

GRAFICA 68

(AFLE: 500 mcg/ml)

INHIBICION (%)

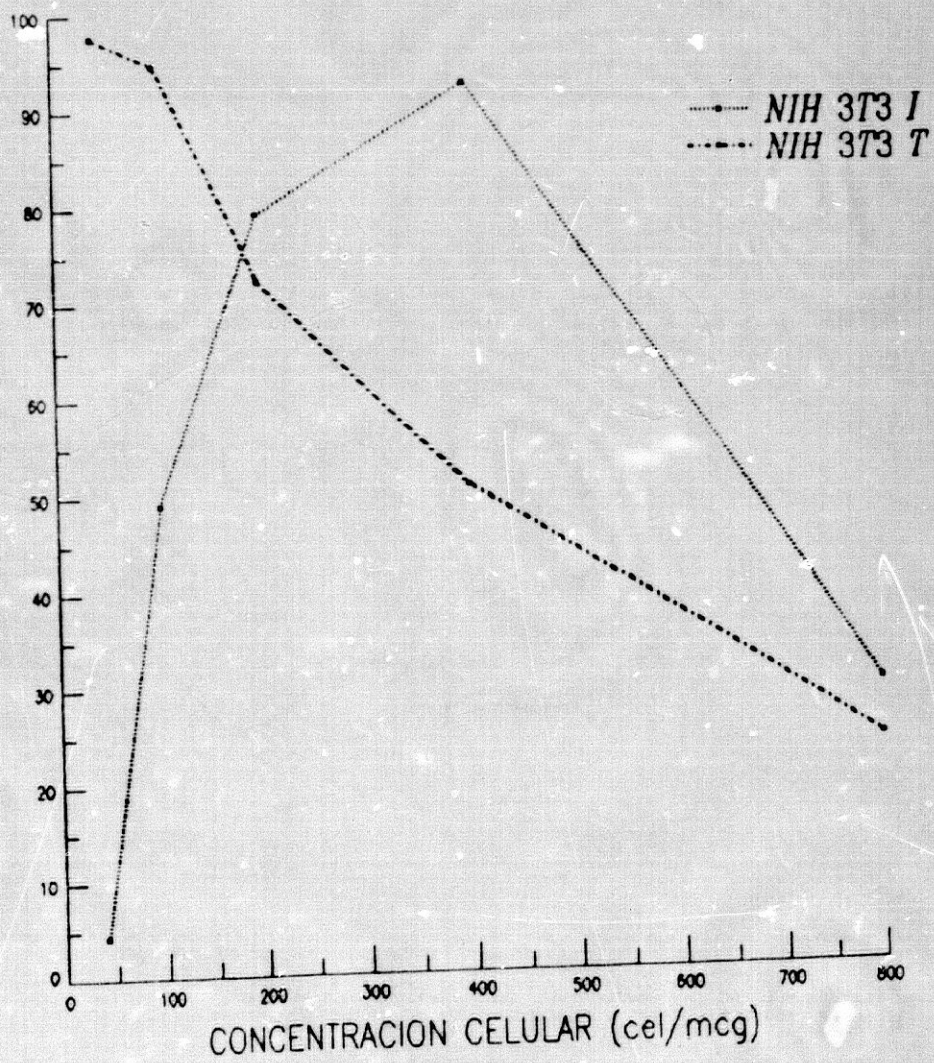


Tabla 69 y Gráfica 69

Efecto inhibitor de una cantidad fija de extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de células NIH 3T3 T, para concentraciones iniciales de las mismas inferiores a 40 cel/ μg de extracto lipídico.

TABLA 69

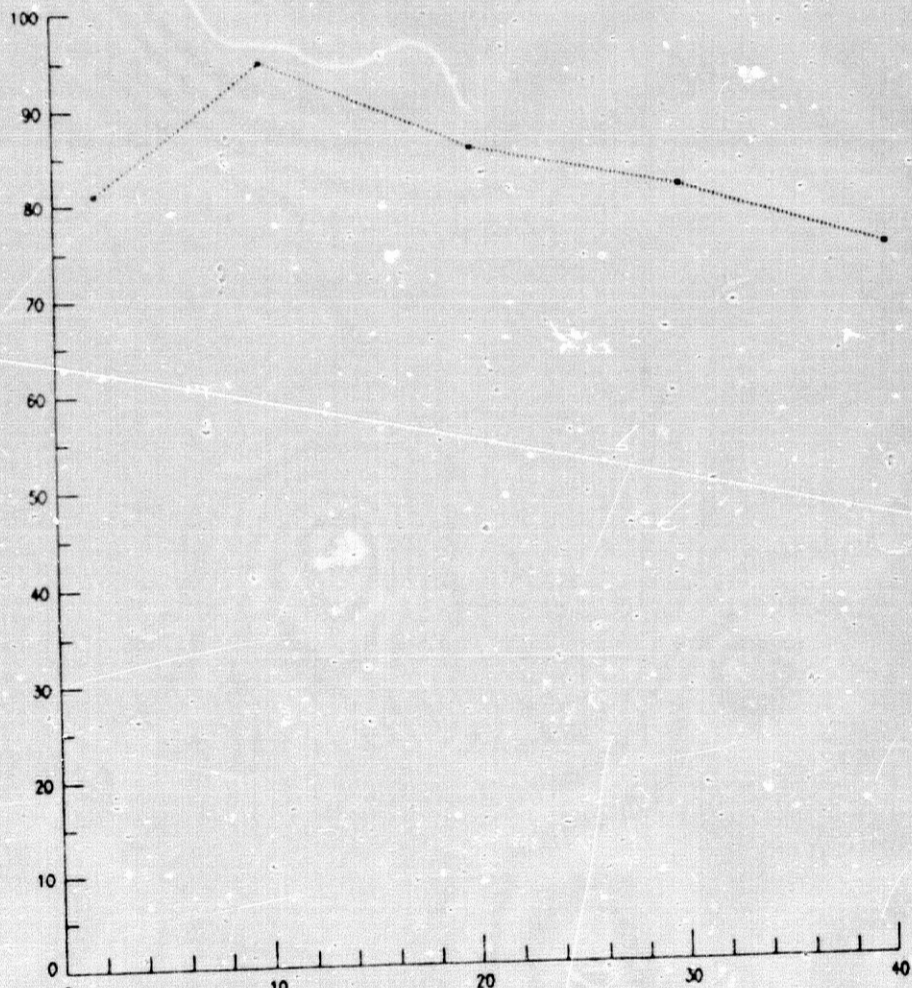
Células: NIH 3T3 T
 AFLE: 500 µg/ml

CONCENTRACION CELULAR (cel/µg)	PROBLEMA Y CONTROL	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPM)		INHIBICION (%)
		$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
2	AFLE	661 ± 440		81,0 ± 12,7
	MEDIO	3472 ± 1542		
10	AFLE	608 ± 432		95,0 ± 3,6
	MEDIO	11994 ± 3338		
20	AFLE	3014 ± 3187		85,9 ± 14,9
	MEDIO	21414 ± 7545		
30	AFLE	16484 ± 2063		81,7 ± 2,3
	MEDIO	89999 ± 25244		
40	AFLE	27905 ± 3379		75,3 ± 3,0
	MEDIO	112984 ± 11009		

GRAFICA 69

CELULAS: NIH 3T3 T (AFLE: 500 mcg/ml)

INHIBICION (%)



CONCENTRACION CELULAR (cel/mcg)

Tabla 70 y Gráfica 70

Efecto inhibitor de una cantidad fija de extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de células de médula ósea de ratón, para distintas concentraciones iniciales de las mismas (expresadas en términos de cel/ μg de extracto lipídico).

TABLA 70

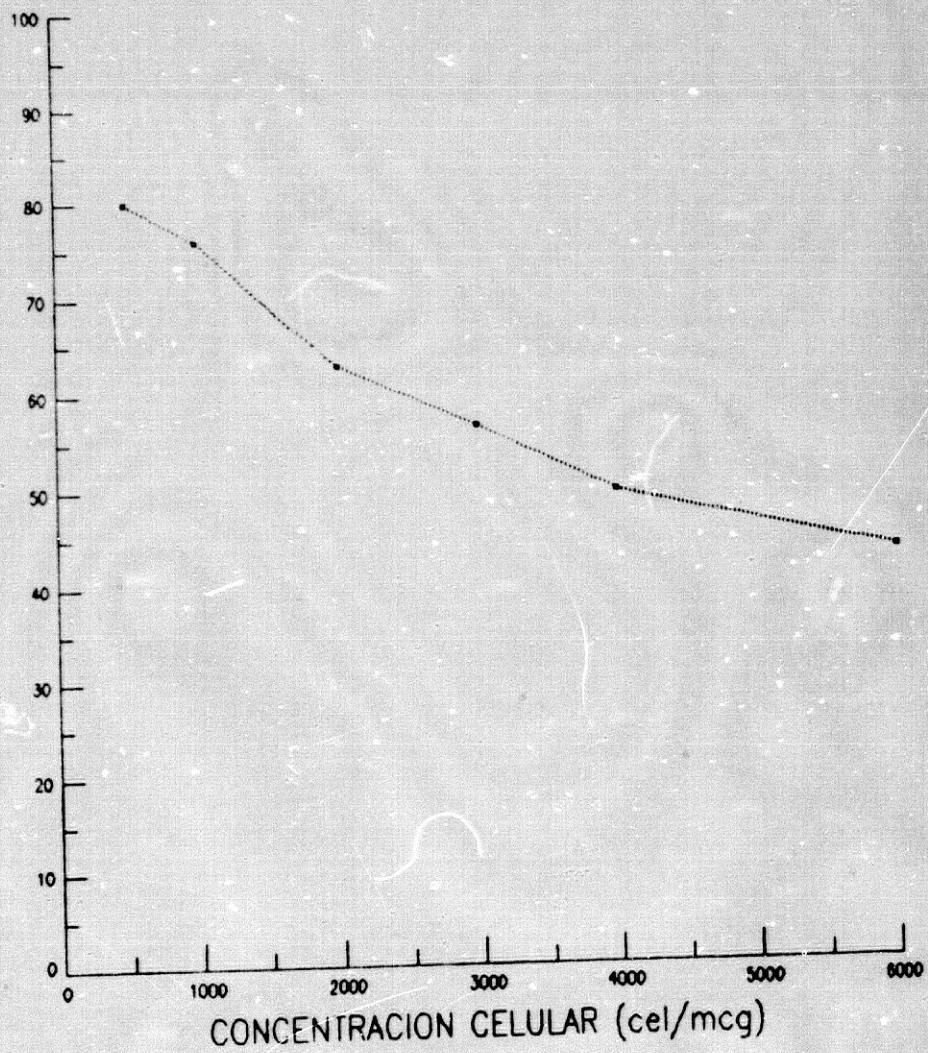
Células: Médula ósea de ratón
AFLE: 500 µg/ml

CONCENTRACION CELULAR (cel/µg)	PROBLEMA Y CONTROL	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPH) $\bar{X} \pm SD$	INHIBICION (%) $\bar{X} \pm SD$
500	AFLE	3390 ± 384	79,9 ± 2,3
	MEDIO	16904 ± 1626	
1000	AFLE	10661 ± 1944	75,9 ± 4,4
	MEDIO	44233 ± 4457	
2000	AFLE	29765 ± 2702	62,9 ± 3,4
	MEDIO	80305 ± 3272	
3000	AFLE	54292 ± 99	56,7 ± 0,1
	MEDIO	125642 ± 1028	
4000	AFLE	74880 ± 4691	49,8 ± 3,1
	MEDIO	149306 ± 11971	
6000	AFLE	129044 ± 5086	43,4 ± 2,2
	MEDIO	228123 ± 9717	

GRAFICA 70

CELULAS: MEDULA OSEA (AFLE: 500 mcg/ml)

INHIBICION (%)



5.3. INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION DE SUERO FETAL DE TERNERA DEL MEDIO DE CULTIVO EN LA ACCION INHIBIDORA DEL EXTRACTO LIPIDICO DE LIQUIDO AMNIOTICO (AFLE)

Para la obtención de estos resultados se ha utilizado el extracto lipídico obtenido a partir de las segundas 50 muestras de líquido amniótico, es decir, el AFLE II.

En las tablas y gráficas 71 a 74, podemos observar el efecto inhibidor del AFLE sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de las células NIH 3T3 I, manteniendo constante la concentración celular (200000 cel/ml) y variando la concentración de suero fetal de ternera del medio de cultivo: 1, 5, 10 y 20% (tablas y gráficas 71, 72, 73 y 74, respectivamente).

Podemos comprobar que la acción inhibidora del AFLE es menor conforme se incrementa la concentración de suero fetal de ternera.

Esto se aprecia mejor en la tabla y gráfica 75, donde se representan los valores de I_{50} y C_{50} correspondientes a la acción inhibidora del AFLE sobre la proliferación de las células NIH 3T3 I, a las concentraciones de suero fetal de ternera descritas anteriormente, manteniendo una concentración celular de 200000 cel/ml.

Efectivamente, el valor de C_{50} desciende conforme es superior la concentración de suero fetal, lo cual habla en favor de una acción contrapuesta del AFLE respecto a los factores estimuladores de la proliferación celular incluidos en el suero fetal de ternera.

Tabla 71 y Gráfica 71

Inhibición producida por distintas concentraciones del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de células NIH 3T3 I, a una concentración inicial de 200000 cel/ml, para una concentración de suero fetal de ternera en el medio de cultivo de un 1%.

TABLA 71

Células: NIH 3T3 I
 Concentración de suero fetal de ternera: 1%

AFLE ($\mu\text{g/ml}$)	CAPTACION DE ^3H -TIMIDINA (DPM)	INHIBICION (%)
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$
10	3730 \pm 207	17,0 \pm 4,6
50	601 \pm 390	86,6 \pm 8,7
100	353 \pm 138	92,1 \pm 3,1
CONTROL (MEDIO)	4494 \pm 238	

GRAFICA 71

CELULAS: NIH 3T3 I (SFT: 1%)

INHIBICION (%)

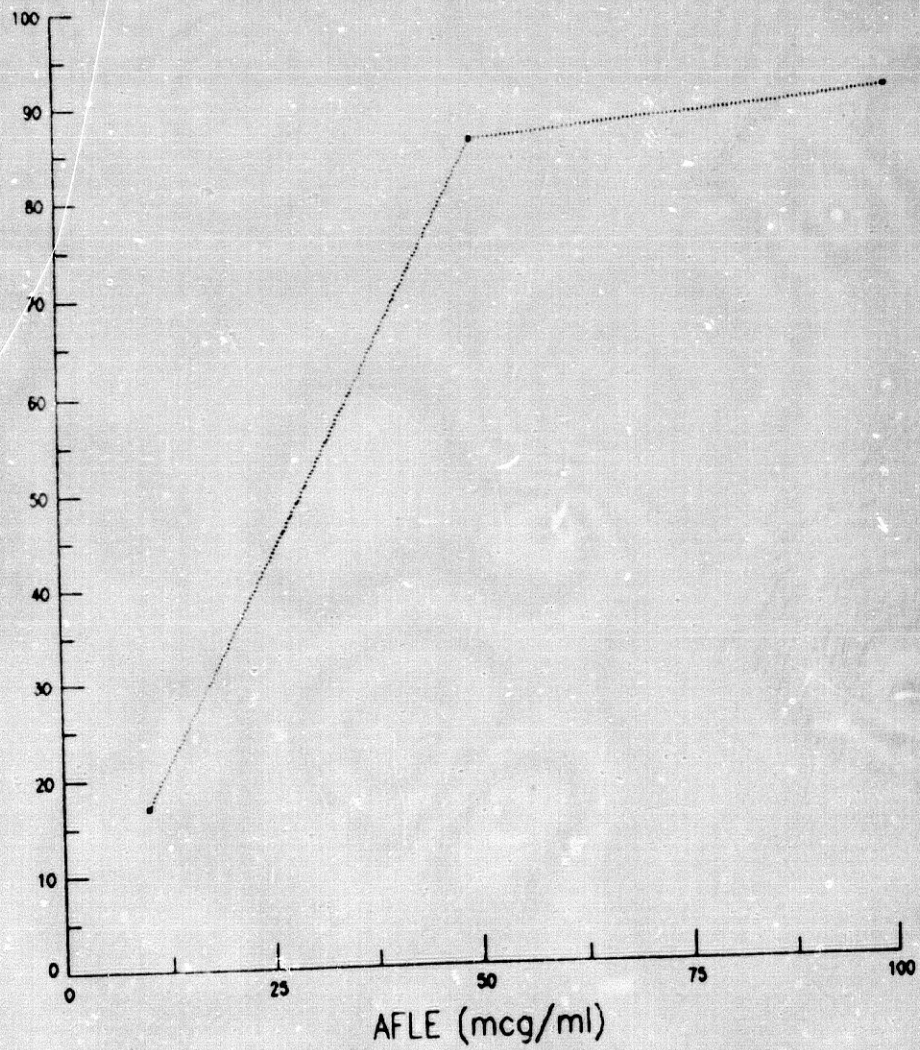


Tabla 72 y Gráfica 72

Inhibición producida por distintas concentraciones del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de células NIH 3T3 I, a una concentración inicial de 200000 cel/ml, para una concentración de suero fetal de ternera en el medio de cultivo de un 5%.

TABLA 72

Células: NIH 3T3 I
 Concentración de suero fetal de ternera: 5%

AFLE ($\mu\text{g/ml}$)	CAPTACION DE ^3H -TIMIDINA (DPM)	INHIBICION (%)
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$
10	125259 \pm 5017	20,9 \pm 3,2
50	116156 \pm 16718	26,7 \pm 10,5
100	67789 \pm 23553	57,2 \pm 14,8
CONTROL (MEDIO)	158457 \pm 53497	

GRAFICA 72

CELULAS: NIH 3T3 I (SFT: 5%)

INHIBICION (%)

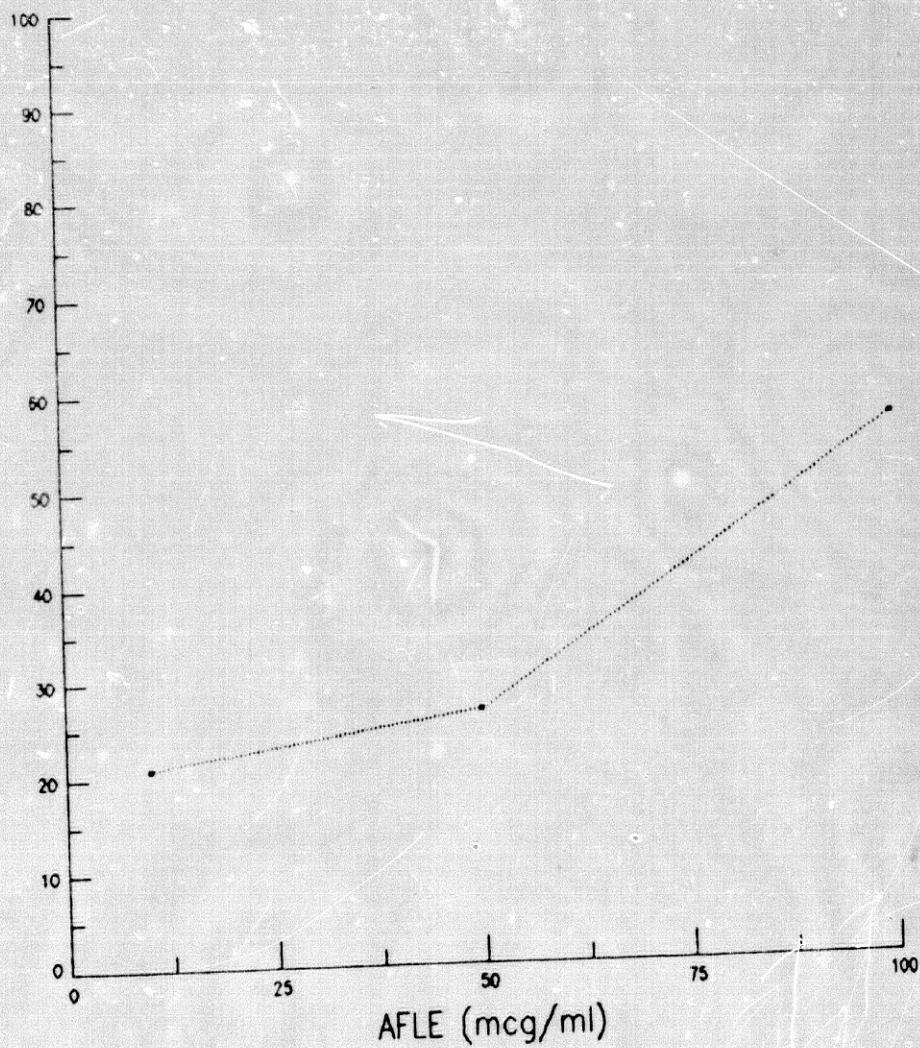


Tabla 73 y Gráfica 73

Inhibición producida por distintas concentraciones del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la captación de ³H-Timidina por parte de células NIH 3T3 I, a una concentración inicial de 200000 cel/ml, para una concentración de suero fetal de ternera en el medio de cultivo de un 10%.

TABLA 73

Células; NIH 3T3 I
 Concentración de suero fetal de ternera: 10%

AFLE ($\mu\text{g/ml}$)	CAPTACION DE ^3H -TIMIDINA (DPH)	INHIBICION (%)
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$
10	184309 \pm 10767	5,1 \pm 5,5
50	160184 \pm 5470	17,5 \pm 2,8
100	142116 \pm 6410	26,8 \pm 3,3
CONTROL (MEDIO)	194218 \pm 132	

GRAFICA 73

CELULAS: NIH 3T3 I (SFT: 10%)

INHIBICION (%)

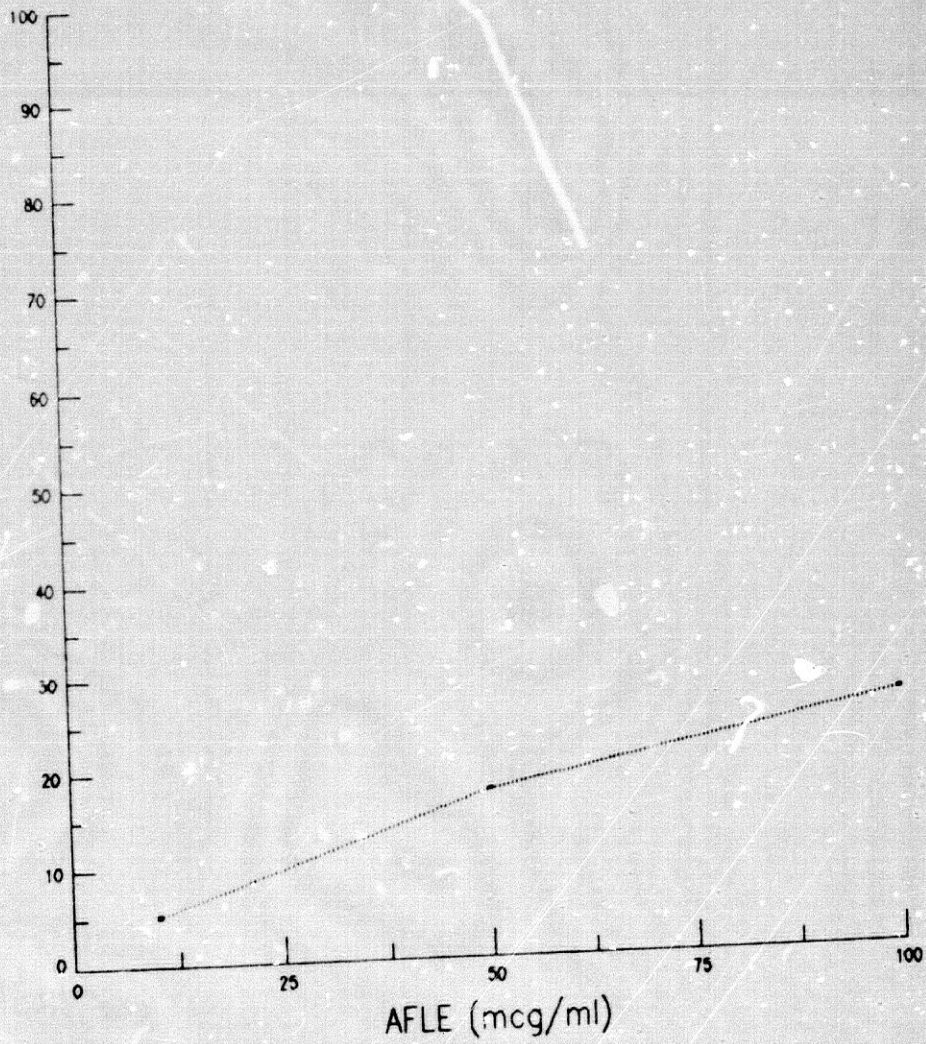


Tabla 74 y Gráfica 74

Inhibición producida por distintas concentraciones del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la captación de ³H-Timidina por parte de células NIH 3T3 I, a una concentración inicial de 200000 cel/ml, para una concentración de suero fetal de ternera en el medio de cultivo de un 20%.

TABLA 74

Células: NIH 3T3 I
 Concentración de suero fetal de ternera: 20%

AFLE ($\mu\text{g/ml}$)	CAPTACION DE ^3H -TIMIDINA (DPN)	INHIBICION (%)
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$
10	188059 \pm 9276	4,6 \pm 4,7
50	218983 \pm 6639	0,0 \pm 3,4
100	156008 \pm 16262	20,8 \pm 8,2
CONTROL (MEDIO)	197131 \pm 13234	

GRAFICA 74

CELULAS: NIH 3T3 I (SFT: 20%)

INHIBICION (%)

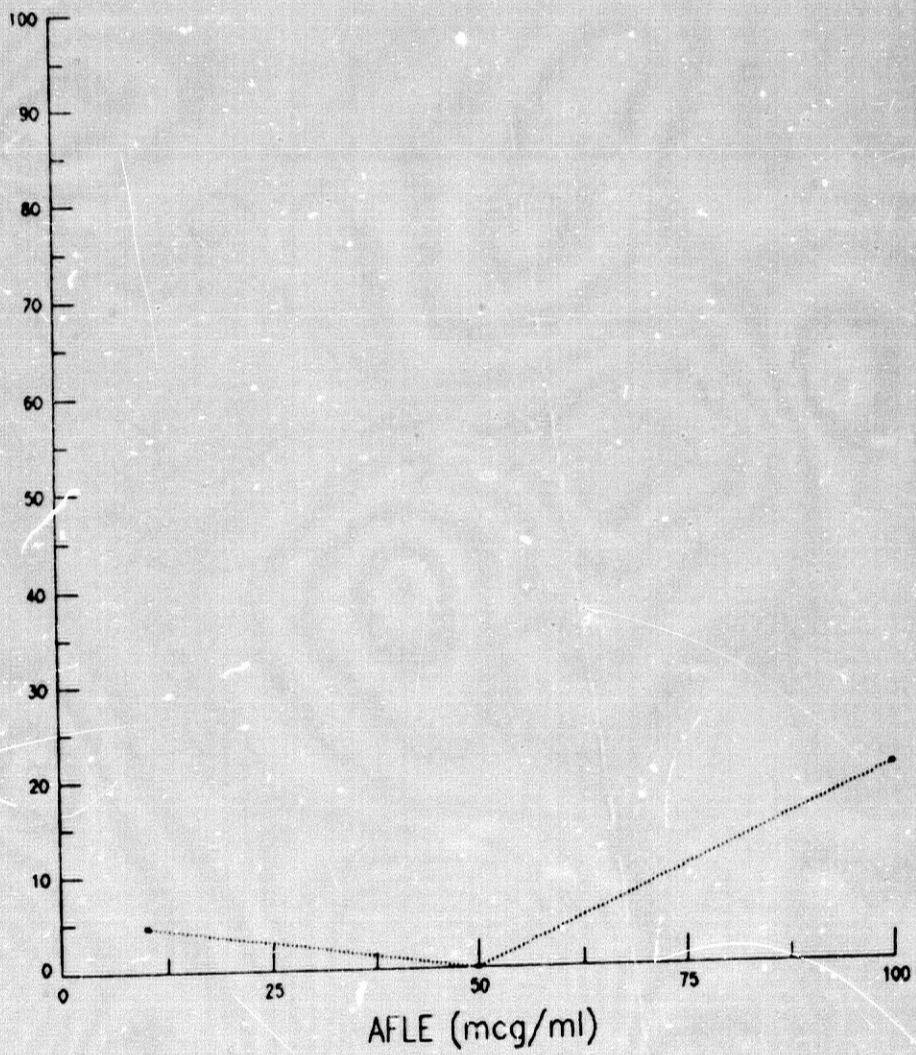


Tabla 75

Dosis I_{50} y C_{50} del efecto inhibidor del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la incorporación de 3H -Timidina por parte de células NIH 3T3 I, a una concentración inicial de 200000 cel/ml, para distintas concentraciones de suero fetal de ternera en el medio de cultivo.

Gráfica 75

Dosis C_{50} del efecto inhibidor del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la incorporación de 3H -Timidina por parte de células NIH 3T3 I, a una concentración inicial de 200000 cel/ml, para distintas concentraciones de suero fetal de ternera en el medio de cultivo.

TABLA 75

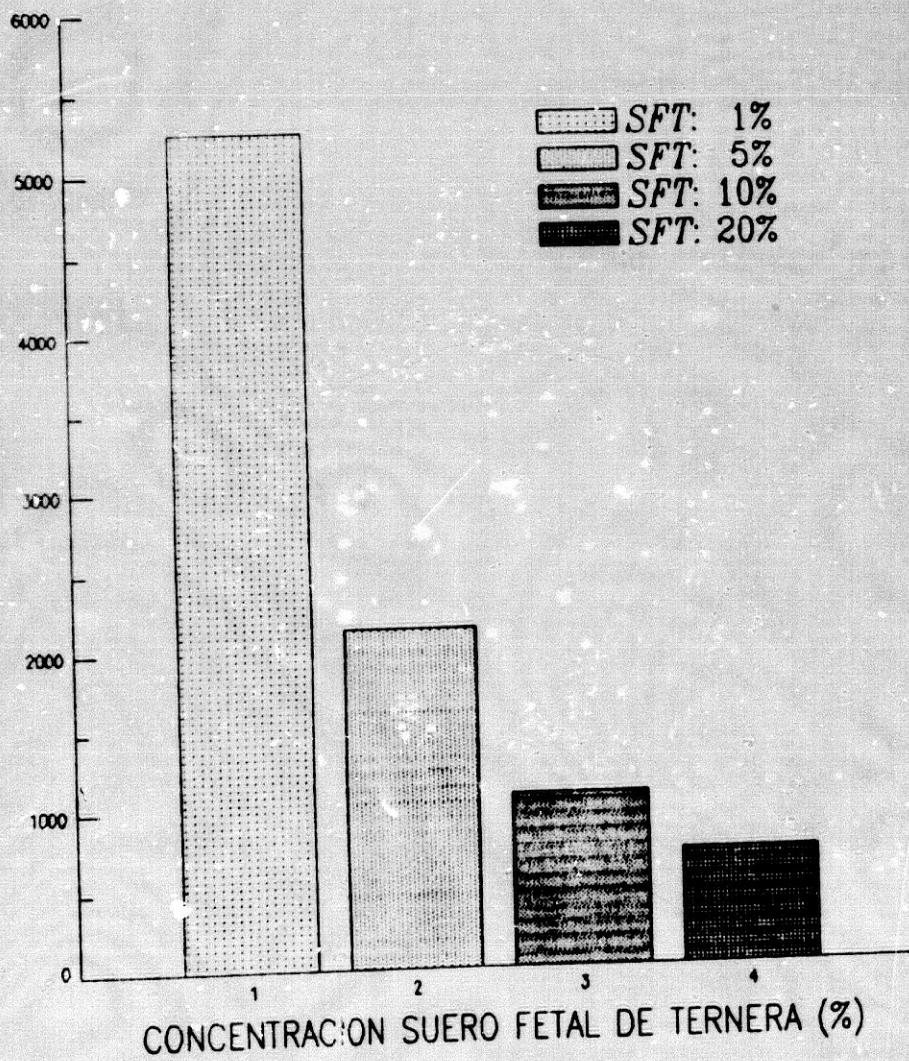
AFLE
Células: NIH 3T3 I

CONCENTRACION DE SUERO FETAL DE TERCIERA (%)	I ₅₀ (μg/ml) $\bar{X} \pm SD$	C ₅₀ (cel/μg) $\bar{X} \pm SD$
1	38,0 ± 1,8	5266 ± 245
5	98,5 ± 27,6	2135 ± 570
10	185,5 ± 16,4	1084 ± 97
20	306,2 ± 114,9	716 ± 256

GRAFICA 75

AFLE (CELULAS NIH 3T3 I)

C-50 (cel/mcg)



D I S C U S S I O N

1. INTRODUCCION

El embarazo se puede considerar como un trasplante semialogénico en el útero materno, ya que el feto porta antígenos de histocompatibilidad paternos que son extraños para la madre. No obstante, y a pesar de esto, en la mayoría de los casos el feto no es rechazado por el sistema inmune materno.

Algunos autores han referido que el crecimiento del feto en el útero materno se asemeja en gran parte al crecimiento tumoral, ya que ambos procesos presentan algunos puntos en común, como son la intensa proliferación celular, así como la existencia de un estado de inmunosupresión en el huésped, tanto en la gestación como en las neoplasias. Es probable, por tanto, que en ambos procesos se produzcan variaciones moleculares comunes, y el estudio de estas variaciones nos puede servir, no sólo para entender por qué no se produce el rechazo fetal en el embarazo, sino también para explicar los mecanismos que permiten a un tumor crecer de forma ilimitada.

Se han involucrado varios mecanismos responsables de evitar dicho rechazo en el embarazo, dependientes tanto de la madre como del feto. Dentro de estos mecanismos, parece tener gran importancia la existencia de factores inmunorreguladores, los cuales actúan a nivel de la interfase materno-fetal, aunque dada la íntima conexión entre ambos, pueden determinar cambios en la inmunidad sistémica, tanto de la madre como del feto.

El líquido amniótico, por su disposición estratégica en íntimo contacto con dicha interfase, así como por su relativamente fácil disponibilidad, constituye un medio idóneo para el estudio de dichos factores inmunorreguladores, los cuales podrían explicar en gran parte el fenómeno de tolerancia que ocurre durante la gestación.

Por ello, nosotros nos propusimos detectar la presencia de dichos factores en el líquido amniótico humano.

2. FACTORES LIPIDICOS REGULADORES DE LA PROLIFERACION CELULAR EN LIQUIDO AMNIOTICO HUMANO

En primer lugar, se probó la actividad inhibidora de la proliferación celular por parte del líquido amniótico crudo. Para ello, se eligieron 15 muestras al azar, y se comprobó que todas ellas inhibían el crecimiento celular del mastocitoma de ratón P815X2 (tabla 1, gráfica 1) y de linfocitos humanos (tabla 2, gráfica 2).

Este efecto inhibitor podría estar influenciado por algunas variables, como eran la patología sufrida por la embarazada a la que se le practicaba la amniocentesis, la medicación tomada por la misma y, sobre todo, la edad de gestación en la fecha de extracción del líquido amniótico, ya que la cantidad de factor inhibitor podría variar conforme avanza el embarazo.

A pesar de que este no era el objetivo de nuestro trabajo, los resultados anteriores confirmaron que todas las muestras de líquido amniótico inhibían la proliferación celular. Por tanto, las variables reseñadas no suprimen el efecto inhibitor del líquido amniótico, sino que en todo caso lo modulan.

A continuación, se estudió si el efecto del líquido amniótico era citostático o citotóxico, y al mismo tiempo, si su actuación era reversible o irreversible.

Para ello, se cultivaron células del tumor P815X2 en presencia y en ausencia de líquido amniótico. Ambos cultivos (problema y control) mostraron una mortalidad celular muy baja y similar (tabla 3, gráfica 3 A), de lo cual se deducía que el efecto del líquido amniótico era citostático y no citotóxico.

Igualmente, se comprobó la captación de ^3H -Timidina por parte de células tratadas previamente con líquido amniótico (cultivo problema) y por células sin tratar (cultivo control) (tabla 3, gráfica 3 B), siendo equivalente en ambos. Según esto, se concluyó que el efecto del líquido amniótico era reversible, lo cual habla en favor del carácter regulador de los factores presentes en el mismo, ya que las moléculas reguladoras suelen ser reversibles en su actuación.

Experiencias previas realizadas en nuestro laboratorio habían demostrado la presencia de factores inmunorreguladores en la fracción lipídica del fluido ascítico de ratones portadores de tumores, en la fracción lipídica de células del linfoma T de ratón MCG3 y en la fracción lipídica de células de bazo de ratón. Pensando en que los factores buscados por nosotros en el líquido amniótico humano podrían ser de la misma naturaleza que los anteriores, realizamos una extracción lipídica de dicho fluido, y al producto obtenido se le llamó extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE).

Se probó el efecto de este extracto sobre la proliferación de diferentes tipos celulares, tanto humanos como de ratón, y tanto normales como tumorales, y tanto inmunes como no inmunes.

Para comparar el efecto del extracto lipídico sobre los distintos tipos celulares, se definieron dos parámetros: I_{50} y C_{50} , calculándose ambos para cada tipo de célula que fue probada (tabla 4, gráfica 4).

El I_{50} es un parámetro que hace referencia al efecto inhibitor del extracto en sí, mientras que el C_{50} hace referencia al efecto inhibitor del extracto, así como al número de células inhibidas por el mismo.

El AFLE inhibió la proliferación de todos los tipos celulares probados. Por tanto, podemos afirmar que en la actuación del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) no encontramos especie-especificidad ni inmuno-especificidad, sino un efecto inhibitor de la proliferación de cualquier tipo de células.

Según esto, los factores presentes en nuestro extracto podrían estar involucrados en la regulación del crecimiento celular en general, actuando no sólo sobre células inmunes sino también sobre células no inmunes.

El feto está sometido a un intensísimo proceso de crecimiento durante el embarazo. Los tejidos con gran capacidad proliferativa presentan una estrecha regulación de la misma por medio de la actuación de factores de crecimiento. Estos factores pueden estimular la proliferación celular o inhibirla, y de la actuación

equilibrada y conjunta de todos ellos resulta un crecimiento proporcionado de dichos tejidos.

Es lógico pensar, por tanto, que el feto debe estar sometido a la actuación de estos factores de crecimiento, los cuales podrían estar presentes en líquido amniótico, aunque ejercieran su actuación a otros niveles.

Es posible que la proliferación de células inmunes esté controlada por estos mismos factores, de tal forma, que la inmunorregulación de la que hablábamos antes, estaría comprendida dentro de un proceso mucho más amplio, como es la regulación del crecimiento celular. No obstante, no se descarta la posibilidad de que existan en líquido amniótico factores que controlen específicamente la proliferación de células inmunes.

GARCIA-OLIVARES y RODRIGUEZ-VEDIA (1985) detectaron en el fluido ascítico, libre de células, de tumores intraperitoneales de ratón, la presencia de un factor lipídico (CPIF) que inhibía la proliferación celular. Posteriormente, se ha detectado un factor o factores similares en las células del linfoma T de ratón MCG3 (BORDES y cols., 1988), y experiencias realizadas en nuestro laboratorio han permitido detectar también dichos factores en células de bazo de ratón.

Según esto, dichos factores se localizan tanto en células normales como en células tumorales, y es lógico pensar que se traten de factores ubicuos que se encuentren en todos los tejidos con intensa actividad proliferativa.

Dada la intensa actividad proliferativa del feto, los CPIF podrían estar presentes en líquido amniótico, regulando el crecimiento tanto de células inmunes como de otro tipo de células.

Son numerosos los mecanismos biológicos que se inician y desarrollan mediante reconocimientos exquisitamente específicos, pero que finalizan con la producción de moléculas inespecíficas.

Así, el mecanismo de actuación de las células T supresoras incluye la estimulación en cadena de una serie de receptores de alta especificidad en diversos subtipos celulares, pero el paso final de esta cadena es la actuación de una molécula de carácter inespecífico (DORF y BENACERRAF, 1984).

Igualmente, la actuación de diferentes ligandos sobre su receptor altamente específico en la membrana celular, determina la estimulación de un proceso intracelular inespecífico, como es el metabolismo de los fosfoinosítoles de membrana con liberación de Calcio y activación de la Protein-kinasa C (BERRIDGE, 1984).

Este podría ser el caso también de los factores lipídicos inhibidores de la proliferación celular (CPIF) y de los factores detectados por nosotros en el líquido amniótico humano, los cuales podrían encontrarse en la última secuencia inespecífica de los mecanismos reguladores del crecimiento celular.

Decíamos antes que el AFLE inhibió la proliferación de todos los tipos celulares probados. No obstante, en nuestros resultados pudimos comprobar que el C_{50} era mucho mayor para las células normales que para las células tumorales (tabla y gráfica 4), es decir, que una misma cantidad de extracto lipídico inhibía a mayor número de células normales que de células tumorales.

En el caso de células de médula ósea de ratón, que son células normales, el efecto anterior era claro, siendo el valor de C_{50} 10 a 20 veces mayor que para las células tumorales, y siendo las condiciones experimentales las mismas que para las células tumorales.

En el caso de los linfocitos humanos, el efecto inhibitor, y por tanto el valor de C_{50} , era mucho mayor respecto a las células tumorales, pero dicho efecto podría achacarse a que el tiempo de permanencia del AFLE con los linfocitos en el radioinmunoanálisis es superior que para el resto de células (72 horas respecto a 24 horas).

Por ello, se hizo un estudio simultáneo con células tumorales de ratón (P815X2) con 24 horas y 72 horas de cultivo (tablas y gráficas 5 y 6, respectivamente), y se comprobaron los resultados. Lógicamente, el AFLE inhibía a mayor número de células tumorales tras 72 horas que tras 24 horas de cultivo, siendo el valor de C_{50} a las 72 horas mayor que a las 24 horas; es decir, que la misma cantidad de extracto lipídico inhibía a un porcentaje de células superior (tabla y gráfica 7). Por contra, el valor de I_{50} era

menor, es decir, que la dosis de extracto necesaria para inhibir al 50% de las células era menor a las 72 horas que a las 24 horas de cultivo.

No obstante, a pesar de lo comentado anteriormente, el valor de C_{50} para los linfocitos seguía siendo muy superior al valor de C_{50} para las células P815X2, cultivadas ambas durante 72 horas (tabla y gráfica 7).

Por tanto, la inhibición del AFLE parece ser mayor sobre células normales que sobre células tumorales y, por otra parte, el hecho de que inhiba más intensamente a los linfocitos humanos que a cualquier otro tipo de células, nos permite suponer que nuestro extracto lipídico tiene una actividad especialmente inmunorreguladora.

BORDES y cols. (1988) también observaron que los CPIF inhibían más intensamente a las células normales que a las tumorales, sugiriendo que estas últimas debían ser menos sensibles a la actuación de los CPIF. Esta característica podría contribuir a la disregulación en el control del crecimiento que las células tumorales presentan.

Sin embargo, en nuestros resultados existe una excepción con respecto al efecto anterior. Se trata de las células "CHANG" (tabla y gráfica 4), ya que a pesar de ser células hepáticas humanas, no tumorales, el valor de C_{50} no es mayor que para las células tumorales, sino que es incluso menor que para éstas.

No obstante hay que tener en cuenta que las células "CHANG" se encuentran en un "estado de iniciación avanzado", el cual es un paso previo a la transformación neoplásica. Las células en dicho estado pierden la inhibición por contacto, multiplicándose indefinidamente.

Asimismo, es importante señalar que existe una posible contaminación de estas células con células "HEL-3", las cuales sí son tumorales.

Existe otra tercera característica de las células "CHANG" que podría explicar el efecto anterior, y es el hecho de que son células adaptadas al cultivo, siendo las células no estrictamente

adaptadas al mismo (linfocitos y células de médula ósea de ratón) las que más se inhiben por el extracto lipídico.

Por último, hay que tener en cuenta también que las células "CHANG" no son células hematopoyéticas, y como veremos más tarde, éstas últimas se inhiben más que otros tipos celulares.

Por tanto, las células "CHANG" no son células tumorales, pero tampoco son células normales, y esta razón podría explicar el diferente comportamiento del AFLE con las mismas.

Existe otra excepción respecto al comportamiento general de las células tumorales. Se trata de la eritroleucemia humana K-562 (tabla y gráfica 10). Concentraciones grandes de AFLE, que producen una inhibición cercana al 90% con el resto de células tumorales, en el caso de las células K-562, producen una inhibición muy baja. Según esto, estas células serían menos sensibles al efecto inhibidor del AFLE que el resto de células tumorales.

Sin embargo, cuando aumentamos la concentración de extracto lipídico, observamos que el efecto inhibidor aumenta, demostrando que el bloqueo de estas células tumorales a la actuación del AFLE se puede superar aumentando la concentración de extracto correspondiente a cada célula.

La falta de sensibilidad de las células K-562 a la acción inhibidora del extracto lipídico, nos permite comentar la ausencia de citotoxicidad en el efecto del AFLE. El hecho de que estas células no se inhiban a concentraciones en que otras células lo hacen, supone el efecto citostático y no citotóxico del extracto lipídico, al igual que ocurría con el líquido amniótico crudo.

Para confirmar lo anterior, y al mismo tiempo, para demostrar la reversibilidad del efecto inhibidor del AFLE, se hizo una experiencia similar a la realizada con el líquido amniótico crudo, utilizando las células tumorales P815X2 (tabla 8 y gráficas 8 A y 8 B) y linfocitos humanos (tabla 9 y gráficas 9 A y 9 B).

En el primer caso (P815X2), después de 24 horas de cultivo, las células cultivadas con AFLE mostraron una mortalidad muy baja y similar a las células cultivadas en ausencia del mismo. Asimismo, la síntesis de DNA, determinada por la captación de ^3H -Timidina, no era menor en las células cultivadas previamente con AFLE (como

cabría esperar si permaneciese el efecto inhibitor de éste), sino que era incluso mayor respecto a las células control.

En el caso de los linfocitos humanos, después de 48 horas de cultivo, la mortalidad era similar en los cultivos problema y control. Igualmente, tras realizar el radioanálisis de captación de ³H-Timidina, se comprobó, de nuevo, que la síntesis de DNA no era menor en las células cultivadas con AFLE, sino mayor respecto a las células cultivadas en ausencia del mismo.

De este modo, tras las dos experiencias anteriores, se pudo demostrar el efecto citostático y reversible del extracto lipídico del líquido amniótico, al igual que ocurría con el líquido amniótico crudo. Asimismo, esta reversibilidad reafirma el carácter regulador del AFLE, ya que las moléculas reguladoras suelen ser reversibles en su actuación.

Una vez visto el efecto del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la proliferación celular, decidimos caracterizar los factores inhibidores presentes en el mismo. Para ello, hicimos una cromatografía en capa fina sobre gel de sílice y utilizamos un sistema de disolvente polar, cloroformo:metanol:agua (60:38:8). Se corrieron diversos estándares para comparar su valor de Rf100 con el de las diversas manchas obtenidas al separarse el extracto lipídico de líquido amniótico (tabla y gráfica 11).

El AFLE se separó en 6 manchas, que se enumeraron del 1 al 6. Estas manchas se identificaron comparando su valor de Rf100 con el de las manchas de los estándares.

La mancha nº 1, que era la más gruesa y más intensa, coincidía en valor de Rf100 con la correspondiente al estándar de fosfatidil-colina, cosa lógica, ya que éste es el fosfolípido más abundante en líquido amniótico.

La mancha nº 2 correspondía a fosfatidil-inositol y la nº 3 a fosfatidil-etanolamina.

En cuanto a las últimas tres manchas (nº 4, nº 5 y nº 6) coincidían con las correspondientes al estándar de ácidos grasos.

Los estándares de fosfatidil-colina y de fosfatidil-etanolamina dejaban sobre la placa dos manchas, cada uno, con valor

de Rf100 similar al correspondiente a los ácidos grasos, y también al de las manchas 4 5 y 6 del AFLE. Dichas manchas, probablemente, correspondan a los ácidos grasos esterificados presentes en las moléculas, tanto de fosfatidil-colina como de fosfatidil-etanolamina, los cuales, al correr la placa pueden disociarse y alcanzar un valor de Rf100 distinto al de dichos estándares.

Igualmente, el estándar de ácidos grasos dejó sobre la placa, aparte de las dos manchas con valor de Rf100 alto, característico de los mismos, una mancha con valor de Rf100 muy bajo.

Una vez separado el extracto lipídico, se probó el efecto inhibitor de las distintas fracciones obtenidas sobre la proliferación celular, medida por la captación de ^3H -Timidina.

Para ello, se utilizaron tanto células normales de médula ósea de ratón (tabla y gráfica 12) como células tumorales P815X2 (tabla y gráfica 13).

En ambas experiencias obtuvimos dos picos de actividad inhibitora. El valor de Rf100 de dichos picos era de 45,9 a 62,2 para el primero y de 83,8 a 100,0 para el segundo, y también era similar en ambas experiencias.

El primer pico coincide aproximadamente con el pico obtenido por BORDES y cols. (1988) para los CPIF, y con el obtenido por WOLF y MERLER (1979) para el SIF. Sin embargo, el segundo pico no coincidía con los resultados obtenidos por estos autores.

Por tanto, esto sugiere que, al menos en el primer pico, hemos detectado factores equivalentes a los detectados por los autores anteriores, pero además, el líquido amniótico tiene otros factores lipídicos inhibitoros de menor polaridad, que podrían coincidir con nuestro segundo pico.

STALLCUP y cols. (1984c) comprobaron la actividad inhibitora de la proliferación celular por parte de la membrana plasmática de células linfoides, y en la caracterización parcial hecha por estos autores de su factor inhibitor, encontraron que una de las manchas obtenidas en la cromatografía coincidía con la correspondiente al estándar de fosfatidil-colina.

La actividad inhibidora de nuestro primer pico podría deberse también a este fosfolípido, ya que si observamos las gráficas 12 y 13, se puede comprobar que el límite inferior de este pico inhibitorio coincide con el valor de Rf100 de la mancha del estándar de fosfatidil-colina.

No obstante, es dudoso que la actividad inhibidora de nuestro extracto lipídico se deba a la fosfatidil-colina, ya que se ha comprobado que este fosfolípido carece de actividad inhibidora sobre la proliferación celular (WADEE y cols., 1983). Además, STALLCUP y cols. (1984c) tampoco atribuyeron la actividad inhibidora de su extracto a la fosfatidil-colina, a pesar de que una de las manchas obtenidas en la cromatografía tenía un valor de Rf100 próximo al de dicho estándar.

BORDES y cols. (1988) afirmaron que el pico de actividad obtenido por ellos (con valor de Rf100 aproximado a nuestro primer pico) parecía coincidir con el grupo de gangliósidos, los cuales, como hemos visto en la Introducción, tienen demostrada su capacidad inhibidora de la proliferación celular por parte de numerosos autores (WHISLER y YATES, 1980; LADISCH y cols., 1983; GONWA y cols., 1984; MERRIT y cols., 1984; ROBB, 1986; RITTER y cols., 1986; MARCUS y cols., 1987).

En los resultados de nuestra cromatografía (gráficas 12 y 13) se puede apreciar que el primer pico de actividad inhibidora tiene un valor de Rf100 próximo al del estándar de gangliósidos. En cuanto a qué tipo de gangliósido puede deberse la actividad inhibidora, los resultados obtenidos por otros autores son contradictorios, como ha quedado reflejado anteriormente en la Introducción. Así, mientras que MERRIT y cols. (1984) encuentran que entre gangliósidos purificados individualizados, el más inhibidor es el monosialogangliósido GM₂, RITTER y cols. (1986), por otra parte, afirman que, aunque todos los gangliósidos muestran capacidad de inhibir la proliferación celular, los más efectivos son el monosialogangliósido GM₁ y el disialogangliósido GD₃.

A pesar de que el primer pico de actividad inhibidora tiene un valor de Rf100 próximo al del estándar de gangliósidos, dicho valor de Rf100 parece coincidir también con el de fosfatidil-inositol,

siendo este otro lípido con actividad inhibidora de la proliferación celular reconocida (WADEE y cols., 1983).

Según esto, la actividad inhibidora de nuestro primer pico podría deberse tanto al fosfatidil-inositol como a los gangliósidos.

Nosotros hemos realizado experiencias probando la actividad de estos estándares sobre la proliferación de las células del mastocitoma de ratón P815X2, aunque no la reflejamos en esta Tesis. Tal y como esperábamos, ambos estándares inhibían la proliferación celular, determinada por la incorporación de ³H-Timidina. No obstante, el valor de C₅₀ correspondiente a la actividad inhibidora de dichos estándares fue menor que el obtenido para la actividad del AFLE sobre estas mismas células (P815X2).

Se puede deducir, por tanto, que la capacidad inhibidora del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) era mayor que la de los distintos estándares por separado, por lo que cabría suponer un efecto sinérgico de los distintos lípidos de dicho líquido, que incrementaría la actividad inhibidora que tendrían cada uno por separado.

En cuanto a la actividad inhibidora del segundo pico obtenido en la cromatografía, en principio, podría atribuirse a los ácidos grasos, ya que su valor de R_{f100} coincidía parcialmente con el obtenido para el estándar de los mismos. Además, varios autores han referido que los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) son capaces de inhibir la proliferación celular. Así, BROWN y cols. (1983) refirieron que los PUFAs inhibían la respuesta de linfocitos humanos a mitógenos y, posteriormente, ELLIS y cols. (1986) demostraron que los PUFAs inhibían la respuesta de linfocitos murinos a mitógenos. Ambos autores describieron que los ácidos grasos insaturados inhibidores eran el ácido linoléico, el ácido linolénico y el ácido araquidónico.

Por tanto, este segundo pico inhibitor podría deberse a la acción de ácidos grasos, los cuales son un componente importante del líquido amniótico, bien en forma libre, bien esterificados a otros compuestos como fosfolípidos. Además, uno de ellos, el ácido araquidónico, es un precursor obligado de las prostaglandinas, las

cuales, inhiben también la proliferación celular (SMITH y cols., 1984), y aunque nuestros picos de actividad no coincidían con el valor de Rf100 de los estándares de prostaglandinas, éstas se encuentran también en una cantidad apreciable en líquido amniótico.

Según estos resultados, podemos concluir que la actividad inhibidora de la proliferación celular por parte del líquido amniótico no se debe a un lípido aislado, sino a un conjunto de ellos, que como decíamos anteriormente, podrían actuar sinérgicamente potenciando su efecto. Este efecto se ejercería sobre cualquier tipo de células.

Los factores del AFLE, debido a la actividad anterior, podrían intervenir en la regulación del crecimiento fetal, pero es importante destacar que, dada su actividad inhibidora más intensa sobre linfocitos humanos, podrían tener una importante actividad inmunorreguladora. De hecho, tanto los gangliósidos como los ácidos grasos poliinsaturados, los cuales podrían ser los responsables de la actividad inhibidora de nuestros picos, parecen tener un papel importante como reguladores de la respuesta inmune (UTERMOHLEN y TUCKER, 1986; MARCUS y cols., 1987).

De este modo, estos factores lipídicos inhibirían la respuesta inmune de la madre, contribuyendo al estado de inmunosupresión propio de la embarazada que explica, en parte, el que no se produzca un rechazo de ésta hacia el feto.

Todos estos resultados coinciden en gran parte con los obtenidos por BORDES y cols. (1988) para los CPIF (factores lipídicos inhibidores de la proliferación celular).

Estos lípidos se encontrarían en los tejidos con alta capacidad proliferativa, y podría existir una relación entre ésta y la concentración de los CPIF en tejidos y fluidos. Esta relación se cumple con otros factores inhibidores del crecimiento celular, como las prostaglandinas (SMITH y cols., 1984) y las poliaminas (TABOR y TABOR, 1984). Esto sugeriría que todos estos factores inhibidores serían sintetizados en elevada concentración por las células en

división, probablemente, con objeto de regular el crecimiento celular, mediante un mecanismo "feed-back".

Según BORDES y cols. (1988), el equivalente humano de los CPIF podría ser el SIF (soluble inhibitory factor) detectado por WOLF y MERLER (1979) en el sobrenadante de linfocitos T humanos estimulados por mitógenos. Posteriormente, WOLF y ANDREONI (1982) detectaron este mismo factor en suero normal humano. Aunque el SIF se consideró, en principio, como un factor inmunorregulador por ser secretado por células T, después se demostró que, en realidad, se trataba de un factor regulador de la proliferación celular en general, ya que fue detectado en el sobrenadante de cultivos de otros tumores de estirpe no inmune (WOLF y cols., 1983).

Dentro de este esquema general de actuación de los CPIF y del SIF hay que entender la actuación de los factores lipídicos inhibidores del líquido amniótico (AFLE).

Así, la intensa proliferación celular fetal daría lugar a un exceso de factores lipídicos inhibidores de la proliferación celular, de cuya actuación se derivarían varios fenómenos.

El primer fenómeno sería, obviamente, que estos factores contribuirían a regular el crecimiento fetal. Pero estos factores, al igual que ocurre con otros como la prostaglandina E y la alfa-fetoproteína, podrían tener un efecto inmunorregulador aparte de su efecto sobre la proliferación celular en general.

De este modo, se explicaría el estado de inmunosupresión de la madre en el embarazo, e incluso, la inmunosupresión del feto durante el mismo período.

Por último, la actuación de estos factores lipídicos podría repercutir en el estado anémico de la embarazada (TOMAS, 1978), el cual, no es explicable únicamente por la hemodilución.

Existen diversas evidencias de que los CPIF, tras ser secretados por las células, conectan con una macromolécula de los fluidos extracelulares (GARCIA-OLIVARES y RODRIGUEZ-VEDIA, 1985). En el caso del SIF, WOLF y ANDREONI (1982) demostraron que estos factores eran transportados por una proteína del suero, con un peso molecular de 150000. Esta proteína, además de transportar estos factores, podría conectar con un receptor específico de membrana,

facilitando su acceso al interior de la célula y/o podría modular la actividad de dichos factores favoreciendo su acción.

El complejo CPIF-transportador daría lugar, lógicamente, a una lipoproteína. Varios autores han demostrado la actividad inhibidora de la proliferación celular por parte de diversas lipoproteínas séricas (CURTIS y cols., 1984), siendo probable que los CPIF contribuyan a dicha actividad inhibidora.

En cuanto al posible modelo de actuación de los CPIF, dado su carácter reversible, podría ser el siguiente.

Una célula al proliferar secretaría CPIF, que inhibirían o mejor modularían su proliferación y la de células próximas. Al cesar la proliferación, cesaría la secreción de CPIF y las células volverían a ser susceptibles de dividirse.

Un exceso de CPIF determinaría una acumulación de estas sustancias en fluidos orgánicos, siendo transportados como lipoproteínas (GARCIA-OLIVARES y RODRIGUEZ-VEDIA, 1985). Estas lipoproteínas inducirían una inhibición generalizada del crecimiento celular en tejidos periféricos.

3. UBICUIDAD DE LOS FACTORES LIPIDICOS REGULADORES DE LA PROLIFERACION CELULAR

Dado que parte de los factores detectados en el líquido amniótico humano parecen coincidir con los detectados por BORDES y cols. (1988) en un linfoma T de ratón, pensamos que este factor o factores lipídicos podrían estar presentes en otras células y tejidos, tratándose de factores ubicuos. De hecho, experiencias realizadas en nuestro laboratorio han demostrado también la existencia de CPIF en células de bazo de ratón.

Por ello, decidimos investigar la presencia de los CPIF en los extractos lipídicos de las células de otros dos tumores, uno de estirpe inmune, el linfoma SL2, y otro de estirpe no inmune, el carcinoma EHRlich. Además, se determinó la presencia de dichos factores, por un lado en las membranas y por otro en el citosol, de ambos tumores.

En primer lugar, se probó la actividad de estos extractos (ECLE, EMLE, SL2CLE, SL2MLE) sobre la proliferación de células de médula ósea de ratón (tablas y gráficas 14 a 17) y de las células tumorales P815X2 (tablas y gráficas 18 a 21).

Se pudo comprobar que todos los extractos, tanto de citosol como de membranas, y tanto del tumor SL2 como del tumor EHRLICH, inhibían la proliferación de ambos tipos de células.

Se calculó el valor de I_{50} y C_{50} correspondiente a la actividad inhibidora de los extractos referidos sobre la proliferación de dichas células (tablas y gráficas 22 a 25).

Para todos los extractos el valor de C_{50} correspondiente a las células de médula ósea de ratón era superior al valor de C_{50} correspondiente a las células tumorales P815X2, es decir, que la misma cantidad de extracto lipídico inhibía a mayor número de células de médula ósea que de células P815X2. Con el valor de I_{50} ocurría el fenómeno inverso, es decir, que la dosis de extracto necesaria para inhibir el mismo número de células era menor en el caso de las células de médula ósea que en el caso de las células tumorales P815X2.

Por tanto, la actividad de todos los extractos (ECLE, EMLE, SL2CLE y SL2MLE) era superior sobre células normales (médula ósea) que sobre células tumorales (P815X2), y estos resultados están de acuerdo con los obtenidos para el extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) y para los factores detectados por BORDES y cols. (1988). Esto nos hace pensar en la posible identidad de los CPIF y los lípidos presentes en el AFLE y en los extractos anteriores.

Aunque no se trata de una apreciación estadística, nosotros encontramos una actividad inhibidora superior en el tumor SL2 que en el tumor EHRLICH. Teniendo en cuenta que el SL2 es un linfoma T, al igual que el MCG3 estudiado por BORDES y cols. (1988), y asimismo, que WOLF y MERLER (1979) detectaron el SIF (soluble inhibitory factor), factor similar a los anteriores, en el sobrenadante de linfocitos T estimulados por mitógenos, podríamos pensar que las células T sintetizan una gran cantidad de estos factores, aunque no sean las únicas en hacerlo.

A pesar de que ha habido autores que han descrito la presencia de factores inhibidores de la proliferación celular en membranas (STALLCUP y cols., 1984a, 1984b y 1984c), otros autores (WOLF y MERLER, 1979) los han descrito no ligados a membranas.

En el caso del tumor MCG3, dichos factores se detectaron tanto en el citosol como en la membrana celular (BORDES y cols., 1988). Asimismo, nosotros hemos detectado su presencia, tanto en la membrana como en el citosol de los tumores SL2 y EHRlich.

El hecho de que haya una elevada cantidad de este factor o factores en el citosol celular, sugiere la idea de que la célula los tiene almacenados para ser secretados al exterior, lo cual ha sido demostrado por otros autores (GARCIA-OLIVARES y RODRIGUEZ-VEDIA, 1985).

Por otra parte, el hecho de que también se encuentren en la membrana, sugiere que además dichos factores pueden ejercer su función a través de contactos intercelulares.

Por tanto, los factores lipídicos inhibidores de la proliferación celular podrían ejercer su función a través de dos mecanismos, no excluyentes: a través de factores solubles y a través del contacto célula-célula (inhibición por contacto).

Pensando también en la ubicuidad de estos factores, decidimos investigar su presencia en suero sanguíneo humano. Por ello, hicimos una extracción lipídica de un "pool" de suero sanguíneo humano normal y probamos su actividad sobre la proliferación celular. Dicho extracto (HSLE) mostró una actividad inhibidora prácticamente nula sobre la proliferación, tanto de células normales (médula ósea) como de células tumorales (P815X2) (tablas y gráficas 26 y 27). Este resultado se refleja mejor en la tabla y gráfica 28, ya que el valor de C_{50} correspondiente a la actividad del HSLE es 0 (en el caso de célula de médula ósea) o muy cercano a 0 (en el caso de células tumorales P815X2).

No obstante, esto no quiere decir que los lípidos inhibidores no estén presentes en el HSLE. Es probable que sí lo estén, pero que se encuentren en una proporción muy baja con respecto a otros lípidos presentes en el suero humano, y por tanto, que se requieran

grandes cantidades de su extracto lipídico (HSLE) para que ejerzan su acción inhibitoria característica. De hecho, si aumentamos la cantidad de HSLE (1000 µg/ml), disminuimos la concentración de suero fetal en el medio de cultivo (1%) y disminuimos la concentración de células diana, en este caso células P815X2 (tabla y gráfica 42) podemos comprobar que el HSLE si inhibe la proliferación de dichas células. Además, dicha inhibición va disminuyendo conforme se incrementa la concentración celular, ya que aumenta la proporción de células correspondientes a cada µg de extracto lipídico.

Esto parece confirmar la idea que apuntábamos anteriormente, de que probablemente en el HSLE existan lípidos inhibidores, pero que dada la abundancia en otros lípidos del suero sanguíneo, su acción queda enmascarada por éstos últimos, en las mismas condiciones experimentales en que se probaron los otros extractos lipídicos.

También parece estar claro que la acción inhibitoria de nuestros extractos depende de varias variables. Una de ellas es la concentración de suero fetal del medio de cultivo, como estudiaremos más adelante.

Otra variable, lógicamente, es la concentración de las células diana que se utiliza en el radioanálisis. En las tablas y gráficas 39 a 42 podemos observar que la actividad inhibitoria de distintos extractos (AFLE, EMLE, SL2MLE y HSLE) disminuye conforme aumenta la concentración celular, ya que se incrementa la proporción de células correspondiente a cada µg de extracto presente en el cultivo, y según esto, parece lógico que la inhibición sea menor.

Estos experimentos, que parecen evidentes, son sin embargo convenientes para discutirlos con los resultados obtenidos para células NIH 3T3, como veremos posteriormente.

En cuanto a la caracterización por cromatografía en capa fina de los distintos extractos lipídicos que mostraron capacidad inhibitoria de la proliferación celular, se siguió la misma sistemática utilizada para el AFLE.

El extracto lipídico de citoplasma de EHRLICH (ECLE) se separó en dos manchas, cuyos valores de Rf100 estaban muy próximos al obtenido para el estándar de ácidos grasos (tabla y gráfica 29).

El extracto lipídico de membranas de EHRLICH (EMLE) se separó en 11 manchas (tabla y gráfica 29). Las manchas número 1, 2 y 3 tenían un valor de Rf100 muy similar al de la esfingomielina. Asimismo, las manchas 4, 5 y 6 tenían un valor de Rf100 muy próximo al de los estándares de fosfatidil-colina, gangliósidos y fosfatidil-inositol, respectivamente.

La mancha número 7 estaba cercana a la de prostaglandina F_{2α}, la número 8 a la de fosfatidil-etanolamina y la número 9 a la de prostaglandina E₂.

Por último, las dos últimas manchas (números 10 y 11) estaban muy cercanas a las correspondientes al estándar de ácidos grasos.

El extracto lipídico de citoplasma de SL2 (SL2CLE) también se separó en dos manchas, cuyos valores de Rf100 estaban muy próximos al obtenido para el estándar de ácidos grasos (tabla y gráfica 34) y coincidían, aproximadamente, con los obtenidos para el ECLE.

Finalmente, el extracto lipídico de membranas de SL2 (SL2MLE) se separó en ocho manchas. Las manchas números 1, 2 y 3 tenían un valor de Rf100 muy próximo al obtenido para los estándares de fosfatidil-colina, gangliósidos y fosfatidil-inositol. No obstante, las dos primeras parecían estar más cercanas al valor de Rf100 de la fosfatidil-colina, mientras que la tercera parecía estar más cercana al valor del fosfatidil-inositol.

En cuanto a las manchas números 4 y 5 tenían un valor de Rf100 muy próximo, y éste era similar al obtenido para el estándar de fosfatidil-etanolamina.

Finalmente, las manchas números 6, 7 y 8, por su valor de Rf100, parecían corresponder a ácidos grasos.

Una vez separados los extractos lipídicos, se probó el efecto inhibitor de las distintas fracciones obtenidas sobre la proliferación de células de médula ósea de ratón (tablas y gráficas 30, 32, 35 y 37) y sobre células P815X2 (tablas y gráficas 31, 33, 36 y 38), medida a través de la captación de ³H-Timidina.

Los extractos EMLE, SL2CLE y SL2MLE mostraron dos picos de actividad inhibidora con valor de Rf100 muy próximo o similar al obtenido para el extracto lipídico del líquido amniótico (AFLE).

En cuanto al extracto lipídico de citoplasma de EHRLICH (ECLE), obtuvimos un segundo pico con valor de Rf100 similar al del segundo pico del resto de extractos. En cambio, el primer pico de actividad inhibidora del ECLE estaba desplazado hacia la izquierda, con un valor de Rf100 entre 24,3 y 35,1, distinto al obtenido para el primer pico del resto de extractos (entre 40,5 y 62,2). Puede ser que en el caso del ECLE dicho pico de actividad inhibidora se nos haya desplazado artefactualmente y, en realidad, corresponda a la actividad inhibidora de los mismos lípidos responsables del primer pico encontrado en las cromatografías de los otros extractos lipídicos. Pero también, debido a que el EHRLICH es un tumor diferente al SL2, utilizado por nosotros, y al MCG3, utilizado por BORDES y cols. (1988) (el EHRLICH es un carcinoma y el SL2 y el MCG3 son linfomas T), puede que en el citosol de sus células se encuentre algún otro lípido más polar, que pudiera ser responsable de la actividad correspondiente a dicho primer pico de inhibición, cuyo valor de Rf100 no coincide con el obtenido para nuestros estándares.

No obstante, dicho valor de Rf100 parece estar algo próximo al obtenido para el estándar de esfingomielina, pero es difícil atribuir su actividad a este fosfolípido, ya que según WADEE y cols. (1983) la esfingomielina no inhibe la proliferación celular.

Por tanto, la interpretación de este primer pico de actividad inhibidora del ECLE parece un tanto dudosa. No obstante, si excluimos esta excepción, los resultados obtenidos para los otros extractos (EMLE, SL2CLE y SL2MLE) son muy similares a los obtenidos para el AFLE y para los extractos lipídicos de MCG3 y de bazo, lo cual es lógico, ya que si el crecimiento celular es un proceso común para la mayor parte de las células del organismo, los factores reguladores del mismo deben mostrar una distribución amplia en la mayor parte de los tejidos.

4. INHIBICION DE LA PROLIFERACION DE CELULAS NORMALES Y DE CELULAS TUMORALES

Anteriormente, hemos visto que la acción inhibitoria de los distintos extractos lipídicos (AFLE, ECLE, EMLE, SL2OLE y SL2MLE) era superior sobre células normales que sobre células tumorales. Sin embargo, estas experiencias tenían el inconveniente de que las distintas células probadas (normales y tumorales) no pertenecían a la misma estirpe, por lo que, aunque los resultados en líneas generales eran válidos, la comparación realizada entre dichas células no era del todo exacta.

Es por ello, por lo que nos pareció ideal comparar la acción de un extracto lipídico, el de líquido amniótico (AFLE) sobre la proliferación de dos tipos celulares, NIH 3T3 INICIADAS (NIH 3T3 I) y NIH 3T3 TRANSFORMADAS (NIH 3T3 T), ambas de estirpe fibroblástica.

Pudimos comprobar que el AFLE inhibía la proliferación de los dos tipos celulares (tabla y gráfica 64, tabla y gráfica 66), pero aunque las condiciones de cultivo eran similares para ambos, con una concentración celular de 200000 cel/ml y con una concentración de suero fetal de ternera de un 5%, dicha acción inhibitoria era superior sobre las células NIH 3T3 I que sobre las células NIH 3T3 T. Esto queda reflejado en la tabla y gráfica 67, donde se puede comprobar que el valor de C_{50} correspondiente a la actuación del AFLE sobre las células NIH 3T3 I era superior que el correspondiente a la acción de dicho extracto sobre las células NIH 3T3 T, y aunque la célula NIH 3T3 I no es una célula normal, ya que se encuentra en un estado de "iniciación", en el cual, puede transformarse en neoplásica con gran facilidad, no es tampoco una célula tumoral, como lo es la célula NIH 3T3 T.

Por tanto, estos resultados parecen confirmar que la acción inhibitoria de los lípidos presentes en el líquido amniótico, al igual que ocurría con los CPIF, es superior sobre células normales que sobre células tumorales, y este hecho sugiere el carácter regulador fisiológico que parecen tener estos factores.

La menor actividad inhibidora de los CPIF sobre la proliferación de células tumorales puede atribuirse a varias causas:

- Carencia de receptores específicos para dichos factores por parte de estas células.
- