



ARTÍCULO DE REVISIÓN

La prolactina en el sistema inmunológico: aspectos de síntesis y efectos biológicos

Isabel Méndez,* Cecilia Cariño,* Lorenza Díaz*

* Departamento de Biología de la Reproducción. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Prolactin in the immune system: synthesis and biological effects

ABSTRACT

Prolactin (PRL) is a 23 kDa protein hormone that is produced and secreted by the pituitary lactotrophs. Although PRL was initially regarded as an exclusive pituitary hormone, many nonpituitary tissues were later found to contain and produce this hormone. The most established extrapituitary sites that produce PRL are the decidua, the immune system, brain and endometrium. In the immune system, PRL acts as a cytokine where it plays an important role in human immune responses, including in autoimmune diseases. Here, we will discuss the regulation of PRL gene expression in human lymphocytes and review the functions of PRL made by the immune cells, including its involvement in autoimmunity.

Key words. Prolactin. Cytokine. Lymphocytes. Gene expression. Autoimmunity

INTRODUCCIÓN

La prolactina (PRL) es una hormona polipeptídica sintetizada y secretada principalmente por células especializadas de la hipófisis anterior denominadas lactotropos. El nombre de esta hormona se debe a las observaciones en un extracto de glándula hipofisaria de bovino y su capacidad de promover la lactancia en conejos.¹ Posteriormente se demostró que la PRL participaba en el desarrollo de la glándula mamaria y en la producción de las proteínas de la leche en el embarazo y en el posparto. Actualmente, se conocen más de 300 acciones biológicas de la PRL que no están relacionadas con la lactancia o el área reproductiva, sino también con la homeostasis del organismo.² En el cuadro 1 se muestran algunas de las acciones principales de la PRL. Por otra parte, la síntesis y secreción

RESUMEN

La prolactina es una hormona que fue considerada durante mucho tiempo de origen exclusivamente hipofisario, y cuya función más importante era la promoción de la lactancia. Sin embargo, la prolactina no sólo se sintetiza en diversos sitios del organismo, sino que también participa en una amplia variedad de procesos biológicos. Dentro de los sitios de síntesis extrahipofisarios de esta hormona se encuentran diversas células del sistema inmunológico. A este nivel, la prolactina actúa afectando desde la proliferación celular hasta el estado inmune del individuo. En esta revisión presentamos algunos aspectos relativos a la prolactina de origen linfocitario tales como su síntesis, su participación en el sistema inmunológico y su relación con estados de autoinmunidad.

Palabras clave. Prolactina. Citocina. Linfocitos. Síntesis. Expresión genética. Nb2. Autoinmunidad.

de la PRL no están limitadas a la hipófisis anterior, ya que diversas estirpes celulares tienen esa capacidad, entre ellas las células del sistema inmunológico, en donde la PRL lleva a cabo acciones autocrinas y paracrinias.

GENERALIDADES

La prolactina (PRL), al igual que la hormona del crecimiento (GH) y el lactógeno placentario (PL), forma parte de una familia de hormonas que comparten características relacionadas con su estructura, propiedades funcionales y origen genético.^{3,4} Esta hormona de naturaleza proteínica ejerce diversos efectos biológicos a través de su interacción con receptores específicos de membrana que se encuentran ampliamente distribuidos en el organismo.⁵ Sus efec-

Cuadro 1. Acciones biológicas de la prolactina.

Órganos blanco	Efectos
Glándula mamaria	Regula el desarrollo y crecimiento celular, aumenta la síntesis de proteínas y carbohidratos de la leche, estimula la lactogénesis, regula el tránsito de IgA a través del epitelio celular.
Hígado, riñón, piel, páncreas, hipófisis, Sist. inmunológico, líneas celulares tumorales de glándula mamaria y de linfocitos Nb2.	Desarrollo y crecimiento celular, contribuye a la progresión del cáncer.
Gónadas	Acciones luteotrópicas y luteolíticas, inhibe la esteroidogénesis, estimula síntesis de receptores para gonadotropinas
Hipotálamo	Estimula el recambio de dopamina, disminuye la secreción de GnRH.
Páncreas	Estimula la proliferación, aumenta la actividad de las célula β para la secreción de insulina.
Próstata	Estimula la proliferación, aumenta IGF-1 y sus receptores y los receptores para andrógenos.
Riñón, intestino, placenta	Regula el equilibrio de agua y electrolitos.
Sistema inmunológico:	
Células NK	Contribuye a la proliferación, la diferenciación y la respuesta LAK, estimula la síntesis de IFN- γ .
Granulocitos	Estimula la expresión del gen de IRF-1 y la síntesis de la iNOS.
Linfocitos	Estimula la inmunidad celular, la proliferación, la síntesis de IFN- γ , de IL-2 y sus receptores, inhibe la apoptosis, regula la síntesis de la iNOS, estimula la expresión del gen de IRF-1.
Monocitos	Induce la diferenciación y estimula la efectividad de presentación del antígeno, regula a la alta los receptores para GM-CSF.

tos en distintas especies están relacionados con diversas áreas como la reproducción, el desarrollo y crecimiento, el equilibrio de líquidos y electrólitos y la regulación del sistema inmunológico.⁶ Además de la glándula hipofisaria, la PRL humana es sintetizada en diferentes sitios como el miometrio uterino, la decidua placentaria y diversas células del sistema inmunológico.⁷ En el sistema inmunológico, la PRL ejerce efectos paracrinos y autocrinos y ha sido relacionada con algunos procesos de autoinmunidad. Actualmente la PRL es considerada no sólo como una hormona, sino también como una citocina.

SÍNTESIS DE PRL POR LAS CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNOLÓGICO

El sistema inmunológico está conformado por distintos tipos de células que provienen de una célula progenitora común o célula madre. Esta célula es ge-

nerada en la médula ósea y posteriormente, en la misma médula o bien en el timo, sufre procesos de diferenciación que dan origen a distintas estirpes celulares con características y funciones específicas. Dentro de estas estirpes celulares se encuentran las células mononucleares (CMN), que se caracterizan por tener un solo núcleo. Los linfocitos T, los linfocitos B y los monocitos forman parte de este grupo celular. Los linfocitos son células que se pueden encontrar tanto en la circulación como en los tejidos donde maduran o se activan como el bazo o los nódulos linfáticos.

Diversos informes en la literatura demuestran que los linfocitos son sitio de síntesis de la PRL.^{8,9} Los primeros estudios indicaron que la adición de anticuerpo anti-PRL inhibía la proliferación de los linfocitos T y B de rata que había sido inducida por factores mitogénicos.⁸ Debido a que este efecto se encontró en ausencia de suero en el medio de cultivo y

que además era revertido por la adición de PRL exógena, se sugirió que una molécula parecida a la PRL era producida por los linfocitos y afectaba la progresión de su ciclo celular. Otros autores observaron la presencia de una molécula en el medio de cultivo de esplenocitos murinos (linfocitos obtenidos de bazo) que inducía actividad biológica en la línea celular Nb2, que es dependiente de PRL para su proliferación, y cuyo efecto fue revertido en presencia de anticuerpo anti-PRL.⁹ Estos hallazgos, que sugerían a los linfocitos como el origen de una molécula con propiedades de inmunorreactividad y actividad biológica similares a la PRL hipofisaria, se reforzaron con análisis de hibridación *in situ*, que revelaron la expresión del transcripto del gen o RNA mensajero (RNAm) de la PRL en diferentes tejidos linfocitarios.¹⁰ El análisis por Northern-blot, realizado en una línea linfoblastoide de células B, demostró la presencia del RNAm de la PRL que fue detectado con una secuencia de DNA complementario (DNAc) la PRL humana.¹¹ El empleo de la técnica de reacción de la transcriptasa inversa y amplificación en cadena de la polimerasa o RT-PCR utilizada para amplificar secuencias específicas de RNAm cuya expresión es baja en las células, contribuyó para demostrar que no sólo en líneas celulares linfoideas (que normalmente provienen de tumores) se expresa el RNAm de la PRL, sino también en células linfocitarias normales, como los timocitos^{12,13} (linfocitos obtenidos del timo) y las CMN de sangre periférica humana.¹³⁻¹⁵

Por otra parte, los mecanismos que regulan la expresión del gen de la PRL de origen linfocitario aún no han sido determinados. El transcripto de la PRL se expresa constitutivamente en los linfocitos y se extiende 150 bases más hacia su región 5' que el transcripto de la hipófisis.¹¹⁻¹⁴ Esto es debido a la presencia de un exón adicional no codificante que se encuentra hacia el extremo 5' (exón 1a) y es idéntico a la secuencia de DNAc presente en otros tejidos extrahipofisarios, como la decidua placentaria (Figura 1).^{12,14,16,17} Si bien, el mensajero en tejidos extrahipofisarios es más largo que su homólogo en la hipófisis, la presencia de la región adicional no modifica la secuencia de la proteína nativa, que resulta idéntica a la de la PRL hipofisaria (Figura 1).

El promotor hipofisario de la PRL humana contiene tres sitios de unión para el factor de transcripción Pit-1 localizados inmediatamente antes del sitio de inicio de la transcripción (exón 1) hacia el extremo 5' y regula la transcripción en la hipófisis.⁷ Existe otro conjunto de elementos que contiene ocho sitios para Pit-1 localizado a -2.5 kb de distancia, y que es conocido como aumentador distal. En el au-

mentador distal se encuentra ubicado un sitio de unión para el receptor estrogénico conocido como elemento de respuesta para el receptor de estrógenos (ERE) (Figura 1). Los elementos reguladores localizados en la región promotora proximal tienen funciones tanto de estimulación como de inhibición de la transcripción. La dopamina es el inhibidor más importante de la síntesis de la PRL hipofisaria y sus acciones son mediadas por la disminución del contenido intracelular de AMP cíclico, cuyo efecto primario se encuentra localizado a nivel de la regulación de la actividad transcripcional de Pit-1.¹⁸ El sitio de inicio de la transcripción en los tejidos extrahipofisarios está localizado en el exón 1a, siendo un promotor distal o alterno el que controla la regulación en estos tejidos, pero se conoce aún poco acerca de los mecanismos implicados en dicha regulación. En la placenta, específicamente en el endometrio decidual, la PRL es regulada por factores autocrinos y paracrinos de la unidad fetoplacentaria, como son la progesterona, la insulina y la interleucina-1 (IL-1), mientras que los reguladores clásicos de la PRL hipofisaria como la dopamina y la TRH no modifican la transcripción del gen.⁷ Aunque el promotor alterno contiene dos secuencias consenso de unión para Pit-1, este factor no modifica la transcripción del gen de la PRL ni en la decidua ni en las células linfoideas,^{7,19} lo que sugiere que el mecanismo de control de la expresión génica de la PRL extrahipofisaria es tejido-específico. En los linfocitos, reguladores conocidos de la síntesis de la PRL hipofisaria como los estrógenos, el péptido intestinal vasoactivo, la hormona liberadora de tirotropinas y un agonista de receptores D2 de la dopamina (bromocriptina) no modifican la expresión del gen de la PRL.²⁰ Por el contrario, la dexametasona²⁰ y la ciclosporina²¹ inhiben la expresión de la PRL linfocitaria, y el ácido retinoico la estimula,²⁰ observándose algunas de estas acciones también en la hipófisis.²² La actividad del promotor alterno de la PRL en la línea celular Jurkat de linfocitos T está localizada entre 67 y 463 pb corriente arriba del exón 1a, pero es inactivo en células hipofisarias o en la línea celular HeLa de cáncer cervicouterino, por lo que se infiere que es un promotor que controla la expresión del gen de manera específica en los tejidos.

La regulación de la transcripción depende tanto de los receptores expresados como del ambiente intracelular, lo que está directamente relacionado con los factores de transcripción presentes en la célula, que dirigen específicamente la expresión del gen de la PRL.²³ Existe evidencia en la literatura de que el promotor alterno de la PRL es activado por análogos del AMPc y por la proteína cinasa A, debido a la

