

The Endocrinologist

CME ARTICLES
INSIDE

September/October 2001

Volume 11

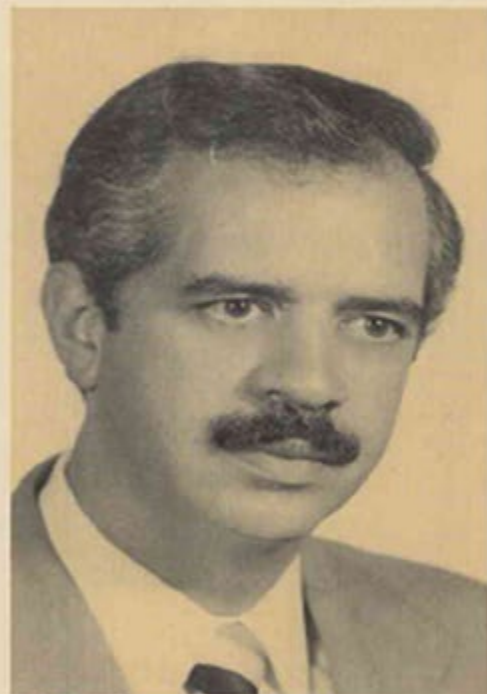
Number 5



LIPPINCOTT
WILLIAMS & WILKINS



Andrew V. Schilly

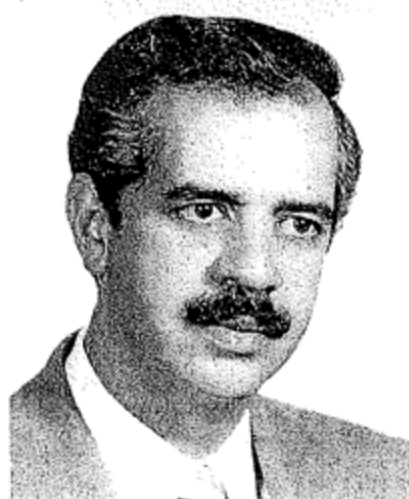


Carlos Gual

CLÁSICOS EN ENDOCRINOLOGÍA

Clark T. Sawin M.D.

El Clásico de este número fué el resultado de la colaboración entre Andrew V. Schally de Nueva Orleans y Carlos Gual de la Ciudad de México. La colaboración se desarrolló a partir de un encuentro casual en un Congreso de Endocrinología en 1965 (ver la Nota Histórica en este número) en una época en qué las hormonas hipotalámicas eran motivo de duda y especulación. Este artículo también fue la primera vez que un extracto hipotalámico relativamente puro contenía lo que ahora conocemos como TRH (hormona liberadora de TSH) y que demostraba claramente que era efectiva en el hombre.



Some Recollections of Early Clinical Studies on Hypothalamic Hormones: A Tale of a Successful International Collaboration

Andrew V. Schally &
Carlos Gual

Introduction

One of the major discoveries in the history of endocrinology was the proof

Endocrine, Polypeptide and Cancer Institute (A.V.S.), Veterans Affairs Medical Center, and Department of Medicine, Tulane University School of Medicine, New Orleans, Louisiana 70112; and Academia Nacional de Medicina and Former Senior Scientist (C.G.), Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Mexico.

Address correspondence to: Dr. Andrew V. Schally (151), VA Medical Center, Room 7F109, 1601 Perdido St., New Orleans, LA 70112. Phone: 504-589-5230; Fax: 504-566-1625.

of the existence of hypothalamic hormones, or releasing factors, three decades ago. Both thyrotropin-releasing hormone (TRH) and luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH), also known as gonadotropin-releasing hormone (GnRH), were isolated and chemically characterized at the end of the 1960s and the beginning of the 1970s. However, relatively few are aware that the first clinical trials in humans of natural and synthetic TRH and LH-RH were carried out in Mexico between 1968 and 1972 as the result of a close collaboration between the authors (AVS and CG). These pioneering tests on TRH and LH-RH, and in later years on LH-RH analogs, played a major role in introducing these compounds into clinical medicine. TRH, though no longer widely in clinical use except in special situations, was for some years the "gold standard" when used to test for hyperthyroidism. On the other hand, LH-RH, as well as its agonists, antagonists and cytotoxic analogues, are firmly established, or are being explored, as important therapeutic agents in gynecology, oncology, and urology [1-5]. As the main players in these projects, in the USA (AVS) and Mexico (CG), respectively, as well as in the isolation and synthesis of LH-RH itself (AVS) [6-9], we will attempt to give a historical account of these events.

Early Years and First Contacts

By the early 1950s the idea that the brain somehow affected the secretion of anterior pituitary hormones had become respectable. Attention focused on the hypothalamus and its vascular connection to the pituitary. Several groups began to try to find and identify the postulated hypothalamic hormones with an initial focus on the hypothetical factor that stimulated the release of ACTH, chosen because stress caused cortisol secretion and the effect seemed mediated through the central nervous system. There was some success at first, particularly in the physiologic demonstration that the corticotropin-releasing factor or hormone (CRF or CRH) seemed in fact to exist. But its isolation and chemical nature were elusive [10] and this was so for any hypothalamic hormone. The decade from about 1957 to 1967 was quite discouraging for investigators; the failure to identify CRH or any other hypothalamic hormone cast doubt on the validity of the initial findings of those, including AVS, who were convinced of their presence. AVS and others working in this area were exposed to sarcasm, skepticism and even ridicule by many American scientists and physicians in the endocrine field, who seemed not to understand the technological problems involved in the effort. The evidence for hypothalamic hormones was seen as only circumstantial, and the hormones themselves hypothetical; they were likened to the Loch Ness monster and the Abominable Snowman of the Himalayas and the question raised was whether or not they were but a watery illusion [11]. By the end of the 1960s, the skepticism reached a point where the NIH, which had provided funding for much of the work to that date, seriously considered stopping its support and almost did so in 1969. The consequences of this could have

been disastrous. Fortunately for AVS, the Department of Veterans Affairs (VA) never wavered in its support.

Despite the negative atmosphere, there was in fact steady progress during the 1960s though not without occasional setbacks. The laboratories of AVS [12] and Roger Guillemin both attacked the problem by arranging to procure the hundreds of thousands of hypothalami of domestic animals necessary for any realistic effort to purify useful quantities of hypothalamic hormones; assays and purification steps also got better. By the mid-1960s, AVS had small amounts of biologically active materials that were active in stimulating the release of TSH or LH although the chemistry of these materials remained elusive.

Not all were pessimistic, however, in the 1960s. It was encouraging that some US and foreign scientists appreciated the scientific and therapeutic potential of hypothalamic hormones. It was at such a time that we (AVS and CG) first became acquainted in October 1965 at the Sixth Pan-American Congress of Endocrinology in Mexico City. At that time, CG served as the Secretary General of the Congress and was the Chairman of the Department of Endocrinology as well as director of the Clinic for Studies in Reproductive Biology at the Instituto Nacional de la Nutrición (INN), or National Institute of Nutrition, in Mexico City. (CG had trained in endocrinology in the 1950s, including 2 years doing steroid biochemistry at the Worcester Foundation for Experimental Biology. By the mid-1960s, he was studying fertility control in women, including the use of ovulation inhibitors, and doing metabolic studies on contraceptive progestins. At that same time, AVS had been a senior research scientist at the New Orleans VA Hospital, as well as Professor of Medicine at Tulane University School of Medicine for several years.)

CG and AVS had not met before the Congress in 1965; each had two papers on the program but only one had to do with the hypothalamus, an abstract by AVS on lipid mobilizing factors in the hypothalamus. Of interest is that each had a paper on contraceptive progestins and so had a common interest. Neither of us remembers exactly how we came to meet but, after hearing each others' talks and then discussing common problems, CG invited AVS and his associates to collaborate with his group at INN in the clinical testing of hypothalamic hormones in Mexico City whenever these hormones might become available.

AVS was grateful for this invitation because it came at a time when hypothalamic hormones were still not firmly established and also because it implied confidence on the part of CG in the reality of hypothalamic hormones; at the time, few clinicians in the United States believed they existed. The Central Office of the Veterans Administration also courageously supported our decision in 1965 to perform clinical trials, but it was not until 1967 for TRH and 1968 for LH-RH that porcine hypothalamic preparations in New Orleans were purified enough for clinical studies in man. By the time of the 3rd International Congress of Endocrinology was held in Mexico City in late June/early July 1968 (CG was the host organizer again), these collaborative clinical studies were in full swing.

TRH

All during this period (the 1960s) AVS had been hard at work on TRH in New Orleans with Cy Bowers (at Tulane) and Tommie Redding. By 1966, AVS and his colleagues had purified porcine TRH enough to show that it contains three amino acids (glutamic acid, histidine, and pro-

line) [12, 13]. Over the next 3 years AVS and Cy Bowers, with the expert help of structural chemists from Karl Folkers' group, identified the structure of porcine TRH: it was pGlu-His-Pro-NH₂ [14-18]. At about the same time, Guillemin and his colleagues also solved the structure of ovine TRH [19, 20].

However, even before the structural identification and synthesis of TRH was completed, we thought it important to test whether or not the TRH, isolated from porcine hypothalamus, was actually active in man. If it were not, and if, for example, TRH had the species specificity of growth hormone, one would need to isolate human TRH; this would have been an impossible task at the time. So, CG and AVS activated their collaboration. We were fortunate that Cy Bowers, an accomplished endocrinologist and a thyroid expert, also collaborated with us in these studies. We assayed plasma TSH not only by bioassay but also by radioimmunoassay—then not a simple assay to perform—the latter through the kindness of another collaborator, Al Parlow at UCLA.

In Mexico City, after CG obtained informed consent from the parents, a highly purified preparation of porcine TRH was injected into three hypothyroid cretins. A single low dose of T₃ was given orally 24 hours before the injection of TRH to lower high plasma TSH levels. A detectable rise in TSH was seen within 3 minutes, with a peak at 15 to 30 minutes, followed by a gradual fall over the next 120 minutes. TRH produced a rise of more than 400% over the control TSH values at 30 minutes in the most responsive case. Thus, we showed that highly purified natural porcine TRH does in fact stimulate TSH release in man as evidenced both by bioassay and radioimmunoassay. Further, the results—along with other work in mice and rats—showed that porcine

TRH did not have any species specificity. And, of course, the collaboration itself was a major success. This paper is the only recorded clinical study with natural TRH and appeared in 1968 [21] (see this issue's Classic).

The collaboration continued after we had obtained synthetic TRH: we now studied its effect in normal men [22, 23]. Blood was taken at various intervals during a 3-hour period after a quick single iv injection of 100–800 μg of synthetic TRH. Measurements of serum TSH, FSH, LH, and GH levels were carried out by radioimmunoassays by another collaborator, Don Schalch at the University of Rochester. Again, the serum TSH levels rose after injection of TRH and did so proportionate to the dose of TRH. The highest TSH levels occurred at 30 minutes. Pretreatment of patients with T_3 5–7 hours before injection of TRH partially or completely inhibited the response to TRH. In most men, the levels of GH, LH and FSH did not change significantly. These results proved that synthetic TRH, like natural TRH, is active in men and that the effect of the serum TSH levels is relatively specific. We also showed that, in women, TRH induces an even greater increase in TSH levels than in men [23]. This work was completed in 1969 and the papers submitted in 1970 although one did not appear in print until 1971.

Thus, it was in Mexico that our collaboration showed for the first time that natural and synthetic TRH can significantly raise plasma TSH levels in human beings with little effect on the levels of LH, FSH or growth hormone. These studies on synthetic TRH in normal men and women, as well as in patients with primary hypothyroidism, acromegaly, Nelson's syndrome or pituitary tumors, and also the oral effects of TRH and the absence of response in hyperthyroid patients or subjects pretreated with T_3 or

T_4 , were all reported by CG in detail at the Laurentian Hormone Conference in September 1971 [24]. On the basis of these studies, we suggested that TRH, used in a diagnostic test either alone or combined with LH-RH (AVS and his group had by then determined the structure of LH-RH; see below), might not only be clinically useful but might also be a means for a better understanding of hypothalamic-pituitary physiology. Later work confirmed the diagnostic utility of TRH [25]. Others, of course, were able to show the effect of synthetic TRH in man in 1970, generally after we had completed our studies [26–29]. Later, it was also demonstrated by others that TRH can release prolactin in addition to TSH [30, 31].

LH-RH

The elucidation of the structure of TRH removed almost all of the skepticism surrounding hypothalamic hormones. AVS and his colleagues were now able to devote more time to the problem of LH-RH and quickly obtained potent preparations of natural LH-RH, the activity of which was documented in various *in vitro* and *in vivo* assays. In view of the success in clinical studies with TRH, we felt that we (AVS and CG) should test highly purified preparations of porcine LH-RH in man.

It was a great stroke of luck that Abba Kastin joined AVS in 1964, mostly to continue his work on MSH. Because he was also an accomplished clinician, we asked him in the late 1960s to join us in the clinical trials of LH-RH and he agreed. He was a very efficient collaborator and helped us carry out most of our clinical studies on LH-RH. We also collaborated with Rees Midgley, and later Don Schalch, who did the radioimmunoassays for LH and FSH.

The crucial issue in the first study,

again done in Mexico City and published in 1969 [32], was whether or not porcine LH-RH would release LH in humans because of the same concern that arose with TRH, namely, whether or not LH-RH showed species specificity. The natural porcine LH-RH used was purified from porcine hypothalamic tissue [7]. This involved extraction with acetic acid, gel filtration on Sephadex G-25 columns, concentration with phenol, and separation from other material by the use of chromatography and rechromatography on carboxymethyl cellulose columns, free-flow electrophoresis, and counter-current distribution [7, 12]. Later assays showed in retrospect that this preparation had about one-tenth the potency, at least in the rat, as more highly purified LH-RH preparations or the synthetic material [7]. Although the extracted material was still limited in supply, we felt that we had enough to do a range of clinical studies. (In all of the studies with either natural or synthetic LH-RH we obtained written informed consent, injected the LH-RH intravenously, drew blood samples at various time intervals, and measured LH and FSH levels by radioimmunoassay. None of the subjects experienced any side effects.)

