existencia, en estas condiciones experimentales, de otros mecanismos que coadyuvan en la secreción de las hormonas galac-

topoyéticas de la hipófisis. Pero dicha consideración debe hacerse con cautela y limitada a la especie en cuestión, pues las secciones de nivel más alto en rumiantes —en contraste con experimentos similares en conejas— parecen afectar de modo significativo la secreción de leche. Así, las lesiones en la región tuberal o la sección del tallo hipofisario en cabras⁴⁹⁻⁵¹ interfiere sustancialmente con la secreción de leche.

El nivel de producción láctea fue restaurado parcialmente en cabras a las que se les había seccionado el tallo hipofisario⁴⁹ o lesionado la región tuberal,⁵⁰ después de administrar una combinación de somatotropina, triyodotironina, insulina y corticosteroides, lo cual sugiere que la producción láctea que habían mostrado estos animales después de las operaciones fue resultado de la prolactina secretada autónomamente por la hipófisis⁵² y que la falta de secreción de las otras hormonas, a su vez, fue la causante de la producción láctea reducida.

En ratas y conejos con sección espinal o con desnervación de la glándula mamaria, la administración exógena de prolactina,^{35,38,53} de cortisol³⁶ o de corticotropina³⁵ mejoró en forma rápida y significativa el rendimiento de leche. En conejas espinales, el rendimiento pudo mantenerse elevado, aun después de suspender el tratamiento de sustitución con corticotropina o con prolactina.³⁵ Este último dato, unido a otro análogo de Gachev,⁵⁴ quien encontró que una sola inyección de prolactina aumentaba el rendimiento lácteo subsecuente y sugirió que la prolactina acciona como una gaza de reacción positiva, concuerda con el efecto observado previamente,⁵⁵ de que la inyección de la hormona aparentemente estimulaba en ratas su propio nivel de síntesis por la hipófisis.

E. *Diferencias de especie y mecanismos generales*

De lo dicho parece lícito concluir que en la regulación de la función de producción de leche existen importantes diferencias de especie. Es muy posible que la dificultad en establecer un mecanismo general dependa de la complejidad de los mecanismos en juego, y que entonces, dependiendo de la especie y el experimento en sí, se ponga de manifiesto una de las múltiples piezas de una complicada maquinaria. Sin embargo, a juzgar por el hecho de que únicamente algunas de las hormonas adenohipofisarias de las que son liberadas por la succión participan directamente en la secreción láctea, el grado de secreción de leche después de suspender la succión depende de dos factores que son fundamentales: a) la succión, la cual se integra a lo largo de vías neurohumorales sumamente complejas y b) el grado en que depende la

* Véanse al respecto las siguientes revisiones: Averill,²⁹ Beyer y Mena,³⁰ Grosvenor y Mena,⁷ Meites,¹⁵ Nicol,³¹ Tindall,³² y Tindall y Knags.³³

secreción de cada hormona galactopoyética adenohipofisaria del estímulo normal de la succión.

Si se toma por cierta la hipótesis de que la succión es capaz de activar la secreción de todas las hormonas hipofisarias que intervienen en la integración de la galactopoyesis, parecería necesario postular la influencia de otros estímulos que no son la succión, pero que intervienen de modo efectivo en el mecanismo fisiológico que nos ocupa, quizá coadyuvando con la succión sobre la secreción del complejo hormonal galactopoyético de la hipófisis y sobre la capacidad autónoma de la hipófisis para secretar prolactina. Existen evidencias de que estímulos externos diferentes a la succión o a la ordeña pueden provocar la liberación de prolactina y de corticotropina en ratas y otras especies.

F. *Propuestas alternativas*

Otros muchos mecanismos se han propuesto —tanto neurales como humorales y mixtos— a fin de explicar cómo se mantiene la función de la glándula mamaria y, por ende, cómo se mantiene la actividad de la adenohipófisis, en ausencia de succión. Véanse al respecto varias revisiones recientes,⁵⁰⁻⁵² pues es éste un asunto que no se discutirá aquí, ya que no se cuenta aún con suficientes datos experimentales.⁵¹

G. *Influencia de la succión sobre el contenido de prolactina en la hipófisis y en la circulación*

La posibilidad de efectuar medidas de la prolactina permitió someter al análisis experimental muchas de las ideas que se tenían sobre la succión y su ingerencia en la galactopoyesis, así como dilucidar el papel de la adenohipófisis en el proceso fisiológico. Ahora se mide, de hecho, la prolactina en la hipófisis de varios animales en variadas circunstancias experimentales. Se ha averiguado que el contenido de prolactina es mayor en hipófisis de ratas y conejos sometidos con antelación a un periodo de lactancia.^{19, 56, 57} Así mismo se vio en ratas, conejas y cobayas, que un periodo de succión agudo aplicado después de un periodo de reposo (no succión) da lugar a reducción importante en el contenido de prolactina hipofisaria.^{18, 19} Todos estos resultados han servido para dar una prueba fehaciente a la teoría original de Selye y col.⁴ de que la succión es el estímulo fundamental de la función que nos ocupa. Y además se han constituido en un método muy valioso en todas las investigaciones que intentan determinar la importancia relativa del estímulo de la succión en el funcionamiento de la glándula mamaria, y por ende, cuando se intenta valorar la función adenohipofisaria con respecto a la secreción

de prolactina. Así, se ha observado en ratas que un periodo de 30 min. de succión en el 14o. día del postparto determina la disminución del contenido de prolactina de la hipófisis hasta en 60 por ciento. Luego se ha visto que la hormona se reacumula, pero que el proceso es muy lento, de modo que para alcanzar los niveles previos se requiere un periodo equiparable al intervalo de reposo.¹⁸ Todas estas observaciones y otras similares en fases tanto tempranas como tardías del periodo de lactancia^{7, 27} son muy significativas para entender la fisiología de la galactopoyesis.

Se ha comprobado repetidamente que la depleción experimental de la hipófisis de hormona prolactina se corresponde con un incremento en la liberación de la misma en la circulación y con una reducción de los gránulos de prolactina de la hipófisis. Para ello se ha utilizado como estímulo la succión y la determinación de la hormona en la hipófisis se ha hecho sobre todo con técnicas de bioensayo o de electroforesis en gel de acrilamida. La presencia de la hormona en la circulación ha sido detectada mediante técnicas de ensayo radioinmunológico y la observación de las células hipofisarias se ha hecho con el microscopio electrónico.^{7, 31}

H. *Mecanismos de la liberación de prolactina por la succión*

No se conoce bien el mecanismo mediante el cual la succión actúa como una señal de la liberación de prolactina y en general se sustentan puntos de vista controversiales. Hay datos convincentes, sin embargo, que demuestran que los extractos hipotalámicos crudos o purificados deprimen la capacidad de la hipófisis *in vitro* para producir y secretar prolactina. Los extractos estudiados provienen de varias especies. Por otra parte, puede bloquearse, mediante la acción de esos extractos, la función de secreción de la hipófisis *in vivo* inducida por la succión. Los extractos —según Ratner y Meites⁵⁸— pierden su capacidad inhibitoria cuando se obtienen de animales succionados durante periodos largos. Todas estas investigaciones revelan la existencia probable de un factor hipotalámico inhibidor de la prolactina (FIP),^{52, 59-61} el cual se supone que podría ser depletado del hipotálamo por la succión.

Pero la controversia se presenta a la consideración de los datos de que la inyección a la circulación general de una tercera parte del hipotálamo obtenido de animales, succionados o no, es capaz de inhibir la descarga de prolactina de la rata lactante, si tal secreción se induce bien por *stress*, bien por succión; bastan dos minutos de succión para inducir la liberación de prolactina.⁶² Luego parece que la liberación de prolac-

tina en la rata puede efectuarse mediante un mecanismo que más bien podría corresponder a la inhibición temporal de la liberación tónica de FIP que a la síntesis del mismo.^{7,63} Por otra parte, si se postula que la liberación de prolactina inducida por la succión depende de la supresión del factor de inhibición, ha de considerarse que después de dicha supresión, la rapidez de descarga de la hormona a la circulación dependería de la capacidad autónoma de la célula de prolactina para expulsar la hormona.

Por otra parte, existen también datos en la literatura que afirman la posibilidad de que la prolactina se libere inducida por un factor hipotalámico excitador.⁶⁴⁻⁶⁶

El problema se ve complicado al tomar en consideración ciertos datos recientes. La succión —es bien conocido— depleta bruscamente la prolactina hipofisaria, pero las mediciones que se han verificado en la circulación no acusan un alza igualmente brusca de la hormona, sino que ascienden paulatinamente y guardan una correlación muy estrecha con los periodos de succión. Es decir, hay, en definitiva, un desfase entre los cambios de concentración de la hormona en la glándula y los cambios de concentración de la misma en la circulación. La explicación de este fenómeno tal vez pudiera encontrarse en que la hormona, al liberarse, pudiera sufrir cambios en su estructura molecular. Además, es posible que el fenómeno no sea privativo de la prolactina, pues los investigadores han encontrado ya un fenómeno análogo en la secreción de otras hormonas hipofisarias.³¹ Es posible que el cambio estructural de las hormonas, aunado a la secreción de las mismas, tenga un significado más importante que el que aparece a primera vista. En lo que a la prolactina se refiere, por lo menos se dispone de alguna información acerca de la significación fisiológica de la depleción hipofisaria de la hormona en base a su acción estimulante de la secreción láctea. Así, se ha observado en ratas que de la cantidad total de la hormona secretada durante un periodo de succión (luego de un periodo de ocho horas de reposo), que es aproximadamente de 20 µg., sólo una pequeña cantidad, o sea 1.8 µg., es suficiente para estimular de modo óptimo el epitelio mamario. Aunque estos datos no resuelven el problema planteado de la secreción de la hormona, al menos permiten analizar la relación entre el estímulo de succión, la respuesta hipotálamo-adenohipofisaria y la glándula mamaria. El problema de la liberación de la hormona a nivel hipofisario está aún por resolverse.

I. Restauración de la hormona en la glándula

Una vez que la hormona se ha liberado a la circulación en respuesta al estímulo de la succión, se ob-

serva una restauración gradual de la misma en la hipófisis.¹⁶ El proceso tiene probablemente un doble origen. Por una parte corresponde a un proceso de síntesis que la glándula realiza por su propio automatismo;⁵² por otra, hay un efecto estimulador del hipotálamo.^{55,67} En apoyo de que es necesaria una influencia hipotalámica, se ha demostrado recientemente que de la prolactina liberada autónomamente por la hipófisis —aun estando ésta trasplantada lejos del hipotálamo— los niveles alcanzados no son equiparables a los que produce la glándula *in situ*; de hecho, los niveles de la hormona en la circulación de ratas con hipófisis trasplantadas se hallaban por debajo aun de los de ratas en estro.⁶⁸

Parece, por consiguiente, que la célula secretora de prolactina es capaz de adaptarse a diversas circunstancias de la vida de relación del animal en crianza, mediante mecanismos de control nervioso que se superponen a la actividad autónoma de la glándula. Así, en ratas, las demandas de las crías ejercidas a través de la intensidad de la succión se reflejan en la cantidad de la hormona que está presente en la glándula, llegándose a observar incrementos considerables, hasta de tres veces, a medida que el número de crías aumenta de dos a diez.⁶⁹ En un estudio reciente, se observó que la reacumulación máxima de la hormona se obtiene cuatro horas después de un periodo de succión, en las hipófisis de ratas que previamente no habían sido sometidas a succión durante otras cuatro horas y que tenían seis crías por camada, mientras que la reacumulación continuó a lo largo de un periodo de ocho horas en ratas que tenían ocho crías por camada.⁷

Pero de nuevo, como parece habitual en este tipo de estudios, las diferencias entre especies impiden llegar a conclusiones generales: en la coneja, el mecanismo, según Meites y col.,⁷⁰ es distinto, pues el tamaño de la camada no afecta el contenido de la hormona en la hipófisis.

J. Correlación funcional entre la glándula mamaria y la hipófisis

Ya se ha mencionado un conjunto numeroso de trabajos y ahora se referirán otros que muestran la influencia que indudablemente tienen los ciclos de succión-no succión de la cría sobre la mama de la madre, tanto en la secreción y reacumulación de prolactina como en la secreción de leche. Todos ellos tienen una gran importancia para establecer las relaciones funcionales entre la glándula mamaria y la hipófisis. Así, se ha encontrado que la magnitud de la depleción de prolactina hipofisaria producida por la succión durante 30 minutos en el 7o. día del postparto es de una can-

tividad menor después de cuatro horas que después de ocho horas de no succión, y que ésta, a su vez, es menor que la que ocurre después de diez horas de no succión.⁷ Estos datos muestran que la cantidad de hormona liberada por la succión es mayor a medida que se prolonga el intervalo de no succión.