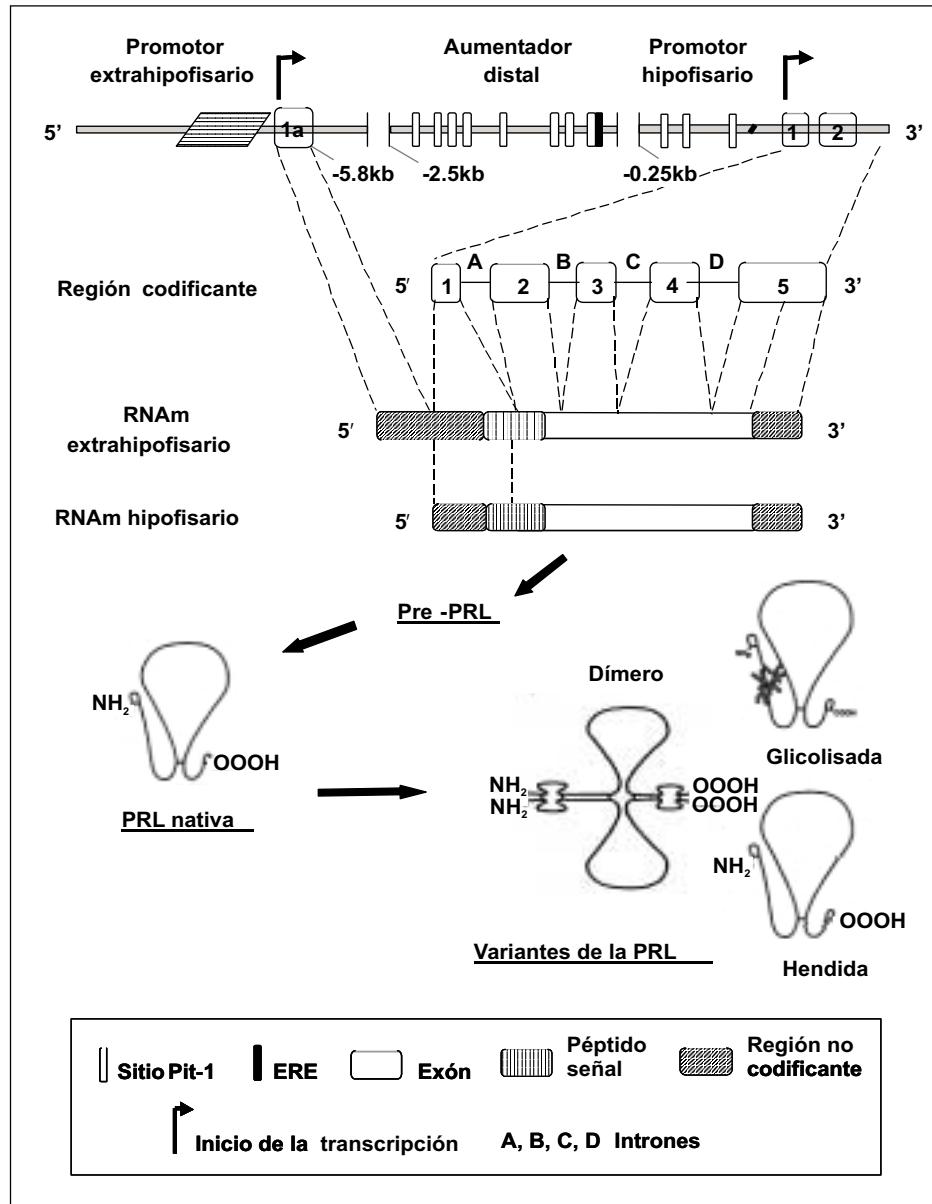


Figura 1. Estructura del gen de la PRL humana mostrando las regiones codificante y no codificante, los sitios de inicio y los productos de la transcripción de los promotores hipofisario y extrahipofisario. También se muestran el producto de la traducción y algunas de las variantes moleculares de la PRL (basado en la Ref. 7).

presencia de varias secuencias de elementos de respuesta a AMPc (CRE).^{21,24,25} Esta actividad se incrementa hasta seis veces en presencia de análogos del AMPc en linfocitos T y en células endometriales estromales transfectadas con genes reporteros,^{21,24} lo que sugiere que activadores de la vía dependiente del AMPc pudieran estar implicados en el control de la PRL en tejidos extrahipofisarios. La actividad transcripcional del promotor alterno también es inducida por activadores de linfocitos T en las células Jurkat, como la fitohemaglutinina y los ésteres del forbol como el PMA, que sinergizan el efecto estimulador del AMPc.²¹

La utilización del marcaje metabólico y de anticuerpos específicos ha permitido establecer la heterogeneidad molecular de la PRL sintetizada por las células del sistema inmunológico. A este respecto, diversos autores han observado la presencia de variantes de peso molecular de la PRL dependiendo de la estirpe celular y del anticuerpo utilizado para identificar a esta molécula (Cuadro 2). Los timocitos producen una forma molecular de la PRL de 24 kDa, mientras que los linfocitos de sangre periférica sintetizan una variante de 27 kDa y en menor proporción se observó una forma de 11 kDa en el medio de cultivo de ambos tipos celulares.¹³ Tanto la PRL

Cuadro 2. Variantes moleculares de la prolactina humana.

Variente o isoforma	Peso molecular (kDa)	Tejido de origen	Localización
Nativa	23.5	Hipófisis	Hipófisis, plasma
Glicosilada	25	Hipófisis	Hipófisis, plasma
Hendida	16	Hipófisis, hipotálamo	Hipófisis, cerebro, glándula mamaria, próstata, plasma
Grande	46	Hipófisis	Hipófisis, plasma
Grande-grande	> 100	Hipófisis	Hipófisis, plasma
Variantes linfocitarias	11 23-25 27 60	Células mononucleares periféricas (linfocitos y monocitos), timocitos	Células de origen, medio de cultivo de CMN, plasma
Otras variantes	8 22	Hipófisis	Hipófisis

de 24 como la de 11 kDa fueron purificadas y analizadas en bioensayos con la línea celular Nb2, siendo ambas formas biológicamente activas.¹³ Una isofor-ma de PRL de 23 kDa fue detectada en líneas celulares de linfocitos T y de CMN humanas,¹⁴ mientras que una variante de PRL con un peso aparente de 60 kDa fue identificada en cultivos de CMN periféricas.^{15,26} Asimismo, tanto en la línea celular Jurkat como en CMN de sangre periférica de pacientes con lupus eritematoso, se observó una variante de PRL con un peso molecular aparente de 25 kDa.^{27,28} La presencia de heterogeneidad molecular de la PRL producida por los linfocitos es propia de la molécula, ya que en la hipófisis sucede algo similar (Cuadro 2). En la hipófisis humana, por ejemplo, la forma predominante de la PRL es la de 23.5 kDa, y por modificaciones postraduccionales, esta molécula nativa puede adquirir grupos como carbohidratos (PRL glicosilada), dimerizarse (PRL grande), polimerizarse (PRL grande-grande) o ser hidrolizada (PRL hendida) para dar origen a las distintas variantes moleculares (Figura 1, Cuadro 2).²⁹ De tal forma que la molécula de PRL linfocitaria es similar a la hipofisaria, siendo probablemente las formas moleculares pequeñas producto de la proteólisis de la molécula y las formas grandes producto de la glicosilación o de la unión a proteínas como la IgG, hecho que ya ha sido previamente descrito.³⁰⁻³²

La PRL es una molécula muy versátil en las acciones que ejerce, y esto depende tanto de su polimorfismo estructural como de la amplia distribución de sus receptores membranales. La existencia de isoformas de la PRL de origen linfocitario puede tener

implicaciones funcionales o ser consecuencia del estado fisiológico o patológico del individuo que implique la presencia de una u otra forma que responda a las necesidades del medio en un determinado momento. La capacidad de ejercer diversas acciones relevantes en la funcionalidad del sistema inmunológico ha dado como resultado que la PRL sea considerada como una citocina.

ACCIONES DE LA PRL EN EL SISTEMA INMUNOLÓGICO

A principios de la década de los 90's, estudios comparativos de la secuencia de receptores de membrana condujeron a la identificación de una superfamilia de receptores que se denominó familia de receptores para citocinas clase 1. En esta familia están incluidos el receptor de la PRL, la GH, la leptina y algunas interleucinas como la IL-2, la IL-4 y la IL-6, entre otros.³³ Estos receptores contienen secuencias de aminoácidos altamente conservadas en sus dominios intra y extracelular. La PRL actúa sobre las células blanco a través de la unión con sus receptores membranales específicos.

Las citocinas son proteínas que se distinguen por compartir diversas características como: participar en las respuestas inflamatoria e inmunitaria, son sintetizadas por múltiples tipos celulares y son pleiotrópicas, es decir, que también actúan en diferentes tipos de células, pueden ejercer acciones diferentes en la misma célula blanco, sus efectos son con frecuencia redundantes y pueden actuar en conjunto con otra citocina para producir efectos de adición, de

sinergismo o antagonizar mutuamente sus acciones. La PRL cumple con gran parte de estas características, que se describirán a continuación, lo que ha llevado a clasificarla como una citocina.

La PRL participa activamente sobre la proliferación celular en diversos tejidos como la glándula mamaria, la próstata y el páncreas.³⁴⁻³⁷ La utilización de anticuerpo contra la PRL ha puesto de manifiesto que también el sistema inmunológico es sitio blanco para los efectos mitogénicos que produce la PRL.⁸ Este anticuerpo inhibe específicamente la proliferación de células linfoides en presencia, tanto de mitógenos específicos de células B y T, como de citocinas tales como la IL-2 y la IL-4, que actúan como factores de crecimiento.^{8,38} La adición de PRL exógena y no de GH evita la acción inhibitoria del anticuerpo en cultivos de linfocitos, lo que pone de manifiesto la especificidad del efecto de la PRL. Además, la adición de PRL combinada con IL-2, fitohemaglutinina o con A estimula la mitosis de linfocitos T y B y de células NK mantenidos en cultivo.^{38,39} Así, la PRL actúa como un agente mitogénico o comitogénico aumentando la eficacia de lectinas y citocinas en la estimulación de la proliferación de los linfocitos. En la línea de células T inmaduras derivada de linfoma de rata denominada Nb2 la PRL tiene efectos mitogénicos directos. La proliferación de esta línea celular es sensible a hormonas lactogénicas (PRL, GH y PL) e IL-2,^{40,41} y de hecho, es ampliamente utilizada para evaluar tanto la actividad biológica de la PRL como los mecanismos implicados en la acción de la PRL en los linfocitos T. De tal forma que la PRL tiene un papel importante en la mitosis de los linfocitos, ya sea de manera autocrina o paracrina. Sin embargo, la utilización de modelos animales "knockout", es decir, donde la expresión de la PRL o de su receptor está totalmente anulada, reveló que la funcionalidad de las células inmunológicas no estaba alterada en la linfopoyesis, ni en la inmunidad innata, ni en la capacidad de producir anticuerpos o de proliferar en presencia de estímulos mitogénicos *in vitro*.⁴² Este comportamiento se puede explicar por la redundancia funcional que tienen las citocinas, es decir, que las acciones de la PRL pueden ser sustituidas por otras moléculas sin ser afectadas por la ausencia de la molécula o sus receptores.

La PRL también está implicada en funciones del sistema inmunológico como la diferenciación celular y la expresión de distintos factores. Por ejemplo, durante la diferenciación de las células NK la PRL se expresa y es requerida para conducir a una respuesta LAK (actividad asesina inducida por linfocinas).⁴³ Además, la PRL, en concentraciones fisiológicas, colabora con el factor estimulador de colonias de granulocitos-monoci-

tos (GM-CSF) en la promoción de la diferenciación de monocitos circulantes a células dendríticas y aumenta la efectividad de la presentación del antígeno por estas células induciendo la síntesis de receptores para el GM-CSF.⁴⁴⁻⁴⁶ En los granulocitos, los linfocitos y el endometrio, la PRL induce la transcripción del gen del factor de transcripción regulador del interferón (IRF-1),⁴⁷⁻⁴⁹ que es un regulador importante de la diferenciación y la maduración de los linfocitos T y B. Asimismo, en los granulocitos, la PRL regula la síntesis de la sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS), enzima que produce óxido nítrico que media la respuesta inmunológica y la inflamación.⁴⁸ La PRL también estimula la síntesis de la IL-2 y su receptor en esplenocitos y timocitos,^{50,51} además de colaborar en las acciones de la IL-2 e IL-12 estimulando la síntesis de IFN-γ en los linfocitos T y en las células NK.⁵⁰⁻⁵³ Algunos estudios han sugerido que la PRL contribuye en la actividad hematopoyética y en el desarrollo y mantenimiento de la masa ósea.⁵⁴ Otra de las acciones de la PRL consiste en mediar el tránsito de IgA a través del epitelio celular durante el desarrollo de la glándula mamaria.⁵³

La PRL es considerada un agente antiapoptótico en los sistemas reproductor e inmunológico.⁵⁵⁻⁵⁹ La PRL previene la apoptosis inducida por el óxido nítrico y la dexametasona en la línea celular Nb2⁵⁷ y modula tanto la expresión de genes implicados en la apoptosis (bax y bcl-2), como la activación de la caspasa-3.^{55,57,59,60} La PRL tiene un papel fisiológico importante en el mantenimiento de la supervivencia y funcionalidad del sistema inmunológico en estados de estrés, en los que tanto las concentraciones de PRL como de glucocorticoides se elevan, pero sus funciones se contrarrestan, ya que la PRL previene la apoptosis inducida por los glucocorticoides en los linfocitos.⁵⁸ Así, la PRL puede ser considerada como un modulador de la supervivencia celular.

En resumen, la PRL participa en la respuesta inmunitaria teniendo como blanco diferentes células del sistema inmunológico, se sintetiza en distintos tipos celulares y ejerce diversas acciones uniéndose a receptores específicos que pertenecen a la familia de receptores para citocinas clase 1. Además, la PRL colabora en sus acciones con otras citocinas, siendo estas acciones redundantes. Estas características conducen a considerar a la PRL como una citocina.

PRL Y AUTOINMUNIDAD

A pesar de todas estas acciones descritas para la PRL, aún no se han dilucidado las implicaciones fisiológicas que esta molécula tiene en los estados de autoinmunidad. En este sentido, cabe mencionar que

una cohorte de la población que padece lupus eritematoso generalizado (LEG) cursa con hiperprolactinemia.⁶¹⁻⁶⁶ Sin embargo, el papel de la PRL aún es controversial en la patogénesis de esta enfermedad. A ese respecto, algunos autores señalan que existe correlación entre las concentraciones de PRL circulante y las manifestaciones y signos clínicos de la enfermedad.^{61,62,64,66} Sin embargo, otros estudios establecen claramente que aunque las concentraciones de PRL circulante sean mayores a las de sujetos sanos, no están asociadas al índice de actividad de la enfermedad ni a marcadores de la actividad de linfocitos T,^{63,65} lo que sugiere que el grado de hiperprolactinemia no es factor determinante en la susceptibilidad de los órganos blanco. En la mayoría de los pacientes con lupus que presentan hiperprolactinemia no se conoce la etiología del incremento en las concentraciones de PRL circulante. El aumento moderado de estas concentraciones sugiere la participación de tejidos extrahipofisarios en la poza de PRL circulante. Además, la secreción de la PRL por los linfocitos de pacientes con LEG es mayor que en sujetos sanos.^{26,28,67} Las causas que conducen a la coexistencia de hiperprolactinemia y LEG, así como al aumento en la producción de PRL por las células linfocitarias de sujetos con esta enfermedad permanecen en la actualidad desconocidas. Estudios recientes en nuestro laboratorio demostraron que el tono dopamínergico central está aumentado en pacientes con LEG que cursan con normoprolactinemia.⁶⁷ Asimismo, análisis por Western-blot pusieron de manifiesto que la PRL de origen linfocitario contribuye a la PRL circulante, lo que no puede ser revelado por métodos convencionales como el radioinmunoanálisis.⁶⁷ Estas observaciones sugieren que la PRL de origen linfocitario contribuye alterando la actividad funcional del sistema dopamínergico hipotalámico, con el propósito de mantener las concentraciones de PRL circulante en el rango fisiológico y que también puede contribuir a otros niveles como el estado inmunitario del individuo. Por otra parte, la supresión de la secreción de PRL con agentes agonistas dopamínérgicos resulta en cambios sobre el sistema inmunológico similares a los observados con la remoción de la glándula hipofisaria, siendo revertidos estos efectos con el tratamiento con PRL exógena.⁶⁸ En ratones NZB/W, un modelo murino de lupus eritematoso generalizado, el tratamiento con bromocriptina resulta en la supresión de las concentraciones de PRL circulante, lo que conduce al retraso en la producción de autoanticuerpos e inhibe el desarrollo de la enfermedad,⁶⁹ mientras que la implantación de injertos de glándula hipofisaria provoca el

aumento en las concentraciones de IgG circulante y acelera la mortalidad de estos animales. Sin embargo, animales transgénicos que sobreexpresan el receptor de la PRL no desarrollan estados de autoinmunidad.⁷⁰

El papel de la PRL en la fisiopatogenia de la respuesta autoinmune no se ha dilucidado. A este respecto, se ha empezado a estudiar la intervención que la PRL tiene en los mecanismos de tolerancia. Los estudios de Diamond *et al.* demostraron que el rompimiento de la tolerancia de células B por el estradiol es anulado con el tratamiento con bromocriptina, lo que induce anergia en una población de linfocitos B que expresan anticuerpos anti-DNA con alta afinidad.⁷¹ Estas observaciones sugieren la participación de la PRL en la supresión de la tolerancia en las células B. De hecho, estudios recientes indican que el tratamiento con concentraciones elevadas de PRL, simulando aquellas que se encuentran en pacientes con LEG, conduce a alterar la tolerancia e induce un estado similar al lupus en ratones BALB/c R4Ag2b,^{72,73} siendo estos efectos mediados por la disminución, tanto en la selección negativa, como en la maduración de células B autorreactivas foliculares.⁷³ Estos estudios en modelos murinos sugieren fuertemente que la PRL pudiera estar implicada en la patogénesis del LEG. Con estos informes se abre un amplio campo en la investigación del papel que desempeña la PRL en la fisiopatología de las enfermedades autoinmunes y su intervención en los mecanismos de tolerancia y especificidad.

El origen de los defectos en los procesos de señalización en los linfocitos de pacientes con LEG y cómo se relacionan estos defectos con el rompimiento de la tolerancia y con la patología de la respuesta inmunológica no han sido bien esclarecidos. La desregulación en los mecanismos de síntesis y secreción de la PRL en el LEG podría ser la explicación del aumento en la secreción de esta hormona por los linfocitos de estos pacientes, sin descartar la presencia del polimorfismo de un solo nucleótido G/T que ha sido encontrado en el promotor de la PRL en los linfocitos de pacientes con LEG.⁷⁴

La contribución precisa de la PRL en las respuestas inmunológicas en estados de LEG no está bien establecida. En este sentido la PRL es una citocina que promueve la respuesta inmunológica de tipo Th1, que está asociada con la activación de la respuesta celular (inmunidad celular), ya que estimula tanto la secreción de IL-12 con la consecuente activación de los macrófagos, como la síntesis de IFN- γ en las células NK y en los linfocitos T.^{52,75,76} Si bien, los efectos de la PRL en el sistema inmunológico su-

gieren la presencia de un mecanismo de regulación que pudiera conducir la respuesta inmunológica hacia el tipo Th1, paradójicamente, el aumento de PRL está asociado al LEG cuyo perfil característico de citocinas es de tipo Th2 (inmunidad humoral). La coexistencia de la secreción aumentada de PRL linfocitaria y el LEG se podría explicar como un mecanismo de regulación y equilibrio entre las respuestas humorales y celulares, siendo esto benéfico para los pacientes con LEG. Asimismo, el deterioro de la enfermedad cuando las concentraciones circulantes de PRL son significativamente mayores pudiera deberse a que el equilibrio Th1/Th2 se incline hacia la respuesta Th1, facilitando el cambio de isotipo de anticuerpos IgM a autoanticuerpos patogénicos de tipo IgG2a. Diversas observaciones apoyan esta suposición, ya que los estados de hiperprolactinemia se asocian con el deterioro de la función citotóxica dada por los linfocitos Tc (CD8⁺)⁷⁷ y por otra parte, en el modelo murino de lupus NZW/B la activación de las células NK que inducen la respuesta inmunológica de tipo Th1 conduce a la exacerbación de la enfermedad.⁷⁸ Estas observaciones sugieren que el moderado aumento en las concentraciones circulantes de la PRL o bien la secreción aumentada de PRL por los linfocitos de los pacientes con LEG, que impactan en las concentraciones PRL en la circulación, pero que no llegan a ser detectables por radioinmunoanálisis, conducirían a efectos benéficos en estos pacientes, mientras que estados de hiperprolactinemia franca, como aquellos dados por prolactinomas, pueden ocasionar la exacerbación de la enfermedad. Nuevos estudios están enfocados al conocimiento de la participación de la PRL en el origen o la progresión del LEG y evaluar los posibles beneficios de manipular las concentraciones de PRL en estos pacientes.

Las implicaciones que la PRL tiene en estados de autoinmunidad han sido más estudiadas en el LEG, sin embargo, otras entidades clínicas también están asociadas con esta hormona-citocina. A este respecto, tanto observaciones clínicas como estudios en animales indican que la PRL está implicada en el desarrollo de la artritis reumatoide.⁷⁶ Como en el LEG, las concentraciones de PRL circulantes están aumentadas en pacientes con esta enfermedad autoinmune, pero su participación precisa no ha sido dilucidada. Por otra parte, la producción activa de PRL por los linfocitos infiltrados en el entorno sinovial ha sido demostrada.⁷⁹ Esta PRL estimula ciertos fibroblastos para producir citocinas proinflamatorias y metaloproteinasas conduciendo a la estimulación paracrína de las células sinoviales y a la exacerbación de la enfermedad.⁷⁶ Queda aún por establecer si el

aumento de la PRL circulante es debido a la mayor producción hipofisaria o linfocitaria, y si la PRL proveniente de los linfocitos infiltrados se produce bajo el estímulo de factores locales.

CONCLUSIONES

Una de las funciones más relevantes de la PRL a nivel del sistema inmunológico es la de ser un factor de supervivencia, ya que participa en la regulación de la densidad de población celular controlando tanto la proliferación como la muerte. La secreción anormal de PRL en las enfermedades del sistema inmunológico, tales como los procesos de autoinmunidad, y su capacidad de afectar la tolerancia sustenta el hecho de que la PRL participa activamente como una molécula inmunomoduladora. El estudio de los mecanismos de regulación de la PRL de origen linfocitario y de los efectos que esta citocina ejerce en las células del sistema inmunológico, ayudarán a entender mejor la fisiología de la respuesta inmunológica y la fisiopatología de las enfermedades autoinmunes.

REFERENCIAS

1. Stricker PFG. Action du lobe antérieur de l'hypophyse sur la montée laiteuse. *Cr Soc Biol* 1928; 99: 1978-80.
2. Bole-Feysot C, Goffin V, Edery M, Binart N, Kelly PA. Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocr Rev* 1998; 19: 225-68.
3. Boulay JL, Paul WE. The interleukin-4-related lymphokines and their binding to hematopoietin receptors. *J Biol Chem* 1992; 267: 20525-8.
4. Horseman ND, Yu-Lee LY. Transcriptional regulation by the helix bundle peptide hormones: growth hormone, prolactin, and hematopoietic cytokines. *Endocr Rev* 1994; 15: 627-49.
5. Kelly PA, Djiane J, Katoh M, Ferland LH, Houdebine LM, Teyssot B, Dusanter-Fourt I. The interaction of prolactin with its receptors in target tissues and its mechanism of action. *Recent Prog Horm Res* 1984; 40: 379-439.
6. Neill JM, Nagy GM. Prolactin secretion and its control. In: Knobil E NJ (Ed.). *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press Ltd; 1994, p. 1833-60.
7. Ben-Jonathan N, Mershon JL, Allen DL, Steinmetz RW. Extrahypothalamic prolactin: distribution, regulation, functions, and clinical aspects. *Endocr Rev* 1996; 17: 639-69.
8. Hartmann DP, Holaday JW, Bernton EW. Inhibition of lymphocyte proliferation by antibodies to prolactin. *FASEB J* 1989; 3: 2194-202.
9. Montgomery DW, Zukoski CF, Shah GN, Buckley AR, Pacholczyk T, Russell DH. Concanavalin A-stimulated murine splenocytes produce a factor with prolactin-like bioactivity and immunoreactivity. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 145: 692-8.
10. Wu H, Devi R, Malarkey WB. Expression and localization of prolactin messenger ribonucleic acid in the human immune system. *Endocrinology* 1996; 137: 349-53.
11. DiMatta GE, Gellersen B, Bohnet HG, Friesen HG. A human B-lymphoblastoid cell line produces prolactin. *Endocrinology* 1988; 122: 2508-17.

12. O'Neal KD, Montgomery DW, Truong TM, Yu-Lee LY. Prolactin gene expression in human thymocytes. *Mol Cell Endocrinol* 1992; 87: R19-23.
13. Montgomery DW, Shen GK, Ulrich ED, Steiner LL, Parrish PR, Zukoski CF. Human thymocytes express a prolactin-like messenger ribonucleic acid and synthesize bioactive prolactin-like proteins. *Endocrinology* 1992; 131: 3019-26.
14. Pellegrini I, Lebrun JJ, Ali S, Kelly PA. Expression of prolactin and its receptor in human lymphoid cells. *Mol Endocrinol* 1992; 6: 1023-31.
15. Sabharwal P, Glaser R, Lafuse W, Varma S, Liu Q, Arkins S, Kooijman R, Kutz L, Kelley KW, Malarkey WB. Prolactin synthesized and secreted by human peripheral blood mononuclear cells: an autocrine growth factor for lymphoproliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 7713-6.
16. Gellersen B, DiMatta GE, Friesen HG, Bohnet HG. Prolactin (PRL) mRNA from human decidua differs from pituitary PRL mRNA but resembles the IM-9-P3 lymphoblast PRL transcript. *Mol Cell Endocrinol* 1989; 64: 127-30.
17. DiMatta GE, Gellersen B, Duckworth ML, Friesen HG. Human prolactin gene expression. The use of an alternative noncoding exon in decidua and the IM-9-P3 lymphoblast cell line. *J Biol Chem* 1990; 265: 16412-21.
18. Ben-Jonathan N, Hnasko R. Dopamine as a prolactin (PRL) inhibitor. *Endocr Rev* 2001; 22: 724-63.
19. Gellersen B, Kempf R, Telgmann R, DiMatta GE. Nonpituitary human prolactin gene transcription is independent of Pit-1 and differentially controlled in lymphocytes and in endometrial stroma. *Mol Endocrinol* 1994; 8: 356-73.
20. Gellersen B, DiMatta GE, Friesen HG, Bohnet HG. Regulation of prolactin secretion in the human B-lymphoblastoid cell line IM-9-P3 by dexamethasone but not other regulators of pituitary prolactin secretion. *Endocrinology* 1989; 125: 2853-61.
21. Reem GH, Ray DW, Davis JR. The human prolactin gene upstream promoter is regulated in lymphoid cells by activators of T-cells and by cAMP. *J Mol Endocrinol* 1999; 22: 285-92.
22. Hubina E, Nagy GM, Toth BE, Ivan G, Gorombey Z, Szabolcs I, Kovacs L, Goth MI. Dexamethasone and adrenocorticotropin suppress prolactin secretion in humans. *Endocrine* 2002; 18: 215-9.
23. Van De Weerd C, Peers B, Belayew A, Martial JA, Muller M. Far upstream sequences regulate the human prolactin promoter transcription. *Neuroendocrinology* 2000; 71: 124-37.
24. Berwaer M, Martial JA, Davis JR. Characterization of an upstream promoter directing extrapituitary expression of the human prolactin gene. *Mol Endocrinol* 1994; 8: 635-42.
25. Telgmann R, Gellersen B. Marker genes of decidualization: activation of the decidual prolactin gene. *Hum Reprod Update* 1998; 4: 472-9.
26. Larrea F, Martinez-Castillo A, Cabrera V, Alcocer-Varela J, Queipo G, Carino C, Alarcon-Segovia D. A bioactive 60-kilodalton prolactin species is preferentially secreted in cultures of mitogen-stimulated and nonstimulated peripheral blood mononuclear cells from subjects with systemic lupus erythematosus. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3664-9.
27. Matera L, Cutufia M, Geuna M, Contarini M, Buttiglieri S, Gallo S, Fazzari A, Cavaliere C. Prolactin is an autocrine growth factor for the Jurkat human T-leukemic cell line. *J Neuroimmunol* 1997; 79: 12-21.
28. Gutierrez MA, Molina JF, Jara LJ, Cuellar ML, Garcia C, Gutierrez-Urena S, Gharavi A, Espinoza LR. Prolactin and systemic lupus erythematosus: prolactin secretion by SLE lymphocytes and proliferative (autocrine) activity. *Lupus* 1995; 4: 348-52.
29. Sinha YN. Structural variants of prolactin: occurrence and physiological significance. *Endocr Rev* 1995; 16: 354-69.
30. Leanos-Miranda A, Chavez-Rueda KA, Blanco-Favela F. Biologic activity and plasma clearance of prolactin-IgG complex in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 866-75.
31. Heffner LJ, Gramates LS, Yuan RW. A glycosylated prolactin species is covalently bound to immunoglobulin in human amniotic fluid. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 165: 299-305.
32. Cohen H, Cohen O, Gagnon J. Serum prolactin-binding protein (PRL-BP) of human and rat are identified as IgG. *C R Acad Sci III* 1994; 317: 293-8.
33. Bazan JF. Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 6934-8.
34. Naylor MJ, Lockfefer JA, Horseman ND, Ormandy CJ. Prolactin regulates mammary epithelial cell proliferation via autocrine/paracrine mechanism. *Endocrine* 2003; 20: 111-4.
35. Meng J, Tsai-Morris CH, Dufau ML. Human prolactin receptor variants in breast cancer: low ratio of short forms to the long-form human prolactin receptor associated with mammary carcinoma. *Cancer Res* 2004; 64: 5677-82.
36. Brelje TC, Stout LE, Bhagroo NV, Sorenson RL. Distinctive roles for prolactin and growth hormone in the activation of signal transducer and activator of transcription 5 in pancreatic islets of Langerhans. *Endocrinology* 2004; 145: 4162-75.
37. Van Coppenolle F, Skryma R, Ouadid-Ahidouch H, Slomiany C, Roudbaraki M, Delcourt P, Dewailly E, Humez S, Crepin A, Gourdou I, Djiane J, Bonnal JL, Mauroy B, Prevarskaya N. Prolactin stimulates cell proliferation through a long form of prolactin receptor and K⁺ channel activation. *Biochem J* 2004; 377: 569-78.
38. Clevenger CV, Russell DH, Appasamy PM, Prystowsky MB. Regulation of interleukin 2-driven T-lymphocyte proliferation by prolactin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 6460-4.
39. Matera L, Cesano A, Bellone G, Oberholtzer E. Modulatory effect of prolactin on the resting and mitogen-induced activity of T, B, and NK lymphocytes. *Brain Behav Immun* 1992; 6: 409-17.
40. Tanaka T, Shiu RP, Gout PW, Beer CT, Noble RL, Friesen HG. A new sensitive and specific bioassay for lactogenic hormones: measurement of prolactin and growth hormone in human serum. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51: 1058-63.
41. Croze F, Walker A, Friesen HG. Stimulation of growth of Nb2 lymphoma cells by interleukin-2 in serum-free and serum-containing media. *Mol Cell Endocrinol* 1988; 55: 253-9.
42. Buckley AR. Prolactin, a lymphocyte growth and survival factor. *Lupus* 2001; 10: 684-90.
43. Cesano A, Oberholtzer E, Contarini M, Geuna M, Bellone G, Matera L. Independent and synergistic effect of interleukin-2 and prolactin on development of T- and NK-derived LAK effectors. *Immunopharmacology* 1994; 28: 67-75.
44. Carreno PC, Jimenez E, Sacedon R, Vicente A, Zapata AG. Prolactin stimulates maturation and function of rat thymic dendritic cells. *J Neuroimmunol* 2004; 153: 83-90.
45. Matera L, Mori M, Galetto A. Effect of prolactin on the antigen presenting function of monocyte-derived dendritic cells. *Lupus* 2001; 10: 728-34.
46. Matera L, Galetto A, Geuna M, Vekemans K, Ricotti E, Contarini M, Moro F, Bassi G. Individual and combined effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and prolactin on maturation of dendritic cells from blood monocytes under serum-free conditions. *Immunology* 2000; 100: 29-36.
47. Yu-Lee LY. Prolactin modulation of immune and inflammatory responses. *Recent Prog Horm Res* 2002; 57: 435-55.
48. Dogusan Z, Hooghe R, Verdoood P, Hooghe-Peters EL. Cytokine-like effects of prolactin in human mononuclear and polymorphonuclear leukocytes. *J Neuroimmunol* 2001; 120: 58-66.
49. Jabbour HN, Critchley HO, Yu-Lee LY, Boddy SC. Localization of interferon regulatory factor-1 (IRF-1) in nonpregnant

- human endometrium: expression of IRF-1 is up-regulated by prolactin during the secretory phase of the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4260-5.
50. Viselli SM, Stanek EM, Mukherjee P, Hymer WC, Mastro AM. Prolactin-induced mitogenesis of lymphocytes from ovariectomized rats. *Endocrinology* 1991; 129: 983-90.
 51. Mukherjee P, Mastro AM, Hymer WC. Prolactin induction of interleukin-2 receptors on rat splenic lymphocytes. *Endocrinology* 1990; 126: 88-94.
 52. Matera L, Mori M. Cooperation of pituitary hormone prolactin with interleukin-2 and interleukin-12 on production of interferon-gamma by natural killer and T cells. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 917: 505-13.
 53. Rincheval-Arnold A, Belair L, Cencic A, Djiane J. Up-regulation of polymeric immunoglobulin receptor mRNA in mammary epithelial cells by IFN-gamma. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 194: 95-105.
 54. Welniak LA, Richards SM, Murphy WJ. Effects of prolactin on hematopoiesis. *Lupus* 2001; 10: 700-5.
 55. Tessier C, Prigent-Tessier A, Ferguson-Gottshall S, Gu Y, Gibori G. PRL antiapoptotic effect in the rat decidua involves the PI3K/protein kinase B-mediated inhibition of caspase-3 activity. *Endocrinology* 2001; 142: 4086-94.
 56. Goyeneche AA, Martinez IL, Deis RP, Gibori G, Telleria CM. In vivo hormonal environment leads to differential susceptibility of the corpus luteum to apoptosis in vitro. *Biol Reprod* 2003; 68: 2322-30.
 57. Fernandez ML, Iglesias MM, Biron VA, Wolfenstein_Todel C. Protective effect of prolactin and placental lactogen on NO-induced Nb2 lymphoma cell apoptosis. *Arch Biochem Biophys* 2003; 416: 249-56.
 58. Krishnan N, Thellin O, Buckley DJ, Horseman ND, Buckley AR. Prolactin suppresses glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis in vivo. *Endocrinology* 2003; 144: 2102-10.
 59. Buckley AR, Buckley DJ. Prolactin regulation of apoptosis-associated gene expression in T cells. *Ann NY Acad Sci* 2000; 917: 522-33.
 60. Peirce SK, Chen WY. Human prolactin and its antagonist, hPRL-G129R, regulate bax and bcl-2 gene expression in human breast cancer cells and transgenic mice. *Oncogene* 2004; 23: 1248-55.
 61. Jacobi AM, Rohde W, Venz M, Riemekasten G, Burmester GR, Hiepe F. Enhanced serum prolactin (PRL) in patients with systemic lupus erythematosus: PRL levels are related to the disease activity. *Lupus* 2001; 10: 554-61.
 62. Jara LJ, Gomez-Sanchez C, Silveira LH, Martinez-Osuna P, Vasey FB, Espinoza LR. Hyperprolactinemia in systemic lupus erythematosus: association with disease activity. *Am J Med Sci* 1992; 303: 222-6.
 63. Jimena P, Aguirre MA, Lopez-Curbelo A, de Andres M, Garcia-Courtesy C, Cuadrado MJ. Prolactin levels in patients with systemic lupus erythematosus: a case controlled study. *Lupus* 1998; 7: 383-6.
 64. Vera-Lastra O, Mendez C, Jara LJ, Cisneros M, Medina G, Ariazza R, Espinoza LR. Correlation of prolactin serum concentrations with clinical activity and remission in patients with systemic lupus erythematosus. Effect of conventional treatment. *J Rheumatol* 2003; 30: 2140-6.
 65. Daza L, Lavalle C, Duarte C, Huerta R, Moreno J. Lack of association between hyperprolactinemia and soluble IL-2 receptor levels in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2003; 12: 107-11.
 66. Pacilio M, Migliaresi S, Meli R, Ambrosone L, Bigliardo B, Di Carlo R. Elevated bioactive prolactin levels in systemic lupus erythematosus—association with disease activity. *J Rheumatol* 2001; 28: 2216-21.
 67. Mendez I, Alcocer-Varela J, Parra A, Lava-Zavala A, de la Cruz DA, Alarcon-Segovia D, Larrea F. Neuroendocrine dopaminergic regulation of prolactin release in systemic lupus erythematosus: a possible role of lymphocyte-derived prolactin. *Lupus* 2004; 13: 45-53.
 68. Nagy E, Berczi I. Hypophysectomized rats depend on residual prolactin for survival. *Endocrinology* 1991; 128: 2776-84.
 69. McMurray RW. Prolactin in murine systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2001; 10: 742-7.
 70. Hooghe R, Dogusan Z, Martens N, Velkeniers B, Hooghe-Peters EL. Effects of prolactin on signal transduction and gene expression: possible relevance for systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2001; 10: 719-27.
 71. Peeva E, Grimaldi C, Spatz L, Diamond B. Bromocriptine restores tolerance in estrogen-treated mice. *J Clin Invest* 2000; 106: 1373-9.
 72. Peeva E, Michael D, Cleary J, Rice J, Chen X, Diamond B. Prolactin modulates the naive B cell repertoire. *J Clin Invest* 2003; 111: 275-83.
 73. Peeva E, Venkatesh J, Michael D, Diamond B. Prolactin as a modulator of B cell function: implications for SLE. *Biomed Pharmacother* 2004; 58: 310-9.
 74. Stevens A, Ray DW, Worthington J, Davis JR. Polymorphisms of the human prolactin gene—implications for production of lymphocyte prolactin and systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2001; 10: 676-83.
 75. Majumder B, Biswas R, Chattopadhyay U. Prolactin regulates antitumor immune response through induction of tumoricidal macrophages and release of IL-12. *Int J Cancer* 2002; 97: 493-500.
 76. Matera L, Mori M, Geuna M, Buttiglieri S, Palestro G. Prolactin in autoimmunity and antitumor defense. *J Neuroimmunol* 2000; 109: 47-55.
 77. Kadioglu P, Acbay O, Demir G, Gazioglu N, Gundogdu S. The effect of prolactin and bromocriptine on human peripheral immune status. *J Endocrinol Invest* 2001; 24: 147-51.
 78. Zeng D, Liu Y, Sidobre S, Kronenberg M, Strober S. Activation of natural killer T cells in NZB/W mice induces Th1-type immune responses exacerbating lupus. *J Clin Invest* 2003; 112: 1211-22.
 79. Nagafuchi H, Suzuki N, Kaneko A, Asai T, Sakane T. Prolactin locally produced by synovium infiltrating T lymphocytes induces excessive synovial cell functions in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1999; 26: 1890-900.

Reimpresos:

M. en C. Isabel Cristina Méndez-Hernández

Departamento de Biología de la Reproducción
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición
Salvador Zubirán.
Vasco de Quiroga No. 15, Tlalpan
14000, México, D.F.
Tel.: (525) 5487-0900 Ext. 2418.
Fax (525) 5655-9859.
Correo electrónico: isabelcm@servidor.unam.mx

Recibido el 26 de abril de 2004.
Aceptado el 13 de diciembre de 2004.