First, we looked at whether sex or pretreatment with female steroids affected the response to LH-RH. LH-RH was injected iv into two untreated men, two untreated women, two men pretreated with ethinyl estradiol, and two women pretreated with an oral contraceptive preparation. The control procedure was an injection of lysine vasopressin. The result was clear-cut: in both men and women, LH-RH did in fact cause a highly significant increase in serum LH and a significant rise in serum FSH. The peak release of gonadotropins occurred approximately 24 minutes after injection. Pretreatment with steroids did not interfere with this response to LH-RH, indicat-

ing that the major site of the negative feedback is at the level of the hypothalamus or higher in the central nervous system. This study constituted a clear demonstration that LH-RH of animal origin could release LH and FSH in the human and thus that LH-RH is not species specific [32]. Similar effects on LH were found by other investigators at about the same time but the hypothalamic preparations used were cruder and the importance of these reports unclear with regard to LH-RH itself [33, 34].

In the second study, published the following year, we included 12 subjects, 8 of whom were women, and examined several other variables. As in the first study, serum LH in two normal women showed an increase of more than 250% after the injection of LH-RH; FSH levels were doubled [35]. Women who had secondary amenorrhea or were postmenopausal also responded to LH-RH by releasing LH and FSH even though the latter group began with much higher basal values than premenopausal women. The response in postmenopausal women persisted even when the high gonadotropin levels had been suppressed by an oral contraceptive. In normal men, LH-RH was active when given either subcutaneously or intravenously. Thus, in this second study we confirmed the initial observations with LH-RH and extended them to patients with high gonadotropin levels.

In our third Mexican study, still with natural LH-RH, we gave the LH-RH to six men after 1 to 2 weeks of pretreatment with the anti-estrogenic compound, clomiphene, which is commonly used to induce ovulation in women. The clomiphene induced a high level of both LH and FSH, presumably due in part to the blockade of the negative feedback effects of endogenous estrogen at the hypothalamic level. At that point, the injection of LH-RH in-

duced a further significant increase in serum LH and FSH [36]. This demonstrated that LH-RH can further augment the release of LH in both men and women who have existing raised serum levels of gonadotropins. An interesting aspect of this study was the unexpected finding of an absence of response to LH-RH and clomiphene in one of the subjects, a 27-year-old physician, who was then a fellow in endocrinology. Further investigation revealed the presence of a pituitary tumor, the first to be diagnosed by the administration of LH-RH.

In these first three clinical studies with LH-RH we used fairly high doses of LH-RH in an attempt to increase the chances of obtaining a good response; the doses were estimated on the basis of animal studies and ranged from 0.7–1.5 mg of purified LH-RH. To determine the minimum effective dosage in man and to determine a dose-response curve, we administered seven different dosages, ranging from 0.001 to 0.8 mg, to three normal males. We found that the smallest intravenous dose of LH-RH that produced a statistically significant rise in the serum LH level was 10 μ g, while 30 μ g of LH-RH was needed to significantly increase serum FSH levels [37]. A highly significant linear trend was observed in the log dose-response curve. The results indicated that LH-RH can stimulate LH and FSH release in man at doses much lower than previously used.

We also were able to study children with natural LH-RH to see whether the prepubertal response differed from that of adults. We gave 300 μ g of LH-RH to four prepubertal and four adult human subjects. The resulting increases in plasma levels of LH and FSH were highly significant at 16 and 32 minutes but did not differ with either age or sex [38]. The mean maximum elevation in LH values was 290% for men and 425% for

women, while the increase in LH levels was 500% in boys and 850% in girls. No significant elevation occurred in the levels of growth hormone, thyrotropin, or cortisol. It was concluded that LH-RH is a potent and specific hypothalamic-releasing hormone for LH and FSH in prepubertal children as well as in normal adults. This study also indicated that the pituitary is not the limiting organ in the onset of puberty.

An important clinical use of LH-RH would be for distinguishing hypothalamic from pituitary disorders of gonadotropin secretion. To assess this potential diagnostic role for LH-RH, the effects of LH-RH administered in conjunction with TRH were investigated in three patients with pituitary tumors producing acromegaly [39]. Interestingly, the three patients studied showed different patterns of responses to the two hormones. In the first subject, administration of LH-RH caused an increase in LH levels, but TRH injection produced no rise in TSH. In contrast, in the second patient TSH levels increased after TRH administration, but there was no elevation of LH levels after LH-RH. The third patient, with mild acromegaly, responded to both LH-RH and TRH. Thus, three different patterns of hormonal response were produced after the administration of LH-RH and TRH in three patients with acromegaly, which demonstrated the variability of hormonal dysfunction in this disease. This study also indicated the potential usefulness as well as the limitations of the LH-RH and TRH test in the diagnosis of pituitary disorders.

We studied other pathological conditions using natural LH-RH; these included Klinefelter's, Turner's, and Kallman's syndromes. Patients with Klinefelter's and Turner's syndromes had, as expected, high gonadotropin levels; as in postmenopausal

women. The administration of LH-RH produced a further release of LH and FSH. In patients with Kallman's syndrome, the gonadotropin levels were low and there was a small but significant response to LH-RH [40].

In reviewing these and other studies [40], we pointed out that subjects with normal, low and high serum LH and FSH levels all respond to LH-RH. Thus, subjects with normal resting levels of LH and FSH, ie, normal men or women and normal boys and girls, and some patients with pituitary tumors, responded to LH-RH. Subjects with low levels of LH and FSH, such as men pretreated with ethynylestradiol, women pretreated with Lyndiol, and patients with hypogonadotropic hypogonadism and anosmia were also able to release LH and FSH in response to LH-RH. Subjects with elevated resting levels of LH and FSH including postmenopausal women, men pretreated with clomiphene, subjects with Turner's syndrome and Klinefelter's syndrome likewise responded to LH-RH.

We were fortunate in being able to obtain a tiny amount of natural human LH-RH, purified from human hypothalamic tissue, which we gave to normal men. Because only small amounts of human LH-RH were available, the doses given significantly stimulated only the release of LH [41]. Nevertheless, this was the only time that natural human LH-RH was given to man and shown to elicit a response.

We were also able to give natural porcine LH-RH to a woman and induce ovulation. Purified LH-RH was infused iv for 24 hours into a woman with secondary amenorrhea who was pretreated with human menopausal gonadotropin (Pergonal). Supplemental LH-RH was injected iv rapidly at 8 and 24 hours during the infusion. Ovulation, indicated by a rise in the basal

body temperature and a marked increase in urinary pregnanediol levels, was confirmed by pregnancy [42]. This was the first hint that LH-RH might be useful in the treatment of some cases of infertility.

The results of these early studies with the natural LH-RH, all done as a collaboration of AVS and CG, were confirmed a year or two later with synthetic LH-RH [43]. However, the pioneering clinical studies with natural LH-RH provided a firm foundation and invaluable guidance for all of the later studies with the synthetic form of the hormone.

In the meantime, the absence of species specificity and the strong indications that LH-RH might be useful clinically, if only it were widely available, further encouraged AVS and his colleagues to continue the vigorous effort involved in the isolation of LH-RH.

Accordingly, even before some of the clinical studies with natural LH-RH were completed, AVS and his colleagues in New Orleans established the amino acid sequence of porcine LH-RH and synthesized the hormone [6-9]. AVS himself isolated a small amount of LH-RH from 160,000 hypothalami [7] and his chemist colleagues, Yoshihiko Baba and Hisayuki Matsuo, were able to establish the amino acid sequence and carry out the synthesis once they realized that there were 10 instead of nine amino acids in the peptide [6, 44]. Another New Orleans colleague, Akira Arimura, was then able to show that the synthetic decapeptide was highly active in releasing LH *in vivo* in rats, thanks to an excellent antibody to LH donated by Gordon Niswender. The announcement by AVS of the isolation and structure of LH-RH was a major event at the Fifty-third meeting of the Endocrine Society held in San Francisco, June 24-26, 1971 [45]. At this very same meeting, CG was also able to

present the effects of natural porcine LH-RH in man and propose its use as a diagnostic test [46]. Once again, the collaboration succeeded.

Further studies showed that both natural as well as synthetic LH-RH stimulated the release FSH as well as LH. AVS and his collaborators formulated the concept that one hypothalamic hormone designated LH-RH/FSH-RH or simply GnRH controls the secretion of both gonadotropins from the pituitary gland [8, 9]. However, the abbreviation GnRH for gonadotropin-releasing hormone turned out to be confusing, because it is too similar to GH-RH (growth hormone-releasing hormone) and later it was repeatedly recommended that the abbreviation LH-RH should be used, at least for the analogues [1, 2, 47].

CG and AVS, and their several colleagues, then went on to show that the synthetic preparation gave the same results under differing condition in man as did the natural one [43]. Because synthetic LH-RH stimulated the release of LH and FSH in man, could be made in large quantities, and, to our great satisfaction, caused no side effects, many clinical studies were now possible. In the early 1970s, CG summarized these early clinical studies on both LH-RH and TRH [48-50]. Without the collaboration between AVS and CG, this work could not have gone as quickly as it did.

In the early 1970s CG became involved in an international collaboration between INN and the WHO on issues of reproductive biology and research training and was unable to devote the necessary time to these studies. He (CG) then recommended to AVS that the Mexican collaboration continue between AVS and Arturo Zarate. Zarate had been a graduate student of CG and by the early 1970s was the Chairman of the Department of Gynecological Endocrinology at hospitals of the Instituto Mexicano de

Seguro Social (IMSS). AVS readily agreed and in addition was able to work with one of Zarate's colleagues, David Gonzales-Barcena, whom AVS had met in 1970 at the VII Pan American Congress of Endocrinology in Sao Paulo, Brazil. Both Zarate and Gonzalez-Barcena worked with AVS to perform clinical studies with both natural and synthetic LH-RH [39, 42]. They were able to induce ovulation in several women with hypothalamic anovulation, two of whom became pregnant [51]. This study showed that synthetic LH-RH can release enough FSH and LH to induce follicular development as well as ovulation and established its potential usefulness in the treatment of some cases of sterility.

LH-RH is now considered to be of particular diagnostic value in the investigation of impaired fertility in both men and women. On the therapeutic side, many reports indicate that pulsatile administration of LH-RH can induce ovulation in anovulatory patients. LH-RH is also used to bring about the descent of the testis in cryptorchid boys. In addition, therapy with LH-RH may be useful for normalizing testicular function in patients with idiopathic hypothalamic hypogonadism in whom there is an impairment of release of endogenous LH-RH [52]. Overall, the collaboration of AVS and his Mexican colleagues was not only productive in showing the relevance of LH-RH in human physiology but was also key in offering LH-RH to the field of therapeutics.

LH-RH Analogues

In the years that followed the isolation of LH-RH, AVS and his group was one of several laboratories that synthesized a wide range of peptide analogues of LH-RH [1, 2]. Eventually, it became clear that there were two broad categories of these analogues:

1. Stimulatory, superactive analogues that cause prolonged liberation of LH and FSH. Repeated administration of these analogues was later found to cause a down-regulation of LH-RH receptors in the pituitary, which leads to inhibition, rather than a stimulation, of the secretion of gonadotropins and sex steroids. This forms the basis of their applications in gynecology and oncology [1, 2].
2. Antagonistic analogues that block LH-RH receptors and cause an immediate inhibition of LH and FSH release and sex steroid secretion [1, 2].

Extensive work, carried out over the past two decades, has demonstrated that agonists of LH-RH can be used for the treatment of hormone-sensitive neoplasms and gynecologic conditions such as endometriosis and leiomyomas as well as in assisted reproduction technology IVF-ET [1, 2, 53]. LH-RH agonists are also extensively used for the treatment of advanced prostate cancer [1, 2] and in some cases of premenopausal breast cancers [2].

AVS continued to collaborate with his Mexican colleagues in some of this work. For example, in collaboration with David Gonzalez-Barcena, we showed in 1977 that an early antagonist of LH-RH [D-Phe², D-Trp³, D-Phe⁴-LH-RH] significantly suppressed the release of LH and FSH in response to LH-RH in normal men, the first time this had been demonstrated [54]. Later, with Arturo Zarate and Elias Canales, we showed that LH-RH antagonists can inhibit the mid-cycle surge of LH and FSH, and thus ovulation, in normally cycling women [55]. However, the suitability of LH-RH analogs for contraception remains questionable.

The applications of LH-RH antagonists are expected to be similar to

those for the agonists [1, 2, 53]. In more recent Mexican collaborative studies with D. Gonzalez-Barcena, at IMSS Hospital, La Raza, we showed that, for prostate cancer and other indications such as leiomyomas, the new LH-RH antagonists such as Cetrorelix may have an advantage over the agonists based on the fact that they inhibit LH, FSH and sex steroid secretion immediately after starting their use and thus reduce the time of the onset of therapeutic effects as compared with agonists [56, 57]. The rapid shrinkage of the prostate and improvement in urinary symptoms obtained with Cetrorelix in men with benign prostatic hyperplasia suggests that LH-RH antagonists offer a therapeutic alternative in patients who are considered poor surgical risks [56, 58]. Thus the direction of the collaborative studies in Mexico is clearly changing from endocrinology and gynecology to oncology [59-61].

Epilogue and Reflections

The key role that CG played in the very first clinical trials of TRH and LH-RH was recognized by an invitation from US clinicians to present this work at the 1971 Laurentian Hormone Conference [24]. These achievements were also recognized by a special session in honor of CG at the Mexican National Academy of Medicine. Thanks to the able leadership of CG, these clinical studies helped establish Mexico as an important clinical center in neuroendocrinology and endocrinology. CG continued his career in Mexican medicine and was appointed president of the Mexican Academy of Sciences and the National Academy of Medicine; later he became Mexico's Deputy Minister of Public Health (Secretaria de Salubridad y Asistencia, 1976-1980).

AVS was recognized for his contributions to Mexican science and

medicine with his election as honorary member of the National Academy of Medicine of Mexico in 1971, some 6 years before a similar honor came from the U.S. National Academy of Sciences for his achievement in basic research. As suggested above, AVS largely switched to the cancer field around 1976. After receiving the U.S. Lasker award in 1975, AVS was highly honored in 1977 to share the Nobel Prize in Physiology and Medicine "for his discoveries concerning the peptide hormone production of the brain" (the original award citation in Swedish reads "för deras upptäckter rörande hjärnans produktion av peptidhormoner."). To signify the importance of the collaboration of AVS and CG in the work on TRH and LH-RH, AVS was delighted to invite CG (as well as Abba Kastin, who had been so instrumental in the collaboration with Zarate and Gonzalez-Barcena) to participate in the Nobel Prize ceremonies held in Stockholm, in December 1977, and so to share in the honor. The collaboration was also recognized by Mexico when AVS received a gold medal from the Mexican Academy of Medicine in 1977 and an award from the Director General of IMSS in 1997 for his contributions to development of endocrinology in Mexico.

In the course of this collaboration, a profound friendship developed between CG and AVS. This friendship extended also to many associates and close friends of CG such as Dr Jorge Martinez-Manautou, Director of Family Planning Programs in Mexico from 1977 through 1982, and others who offered helpful advice and encouragement. Our wives, Beatriz Gual and Ana Maria Comaru-Schally are also very good friends. The scientific collaboration of CG and AVS was smoothed by CG's fluency in English and familiarity with U.S. scientific and medical procedures. Similarly, for

AVS, this friendship was supported by the knowledge of and the deep respect for the history, customs and traditions of Mexico and his familiarity with Spanish. On his more than 80 visits to Mexico AVS has always been treated by all with friendship and great courtesy.

Because of our unfailing and continued interest in medical research, CG and AVS, more than 30 years after our initial work together, have now planned major clinical trials in Mexico with a variety of new antitumor peptide analogues [2-4, 59]. These trials will rekindle the collaboration. Guess who will be the leader of those trials in Mexico? . . . CG of course!!

References

- Schally AV. Luteinizing hormone-releasing hormone analogs: Their impact on the control of tumorigenesis. *Peptides* 1999; 20:1247-1262.
- Schally AV, Comaru-Schally AM. Hypothalamic and other peptide hormones. In *Cancer Medicine*, 5th Edition, edited by Bast RC, Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, Holland JF, Frei III E. pp. 715-729. Lewiston NY, B.C. Decker Inc., 2000.
- Schally AV, Nagy A. Cancer chemotherapy based on targeting of cytotoxic peptide conjugates to their receptors on tumors. *Eur J Endocrinol* 1999; 141:1-14.
- Nagy A, Schally AV, Armatas P, Szepeshazi K, Halmos G, Kovacs M, Zarandi M, Groot K, Miyazaki M, Jungwirth A, Horvath J. Cytotoxic analogs of luteinizing hormone-releasing hormone containing doxorubicin or 2-pyrrolinodoxorubicin, a derivative 500-1000 times more potent. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:7269-7273.
- Chatzistamou I, Schally AV, Nagy A, Armatas P, Szepeshazi K, Halmos G. Effective treatment of metastatic MDA-MD-435 human estrogen independent breast carcinomas with a targeted cytotoxic analog of luteinizing hormone-releasing hormone, AN-207. *Clinical Cancer Research* 2000; 6:4158-4165.
- Matsuo H, Baba Y, Nair RMG, Arimura A, Schally AV. Structure of the porcine LH- and FSH-releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence. *Biochem Biophys Res Commun* 1971; 43:1334-1339.
- Schally AV, Arimura A, Baba Y, Nair RMG, Matsuo H, Redding TW, Debeljuk L, White WF. Isolation and properties of the FSH- and LH-releasing hormone. *Biochem Biophys Res Commun* 1971; 43:393-399.
- Schally AV, Arimura A, Kastin AJ, Matsuo H, Baba Y, Redding TW, Nair RMG, Debeljuk L, White WF. Gonadotropin-releasing hormone: One polypeptide regulates secretion of luteinizing and follicle-stimulating hormones. *Science* 1971; 173:1036-1038.
- Schally AV, Kastin AJ, Arimura A. Hypothalamic FSH and LH-regulating hormone, structure, physiology, and clinical studies. *Fertil Steril* 1971; 22:703-721.
- Saffran M, Schally AV. The status of the corticotropin releasing factor (CRF). *Neuroendocrinology* 1977; 24:359-375.
- Greep RO. Synthesis and Summary, Chapter 15. In *Advances in Neuroendocrinology*, edited by AV Nalbandov, pp. 511-517. Urbana, IL. University of Illinois Press, 1963.
- Schally AV, Arimura A, Bowers CY, Kastin AJ, Sawano S, Redding TW. Hypothalamic neurohormones regulating anterior pituitary function. In *Recent Progress in Hormone Research* Vol. 24, edited by Astwood EB, pp. 497-587, New York, Academic Press, 1968.
- Schally AV, Bowers CY, Redding TW, Barrett JF. Isolation of Thyrotropin Releasing Factor (TRF) From Porcine Hypothalamus. *Biochem Biophys Res Commun* 1966; 25:165-169.
- Folkers K, Enzmann E, Bøler J, Bowers CY, Schally AV. Discovery of Modification of the Synthetic Tripeptide-Sequence of the Thyrotropin Releasing Hormone Having Activity. *Biochem Biophys Res Commun*, submitted August 8 1969, published September 24, 1969; 37:123-126.
- Bøler J, Enzmann E, Folkers K, Bowers CY, Schally AV. The Identity of Chemical and Hormonal Properties of the Thyrotropin Releasing Hormone and Pyroglutamyl-Histidine-Proline Amide. *Biochem Biophys Res Commun*, submitted September 22, 1969, published November 6, 1969 37:705-710.
- Nair RMG, Barrett JF, Bowers CY, Schally AV. Structure of Porcine Thyrotropin Releasing Hormone. *Biochemistry* 1970; 9:1103-1106.
- Bowers CY, Schally AV, Enzmann E, Bøler J, Folkers K. Porcine Thyrotropin Releasing Hormone is (Pyro) Glu-His-Pro(NH₂). *Endocrinology* 1970; 86:1143-1153.
- Schally AV, Redding TW, Bowers CY, Barrett JF. Isolation and properties of porcine thyrotropin releasing hormone. *J Biol Chem* 1969; 244:4077-4088.
- Burgus R, Dunn TF, Desiderio D, Guillemin R. Structure moleculaire du facteur hypothalamique hypophysiotrope

- TRF d'origine ovine: mise en évidence par spectrométrie de masse de la séquence PCA His-Pro-NH₂. C.R. Acad. Sci. Paris 1969; 269:1870-1873.
20. Burgus R, Dunn TF, Desiderio D, Ward DN, Vale W, Guillemin R. Characterization of ovine hypothalamic hypophysiotropic TSH-releasing factor. *Nature*, Lond. 1970; 226:321-325.
 21. Bowers CY, Schally AV, Hawley WD, Gual C, Parlow A. Effect of thyrotropin-releasing factor in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1968, received Nov 27, 1967. Published July 1968; 28:978-982.
 22. Bowers CY, Schally AV, Schalch DS, Gual C, Kastin AJ, Folkers K. Activity and specificity of synthetic thyrotropin-releasing hormone in man. *Biochem Biophys Res Commun* received March 9, published May 11, 1970; 39:352-355.
 23. Bowers CY, Schally AV, Kastin AJ, Arimura A, Schalch DS, Gual C, Castañeda E, Folkers K. Synthetic thyrotropin releasing hormone (TRH)-Activity in men and women. Specificity of action, inhibition by triiodothyronine and activity orally. *J Med Chem*, received December 29, 1970 published June 1971; 14:477-481.
 24. Gual C., Kastin AJ, Schally AV. Clinical Experience with Hypothalamic Releasing Hormones Part 1. Thyrotropin-Releasing Hormone. In Proceedings of 1971 Laurentian Hormone Conference; Recent Progress in Hormone Research, edited by EB Astwood 28:173-200, Academic Press, 1972.
 25. Anderson MS, Bowers CY, Kastin A, Schalch DS, Schally AV, Snyder PJ, Utiger RD, Wilber JF, Wise AJ. Synthetic Thyrotropin Releasing Hormone (TRH): A Potent Stimulator of Thyrotropin Secretion in Man. *N Engl J Med* 1971; 285:1279-1238.
 26. Hall R, Amos J, Garry R., Buxton RL. Thyroid-stimulating hormone response to synthetic thyrotropin releasing hormone in man. *Br Med J* 1970; 2:274-277.
 27. Fleischer N, Burgus R, Vale W, Dunn T, Guillemin R. Preliminary observations on the effect of synthetic thyrotropin releasing factor on plasma thyrotropin levels in man. *J Clin Endocrinol Metab* July 1970; 31:109-112.
 28. Hershman J, Pittman, Jr. J. Response to synthetic thyrotropin-releasing hormone in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1970; 31:457-460.
 29. Ormston BJ, Garry R, Cryer RJ, Besser GM, Hall R. Thyrotropin-releasing hormone as a thyroid function test. *Lancet* 1971; 2:10-14.
 30. Jacobs LS, Snyder PJ, Wilber JF, Utiger RD, Daughaday WH. Increased serum prolactin after administration of synthetic thyrotropin releasing hormone (TRH) in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1971; 33:996-998.
 31. Bowers CY, Friesen HC, Hwang P, Guyda HT, Folkers K. Prolactin and thyrotropin release in man by synthetic pyroglutamyl-histidyl-prolinamide. *Biochem Biophys Res Commun*. 1971; 45:1033-1041.
 32. Kastin AJ, Schally AV, Gual C, Midgley AR Jr., Bowers CY, Diaz-Infante Jr. A. Stimulation of LH release in men and women by LH-releasing hormone purified from porcine hypothalamus. *J Clin Endocrinol Metab* 1969; 29:1046-1050.
 33. Igarashi A, Yokoto N, Ehara Y, Mayuzumi R, Hirano T, Matsumoto S, Yamasaki M. Clinical effects with partially purified beef hypothalamic FSH-Releasing factor. *Am J Obstet Gynecol* 1968; 100:867-870.
 34. Root AW, Smith GP, Dhariwal APS, McCann SM. Luteinizing hormone releasing activity of crude ovine hypothalamic extract in man. *Nature (Lond)* 1969; 221:570-572.
 35. Kastin AJ, Schally AV, Gual C, Midgley AR Jr., Bowers CY, Gomez-Perez F. Administration of LH-Releasing Hormone to Selected Human Subjects. *Am J Obstet Gynecol* 1970; 108:177-182.
 36. Kastin AJ, Schally AV, Gual C, Midgley AR Jr, Miller MC III, Flores F. Increased Release of LH After Administration of LH-RH to Men Pretreated with Clomiphene. *J Clin Endocrinol Metab* 1970; 31:689-692.
 37. Kastin AJ, Schally AV, Gual C, Midgley AR Jr, Miller MC III, Cabeza A. Dose-Response Relationship of LH to LH-Releasing Hormone in Man. *J Clin Invest* 1971; 50:1551-1553.
 38. Kastin AJ, Schally AV, Schalch DS, Korenman SG, Miller MC III, Gual C, Perez-Pasten E. Characterization of Hormonal Responses to Luteinizing Hormone-Releasing Hormone (LH-RH) in Prepubertal and Adult Subjects. *Pediatr Res* 1972; 6:481-486
 39. Kastin AJ, Schally AV, Gonzalez-Barcena D, Schalch DS, Lee L. Different Responses to Two Hypothalamic Hormones in Acromegalics. *Arch Intern Med* 1972; 130:923-927.
 40. Kastin AJ, Gual C, Schally AV. Clinical Experience with Hypothalamic Releasing Hormones. Section II: Luteinizing Hormone-Releasing Hormone and Other Hypophysiotropic Releasing Hormones. In Proceedings of 1971 Laurentian Hormone Conference; Recent Progress in Hormone Research edited by EB Astwood 28:201-227, Academic Press, 1972.
 41. Kastin AJ, Schally AV, Gual C, Midgley AR Jr, Arimura A., Miller M.C III, Cabeza A. Administration of LH Releasing Hormone of Human Origin to Man. *J Clin Endocrinol Metab* 1971; 32:287-289.
 42. Kastin AJ, Zarate A, Midgley AR Jr, Canales ES, Schally AV. Ovulation Confirmed by Pregnancy After Infusion of Porcine LH-RH. *J Clin Endocrinol Metab* 1971; 33:980-982.
 43. Kastin AJ, Schally AV, Gual C, Arimura A. Release of LH and FSH After Administration of Synthetic LH Releasing Hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1972; 34:751-756.
 44. Arimura A. The backstage story of the discovery of LH-RH. *Endocrinology* 1991; 129:1687-1689.
 45. Schally AV, Arimura A, Babu Y, Nair RMG, Matsuo H, Redding TW, Debeljuk L, White WF. Purification and properties of the LH and FSH-releasing hormone from porcine hypothalamus. Abstract 53rd meeting Endocrine Society, San Francisco, California June 24-26, 1971. Abstract No. 55, p. A-70.
 46. Gual C, Kastin AJ, Midgley AR Jr., Flores F. Administration of LH-releasing hormone (LH-RH) as a clinical test of pituitary function. Abstract 53rd meeting Endocrine Society, San Francisco, California June 24-26, 1971. Abstract No. 171, p. A-128.
 47. Schally AV. Use of GnRH in preference to LH-RH terminology in scientific papers. *Human Reproduction* 2000; 15: 2059-2061.
 48. Gual C. Efectos clínicos y usos de la hormona hipotalámica liberadora de gonadotropinas. *Anales de Endocrinología y Nutrición Madrid* 1972; 1:251-276.
 49. Gual C. Clinical effects and uses of hypothalamic releasing factors. In *Frontiers in Neuroendocrinology*, 1973, edited by W F Ganong and L Martini p. 89-131 Oxford University Press, 1973.
 50. Gual C. Induction of ovulation with various regimens of Luteinizing hormone-releasing hormone administration. In: *Physiology and Genetics of Reproduction, Part A*, edited by: E.M. Coutinho and F. Fuchs p. 355-370, New York, Plenum Publishing Co. 1974.
 51. Zarate, A., Canales, E.S., Schally, A.V., Ayala-Valdes, L. and Kastin, A.J. Successful Induction of Ovulation with Synthetic Luteinizing Hormone-Releasing Hormone in Anovulatory Infertility. *Fertil Steril* 1972; 23:672-674.
 52. Mortimer CH, McNeilly AS, Fisher RA, Murray MAF, Besser GM. Gonadotropin releasing hormone therapy in hypogonadal males with hypothalamic or pituitary dysfunction. *Br Med J* 1974; 4:617-621.
 53. Schally AV. LH-RH Analogues I: Their impact on reproductive medicine. *Gynecological Endocrinology (Special Millennium Issue)*, December 1999; 13:401-409.
 54. Gonzalez-Barcena D, Kastin AJ, Coy DH, Nikolics K, Schally AV. Suppression of Gonadotropin Release in Man by an

- Inhibitory Analogue of LH-Releasing Hormone. *Lancet* 1977; ii:997-998.
55. Zarate A, Canales ES, Sthory I, Coy DH, Comaru-Schally AM, Schally AV. Anovulatory effect of an LH-RH antagonist in women. *Contraception* 1981; 24:315-320.
 56. Gonzalez-Barcena D, Vadillo-Buenfil M, Gomez-Orta E, Fuentes-Garcia M, Cardenas-Cornejo I, Graef-Sanchez A, Comaru-Schally AM, Schally AV. Responses to the Antagonistic Analog of LH-RH (SB-75, Cetrorelix) in Patients with Benign Prostatic Hyperplasia and Prostatic Cancer. *The Prostate* 1994; 24: 84-92.
 57. Gonzalez-Barcena D, Vadillo-Buenfil M, Cortez-Morales A, Fuentes-Garcia M, Cardenas-Cornejo I, Comaru-Schally AM, Schally AV. Luteinizing hormone-releasing hormone antagonist SB-75 (Cetrorelix) as primary single therapy in patients with advanced prostatic cancer and paraplegia due to metastatic invasion of spinal cord. *Urology* 1995; 45:275-281.
 58. Comaru-Schally AM, Brannan W, Schally AV, Colcolough M, Monga M. Efficacy and safety of luteinizing hormone-releasing hormone antagonist Cetrorelix in the treatment of symptomatic benign prostatic hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:3826-3831.
 59. Schally AV, Comaru-Schally AM, Plonowski A, Nagy A, Halmos G, Rekasi Z. Peptide analogs in the Therapy of Prostate Cancer. *The Prostate* 2000; 45:158-166.
 60. Schally A.V. Hypothalamic Hormones: From Neuroendocrinology to Cancer Therapy *Anti-Cancer Drugs* 1994; 5: 115-130.
 61. Schally AV, Comaru-Schally AM, Nagy A, Kovacs M, Szepeshazi K, Plonowski A, Varga J, Halmos G. Hypothalamic Hormones and Cancer. *Frontiers in Neuroendocrinology*, Invited Review, 2001 (in press).

Antología de los primeros estudios clínicos con hormonas hipotalámicas: relato de una exitosa colaboración internacional*

Andrew V. Schally,** Carlos Gual***

Resumen

Se revisaron nuestros ensayos clínicos iniciales, efectuados en México por primera vez, con hormona liberadora de tirotrópina (TRH) y con hormona liberadora de hormona luteinizante (LH-RH) también conocida como hormona liberadora de gonadotropinas (Gn-RH), tanto naturales como sintéticas. La administración de TRH altamente purificado de origen porcino, ocasionó en cretinos hipotiroideos un aumento en la secreción de tirotrópina (TSH). En estudios subsecuentes con TRH sintético también se produjo un aumento significativo de TSH plasmático, tanto en hombres y mujeres normales, como en pacientes con hipotiroidismo primario y otros trastornos endocrinológicos. También se efectuaron estudios clínicos con LH-RH de origen porcino altamente purificado. Todos los sujetos con niveles basales normales de gonadotropinas en el suero, niveles bajos (hombres y mujeres pre-tratados con esteroides) o niveles elevados (v.g. mujeres posmenopáusicas), respondieron al LH-RH con liberación de LH y FSH. Los resultados de estos primeros estudios con LH-RH natural, fueron ratificados con el uso de LH-RH sintético. Estos estudios efectuados en México con TRH y LH-RH precedieron por un amplio margen a otros estudios similares. Más tarde también se efectuaron diversas investigaciones clínicas con agonistas y antagonistas de LH-RH. Se concluye que estas primeras investigaciones jugaron un papel importante para la introducción de las hormonas liberadoras hipotalámicas a la medicina clínica.

Palabras clave: Hormonas hipotalámicas liberadoras, TRH, LH-RH, análogos de LH-RH, ensayos clínicos.

Summary

Our early pioneering clinical trials in Mexico with natural and synthetic thyrotropin-releasing hormone (TRH) and luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) also known as gonadotropin releasing hormone (Gn-RH), were reviewed. Highly purified TRH of porcine origin was shown to stimulate Thyrotropin (TSH) release in hypothyroid cretins. Subsequent tests with synthetic TRH also demonstrated significant increases in plasma TSH in normal men and women as well as in patients with primary hypothyroidism and other endocrine disorders. Even more extensive clinical studies were carried out with highly purified natural porcine LH-RH. Subjects with normal basal serum levels of gonadotropins, low levels (men and women pretreated with steroids) and high levels (e.g. post menopausal women) all responded to LH-RH with a release of LH and FSH. The results of these early studies with the natural LH-RH were confirmed by the use of synthetic LH-RH. These investigations made in Mexico with TRH and LH-RH preceded all other clinical studies by a wide margin. Subsequently various clinical investigations with LH-RH agonists and antagonists were also carried out. All these studies played a major role in introducing hypothalamic-releasing hormones into clinical medicine.

Key words: Hypothalamic-releasing hormones, TRH, LH-RH, LH-RH analogs, clinical trials.

* Reimpreso de *The Endocrinologist*, Vol. 11, No. 5, páginas 341-349, y traducido al español con algunas modificaciones. Copyright 2001, Lippincott, Williams and Wilkins, con permiso del Editor.

** Endocrine, Polypeptide and Cancer Institute, Veterans Affairs Medical Center, and Department of Medicine, Tulane University School of Medicine, New Orleans Louisiana 70112.

*** Académico Titular. Academia Nacional de Medicina y Ex-Investigador del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, México D.F.

Correspondencia y solicitud de sobretiros: Dr. Andrew V. Schally, VA Medical Center, Room 7F109, 1601 Perdido St., New Orleans, LA 70112, USA, Tel: (504) 589-5320; Fax: (504) 566-1625, o a: Dr. Carlos Gual, San Buenaventura 620, Club de Golf México. C.P. 14620, México D.F. Tel: (52) 55-55-73-9220; Fax: (52) 55-56-55-6106.

Introducción

Uno de los mayores descubrimientos en la historia de la endocrinología fue la demostración hace ya tres décadas, de la existencia de hormonas hipotalámicas, o factores liberadores. Tanto la hormona liberadora de tirotrina (TRH) como la hormona liberadora de hormona luteinizante (LH-RH), también conocida como hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), fueron aisladas y caracterizadas químicamente a finales de la década de los sesenta y a principios de los setenta. Sin embargo, es poco conocido que las primeras pruebas clínicas en humanos con TRH y LH-RH naturales y sintéticos, fueron realizadas en México entre 1968 y 1972, como resultado de una estrecha colaboración entre los autores (AVS y CG). Éstas primeras investigaciones con TRH y LH-RH y posteriormente con análogos de LH-RH, desempeñaron un papel muy destacado para su introducción a la medicina clínica. A pesar de que en la actualidad el TRH ya sólo se usa en algunos casos especiales, durante algunos años fue el "estándar de oro", para valorar el hipertiroidismo. Por otro lado, tanto el LH-RH, como sus agonistas, antagonistas y análogos citotóxicos, están perfectamente bien documentados o bien están en vías de investigación como agentes terapéuticos de importancia en ginecología, oncología y urología.¹⁻⁵ En nuestro papel de responsables de estos proyectos clínicos tanto en los E.U.A. (AVS), como en México (CG), así como en el aislamiento y síntesis de LH-RH (AVS),⁶⁻⁹ intentaremos hacer un relato histórico de estos eventos.

Primeros años y contactos iniciales

A principios de la década de 1950 la idea de que el cerebro afectaba en alguna forma la secreción de hormonas de la hipófisis anterior tenía ya visos de certeza y por lo tanto se puso una mayor atención sobre el hipotálamo y su conexión vascular con la pituitaria. Varios grupos de investigadores trataron de encontrar e identificar las hormonas hipotalámicas previamente postuladas y pusieron inicialmente su atención en el factor hipotético que estimulaba la liberación de ACTH, que fue escogido debido a que el stress ocasionaba secreción de cortisol y a

que este efecto parecía ser mediado a través del sistema nervioso central. Al principio se tuvo un éxito parcial, particularmente por la demostración de que en efecto existía un factor u hormona liberadora de corticotropina (CRF o CRH). Sin embargo el aislamiento y demostración de su naturaleza química fue difícil de alcanzar,¹⁰ así como para cualquier otra hormona hipotalámica. La década comprendida entre los años de 1957 a 1967, fue descorazonadora para los investigadores involucrados, ya que el fracaso para identificar el CRH o cualquier otra hormona hipotalámica, arrojaba dudas sobre la validez de los hallazgos iniciales, de aquéllos incluyendo a AVS, que estaban convencidos de su presencia. AVS y otros que trabajaban en esta área fueron motivo de ironía y escepticismo y aun de ridículo, de numerosos científicos y médicos endocrinólogos norteamericanos, que parecían no darse cuenta de los grandes problemas tecnológicos involucrados en esta tarea. La evidencia de las hormonas hipotalámicas se veía solamente como circunstancial e hipotética y aun fueron comparadas con el monstruo de Loch Ness o como el abominable hombre de nieve del Himalaya y así se planteó la posibilidad de que no fueran más que pálidas ilusiones.¹¹ Al final de la década de los 60, el escepticismo alcanzó un punto en el cual el NIH (Institutos Nacionales de Salud), que había financiado una gran parte del trabajo realizado hasta esa fecha, consideró el suprimir su apoyo y casi lo hizo en 1969. Las consecuencias de esa decisión hubieran sido desastrosas, aunque afortunadamente para AVS el Departamento de Asuntos para Veteranos (VA) nunca vaciló en apoyar sus investigaciones.

A pesar del ambiente negativo, en la década de 1960 se hicieron progresos firmes, aunque con reveses ocasionales. En los laboratorios tanto de AVS¹² como en los de Roger Guillemin, atacaron el problema obteniendo cientos de miles de hipotálamos de animales domésticos necesarios para purificar en forma realista cantidades útiles de hormonas hipotalámicas, con lo cual se mejoraron los procedimientos de purificación y de ensayo. Ya a mediados de los años 60, AVS había obtenido pequeñas cantidades de materiales biológicamente activos para estimular la liberación de TSH o LH, aunque la estructura de estos materiales todavía se resistía a su elucidación.

Sin embargo no todo fue pesimismo en la década de 1960. Resultó muy estimulante que investigadores de USA y del extranjero, apreciaran el potencial científico y terapéutico de las hormonas hipotalámicas. Fue precisamente en esa época en que nos conocimos (AVS y CG) durante la celebración del Sexto Congreso Panamericano de Endocrinología que tuvo lugar en la Ciudad de México en octubre de 1965. En ese evento CG actuaba como el Secretario General del Congreso y también como Jefe del Departamento de Endocrinología, así como director de la Clínica de Estudios en Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de la Nutrición (INN) de México. CG recibió en la década de 1950, su entrenamiento en endocrinología, incluyendo dos años de estudios de posgrado en bioquímica de esteroides en la Worcester Foundation for Experimental Biology. A mediados de los años sesenta, estudiaba en mujeres la regulación de la fertilidad, incluyendo el uso de anovulatorios y estudios metabólicos con progestinas anticonceptivas.

En esa misma época, AVS actuaba como Investigador Titular en el Hospital VA en Nueva Orleans, LA. y era además desde años atrás, Profesor de Medicina en la Escuela de Medicina de la Universidad de Tulane. Después de discutir algunos problemas comunes durante alguna de las sesiones del Congreso, CG invitó a AVS y a sus asociados, a colaborar en el INN para la investigación clínica de hormonas hipotalámicas, una vez que éstas estuvieran disponibles. AVS agradeció esta invitación porque ésta le llegó en una época en que las hormonas hipotalámicas todavía no eran bien conocidas y también porque implicaba confianza de parte de CG en la presencia de hormonas hipotalámicas, ya que en ese tiempo, pocos clínicos en los Estados Unidos creían en su existencia. La Oficina Central de la Administración de Veteranos (VA) también apoyó con firmeza nuestra decisión de 1965 de efectuar ensayos clínicos, pero no fue sino hasta 1967 para TRH y 1968 para LH-RH en que (AVS) terminó la purificación en sus laboratorios de Nueva Orleans una preparación de hipotálamos de porcino, suficiente para realizar estudios clínicos en el humano. Ya para 1968, durante la celebración del Tercer Congreso Internacional de Endocrinología que se celebraba en México (fines de junio y

principios de julio de ese mismo año y en donde CG era nuevamente el organizador); nuestros estudios clínicos estaban en pleno desarrollo.

TRH

Durante todos los años de la década de 1960, AVS en Nueva Orleans dedicó un gran esfuerzo al TRH, acompañado por Cy Bowers en la Universidad de Tulane y por Tommie Redding. Alrededor de 1966, AVS y sus colaboradores ya habían purificado suficiente TRH de origen porcino y así demostraron que éste contenía tres aminoácidos, a saber: ácido glutámico, histidina y prolina.^{12,13} Durante los siguientes tres años, AVS y Cy Bowers con la ayuda de químicos expertos en estructuras del grupo de Karl Folkers, pudieron identificar la estructura del TRH porcino como pGlu-His-Pro-NH₂.¹⁴⁻¹⁸ Aproximadamente al mismo tiempo, Guillemin y sus colaboradores, también resolvieron la estructura del TRH ovino.^{19,20}

Sin embargo, mucho antes de completar la identificación de la estructura del TRH y de efectuar su síntesis, pensamos que era muy importante demostrar que el TRH aislado de hipotálamos porcinos, era activo o no en el hombre. En el caso de que no lo fuera, y si por ejemplo el TRH tuviera la misma especificidad de especie de la hormona de crecimiento, entonces hubiera sido necesario aislar TRH de origen humano y en esa época esto hubiera sido una tarea imposible de realizar. Por este motivo CG y AVS apresuraron su colaboración. Para efectuar estos estudios, tuvimos la fortuna de contar con la colaboración de Cy Bowers, quien era un distinguido endocrinólogo, especialista en tiroides. Analizamos el contenido de TSH en el plasma tanto por bioensayo como por radioinmunoanálisis -ensayo que entonces no era fácil de realizar- este último por cortesía de otro de nuestros colaboradores, Al Parlow de UCLA.

Después de que CG obtuvo en México el consentimiento por escrito de los padres de los pacientes en estudio, se inyectó en tres niños cretinos hipotiroideos, una preparación altamente purificada de TRH de origen porcino. Veinticuatro horas antes de la inyección de TRH, se administró por vía oral, una dosis baja de T₃ con el objeto de disminuir los niveles elevados de TSH plasmáti-

cos. Como consecuencia, se observó un aumento significativo de TSH en los primeros 3 minutos, con un máximo entre los 15 y 30 minutos y un descenso gradual en los siguientes 120 minutos. En el caso con la mayor respuesta se observó a los 30 minutos un aumento de 400 % sobre los niveles basales de TSH. En esta forma, de hecho demostramos que un extracto altamente purificado de TRH porcino, era capaz de estimular en el hombre, la liberación de TSH, evidenciado tanto por bioensayo como por radioinmunoanálisis. A mayor abundamiento, estos resultados, así como otros estudios realizados en ratas; demostraron que el TRH de origen porcino no tenía especificidad de especies y que, por supuesto, nuestra colaboración había tenido un gran éxito. Este estudio clínico, es el único registrado con TRH natural y fue publicado en 1968²¹ (ver "Clásicos" en este mismo número de *The Endocrinologist*).

La colaboración continuó después de que obtuvimos TRH sintético y así estudiamos sus efectos en el hombre normal.^{22,23} Con este fin se tomaron muestras de sangre con varios intervalos durante un período de 3 horas y después de una inyección rápida intravenosa de 100-800 µg de TRH sintético. Se practicaron determinaciones de los niveles en el suero de TSH, FSH, LH y GH, por otro colaborador, Don Schalch de la Universidad de Rochester.

Nuevamente los niveles de TSH en el suero se elevaron después de la inyección de TRH en proporción a la dosis administrada, con los niveles más elevados de TSH a los 30 minutos. El tratamiento previo a los pacientes con T₃, administrado de 5 a 7 horas antes de la inyección de TRH, inhibió parcial o completamente la respuesta al TRH. En la mayoría de los hombres, los niveles de GH, LH y FSH, no cambiaron significativamente. Estos resultados probaron que el TRH sintético, en forma semejante al TRH natural, es activo en el hombre y que sus efectos sobre los niveles de TSH en el suero son relativamente específicos. También demostramos que en mujeres, el TRH induce aún mayores aumentos en los niveles de TSH, que en los hombres.²³ Estas investigaciones fueron completadas en 1969 y los manuscritos enviados para su publicación en 1970, aunque uno de ellos no apareció sino hasta 1971.

Es así, como nuestra colaboración en México demostró por primera vez que el TRH natural y sintético, aumenta significativamente en el humano los niveles de TSH en el plasma, con un efecto mínimo sobre los niveles de LH, FSH y hormona de crecimiento. Estos estudios efectuados con TRH sintético en hombres y mujeres normales, así como en pacientes con hipotiroidismo primario, acromegalia, síndrome de Nelson y tumores hipofisarios, además de los efectos del TRH por vía oral y la ausencia de respuesta en pacientes hipertiroideos o sujetos tratados previamente con T₃ o T₄, fueron presentados en detalle por CG en septiembre de 1971 durante las Conferencias Laurentianas de Hormonas en Mont Tremblant, Quebec, Canadá.²⁴ En base de estos estudios, sugerimos que el TRH, usado como prueba diagnóstica ya sea solo o combinado con LH-RH (para entonces AVS y sus colaboradores ya habían establecido la estructura del LH-RH; ver más adelante); podría ser no sólo clínicamente útil, sino también un recurso para conocer mejor la fisiología hipotálamo-hipofisaria. Poco después, nuevas investigaciones confirmaron la utilidad diagnóstica del TRH.²⁵ Desde luego, otros grupos, generalmente después de que habíamos completado nuestros primeros estudios, demostraron en el mismo año de 1970 los efectos del TRH en el humano.²⁶⁻²⁹ Más tarde, otros grupos demostraron que además de TSH, el TRH también liberaba prolactina.^{30,31}

LH-RH

La elucidación de la estructura del TRH prácticamente hizo desaparecer todo el escepticismo que rodeaba a las hormonas hipotalámicas. Fue así como AVS y sus colegas pudieron dedicarle más tiempo al problema de LH-RH y rápidamente pudieron obtener preparaciones de LH-RH natural de gran potencia, cuya actividad se demostró en pruebas efectuadas tanto *in vitro*, como *in vivo*. En vista del éxito obtenido en los estudios clínicos con TRH, pensamos (AVS y CG) que deberíamos ensayar en el humano preparaciones de LH-RH porcino altamente purificadas.

Tuvimos la suerte de que en 1964 Abba Kastin se asoció con AVS, fundamentalmente para continuar sus investigaciones con MSH. Debido a que

también era un clínico consumado, a fines de la década de 1960, le invitamos y el aceptó, unirse a los estudios clínicos con LH-RH. Él era un muy eficiente colaborador y realmente su presencia fue de una gran ayuda para llevar a cabo la mayoría de los estudios efectuados con LH-RH. También colaboramos con Rees Midgley y más tarde con Don Schalch, quienes efectuaron los radioinmunoanálisis de LH y FSH.

El aspecto crucial en este primer estudio efectuado nuevamente en la Ciudad de México y publicado en 1969,³² fue el conocer si el LH-RH de origen porcino ocasionaría liberación de LH en el humano, tal y como se planteó previamente con el TRH, y específicamente establecer si el LH-RH presentaba o no, especificidad de especies. El LH-RH natural porcino utilizado, fue purificado a partir de tejido hipotalámico porcino.⁷ Éste procedimiento implicó procedimientos de extracción con ácido acético, filtración en gel en columnas de Sephadex G-25, concentración con fenol y separación de otros materiales mediante el uso de cromatografía y recromatografía en columnas de carboximetil celulosa, electroforesis de flujo libre y distribución de contracorriente.^{7,12} Ensayos practicados más tarde, demostraron en retrospectiva que esta preparación tenía, cuando menos en la rata, alrededor de 1/10 de la potencia de preparaciones de LH-RH altamente purificado o del material sintético.⁷ A pesar de que el material extraído era escaso, pensamos que éste sería suficiente para efectuar una serie de estudios clínicos (en todos los estudios tanto con LH-RH natural o sintético, obtuvimos un informe consentido por escrito, inyectamos el LH-RH por vía endovenosa, obtuvimos muestras de sangre a intervalos de tiempo variables y determinamos los valores de LH y FSH por medio de radioinmunoanálisis. Ninguno de los sujetos participantes presentó efectos colaterales).

Primero investigamos si el sexo o el tratamiento previo con esteroides femeninos, afectaba la respuesta al LH-RH. Se inyectó LH-RH en dos hombres y dos mujeres sin tratamiento alguno, dos hombres tratados previamente con etinil-estradiol y dos mujeres pretratadas con un anticonceptivo oral. Como procedimiento de control se inyectó lisina-vasopresina. El resultado fue bien definido: tanto en hombres como en mujeres, el LH-RH causó un aumento muy significativo del

LH en el suero y significativo en el del FSH. La liberación máxima de gonadotropinas, se presentó aproximadamente a los 24 minutos después de la inyección. El tratamiento previo con esteroides no interfirió con la respuesta al LH-RH, lo cual sugirió que el sitio principal del efecto negativo de retroalimentación, se presenta a nivel del hipotálamo o más alto en el sistema nervioso central. Este estudio fue una clara demostración de que el LH-RH de origen animal, liberaba en el humano LH y FSH y que por lo tanto no tenía especificidad de especies.³² Otros investigadores encontraron aproximadamente al mismo tiempo, efectos similares del LH-RH, pero las preparaciones hipotalámicas utilizadas eran más crudas y la importancia de estos informes eran poco precisos y en particular en lo referente al LH-RH.^{33,34}

En un segundo estudio, publicado al año siguiente, estudiamos otras variables y en éste incluimos 12 sujetos de los cuales 8 eran mujeres. En forma semejante al primer estudio, el LH en el suero de dos mujeres normales aumentaron a más de 250% después de la administración de LH-RH y los niveles de FSH se duplicaron.³⁵ En mujeres con amenorrea secundaria así como en posmenopáusicas, también se obtuvo una respuesta al LH-RH, liberando LH y FSH, aunque en el último grupo los valores basales eran más elevados que en las mujeres premenopáusicas. La respuesta en las mujeres posmenopáusicas persistió aun cuando los niveles elevados de gonadotropinas habían sido inhibidos con un anticonceptivo oral. En hombres normales, el LH-RH fue activo cuando se inyectó tanto por vía subcutánea como por vía endovenosa. Por lo tanto en este segundo estudio confirmamos nuestras observaciones iniciales con LH-RH y las ampliamos a pacientes con niveles elevados de gonadotropinas.

En nuestro tercer estudio realizado en México, todavía con LH-RH natural, administramos LH-RH en seis hombres después de un tratamiento previo durante 1 a 2 semanas, con el compuesto antiestrogénico conocido con el nombre de Clomifén, que por lo general se usa para inducir la ovulación en la mujer. Este producto indujo niveles elevados tanto de LH como de FSH, presumiblemente debido en parte al bloqueo del efecto negativo de retroalimentación de los estrógenos endógenos a nivel hipotalámico. En esta situación, la inyección de LH-RH,

indujo un nuevo aumento significativo en los niveles de LH y FSH en el suero.³⁶ Esto demostró que el LH-RH es capaz de aumentar todavía más, la liberación de LH tanto en el hombre como en la mujer con niveles basales elevados de gonadotropinas en el suero. Un aspecto interesante de este estudio, fue el hallazgo inesperado de una falta de respuesta al LH-RH y Clomifén en uno de los sujetos, un médico joven de 27 años, que entonces era becario del curso de graduados en endocrinología. Mayores estudios revelaron la presencia de un tumor de la pituitaria, el primero en ser diagnosticado mediante la administración de LH-RH.

En estos primeros tres estudios clínicos con LH-RH, utilizamos intencionalmente dosis elevadas de la hormona hipotalámica con el fin de aumentar las probabilidades de obtener una buena respuesta, calculando las dosis en base a estudios previos en animales y éstas variaron entre 0.7 a 1.5 mg de LH-RH purificado. A fin de cuantificar la dosis mínima efectiva en el humano y para establecer una curva de dosis respuesta, administramos en tres hombres normales siete dosis diferentes que oscilaron entre 0.001 a 0.8 mg. Encontramos que la menor dosis de LH-RH endovenoso, capaz de producir un aumento significativo de LH en el suero fue de 10 µg., pero para ocasionar un aumento significativo de FSH fue de 30 µg.³⁷ En la curva log-dosis-respuesta se observó una tendencia lineal altamente significativa. Los resultados obtenidos indicaron que el LH-RH ocasiona liberación de LH y FSH en el hombre en dosis mucho menores a las utilizadas previamente.

También pudimos estudiar LH-RH natural en niños, con el objeto de constatar diferencias entre la respuesta de los prepúberes y los adultos. Con este fin administramos 300 µg de LH-RH en cuatro sujetos humanos prepúberes y cuatro adultos. Los aumentos producidos en los niveles de LH y FSH en el plasma, fueron altamente significativos a los 16 y 32 minutos, pero no hubo diferencia alguna en cuanto a la edad y sexo.³⁸ El promedio máximo de aumento de LH fue de 290% para el hombre y 425% para la mujer, mientras que el aumento de los niveles de LH fue de 500% en los niños y 850% en las niñas. No se presentó elevación alguna en los niveles de hormona de crecimiento, tirotrópina y cortisol. Se concluyó que el LH-RH es una potente y específica hormona hipotalámica liberadora de

LH y FSH, tanto en niños prepúberes, así como en adultos normales. Este estudio también indicó que la pituitaria no es el órgano limitante en la aparición de la pubertad.

Un importante uso clínico de LH-RH, sería el de diferenciar entre trastornos hipotalámicos y trastornos hipofisarios, relacionados con la secreción de gonadotropinas. Con el objeto de valorar este papel potencial del LH-RH, se investigó el efecto de LH-RH administrado conjuntamente con TRH, en tres pacientes con acromegalia producida por tumores hipofisarios.³⁹ Por demás interesante, fue el observar que los tres pacientes estudiados, presentaron diferentes tipos de respuestas a las dos hormonas. En el primer sujeto, la administración de LH-RH ocasionó un aumento en los niveles de LH pero la inyección de TRH no produjo aumento alguno en el TSH. En contraste, en el segundo paciente hubo un aumento de TSH como consecuencia de la administración de TRH pero no se observó elevación alguna de LH como respuesta a la administración de LH-RH. El tercer paciente, con acromegalia discreta, tuvo una respuesta positiva tanto al LH-RH como al TRH. Así, observamos tres diferentes patrones de respuesta hormonal producida después de la administración de LH-RH y TRH en tres pacientes con acromegalia, lo cual demuestra la variabilidad en esta enfermedad del trastorno hormonal. Este estudio también indica la utilidad potencial, así como las limitaciones de la prueba de LH-RH y TRH en el diagnóstico de los trastornos pituitarios.