Por otro lado, se observó que la acumulación de prolactina en ratas no succionadas durante ocho horas después de la depleción de la hormona por la succión no alcanzó el nivel previo. Lo anterior contrasta con los datos que se observaron en ratas no succionadas durante un periodo previo de cuatro horas, en las que hubo reaccumulación completa al cabo de cuatro horas de ocurrida la succión.⁷ La magnitud de la liberación después de la succión fue a todas luces mayor en las ratas no succionadas durante un periodo de ocho horas, lo cual posiblemente influyó sobre el tiempo que se requiere para la reaccumulación completa. Transcurridas diez horas de no succión, la hipófisis se mostró incapaz de alcanzar los niveles normales de no succión.¹⁰ Parece, pues, que si la fase de no succión es suficientemente larga, se desarrolla una alteración permanente del mecanismo de la restauración del contenido de la hormona. En definitiva, los intervalos cortos de no succión parecen corresponder a cambios pequeños en la concentración de la hormona y, por ende, determinan el mantenimiento de un nivel relativamente constante de la hormona en la glándula. Los niveles de prolactina en la hipófisis de la rata lactante son similares después de 4, 8 y 10 horas de no succión, tanto en los días 7o. como 14o.⁷ Por consiguiente, podría deducirse que la prolactina no se secreta tónicamente en la rata lactante, lo cual, por lo demás, ya había sido confirmado mediante la medición directa de la hormona circulante. De modo coherente con estas ideas se ha corroborado experimentalmente que los niveles muy bajos de la hormona circulante se obtienen únicamente suprimiendo el estímulo de la succión.^{66, 71}

Parece, pues, que periodos de no succión de cuatro a doce horas resultan muy adecuados para un estímulo ulterior de succión. De esta manera se ha visto que el acortamiento o prolongación del periodo de no succión, más allá de los límites señalados, tiene como resultado que el estímulo de la succión se torne inefectivo. Un segundo periodo de succión de 30 minutos de duración, aplicado inmediatamente o dos horas después de un primer periodo de 30 minutos de succión (después de ocho horas de no succión) fue inefectivo para depletar la hormona.⁷ Puede constatar que al momento del segundo periodo de succión existía suficiente hormona en la glándula, indicando que la ineficacia del estímulo no es atribuible a una falta de la hormona en la hipófisis. Esta posibilidad queda ex-

cluida. Además, para mayor prueba se bloqueó la liberación de prolactina durante el primer periodo de succión mediante la administración de FIP y se confirmó que en estas condiciones un segundo estímulo de succión aplicado dos horas después del primero fue también inefectivo. En estos experimentos también se excluyó la posibilidad de que la inyección del FIP mantuviera su acción de inhibición por dos y media horas después del primer estímulo y bloquease la acción del segundo estímulo.⁷²

Todos estos resultados indican, en resolución, un periodo refractario, el cual se desarrolla después de la aplicación de un estímulo de succión, y cuyo significado funcional pudiera ser evitar que la prolactina de la hipófisis sufra una depleción muy intensa y de gran duración, lo cual, de acontecer, evitaría una reaccumulación adecuada de la hormona y útil para el siguiente periodo de amamantamiento.

Un periodo refractario similar puede observarse también cuando el intervalo previo de no succión es mayor de 12 horas, tanto en los días 7o. como 14o. del postparto. Así, cuando el periodo previo de no succión fue de 16 horas, la succión ya no provocó liberación de prolactina.⁶² No obstante, pudo restaurarse, siempre y cuando las madres hubiesen sido sometidas a uno o dos periodos de succión durante las primeras ocho horas del periodo total de 16 horas. Estos resultados indican que durante la lactancia —es decir, del día 7o. al 14o.— la succión ha de aplicarse de modo periódico, por lo menos durante ocho horas, a fin de mantener funcional el mecanismo de la descarga de prolactina. Parece claro, por consiguiente, que la función de secreción de prolactina de la hipófisis en los animales que están criando depende de modo muy crítico de la frecuencia de actividad del influjo nervioso aferente.

K. *Correlación entre prolactina y actividad mamaria*

Como podría esperarse, las variaciones en el funcionamiento de las glándulas mamarias, con respecto a la secreción de leche, no son más que el reflejo de la actividad de la hipófisis para secretar prolactina. Tal cosa puede inferirse de muchos de los datos antes indicados, pero ahora se refieren algunos más. Así, se ha demostrado⁷³ que la anestesia profunda de las ratas madre bloquea el efecto de liberación de prolactina inducida por la succión, y que se produce reducción drástica en la producción de leche. Además, se ha conseguido bloquear de modo muy selectivo el efecto de la succión sobre la liberación de prolactina mediante la inyección a madres que crían, de extractos hipotalámicos crudos o purificados de diversas especies.⁷⁴ De modo más preciso se vio en ratas que la

inyección de estos extractos antes de la succión y después de ocho horas de no succión, y cuando se había efectuado la evacuación completa de la leche por las crías mediante la acción de oxitocina suplementaria, la depresión de la síntesis de leche se redujo en 44 a 51 por ciento de lo normal durante las 16 horas subsiguientes. En estos animales se reestableció la secreción de leche mediante la administración previa de 3 mg. de prolactina.⁷⁵

L. *Efectos de la prolactina y del intervalo de no succión sobre la glándula mamaria*

La respuesta secretora de la glándula mamaria a la prolactina se reduce gradualmente a medida que se prolonga el intervalo entre dos periodos de succión. La reacumulación total de la glándula mamaria después de un vaciamiento completo ocurre sólo después de ocho horas, cuando el intervalo previo de no succión no fue mayor de cuatro horas.⁷⁶ Si el intervalo de no succión se prolonga de cuatro a ocho horas, la cantidad de leche que se alcanza a reacumular es únicamente de 50 por ciento, en las ocho horas que siguen el vaciamiento de la glándula, y se requieren otras ocho horas para conseguir la reacumulación completa.^{76,77} Si el periodo de no succión se prolonga aún más, hasta alcanzar 12 ó 24 horas, no es posible lograr una reacumulación mayor de 30 por ciento de la capacidad total de la glándula.⁷⁷ En este mismo grupo de animales experimentales —aquellos no succionados durante 12 horas— la prolactina administrada en inyecciones fue parcialmente efectiva, pues se consigue sólo hasta 70 por ciento de la reacumulación. Pero ya periodos de 16 a 24 horas⁷⁷ de no succión impiden del todo la acción ulterior de la prolactina exógena. Para conseguir reacumulación completa en este último grupo, es necesario administrar, además de prolactina otras hormonas galactopoyéticas, como son tirotrópina, somatotropina, hidrocortisona y oxitocina, o bien administrar un periodo de succión a las ocho horas del periodo de no succión de 16 horas.

La inyección de prolactina al término de cuatro horas dentro de un periodo de no succión de ocho horas provocó una reacumulación completa de leche ocho horas después, en lugar del periodo normal de 16 horas que se observa en las ratas no inyectadas. Este y otros datos de Grosvenor y Mena⁷⁶ permiten inferir que una vez que la prolactina se descarga hacia la circulación, debe transcurrir un periodo de varias horas que es necesario para que la acción de la hormona se exprese como la respuesta de secreción de leche. Parece, pues, que la leche que se secreta después del vaciamiento de la glándula mediante la succión refleja, en realidad, la prolactina liberada por la succión previa.

En resumen, la capacidad de la glándula mamaria de la rata para secretar leche depende muy críticamente de los periodos de succión y no succión. Si el periodo de no succión se prolonga más de cuatro horas, éste causa un efecto adverso a la secreción de leche. Esta conclusión es paralela a la que ya se había obtenido con respecto al mecanismo de secreción de la prolactina hipofisaria y no es aventurado sugerir que tal paralelismo funcional refleja en realidad una secuencia de acciones de la hipófisis sobre la mama, mediante la prolactina. Desgraciadamente, no se dispone en la actualidad de datos, más que con respecto a la rata y a la prolactina, lo cual impide llegar a ideas generales, en un terreno de la fisiología, en el que se ha de ser sumamente cauto para extrapolar de una especie a otra y de una hormona a otra.

Influencia de la estimulación exteroceptiva sobre la secreción de prolactina durante la lactancia

A. *Crianza*

Durante los últimos años se han obtenido algunos datos que demuestran que en diferentes especies el mecanismo de la liberación de prolactina se halla sujeto a influencias tanto de excitación como de inhibición, que se originan en el ambiente del animal, y que no siempre son de origen táctil. Así, se ha constatado que estímulos exteroceptivos, de tipo olfatorio, visual o auditivo, pueden constituirse en señales⁷⁸ que actúan en ratones-madre recientemente impregnados⁷⁹ y que también estos efectos se observan en ratas recién paridas⁸⁰ y en ratas en crianza,⁸¹ en cabras,⁸² en vacas⁸³ y en palomas.⁸⁴ Tales efectos y sus mecanismos han sido objeto de discusiones recientes.^{85,86} Aquí se analizarán únicamente aquellos aspectos que tocan a los mecanismos de la crianza.

Grosvenor⁸¹ observó que el colocar a las crías de rata bajo su madre, pero separadas de ella por una rejilla de alambre, durante 30 minutos en el día 14o. y después de diez horas de no succión, tenía como resultado una disminución significativa de la concentración de prolactina hipofisaria de la madre, de grado similar a la que se obtiene después de 30 minutos de succión. Se demostró que el autolamido, aun cuando se había sugerido que tiene un cierto efecto de liberación de prolactina,⁸⁷ por sí mismo no puede explicar los resultados antes señalados.⁸⁸

Se puede conseguir que la reacumulación de leche sea total después de 16 horas de no succión en ratas inyectadas con FIP, si las crías son colocadas en la proximidad de la madre durante el periodo de reacumulación. En ausencia de las crías, tal reacumulación se encuentra reducida.⁷⁵ Es por consiguiente,

verosímil, que la estimulación exteroceptiva que la pura presencia de las crías ejerce sobre la madre tiene una poderosa influencia de excitación sobre la liberación de prolactina y sobre la secreción de leche. Mena y Grosvenor⁸⁹ precisaron posteriormente la índole de los estímulos sensoriales que representaban las crías en lo que respecta a la liberación de prolactina por las madres.

Se determinó que, en efecto, el estímulo es olfatorio, lo cual se conforma bien con los datos que ya se tenían de observaciones en ratones.⁸⁶ En los estudios en ratones se había indicado que los efectos observados se debían a una feromona producida por el animal macho de la misma especie. Ciertamente es posible que feromonas provenientes de las crías hayan sido determinantes para la liberación de prolactina en la rata en crianza; sin embargo, no se tienen los datos necesarios para poder hacer dicha aseveración. En los experimentos referidos de Mena y Grosvenor,⁸⁹ se excluyó la participación de estímulos olfatorios, visuales y auditivos, separadamente o en combinación durante el periodo de exposición de las crías a la madre. En otros experimentos se dejaron dichos estímulos de las crías, pero fueron extirpados los órganos sensoriales correspondientes de la madre con suficiente antelación, en series en que dos de los tres órganos sensoriales eran eliminados. Los resultados mostraron que cuando las madres operadas eran expuestas a sus crías el día 14o., según el modo mencionado, ocurría liberación de prolactina en las madres que tenían olfacción y visión funcionales. Estos resultados sugieren que en ausencia del mediador específico, *v. gr.*, la olfacción, el sentido óptico fue capaz de transmitir el estímulo para la liberación de prolactina. Así, es también posible que los estímulos visuales puedan influir sobre la prolactina en determinadas condiciones. Los estímulos auditivos pudieran también ser importantes a este respecto. En un estudio reciente se ha podido, en efecto, comprobar que puede obtenerse liberación de oxitocina en ratas en crianza por medio de la estimulación auditiva.⁹⁰

B. Estimulación exteroceptiva de la liberación de otras hormonas

Se ha podido observar⁹¹ que la estimulación del tipo de la mencionada en el párrafo anterior como exteroceptiva afecta los niveles de otras hormonas como la corticosterona. En esos estudios queda claro que los estímulos olfatorios son muy efectivos, pues la extirpación de los bulbos olfatorios suprimía la respuesta del todo; en cambio, la visión no parece ser importante, ya que la enucleación ocular no logra bloquear el efecto.

C. Desarrollo de la función exteroceptiva

La significación de los estímulos exteroceptivos tiene una importancia variable a lo largo de la crianza. En la rata primípara —por ejemplo— el mecanismo exteroceptivo no se observa al principio de la crianza (antes del 7o. día), sino que aparece en la fase intermedia y es claro en el día 14o.; luego se prolonga e incluso aumenta en sensibilidad hasta el 21o. día al final de la crianza.⁹² Según esto, el desarrollo es gradual, aunque se ignora por completo el mecanismo que lo determina.

A medida que progresa la crianza, la configuración del estímulo exteroceptivo de las crías se establece como tal. Para el 14o. día las madres son capaces de detectar a las crías de mayor edad y distinguirlas de las propias, según se refleja en la secreción de prolactina.⁹² Además, las ratas en el día 14o. no responden a los estímulos exteroceptivos cuando se hallan con sus crías, o cuando son colocadas con crías de diferentes edades, lo cual indica que la relación espacial entre las madres y sus crías durante la succión —es decir, las crías bajo la madre— es en sí una faceta importante de un conglomerado de estímulos.

Por otra parte, las características cambiantes de las crías o la interrelación conductual entre la camada y la madre, que a su vez es cambiante, son factores que posiblemente intervienen en el establecimiento y desarrollo del mecanismo exteroceptivo aludido. En apoyo de ese punto de vista está que la liberación de prolactina pudo provocarse en ratas primíparas el 7o. día, mediante el reemplazo de su camada en el 2o. día por crías de 7 a 8 días de edad, es decir, por una camada que tenía 13 a 14 días de edad en el 7o. día.⁹² Estos datos, así mismo, apoyan la idea de que el mecanismo exteroceptivo tiene un desarrollo gradual.

Al parecer, una vez que la configuración del estímulo se ha establecido en una primípara en el 14o. día, es luego retenida y utilizada en un segundo embarazo. En efecto, la exposición de la madre a sus crías en el día 7o. de una segunda crianza provocó la depleción de prolactina, en la misma medida que se obtiene por la succión normal.⁹²

La observación de que las ratas en crianza no liberan prolactina por estimulación exteroceptiva de las crías a principios de la crianza ha quedado en entredicho en una publicación reciente de Moltz y col.⁹³ Dichos investigadores encontraron que en la rata postparturienta, cuyos pezones se habían extirpado con antelación al embarazo, el simple contacto con las crías provocaba la liberación de prolactina según determinaciones que se llevaron a cabo por la respuesta deciduomatosa uterina, y por la interrupción del ciclo de estro. Sin embargo, aparte de importantes discrepancias

en el proceder experimental, es posible que tanto la irritación postquirúrgica de los nervios mamarios seccionados como el efecto de los estímulos táctiles al contacto de las crías, pudiesen haber provocado la activación de receptores, los cuales a su vez podrían haber excitado, a través de las aferencias de nervios segmentarios,^{94,95} la liberación de prolactina.

D. *Interacciones madre-camada de excitación y de inhibición*

Entre la parte media y la final de la crianza, el mecanismo exteroceptivo muestra otros dos cambios. El primero es la aparición de incremento en la sensibilidad materna a las señales externas. Así, la rata en el 14o. día de la crianza genera prolactina únicamente en respuesta al estímulo que representan las crías bajo la madre; pero la rata al final de la crianza, en el 21o. día postparto, puede liberar prolactina en respuesta a señales más débiles como son las originadas en cualquier sitio de la habitación de los animales, donde se hallan junto a otras ratas en crianza. Es posible que los estímulos externos causantes de este último efecto, y que provienen del ambiente general, surjan de otras ratas en crianza y de sus camadas en lactancia.⁹⁶ Así, para demostrar el efecto de un estímulo como la succión sobre la liberación de prolactina en el 21o. día de la crianza, fue necesario aislar primero a las madres de la habitación en que se hallaban otras ratas en crianza.⁹⁸

Las características que adquieren las crías entre el 14o. y el 21o. día son de algún modo, por ahora impreciso, responsables del aumento de reactividad del mecanismo exteroceptivo de la madre para liberar prolactina. Se ha observado que la liberación de prolactina ocurre en respuesta a los estímulos ambientales en la rata que se halla en el día 14o., cuando sus crías se han reemplazado desde el 7o. día por crías de 13 a 14 días de edad.

El segundo cambio aludido en el mecanismo exteroceptivo es de inhibición periférica que se produce en la glándula mamaria sobre los efectos de la prolactina para estimular la secreción de leche. Parece que este efecto se origina por cambios que se verifican en la camada durante su desarrollo. En contraste con lo que acontece el día 14o. al exponer las madres a las crías, al final de la lactancia se induce la depleción normal de la prolactina, sin que se acompañe por el estímulo que conduce a la reacumulación de leche en la glándula mamaria.⁹⁷ Parece, pues, que a la vez que se genera en la camada una influencia excitadora exteroceptiva que se ejerce en la madre para liberar la hormona a la circulación, hay otros estímulos así mismo emanados de la camada que tienen un efecto de

inhibición de la acción trófica de la hormona en la glándula mamaria de la madre, evitándose la estimulación de la secreción de leche.

El efecto de inhibición mencionado ocurre únicamente cuando las crías y la madre se hallan en una determinada relación espacial: las crías debajo de la madre. En efecto los resultados fueron negativos con respecto a la inhibición cuando, por ejemplo, las crías se colocaron a un lado del piso de la jaula de la madre. Tales observaciones pueden reunirse a fin de describir la existencia de un mecanismo mediante el cual la galactopoyesis se interrumpe —o al menos se impulsa su declinación— en una época del ciclo de la crianza en que el desarrollo de las crías es tal que puede permitirse una mayor independencia alimentaria, muy a pesar de que tanto la hipófisis como las glándulas mamarias muestran en esta etapa un alto grado de funcionalidad.

Se ignora cuál es el mecanismo del efecto inhibitor, aunque hay señas de que el sistema nervioso simpático participa; en efecto, la administración de bloqueadores adrenérgicos suprime el efecto inhibitor aludido.

En suma, parece que —como sucede con el estímulo de la succión— los estímulos externos de otro tipo, tal vez olfatorios y visuales, que se generan en la camada influyen en la madre de una manera decisiva sobre el mecanismo de secreción de prolactina. Los estímulos, su índole y su intensidad varían a lo largo de la lactancia. El mecanismo se establece en la primípara a principios de la crianza, de modo que parece que la succión desempeña en ella un papel primordial. Y más tardíamente aumenta la reactividad de la madre a los estímulos externos, lo cual, a su vez, puede determinar un cambio de gran importancia de la succión a la estimulación exteroceptiva, como reguladores principales de la liberación de la hormona.

Declinación y cese de la lactancia

La secreción de leche declina o cesa definitivamente como resultado de la disminución en el grado de evacuación de leche y su periodicidad. Pero la actividad secretora de la glándula mamaria de todos modos declina y, en fin, cesa de producir leche del todo, a pesar de ser evacuada regularmente, aun cuando la nutrición de la madre sea normal. La interacción madre-cría es tal que la declinación y cese de la función de amamantamiento o crianza coincide con un adecuado desarrollo de la cría. Entonces se produce el destete de la cría.

Los mecanismos que en definitiva determinan el cese de la secreción de leche y el destete son desconocidos en gran parte. Sin embargo, en una sección an-

terior ya se consideró un conjunto de conocimientos que se han constatado experimentalmente y que sirven de base para hacer consideraciones teóricas ulteriores con respecto al susodicho mecanismo de declinación de la función de amamantamiento. Estos resultados se han obtenido sobre todo en la rata, y ya se han señalado los peligros que traería consigo intentar extrapolar las consideraciones e ideas a otras especies. Ha de quedar claro y bien sustanciado en futuras investigaciones que se llevan a cabo en muchos laboratorios, entre otros el del autor.

A. Efecto de modificar la frecuencia de estimulación sobre la declinación de la mama

Si se altera tanto la frecuencia de activación de la glándula hipófisis, como la frecuencia de estimulación hormonal de la glándula mamaria, se obtienen datos que ciertamente indican una respuesta en los niveles de la función secretora de la glándula mamaria. Así, la disminución en la frecuencia de estimulación de la hipófisis, alargando el intervalo de no succión, tiene los siguientes efectos: 1) se alarga el intervalo que se requiere para que la prolactina se reacumule en la hipófisis después de la succión; 2) ocurre una elevación en grado de la liberación de prolactina, pero de suerte que si el intervalo crece mucho (más de doce horas), se bloquea la liberación de prolactina, en respuesta a la succión; 3) disminuye la capacidad autónoma de la hipófisis para secretar prolactina; 4) se reducen los niveles de reacumulación de leche que se alcanzan después de la succión en un tiempo dado; 5) decrece la respuesta secretora de la glándula mamaria a las acciones de la prolactina exógena.

B. Efecto de la "coincidentalidad" en la interacción madre-cría

La coincidencia de los estímulos que hemos llamado exteroceptivos, y que provienen de la camada, con el estadio de desarrollo del ciclo mamario, es muy importante en el desarrollo mismo, pero también en la declinación de la crianza. El análisis de estos fenómenos se dificulta, sin embargo, por el hecho de que, según parece, existe un cierto desfase, que es normal, entre el momento en que ocurre la llegada de la señal y la presencia de la respuesta. La liberación de prolactina no ocurre cada vez que se aplica un estímulo (succión o exteroceptivo). En lugar de esto, la liberación de prolactina se presenta con una frecuencia que se determina por la longitud del estado refractario que ocurre normalmente en el mecanismo responsable de la liberación de la hormona, después de la aplicación de succión o de estimulación exte-

receptiva. Así mismo, una vez que ocurre liberación de prolactina, la función de la hormona no se expresa hasta que transcurren algunas horas. Dicho de otra manera, la leche secretada después de que la glándula se ha vaciado de leche por la succión es el resultado, en parte, de la acción de la hormona que ya se había liberado en succiones previas. Todos estos estudios ponen de manifiesto un delicado balance de acciones e interacciones muy específicas entre los estímulos de la cría (su índole y frecuencia), la liberación de la hormona adenohipofisaria y la reactividad del órgano terminal. Alterar esa delicada interrelación como consecuencia de cambios, tanto en la frecuencia como en la índole de los estímulos, tiene como efecto la modificación total del conglomerado funcional. Como ejemplo de esta situación, puede recordarse que una alteración en la longitud del período refractario que sigue a la succión o a los estímulos exteroceptivos, o una modificación en el intervalo entre la liberación de prolactina y su expresión en términos de secreción de leche, en cada caso, conducen eventualmente a provocar una declinación en la secreción de leche. Además, ha de citarse también la posibilidad de que los mecanismos de inhibición tengan injerencia al final de la crianza, aun cuando la frecuencia de la estimulación hipofisaria y de la glándula mamaria permanezca constante e incluso aumentada. Recientemente hemos encontrado que mediante el depósito de las crías bajo la madre en el día 21o. de la crianza, la madre resulta ser estimulada de modo similar a como se consigue mediante el estímulo de la succión. Pero al mismo tiempo se descubre la secreción de leche, y que tal inhibición no ocurre si las crías son depositadas, no debajo, sino a un lado de la madre. La inhibición acontece muy a pesar de que no sólo sus propias crías, sino incluso las de otras madres, pueden provocar la liberación de prolactina de la hipófisis de la madre. Por consiguiente, resulta válido concluir que, de hecho, se trata de una inhibición de los efectos galactopoyéticos normales de la prolactina liberada a la circulación.

Este hallazgo tal vez sirva para explicar la paradoja de que la rata en crianza muestra, aun llegado el día del destete, una gran capacidad funcional. Además, y como un complemento del esquema que el autor ha trazado de sus estudios en la rata, ha obtenido evidencias —ahora en la coneja en crianza— que ponen de relieve la complejidad de los mecanismos que influyen sobre la declinación y cese de la crianza. En la coneja, en efecto —cosa que no acontece en la rata— no se hace aparente una gradual reducción de la frecuencia de succión de la cría a lo largo de la lactancia, sino que la frecuencia se mantiene constante en la coneja: una vez cada 24 horas. Este único dato, por

sí solo, lleva consigo la idea de que la reducción de la secreción láctea al final del ciclo no se produce por una estimulación disminuida del sistema hipotálamo-hipófisis-mama, sino que participan otros mecanismos alternativos. Entre ellos, se ha visto que posiblemente el sistema simpático-suprarrenal inhiba la secreción láctea, ya que su bloqueo por fármacos evita la reducción de la secreción láctea provocada por reducción en la evacuación de las glándulas.⁹⁸

Por otra parte, y quizá como el mecanismo de control más importante, existe una particular labilidad o responsividad del tejido mamario de esta especie que varía a lo largo de la lactancia. Así, se ha observado que la reactividad a influencias estimulantes tales como la inyección de prolactina o el aumento en la frecuencia de succión, o de inhibidores tales como la reducción de la succión o la reducción en la ingestión de alimento, provocan efectos máximos al principio de la crianza y mínimos en la época cercana al destete. Una explicación todavía tentativa de los resultados apuntados es que dicha labilidad —grande al principio, pequeña después— trae como consecuencia una rigidez del sistema —por decirlo así— al final de la crianza y, en definitiva, la declinación y cese del proceso de lactancia. Según ese punto de vista, parecería lógico concluir que en la coneja, en que la frecuencia de succión no varía a lo largo del ciclo, se desarrollan otros mecanismos que determinan la secuencia del ciclo de lactancia, que eventualmente conducen al final de la función.

REFERENCIAS

- Rosenblatt, J. S., y Lehrman, D. S.: *Maternal behavior in the laboratory rat*. En: *Maternal behavior in mammals*. Reinhold, H. L. (Ed.). Nueva York, John Wiley and Sons, Inc. 1963, p. 8.
- Bruce, H. M.: *Suckling stimulus and lactation*. Proc. Roy. Soc. Biol. 149:421, 1958.
- Kurz, M.: *Studies on the neurohumoral regulation of lactation*. En: *Symposium on reproduction*. Lissak, K. (Ed.). Budapest, Akademiai Kiado. 1967, p. 175.
- Nicoll, C. S., y Meites, J.: *Prolongation of lactation in the rat by litter replacement*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 101: 81, 1959.
- Wiesner, B. P., y Sheard, N. M.: *Maternal behavior in the rat*. Edimburgo, Oliver y Boyd. 1933, p. 55.
- Bateman, V.: *Some physiological aspects of lactation in mice*. J. Agric. Sci. 49:60, 1957.
- Grosvenor, C. E., y Mena, F.: *Effect of suckling upon the secretion and release of prolactin from the pituitary of the lactating rat*. LX Bi. Symp. of Animal Reprod. 32:115, 1971.
- Selye, H.: *On the nervous control of lactation*. Amer. J. Physiol. 107:535, 1934.
- Selye, H.; Collip, J. B., y Thomson, D. L.: *Nervous and hormonal factors in lactation*. Endocrinology 18:237, 1934.
- Hooker, C. W., y Williams, W. L.: *Retardation of mammary involution in the mouse by irritation of the nipples*. Yale J. Biol. Med. 12:559, 1940.
- Williams, W. L.: *The effects of lactogenic hormone on the postparturient unsuckled mammary gland of the mouse*. Anat. Rec. 93:171, 1945.
- Ingelbrecht, P.: *Influence du système nerveux central sur la mammelle lactante chez le rat blanc*. C. R. Soc. Biol. 120: 1369, 1935.
- Folley, S. J.: *The nervous system and lactation*. Brit. Med. Bull. 5:142, 1947.
- Bisect, G. W.: *The milk ejection reflex and the action of oxytocin, vasopressin and synthetic analogues on the mammary gland*. En: *Handbook of experimental pharmacology*. Berde, B. (Ed.). Berlin, Springer Verlag. 1968, p. 475.
- Meites, J.: *Control of mammary growth and lactation*. En: *Neuroendocrinology*. Martini, L., y Ganong, W. F. (Eds.). Nueva York, Academic Press. 1966, vol. 1, p. 664.
- Grosvenor, C. E., y Turner, C. W.: *Release and restoration of pituitary lactogen in response to nursing stimuli in lactating rats*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96:723, 1957.
- Grosvenor, C. E., y Turner, C. W.: *Pituitary lactogenic hormone concentration and milk secretion in lactating rats*. Endocrinology 63:535, 1958.
- Holst, V., y Turner, C. W.: *Lactogen content of pituitary of pregnant and lactating rabbits and guinea pigs*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 42:479, 1939.
- Reece, R. P., y Turner, C. W.: *Effect of stimulus of suckling upon galactin content of the rat pituitary*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 35:621, 1937.
- Grosvenor, C. E.; Krulich, L., y McCann, S. M.: *Depletion of pituitary concentration of growth hormone as a result of suckling in the lactating rat*. Endocrinology 82:617, 1968.
- Sar, M., y Meites, J.: *Effect of suckling and pituitary release of prolactin, G.H. y TSH in postpartum lactating rats*. Neuroendocrinology 4:25, 1969.
- Grosvenor, C. E.: *Influence of the nursing stimulus upon thyroid hormone secretion in the lactating rat*. Endocrinology 75:15, 1964.
- Denamur, R.; Stoliaroff, M., y Desclin, J.: *Effets de la traite sur l'activité corticotrope hypophysaire des petits ruminants en lactation*. C. R. Séanc. Acad. Sci. Paris 260: 3175, 1965.
- Gregoire, C.: *Factors involved in maintaining involution of the thymus during suckling*. J. Endocrinol. 5:68, 1947.
- Tabaschnik, I. A., y Trentin, J. J.: *Effect of suckling on adrenal ascorbic acid level of mice*. Fed. Proc. 10:339, 1951.
- Taleisnik, S., y Orias, R.: *Pituitary melanocyte stimulating hormone (MSR) after suckling stimulus*. Endocrinology 78: 522, 1966.
- Everett, J. W.: *Neuroendocrine aspects of mammalian reproduction*. Ann. Rev. Physiol. 31:383, 1969.
- Rothchild, I.: *Interrelations between progesterone and the ovary, pituitary and central nervous system in the control of ovulation and the regulation of progesterone secretion*. Vit. Hor. 23:209, 1965.
- Averill, R. L. W.: *The hypothalamus and lactation*. Brit. Med. Bull. 22:261, 1966.
- Beyer, C., y Mena, F.: *Neural factors in lactation*. En: *Physiology and pathology of adaptation mechanisms*. Bajusz, F. (Ed.). Nueva York, Pergamon Press. 1969, p. 310.
- Nicoll, C. S.: *Aspects of neural control of prolactin*. En: *Frontiers in neuroendocrinology*. Martini, L., y Ganong, W. F. (Eds.). Londres, Oxford University Press. 1971, p. 291.
- Tindal, J. S.: *Studies on the neuroendocrine control of lactation*. En: *Reproduction in the female mammal*. Lamming, G. E., y Amoroso, E. C. (Eds.). Londres, Butterworths. 1967, p. 79.
- Tindal, J. S., y Knaggs, G. S.: *Environmental stimuli and the mammary gland*. En: *Hormones and the environment*. Benson, G. K., y Phillips, J. G. (Eds.). Londres, Cambridge University Press. 1970, p. 239.
- Eayrs, J. T., y Baddeley, A. M.: *Neural pathways in lactation*. J. Anat. 90:161, 1956.
- Mena, F., y Beyer, C.: *Effect of high spinal section on established lactation in rabbit*. Am. J. Physiol. 205:313, 1963.
- Edwardson, J. A., y Eayrs, J. T.: *Neural factors in the maintenance of lactation in the rat*. J. Endocr. 38:51, 1967.
- Grosvenor, C. E.: *Lactation in rat mammary glands after spinal cord section*. Endocrinology 74:548, 1964.
- Beyer, C., y Mena, F.: *Effect of ovariectomy and barbiturate administration on lactation in the cat and the rabbit*. Bol. Inst. Estud. Méd. Biol. (Méx.) 23:88, 1965.
- Tindal, J. S.; Beyer, C., y Sawyer, C. H.: *Milk-ejection reflex and maintenance of lactation in the rabbit*. Endocrinology 72:720, 1963.
- Yokoyama, A., y Ota, K.: *The effect of anesthesia on milk yield and maintenance of lactation in the goat and rat*. J. Endocr. 33:341, 1965.

41. Donovan, B. T., y Van der Werff ten Bosch, J. J.: *The hypothalamus and lactation in the rabbit*. J. Physiol. 137: 410, 1957.
42. Rothchild, I.: *The corpus luteum-pituitary relationship: The association between the cause of luteotrophin secretion and the cause of follicular quiescence during lactation. The basis for a tentative theory on the corpus luteum-pituitary relationship in the rat*. Endocrinology 67:9, 1960.
43. Denamur, R., y Martinet, J.: *Les stimulus nerveux mammaires, sont-ils nécessaires à l'entretien de la lactation chez la chèvre?* C. R. Acad. Sci. Paris 248:743, 1959.
44. Denamur, R., y Martinet, J.: *Le rôle du système nerveux de la glande mammaire dans l'entretien de lactation*. Arch. Sci. Physiol. 13:271, 1959.
45. Denamur, R., y Martinet, J.: *Entretien de la lactation chez le chevre après section de la moelle épinière et sympathectomie lombaire*. C. R. Acad. Sci. Paris 248:860, 1959.
46. Linzell, J. L.: *Some effect of denervation and transplanting mammary glands*. Quart. J. Exp. Physiol. 48:34, 1963.
47. Tsakhaev, G. A.: *Change in the secretory and motor function of the udder in goats under conditions of partial denervation*. Dokl. Akad. Nauk. SSSR 93:1131, 1953.
48. Tverskoi, G. B.: *The nature of the sensory impulses from the udder involved in reflex regulation of milk secretion*. Zhurn. Obsch. Biologii 14:349, 1953.
49. Cowie, A. T.; Daniel, P. M.; Knaggs, C. S.; Prichard, M. M. L., y Tindal, J. S.: *Lactation in the goat after section of the pituitary stalk*. J. Endocr. 28:253, 1964.
50. Gale, C. C.: *Non-essential role of prolactin in the hormonal restoring of lactation in goats with radiofrequency hypothalamic lesions*. Acta Physiol. Scand. 59:269, 1963.
51. Tverskoi, G. B.: *Influence of cervical sympathectomy and pituitary stalk section upon milk secretion in goats*. Nature (Londres) 186:782, 1960.
52. Everett, J. W.: *Luteotrophic function of autografts of the rat hypophysis*. Endocrinology 54:685, 1954.
53. Grosvenor, C. E.: *Effect of prolactin upon milk secretion in the spinal cord-sectioned rat*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 121:366, 1966.
54. Gachev, F. P.: *On the possibilities of induction of the pituitary prolactin secretion by means of exogenous prolactin*. C. R. Acad. Bulg. Sci. 22:217, 1969.
55. Grosvenor, C. E.; Mena, F.; Maiweg, H.; Dhariwal, A. P. S., y McCann, S. M.: *Effect of hypothalamic extract and exogenous prolactin on reaccumulation of prolactin in the pituitary of the lactating rat after suckling*. J. Endocr. 47: 339, 1970.
56. Meites, J., y Turner, C. W.: *Studies concerning the mechanism controlling the initiation of lactation at parturition. III. Can estrogen account for the precipitous increase in the lactogen content of the pituitary following parturition?* Endocrinology 30:726, 1942.
57. Meites, J., y Turner, C. W.: *Studies concerning the induction and maintenance of lactation. II. The normal maintenance and experimental inhibition and augmentation of lactation*. Res. Bull. Mo. Agric. Exp. Stat. No. 416, 1948.
58. Ratner, A., y Meites, J.: *Depletion of prolactin-inhibiting activity of rat hypothalamus by estradiol or suckling stimulus*. Endocrinology 75:377, 1964.
59. Everett, J. W.: *Functional corpora lutea maintained for months by autografts of rat hypophysis*. Endocrinology 58: 786, 1956.
60. Pasteels, J. L.: *Secretion de prolactine par l'hypophyse en culture de tissus*. C. R. Acad. Sci. Paris 253:2140, 1961.
61. Meites, J.; Nicoll, C. S., y Talwalker, P. K.: *The central nervous system and the secretion and release of prolactin*. En: *Advances in neuroendocrinology*. Nalvandov, A. V. (Ed.). Urbana, University of Illinois Press. 1963, cap. 8.
62. Grosvenor, C. E.; Mena, F., y Schaeffgen, D. A.: *Effect of non-suckling interval and duration of suckling on the suckling induced fall in pituitary prolactin concentration in the rat*. Endocrinology 81:449, 1967.
63. Grosvenor, C. E.: *Effect of nursing and stress upon prolactin-inhibition activity of the rat hypothalamus*. Endocrinology 77:1037, 1965.
64. Fiorindo, R. P., y Nicoll, C. S.: *Inhibitory and stimulatory effects of rat median eminence extract on prolactin secretion in vitro by rat adenohypophysis*. Fed. Proc. 28:437, 1969.
65. Krulich, J.; Kuhn, E.; Illner, P., y McCann, S. M.: *Blood prolactin levels in lactating rats*. Fed. Proc. 29:1, 1970.
66. Valverde, C.; Chiefflo, V., y Reichlin, S.: *Prolactin-releasing factor in porcine and rat hypothalamic tissue*. Endocrinology 91:982, 1972.
67. Convey, E. M., y Reece, R. P.: *Restoration of pituitary lactogen released in response to suckling*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 131:543, 1969.
68. Chen, C. L.; Amenomori, Y.; Lu, K. H.; Voogt, J. L., y Meites, J.: *Serum prolactin levels in rats with pituitary transplants or hypothalamic lesions*. Neuroendocrinology 6: 220, 1970.
69. Mena, F., y Grosvenor, C. E.: *Effect of number of pups upon suckling-induced fall in pituitary prolactin concentration and milk-ejection in the rat*. Endocrinology 82:623, 1968.
70. Meites, J.; Bergman, A. J., y Turner, C. W.: *Relation of litter size to AP lactogen content of nursing rabbits*. Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y. 46:670, 1941.
71. Amenomori, Y., Chen, C. L., y Meites, J.: *Serum prolactin levels in rats during different reproductive states*. Endocrinology 86:506, 1970.
72. Grosvenor, C. E., y Mena, F.: *Evidence for a refractory period in the neuroendocrine mechanisms for release of prolactin*. Endocrinology 88:355, 1971.
73. Grosvenor, C. E., y Turner, C. W.: *Effects of oxytocin and blocking agents upon pituitary lactogen discharge in lactating rats*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 97:463, 1958.
74. Grosvenor, C. E.; McCann, S. M., y Nallar, R.: *Inhibition of nursing-induced and stress-induced fall in pituitary prolactin concentration in lactating rats by injection of acid extracts of bovine hypothalamus*. Endocrinology 76:883, 1965.
75. Grosvenor, C. E.; Mena, F.; Dhariwal, A. S., y McCann, S. M.: *Reduction of milk secretion by prolactin-inhibiting factor (PIF): Further evidence that exteroceptive stimuli can release pituitary prolactin in rats*. Endocrinology 81:1021, 1967.
76. Grosvenor, C. E., y Mena, F.: *Evidence for a time delay between prolactin release and the resulting rise in milk secretion in the rat*. J. Endocr. 58:31, 1973.
77. Grosvenor, C. E.; Maiweg, H., y Mena, F.: *Effect of non-suckling interval on ability of prolactin to stimulate milk secretion in rats*. Amer. J. Physiol. 219:403, 1970.
78. Van der Lee, S., y Boot, L. M.: *Spontaneous pseudopregnancy in mice*. Acta Physiol. Pharmacol. Neerl. 4:442, 1955.
79. Bruce, H. M.: *An exteroceptive block to pregnancy in the mouse*. Nature (Londres) 184:105, 1959.
80. Alloiteau, J. J.: *Le controle hypothalamique de l'adenohypophyse. III. Regulation de la fonction gonadotrope femelle. Activité LTH*. Biol. Med. 51:250, 1962.
81. Grosvenor, C. E.: *Evidence that exteroceptive stimuli can release prolactin from the pituitary gland of the lactating rat*. Endocrinology 76:340, 1965.
82. Bryant, G. D.; Linzell, J. L., y Greenwood, F. C.: *Plasma prolactin in goats measured by radioimmunoassay: The effects of teat stimulation, mating behavior, stress, fasting and oxytocin, insulin and glucose injections*. Hormones 1: 26, 1970.
83. Johke, T.: *Factors affecting the plasma prolactin level in the cow and the goat as determined by radioimmunoassay*. Endocrinol. Jap. 17:393, 1970.
84. Patel, M. D.: *The physiology of the formation of pigeon's milk*. Physiol. Zool. 9:129, 1936.
85. Bronson, F. H.: *Pheromonal influences on mammalian reproduction*. En: *Perspectives in reproduction and sexual behavior*. Diamond, M. (Ed.). Bloomington, Indiana Univ. Press. 1969, p. 341.
86. Whitten, W. K.: *Pheromones and mammalian reproduction*. En: *Advances in reproductive physiology*. McLaren, A. M. (Ed.). Nueva York, Academic Press. 1966, p. 154.
87. Roth, L. L., y Rosenblatt, J. S.: *Self licking and mammary development during pregnancy in the rat*. J. Endocrinol. 42: 363, 1968.
88. Grosvenor, C. E., y Mena, F.: *Failure of self-licking of nipples to alter pituitary prolactin concentration in lactating rats*. Horm. Behav. 1:85, 1969.

(Referencias 89 a 98, disponibles a solicitud en la Oficina Editorial.)