También estudiamos otras condiciones patológicas como los síndromes de Klinefelter, Turner y Kallman, mediante la administración de LH-RH natural. Estos pacientes como era de esperarse, presentaban niveles elevados de gonadotropinas, tal y como se observa en la mujer posmenopáusica. La administración de LH-RH ocasionó un nuevo aumento en la liberación de LH y FSH. En los pacientes con síndrome de Kallman, los niveles de gonadotropinas eran bajos, sin embargo hubo una pequeña pero significativa respuesta al LH-RH.⁴⁰

Al revisar éstos y otros estudios,⁴⁰ señalamos que todos los sujetos con valores normales, bajos o altos, de LH y FSH en el suero, respondían a la administración de LH-RH. Así, tenemos que sujetos con valores basales normales de LH y FSH, vg.

hombres y mujeres normales, niños y niñas normales y algunos pacientes con tumores pituitarios, respondían al LH-RH. Sujetos con niveles bajos de LH y FSH, tales como se encuentran en hombres tratados previamente con etinil-estradiol, en mujeres pretratadas con lyndiol y en pacientes con hipogonadismo hipogonadotrópico y anosmia, también fueron capaces de liberar LH y FSH en respuesta a la administración de LH-RH. Sujetos con niveles basales elevados de LH y FSH, incluyendo mujeres posmenopáusicas, hombres pretratados con clomifén, sujetos con síndrome de Turner y síndrome de Klinefelter, también respondieron al LH-RH.

Fuimos muy afortunados en poder disponer de una muy pequeña cantidad de LH-RH natural, purificado a partir de tejido hipotalámico humano y ser administrado en hombres normales. Debido a las pequeñas cantidades de LH-RH humano disponibles, las dosis administradas sólo aumentaron significativamente la liberación de LH.⁴¹ Sin embargo ésta ha sido la única vez que LH-RH natural humano, ha sido administrado en el hombre y demostrado que induce una respuesta.

También fuimos capaces de inducir ovulación en una mujer mediante la administración de LH-RH natural de origen porcino. LH-RH purificado se infundió por vía endovenosa durante 24 horas, en una mujer con amenorrea secundaria que había sido tratada previamente con gonadotropina menopáusica humana (Pergonal). LH-RH suplementario se inyectó rápidamente por vía endovenosa a las 8 y 24 horas durante la infusión. La ovulación indicada por elevación en la temperatura corporal y por un aumento acentuado en los niveles de pregnandiol urinario, fue confirmada por el embarazo.⁴² Esta fue la primera insinuación de que el LH-RH podría ser de utilidad en el tratamiento de algunos casos de infertilidad.

Los resultados de estos estudios tempranos con LH-RH natural, realizados en colaboración entre AVS y CG, fueron confirmados un año o dos después con LH-RH sintético.⁴³ Sin embargo estos primeros estudios clínicos con LH-RH natural, proporcionaron una base firme y una guía invaluable para todos los estudios posteriores efectuados con la forma sintética de la hormona.

Mientras tanto, debido a la ausencia de especificidad de especies y con las fuertes indicaciones de que el LH-RH podría ser clínicamente útil, si

podiera estar ampliamente disponible; impulsaron todavía más a AVS y sus colegas, a continuar con el vigoroso esfuerzo necesario para el aislamiento del LH-RH.

Es así como aún antes de que se terminaran algunos estudios clínicos con LH-RH natural, AVS y sus colegas en Nueva Orleans, establecieron la secuencia de los aminoácidos del LH-RH porcino y sintetizaron la hormona.^{6,9} El mismo AVS aisló una pequeña cantidad de LH-RH a partir de 160,000 hipotálamos⁷ y sus colegas químicos, Yoshihiko Baba e Hisayuki Matsuo, fueron capaces de establecer la secuencia de aminoácidos y efectuar la síntesis una vez que se percataron de que existían en el péptido 10 aminoácidos en lugar de nueve.^{6,44} Otro colega de Nueva Orleans, Akira Arimura, gracias a un excelente anticuerpo al LH donado por Gordon Niswender; fue capaz de demostrar que el decapeptido sintético, era altamente activo en la rata para liberar LH *in vivo*. El anuncio por AVS del aislamiento y estructura del LH-RH, fue un gran evento durante la LV Reunión Anual de la Sociedad de Endocrinología de los E.U.A. que tuvo lugar en San Francisco, California del 24 al 26 de junio de 1971.⁴⁵ En esta misma reunión CG presentó los efectos del LH-RH natural porcino en el hombre y su uso como una prueba diagnóstica.⁴⁶ Una vez más, nuestra colaboración tuvo éxito.

Nuevos estudios demostraron que tanto la hormona natural como el LH-RH sintético estimulaban la liberación tanto de FSH como de LH. AVS y sus colaboradores formularon el concepto de que una sola hormona hipotalámica designada LH-RH/FSH o simplemente GnRH, controlaba la secreción de ambas gonadotropinas en la glándula pituitaria.^{8,9} Sin embargo la abreviación GnRH para la hormona liberadora de gonadotropinas resultó ser muy confusa, por su similitud con la GH-RH (hormona liberadora de hormona de crecimiento), por lo que más tarde fue repetidamente recomendado que la abreviación LH-RH debería ser usada, cuando menos para sus análogos.^{1,2,47}

CG y AVS y sus varios colegas, prosiguieron para demostrar que la preparación sintética daba en el hombre los mismos resultados, bajo condiciones diferentes, como los había dado previamente la hormona natural.⁴³ Debido a que el LH-RH sintético estimulaba en el hombre la liberación de LH y FSH, se podía producir en grandes cantidades y que para

nuestra gran satisfacción no producía efectos colaterales, ahora era posible efectuar diversos estudios clínicos. En los primeros años de la década de 1970, CG resumió estos estudios iniciales, efectuados tanto con LH-RH como TRH.⁴⁸⁻⁵⁰ Sin la colaboración entre AVS y CG, este trabajo no se hubiera efectuado con la rapidez que se hizo.

En estos mismos primeros años de los setenta, CG se involucró en una nueva colaboración internacional entre el INN y la OMS, en aspectos relacionados con biología de la reproducción y entrenamiento en investigación y por lo tanto ya no le fue posible dedicar el tiempo necesario para continuar con nuestros estudios. Entonces él (CG) recomendó a AVS, que se continuara la colaboración con México entre AVS y Arturo Zárate. Zárate había sido un estudiante de postgrado con CG y en 1971, era el Jefe del Departamento de Ginecología Endocrina en un excelente hospital del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). AVS aceptó rápidamente esta proposición y además inició nuevas investigaciones con un colega de Zárate, el Dr. David González-Bárcena a quien AVS había conocido en 1970 en San Paulo, Brasil, durante el VII Congreso Panamericano de Endocrinología. Tanto Zárate como González-Bárcena continuaron trabajando con AVS realizando estudios clínicos con LH-RH porcino y sintético.^{39,42} Zárate y colaboradores fueron capaces de inducir ovulación en varias mujeres con amenorrea hipotalámica, de las cuales dos, se embarazaron.⁵¹ Este estudio demostró que el LH-RH sintético es capaz de liberar suficiente FSH y LH para inducir desarrollo folicular, así como ovulación y estableció su utilidad potencial en el tratamiento de algunos casos de esterilidad.

En la actualidad el LH-RH es considerado que tiene un particular valor diagnóstico en la investigación en hombres y mujeres con deterioro de la fertilidad. En el lado terapéutico, numerosos informes indican que la administración pulsátil de LH-RH, puede inducir ovulación en pacientes con anovulatorios. El LH-RH también se utiliza para lograr el descenso de los testículos en niños con criptorquidea. Además, la terapéutica con LH-RH puede ser de utilidad para normalizar la función testicular en pacientes con hipogonadismo hipotalámico idiopático, en los cuales existe un deterioro de la liberación de LH-RH endógeno.⁵² Sobre todo,

la colaboración de AVS y sus colegas Mexicanos, no sólo fue productiva al demostrar la relevancia del LH-RH en fisiología humana, sino que también fue clave para la introducción del LH-RH en el campo de la terapéutica.

Análogos de LH-RH

En los años que siguieron al aislamiento de LH-RH, AVS y su grupo, se constituyeron en uno de los varios laboratorios que sintetizaron una amplia gama de péptidos análogos de LH-RH.^{1,2} Eventualmente se hizo patente que existían dos claras categorías de estos análogos:

1. Análogos estimulatorios superactivos que ocasionan una liberación prolongada de LH y FSH. Más tarde se encontró que la administración repetida de estos análogos, causa una retroregulación de los receptores pituitarios de LH-RH, lo cual conduce a inhibición, en lugar de estimulación, de la secreción de gonadotropinas y de esteroides sexuales. Esto constituye la base de sus aplicaciones en ginecología y oncología.^{1,2}
2. Análogos antagonistas que bloquean los receptores de LH-RH y producen una inhibición inmediata de la liberación de LH y FSH y de la secreción de esteroides sexuales.^{1,2}

Un extenso trabajo desarrollado en las últimas dos décadas, ha demostrado que los agonistas de LH-RH pueden ser utilizados en el tratamiento de neoplasias hormono-dependientes y en problemas ginecológicos, tales como endometriosis y leiomiomas, así como en procedimientos de reproducción asistida IVT-ET.^{1,2} Los agonistas de LH-RH, también han sido ampliamente utilizados en el tratamiento del cáncer prostático avanzado^{1,2} y en algunos casos de cánceres mamarios premenopáusicos.²

AVS continuó su colaboración con sus colegas Mexicanos, en una parte de este proyecto. Por ejemplo, en colaboración con David González-Bárcena demostró por primera vez en 1977, que uno de los primeros antagonistas de LH-RH (D-Phe²,D-Trp³,D-Phe⁴-LH-RH) suprime significativamente en hombres normales la liberación de LH y

FSH como respuesta al LH-RH.⁵⁴ Más tarde con Zárate y Elías Canales, demostraron que los agonistas de LH-RH son capaces de inhibir el aumento rápido de LH y FSH y por lo tanto la ovulación, a mediados del ciclo de mujeres con ciclos normales.⁵⁵ Sin embargo la disponibilidad de análogos de LH-RH para su uso como anticonceptivo, todavía es cuestionable.

Se espera que la utilización de antagonistas de LH-RH, sea similar a la de los agonistas.^{1,2,53} En estudios más recientes en colaboración con David González-Bárcena en el Hospital de la Raza del IMSS, demostramos que en el cáncer prostático y en otras indicaciones como en Leiomiomas, los nuevos antagonista de LH-RH como el Cetrorelix, podrían tener una ventaja sobre los agonistas, basada en el hecho de que éstos inhiben LH, FSH y la secreción de esteroides sexuales, inmediatamente después de iniciar su uso y por lo tanto en comparación con los agonistas, reduce el tiempo de iniciación de sus efectos terapéuticos.^{56,57} La rápida reducción del tamaño de la próstata y de la mejoría de los síntomas urinarios que se obtienen en hombres con hiperplasia prostática benigna, sugiere que los antagonistas de LH-RH ofrecen una alternativa terapéutica en pacientes que se consideran como un mal riesgo quirúrgico.^{56,58} En consecuencia, la dirección de los estudios de colaboración en México, han cambiado claramente de la endocrinología y ginecología, a la oncología.⁵⁹⁻⁶¹

Epílogo y reflexiones

El papel clave que CG desempeñó en las primeras pruebas clínicas con TRH y LH-RH, fue reconocido por clínicos de los Estados Unidos de América y así, fue invitado a presentar su trabajo en las Conferencias Laurentianas de Hormonas en 1971.²⁴ Estas realizaciones también fueron reconocidas en una sesión en 1971 por la Academia Nacional de Medicina de México. Gracias al eficiente liderazgo de CG, estos estudios clínicos contribuyeron para ubicar a México como un centro destacado de neuroendocrinología y endocrinología. CG al proseguir su carrera en la medicina Mexicana, fue nombrado Presidente de la Academia Mexicana de Ciencias, (1975) de la Academia

Nacional de Medicina (1983) y Subsecretario de Asistencia de la Secretaría de Salubridad y Asistencia (1976-1980).

AVS por su parte fue reconocido por sus contribuciones a la ciencia y medicina Mexicanas y fue electo en 1971 como Miembro Honorario de la Academia Nacional de Medicina, seis años antes de que un honor semejante, le hicieran por sus logros en investigación básica; en la Academia Nacional de Ciencias de los E.U.A. Después de recibir en 1974 los muy prestigiados Premios Gairdner y Charles Mickle de Canadá y un año después los Premios Lasker y Borden de los E.U.A.; AVS fue altamente honrado para compartir en 1977 el Premio Nóbel de Fisiología o Medicina "por sus descubrimientos relacionados con la producción de hormonas peptídicas en el cerebro" (la cita original del premio en Sueco, dice "för deras upptäckter rörande hjärnans produktion av peptidhormoner."). Para connotar la importancia de la colaboración de AVS y CG en el trabajo sobre TRH y LH-RH, AVS se complació en invitar a CG (así como a Abba Kastin y David González Bárcena, el primero de ellos por haber instrumentado con gran efectividad la colaboración con Zárate y González Bárcena), a participar y compartir el honor en las Ceremonias del Premio Nóbel, que tuvieron lugar en Estocolmo, Suecia, en diciembre de 1977.

La colaboración de AVS fue también reconocida en agosto de 1978 por el Gobierno de México, siendo recibido en audiencia privada, para felicitarlo personalmente, por el Lic. José López-Portillo, Presidente de la República y además por la Academia Nacional de Medicina quien le entregó en esa misma fecha, un Diploma y Medalla de reconocimiento. En noviembre de 1997 el Director General del IMSS, le concedió un Premio por sus contribuciones al desarrollo de la Endocrinología Mexicana. Tal y como se mencionó con anterioridad, AVS ha reorientado su interés a partir de 1976, al campo del cáncer.

En el transcurso de esta colaboración se estableció una gran amistad entre CG y AVS, así como entre nuestras esposas Beatriz B. Gual y Ana María Comaru-Schally, amistad que también se hizo extensiva a otros colaboradores y amigos cercanos de CG, quienes nos brindaron su apoyo y consejo; como fue el caso del Dr. Jorge Martínez-Manautou, Director de los Programas de Planificación Familiar de México de 1977 a 1982. La

colaboración científica entre CG y AVS se facilitó por el conocimiento de Inglés por parte de CG, así como por su familiaridad con los procedimientos médicos y científicos de los E.U.A. En forma semejante, esta amistad se facilitó para AVS por el conocimiento y respeto de la historia, costumbre y tradiciones de México y por su familiaridad con el idioma español. En sus más de 80 visitas a México siempre fue tratado por todos, con grandes muestras de amistad y cortesía.

Después de haber transcurrido más de 30 años de nuestros primeros estudios y debido a nuestro inagotable interés por la investigación médica, hemos planeado nuevas investigaciones clínicas utilizando diversos análogos peptídicos antitumorales de reciente creación.^{2-4,59} Estas investigaciones que serán coordinadas en México por CG, seguramente renovararán nuestra antigua y estrecha colaboración.

Sinopsis

Se revisaron los primeros estudios clínicos efectuados en México con TRH y LH-RH naturales y sintéticos y se consideran en retrospectiva los antecedentes de la carrera competitiva sostenida por AVS y su grupo, en el aislamiento y elucidación estructural del TRH y LH-RH y se reexaminan y analizan las prioridades sobre los hallazgos clínicos con el uso de estas dos hormonas liberadoras hipotalámicas. Este artículo se presenta como un relato de una exitosa colaboración internacional de investigación médica, entre E.U.A y México.

Referencias

- Schally AV. Luteinizing hormone-releasing hormone analogs: Their impact on the control of tumorigenesis. *Peptides* 1999;20:1247-1262.
- Schally AV, Comaru-Schally AM. Hypothalamic and other peptide hormones. In: *Cancer Medicine*, 5th Edition, edited by Bast RC, Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, Holland JF, Frei III E. PP. 715-729 Lewiston NY, B.C. Decker Inc., 2000.
- Schally AV, Nagy A. Cancer chemotherapy based on targeting of cytotoxic peptide conjugates to their receptors on tumors. *Eur J Endocrinol* 1999;141:1-14.
- Nagy A, Schally AV, Armatís P, Szepeshazi K, Halmos G, Kovacs M, Zarandi M, Groot K, Miyazaki M, Jungwirth A, Horvath J. Cytotoxic analogs of luteinizing hormone-releasing hormone containing doxorubicin or 2-pyrrolinodoxorubicin, a derivative 500-1000 times more potent. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:7269-7273.
- Chatzistamou I, Schally AV, Nagy A, Armatís P, Szepeshazi K, Halmos G. Effective treatment of metastatic MDA-MD-435 human estrogen independent breast carcinomas with a targeted cytotoxic analog of luteinizing hormone-releasing hormone, AN-207. *Clinical Cancer Research* 2000;6:41584165.
- Matsuo H, Baba Y, Nair RMG, Arimura A, Schally AV. Structure of the porcine LH and FSH-releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence. *Biochem Biophys Res Commun* 1971;43:1334-1339.
- Schally AV, Arimura A, Baba Y, Nair RMG, Matsuo H, Redding TW, Debeljuk L, White WF. Isolation and properties of the FSH- and LH-releasing hormone. *Biochem Biophys Res Commun* 1971;43:393-399.
- Schally AV, Arimura A, Kastin AJ, Matsuo H, Baba Y, Redding TW, Nair RMG, Debeljuk L, White WF. Gonadotropin-releasing hormone: One polypeptide regulates secretion of luteinizing and follicle-stimulating hormones. *Science* 1971;173:1036-1038.
- Schally AV, Kastin AJ, Arimura A. Hypothalamic FSH and LH-regulating hormone, structure, physiology, and clinical studies. *Fertil Steril* 1971;22:703-721.
- Saffran M, Schally AV. The status of the corticotropin releasing factor (CRF). *Neuroendocrinology* 1977;24:359-375.
- Greep RO. Synthesis and Summary, Chapter 15. In *Advances in Neuroendocrinology*, edited by AV Nalbandov, PP. 511-517. Urbana, IL. University of Illinois Press, 1963.
- Schally AV, Arimura A, Bowers CY, Kastin AJ, Sawano S, Redding TW. Hypothalamic neurohormones regulating anterior pituitary function. In: *Recent Progress in Hormone Research Vol. 24*, edited by Astwood EB, pp.497-587, New York, Academic Press, 1968.
- Schally AV, Bowers CY, Redding TW, Barrett JF. Isolation of Thyrotropin Releasing Factor (TRF) From Porcine Hypothalamus. *Biochem Biophys Res Commun* 1966;25:165-169.
- Folkers K, Enzmann F, Boler J, Bowers CY, Schally AV. Discovery of Modification of the Synthetic Tripeptide-Sequence of the Thyrotropin Releasing Hormone Having Activity. *Biochem Biophys Res Commun*, submitted August 8 1969, published September 24, 1969;37:123-126.
- Bler J, Enzmann F, Folkers K, Bowers CY, Schally AV. The Identity of Chemical and Hormonal Properties of the Thyrotropin Releasing Hormone and Pyroglutamyl-Histidine-Proline Amide. *Biochem Biophys Res Commun*, submitted September 22, 1969, published November 6, 1969;37:705-710.
- Nair RMG, Barreff JF, Bowers CY, Schally AV. Structure of Porcine Thyrotropin Releasing Hormone. *Biochemistry* 1970;9:1103-1106.
- Bowers CY, Schally AV, Enzmann F, Boler J, Folkers K. Porcine Thyrotropin Releasing Hormone is (Pyro) Glu-His-Pro(NH₂). *Endocrinology* 1970;86:1143-1153.
- Schally AV, Redding TW, Bowers CY, Barrett JF. Isolation and properties of porcine thyrotropin releasing hormone. *J Biol Chem* 1969;244:4077-4088.

19. **Burgus R, Dunn TF, Desiderio D, Guillemin R.** Structure moleculaire du facteur hypothalamique hypophysiotrope TRF d'origine ovine: mise en evidence par spectrometrie de masse de la sequence PCA His-Pro-NH₂. C.R. Acad. Sci. Paris 1969;269:1870-1873.
20. **Burgus R, Dunn TF, Desiderio D, Ward DN, Vale W, Guillemin R.** Characterization of ovine hypothalamic hypophysiotropic TSH-releasing factor. *Nature, Lond.* 1970;226:321-325.
21. **Bowers CY, Schally AV, Hawley WD, Gual C, Parlow A.** Effect of thyrotropin-releasing factor in man. *J Clin Endocr Metab* 1968, received Nov 27, 1967. Published July 1968;28:978-982.
22. **Bowers CY, Schally AV, Schalch DS, Gual C, Kastin AJ, Folkers K.** Activity and specificity of synthetic thyrotropin-releasing hormone in man. *Biochem Biophys Res Commun* received March 9, published May 11, 1970;39:352-355.
23. **Bowers CY, Schally AV, Kastin AJ, Arimura A, Schalch DS, Gual C, Castañeda E, Folkers K.** Synthetic thyrotropin releasing hormone (TRH)-Activity in men and women. Specificity of action, inhibition by triiodothyronine and activity orally. *J Med Chem*, received December 29, 1970 published June 1971;14:477481.
24. **Gual C, Kastin AJ, Schally AV.** Clinical Experience with Hypothalamic Releasing Hormones Part 1. Thyrotropin-Releasing Hormone. In: *Proceedings of 1971 Laurentian Hormone Conference; Recent Progress in Hormone Research*, edited by EB Astwood 28:173-200, Academic Press, 1972.
25. **Anderson MS, Bowers CY, Kastin A, Schalch DS, Schally AV, Snyder PJ, Utiger RD, Wilber JF, Wise AJ.** Synthetic Thyrotropin Releasing Hormone (TRH): A Potent Stimulator of Thyrotropin Secretion in Man. *N Engl J Med* 1971;285:1279-1238.
26. **Hall R, Amos J, Garry R, Buxton RL.** Thyroid-stimulating hormone response to synthetic thyrotropin releasing hormone in man. *Br Med J* 1970;2:274-277.
27. **Fleischer N, Burgus R, Vale W, Dunn T, Guillemin R.** Preliminary observations on the effect of synthetic thyrotropin releasing factor on plasma thyrotropin levels in man. *J Clin Endocrinol Metab* July 1970;31:109-112.
28. **Hershman J, Pittman, Jr. J.** Response to synthetic thyrotropin-releasing hormone in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1970;31:457-460.
29. **Ormston BJ, Garry R, Cryer RJ, Besser GM, Hall R.** Thyrotropin-releasing hormone as a thyroid function test. *Lancet* 1971;2:10-14.
30. **Jacobs LS, Snyder PJ, Wilber JF, Utiger RD, Daughaday WH.** Increased serum prolactin after administration of synthetic thyrotropin releasing hormone (TRH) in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1971;33:996-998.
31. **Bowers CY, Friesen HC, Hwang P, Guyda HT, Folkers K.** Prolactin and thyrotropin release in man by synthetic pyroglutamyl-histidyl-prolinamide. *Biochem Biophys Res Commun.* 1971;45:1033-1041.
32. **Kastin AJ, Schally AV, Gual C, Midgley AR Jr, Bowers CY, Díaz-Infante Jr. A.** Stimulation of LH release in men and women by LH-releasing hormone purified from porcine hypothalamic. *J Clin Endocrinol Metab* 1969;29:1046-1050.
33. **Igarashi A, Yokoto N, Ehara Y, Mayuzumi R, Hirano T, Matsumoto S, Yamasaki M.** Clinical effects with partially purified beef hypothalamic FSH-Releasing factor. *Am J Obstet Gynecol* 1968;100:867-870.
34. **Root AW, Smith GP, Dhariwal APS, McCann SM.** Luteinizing hormone releasing activity of crude ovine hypothalamic extract in man. *Nature (Lond)* 1969; 221:570-572.
35. **Kastin AJ, Schally AV, Gual C, Midgley AR Jr., Bowers CY, Gómez-Pérez F.** Administration of LH-Releasing Hormone to Selected Human Subjects. *Am J Obstet Gynecol* 1970;108:177-182.
36. **Kastin AJ, Schally AV, Gual C, Midgley AR Jr, Miller MC III, Flores F.** Increased Release of LH After Administration of LH-RH to Men Pretreated with Clomiphene. *J Clin Endocrinol Metab* 1970;31:689-692.
37. **Kastin AJ, Schally AV, Gual C, Midgley, AR Jr, Miller MC III, Cabeza A.** Dose-Response Relationship of LH to LH-Releasing Hormone in Man. *J Clin Invest* 1971;50: 1551-1553.
38. **Kastin AJ, Schally AV, Schalch DS, Korenman SG, Miller MC III, Gual C, Pérez-Pasten E.** Characterization of Hormonal Responses to Luteinizing Hormone-Releasing Hormone (LH-RH) in Prepubertal and Adult Subjects. *Pediatr Res* 1972;6:481-486.
39. **Kastin AJ, Schally AV, González-Bárcena D, Schalch DS, Lee L.** Different Responses to Two Hypothalamic Hormones in Acromegalics. *Arch Intern Med* 1972;130: 923-927.
40. **Kastin AJ, Gual C, Schally AV.** Clinical Experience with Hypothalamic Releasing Hormones. Section II: Luteinizing Hormone-Releasing Hormone and Other Hypophysiotropic Releasing Hormones. In: *Proceedings of 1971 Laurentian Hormone Conference; Recent Progress in Hormone Research* edited by EB Astwood 28:201-227, Academic Press, 1972.
41. **Kastin AJ, Schally AV, Gual C, Midgley AR Jr, Arimura A, Miller MC III, Cabeza A.** Administration of LH Releasing Hormone of Human Origin to Man. *J Clin Endocrinol Metab* 1971;32:287-289.
42. **Kastin AJ, Zárate A, Midgley AR Jr, Canales ES, Schally AV.** Ovulation Confirmed by Pregnancy After Infusion of Porcine LH-RH. *J Clin Endocrinol Metab* 1971;33:980-982.
43. **Kastin AJ, Schally AV, Gual C, Arimura A.** Release of LH and FSH After Administration of Synthetic LH-Releasing Hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1972;34:753-756.
44. **Arimura A.** The backstage story of the discovery of LHRH. *Endocrinology* 1991;129:1687-1689.
45. **Schally AV, Arimura A, Baba Y, Nair RMG, Matsuo H, Redding TW, Debeljuk L, White WF.** Purification and properties of the LH and FSH-releasing hormone from porcine hypothalami. Abstract 53rd meeting Endocrine Society, San Francisco, California June 24-26, 1971. Abstract No.55, p. A-70.
46. **Gual C, Kastin AJ, Midgley AR Jr., Flores F.** Administration of LH-releasing hormone (LH-RH) as a clinical test of pituitary function. Abstract 53rd meeting Endocrine Society, San Francisco, California June 24-26, 1971. Abstract No.171, p. A-128.

47. **Schally AV.** Use of GnRH in preference to LH-RH terminology in scientific papers. *Human Reproduction* 2000;15:2059-2061.
48. **Gual C.** Efectos clínicos y usos de la hormona hipotalámica liberadora de gonadotropinas. *Anales de Endocrinología y Nutrición Madrid* 1972;1:251-276.
49. **Gual C.** Clinical effects and uses of hypothalamic releasing factors. In: *Frontiers in Neuroendocrinology, 1973*, edited by: W F Ganong and L Martini p.89-131 Oxford University Press, 1973.
50. **Gual C.** Induction of ovulation with various regimens of Luteinizing hormone-releasing hormone administration. In: *Physiology and Genetics of Reproduction, Part A*, edited by: E.M. Coutinho and F. Fuchs p.355-370, New York, Plenum Publishing Co. 1974.
51. **Zarate, A., Canales, ES., Schally, A.V., Ayala-Valdes, L. and Kastin, A.J.** Successful Induction of Ovulation with Synthetic Luteinizing Hormone-Releasing Hormone in Anovulatory Infertility. *Fertil Steril* 1972;23:672-674.
52. **Mortimer CH, McNeilly AS, Fisher RA, Murray MAF, Besser GM.** Gonadotropin releasing hormone therapy in hypogonadal males with hypothalamic or pituitary dysfunction. *Br Med. J* 1974;4:617-621.
53. **Schally AV.** LH-RH Analogues I: Their impact on reproductive medicine. *Gynecological Endocrinology (Special Millennium Issue)*, December 1999;13:401-409.
54. **González-Bárcena D, Kastin AJ, Coy DH, Nikolics K, Schally AV.** Suppression of Gonadotropin Release in Man by an Inhibitory Analogue of LH-Releasing Hormone. *Lancet* 1977;ii:997-998.
55. **Zárate A, Canales ES, Sthory I, Coy DH, Comaru-Schally AM, Schally AV.** Anovulatory effect of an LH-RH antagonist in women. *Contraception* 1981;24:315-320.
56. **González-Bárcena D, Vadillo-Buenfil M, Gómez-Orta F, Fuentes-García M, Cárdenas-Carnejo I, Graef-Sánchez A, Comaru-Schally AM, Schally AV.** Responses to the Antagonistic Analog of LH-RH (SB-75, Cetrorelix) in Patients with Benign Prostatic Hiperplasia and Prostatic Cancer. *The Prostate* 1994; 24:84-92.
57. **González-Bárcena D, Vadillo-Buenfil M, Cortáz-Morales A, Fuentes-García M, Cárdenas-Cornejo I, Comaru-Schally AM, Schally AV.** Luteinizing hormone-releasing hormone antagonist SB-75 (Cetrorelix) as primary single therapy in patients with advanced prostatic cancer and paraplegia due to metastatic invasion of spinal cord. *Urology* 1995;45:275-281.
58. **Comaru-Schally AM, Brannan W, Schally AV, Colcolough M, Monga M.** Efficacy and safety of luteinizing hormone-releasing hormone antagonist Cetrorelix in the treatment of symptomatic benign prostatic hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3826-3831.
59. **Schally AV, Comaru-Schally AM, Plonowski A, Nagy A, Halmos G, Rekasi Z.** Peptide analogs in the Therapy of Prostate Cancer. *The Prostate* 2000;45:158-166.
60. **Schally AV.** Hypothalamic Hormones: From Neuroendocrinology to Cancer Therapy *Anti-Cancer Drugs* 1994; 5:115-130.
61. **Schally AV, Comaru-Schally AM, Nagy A, Kovacs M, Szepeshazi K, Plonowski A, Varga J, Halmos G.** Hypothalamic Hormones and Cancer. *Frontiers in Neuroendocrinology, Invited Review, 2001;22: 1-44.*

**ANDREW V. SCHALLY . 50TH ANNIVERSARY AT THE VA AFFAIRS
HEALTH SYSTEM. MEMORY BOOK Carlos Gual M.D. Ex-President
National Academy of Medicine and Mexican Academy of Sciences.**

It is a great pleasure and honor for me to recall some historical events in my forty seven years of professional and friendly relationship with Andrew V. Schally, one of the most remarkable and valuable scientist that I have ever met in my prolonged biomedical research activities. It was during the Sixth Pan-American Congress of Endocrinology held in Mexico City in October 1965 where I served as the Secretary General, where we became acquainted and decided to perform a collaborative international clinical testing of hypothalamic factors or hormones between a group of scientists under Andrew V. Schally (AVS) leadership at the Veterans Administration (VA) Center in New Orleans, and a Mexican group of the Departments of Endocrinology and Reproductive Biology at the Mexican National Institute of Nutrition (INN), under Dr. Carlos Gual (CG) Chairmanship. Although in 1965 the Central Office of the VA courageously supported our decision to perform clinical trials, it was not until 1967 for TRH and 1968 for LH-RH, that porcine hypothalamic preparations were purified enough for clinical studies in humans at his New Orleans VA Hospital laboratories. By 1966 AVS and his colleagues Cy Bowers (at Tulane) and Tommie Redding, had purified porcine TRH enough to show that it contains three amino acids (glutamic acid, histidine, and proline). Over the next 3 years AVS and Cy Bowers, with the expert help of structural chemists from Karl Folkers group, identified the structure of porcine TRH as pyro-glu-his-pro-amide (Biochem Biophys Res Comm, submitted September 22, 1969, published November 6, 1969, 37::705-710). At about the same time R. Guillemin, R and Burgus, R. et al. also solved the structure of ovine TRH (C.R. Acad. Sci. Paris, submitted October 29, published November 12, 1969; 269:1870-1873). However, even before the structural identification and synthesis of TRH was completed, we thought it important to test whether or not the TRH isolated from porcine hypothalami was actually active in humans. So AVS and CG activated in 1967 their collaboration including the valuable clinical and personal participation of Cy Bowers, an accomplished endocrinologist and a thyroid expert. After IV injecting in three hypothyroid cretins, of a highly purified preparation of porcine TRH, a detectable rise in TSH was seen within 3 minutes with a peak at 30 minutes, followed by a gradual fall over the next 120 minutes. Thus, we showed that porcine TRH does in fact stimulate TSH release evidenced both by bioassay and radioimmunoassay performed at VA Hospital in New Orleans and the latter through the kindness of another collaborator, Al Parlow at UCLA. After this successful trial, in a time when hypothalamic hormones were things of speculation and doubt, it was demonstrated for the first time, that a reasonably "clean" hypothalamic extract containing what we now know as TRH (thyrotropin-releasing hormone) does not have any species specificity and is effective in man (Bowers CY , Schally AV , Hawley WD , Gual C , Parlow A,

J Clin Endocr Metab 1968, received Nov 27, 1967. Published July 1968; 28:978-982). The collaboration continued after AVS obtained synthetic TRH and we studied its effects in normal men. The elucidation in 1969 of the structure of TRH removed almost all the skepticism surrounding hypothalamic hormones. AVS and his colleagues included Abba J. Kastin and accomplished clinician who joined AVS group in 1964; were now able to devote more time to the problem of the important hypothalamic hormone LH-RH and quickly obtained natural and highly purified preparations of porcine LH-RH to test in man and women. Clinical studies, first with porcine LH-RH (1968) and latter on with synthetic LH-RH (1971-1972) were published in 1969-1974 (see: Schally AV and Gual, C., The Endocrinologist, September/October 2001; 11:341-356). At this stage I would like to remembrance one of the most exciting experience I had in my life. That was at the Annual US Endocrine Society Meeting held on Thursday, June 24, 1971. It was at 4:15 P.M. at the Imperial Room of the San Francisco Hilton Hotel. The vast room was crowded with endocrinologists all over the country and from many other countries around the world, including myself from México. I was sitting in the first row and at my side were R. Burgus and W. Vale and also in the audience I could recognize to A. Arimura, H. Matsuo, Y. Baba, RMG Nair, T.W. Redding, Cy Bowers, S.M. McCann, P. Fawcett and K. Folkers, amongst other important scientists in the field. Roger Guillemin was at the Chair and in the podium was Andrew V. Schally where he announced to the world his discovery, until that time the unknown structure of LH-RH: the decapeptide Pyro-glu-his.trp-ser-tyr-gly-leu-arg-pro-gly-NH₂. "It was one of the most joyous moments in my life," Schally remarks. The applause of the whole audience, was the recognition of 15 years of tenacious work of an extraordinary man that never resented the strong criticism by his pars. Myself and Latin American endocrinologists were proud of the support that Andrew have given for many years to many countries, specially to México and Brazil. In reference to Andrew's contributions to the development of our research and education programs and his recognition in Mexico, I will briefly recall on his election in July 7, 1971 as Honorary Member at the Mexican National Academy of Medicine and the numerous distinctions he has received in the last 40 years from the Mexican Academy of Sciences and the Endocrine Society; the National University of Mexico (UNAM), the President of México in 1978, and many other important Mexican Health Institutions. In December 10th 1977 AVS was honored to share the Nobel Price in Physiology or Medicine and I was also honored by his invitation as well as Abba Kastin, to participate in the Nobel ceremonies in Stockholm, Sweden. On his more than 90 visits to Mexico and his familiarity with Spanish and his admiration to Mexican history and traditions, he develop a great relationship with many Mexican scientists and specially with myself and my wife Beatriz with whom his beloved and late Ana María Comaru-Schally had a very close friendship. He can be sure that in this country, Andrew's friends admire and love him personally and for his support will be grateful for ever.

THE NOBEL DUEL*

Nicholas Wade

THE NOBEL DUEL is a blow-by-blow account of a closely fought twenty-one year race between scientists Andrew Schally and Roger Guillemin which culminated in their sharing the Nobel Prize for Medicine in 1977.

Nicholas Wade interweaves the history of an idea---how the brain controls the body's hormonal system--- with the personal history of these two researchers whose work was closely followed by the scientific community in conference journals and science publications.

Wade presents scientific research in a way that is rarely seen---- as a human activity. He takes us behind the scenes, explaining each step in the race to discovery. As Wade points out, in the scientific community, discovery without priority is almost worse than nothing. The Guillemin and Schally contest also highlights the vast administrative panoply of the scientific enterprise. With millions of dollars in research funding and with incredible perseverance for two decades, they achieved success, the two teams identifying the TRF hormone in the brain within days of each other.

This remarkable chapter in the history of modern biology takes us scientists as people with human passions and failings.

Nicholas Wade hold an M.A. in Science from King's College, Cambridge. He was Deputy Editor and Washington correspondent of *Nature*, the British science periodical, and is currently writing for *Science* magazine. He lives in Washington, D.C.

*The Anchor Press edition of the first publication of *The Nobel Duel*. Anchor Press edition: 1981.



EVENTO

PROGRAMA

ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA

JULIO 7 DE 1971 - 20:00 Hrs.

HORMONAS HIPOTALAMICAS HIPOFISIOTROPICAS

ESTRUCTURA Y ACTIVIDAD FISIOLÓGICA DE ALGUNAS
HORMONAS LIBERADORAS HIPOTALAMICAS

DR. ANDREW V. SCHALLY

EXPERIENCIA CLÍNICA CON EL USO DE
HORMONAS HIPOTALAMICAS HIPOFISIOTROPICAS

DR. CARLOS GUAL

TRABAJOS LIBRES

RESULTADOS DE LA CIRUGIA EN LA COMUNICACION
INTERVENTRICULAR AISLADA

DR. PATRICIO H. BENAVIDES

ESTUDIO DE CARDIOPATIA ISQUEMICA

DR. JORGE SONI



VETERANS ADMINISTRATION
HOSPITAL
1601 PERDIDO STREET
NEW ORLEANS, LOUISIANA 70146

November 21, 1977

IN REPLY
REFER TO: 151

Dr. Emilio Martinez-Manautou
Secretario de Salubridad y Asistencia
Reforma y Lieja
Mexico 6, D.F., Mexico

Dear Dr. Martinez-Manautou:

It is a distinct honor and pleasure to invite Dr. Carlos Gual Castro, Subsecretario de Asistencia, to attend the Nobel Prize ceremonies in Stockholm between December 7 and December 10 (the award ceremony). Because of the great contributions of Dr. Carlos Gual to the clinical hypothalamic program, I would like him to represent your ministry of health, Instituto Nacional de la Nutricion, and Mexican endocrinology and medicine at these Nobel ceremonies.

As the chairman of Research Division and Department of Endocrinology at the Instituto Nacional de la Nutricion, Dr. Carlos Gual had the prophetic insight and brilliant judgment about the medical importance of hypothalamic hormones long before they were fully established and accepted. Thus, in 1965 Dr. Gual invited me to collaborate with him in the clinical testing of hypothalamic hormones at Instituto Nacional de la Nutricion in Mexico City. The first clinical studies on thyrotropin releasing hormone and luteinizing hormone-releasing hormone were carried out with Dr. Gual in Mexico City. These extensive studies performed 10 years ago and reported in top US medical journals established the principles of clinical use of hypothalamic hormones and were subsequently confirmed all over the world.

Dr. Gual's brilliant contributions to the clinical hypothalamic program will be mentioned several times in my Nobel Prize lecture on December 8 in Stockholm, and have also been quoted and emphasized in my curriculum vitae (which precedes the text) as well as in the official text of the Nobel lecture, which will be published in the Prix Nobel, 1977 book, as well as in several other top scientific and medical journals in the world.

With warmest regards to you and my medical and scientific friends in Mexico,

Cordially,

Andrew Victor Schally
DR. ANDREW V. SCHALLY

cc: Dr. Carlos Gual

"To care for him who shall have borne the battle, and for his widow, and his orphan." - ABRAHAM LINCOLN



ASPECTO PARCIAL DE LOS INVITADOS A LA COMIDA OFRECIDA POR EL DR. CARLOS GUAL CASTRO, SUBSECRETARIO DE ASISTENCIA AL DR. ANDREW V. SCHALLY, PREMIO NOBEL DE MEDICINA O FISIOLÓGIA, 1977.

2 DE AGOSTO DE 1978.

Doctores: SALVADOR ZUBIRÁN, Director del Instituto Nacional de la Nutrición, CARLOS GUAL CASTRO, Subsecretario de Asistencia (SSA), Lic. ENRIQUE VELASCO IBARRA, Secretario Privado y Representante Personal del Lic, JOSÉ LÓPEZ PORTILLO, Presidente de la República, EMILIO MARTÍNEZ MANAUTOU, Secretario de Salubridad y Asistencia (SSA), ANDREW V. SCHALLY, Premio Nobel de Medicina o Fisiología 1977.



ASPECTO PARCIAL DE LOS INVITADOS A LA COMIDA OFRECIDA POR EL DR. CARLOS GUAL CASTRO, SUBSECRETARIO DE ASISTENCIA, AL DR. ANDREW V. SCHALLY, PREMIO NOBEL DE MEDICINA O FISIOLÓGIA 1977.

2 DE AGOSTO DE 1978.

Doctores: CARLOS GUAL CASTRO, Subsecretario de Asistencia, GUILLERMO SOBERÓN ACEVEDO, Rector de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Lic. ENRIQUE VELASCO IBARRA, Secretario Privado y Representante Personal del C. Presidente de la República LIC. JOSÉ LÓPEZ PORTILLO, DR. IGNACIO CHÁVEZ, Director de Instituto Nacional de Cardiología.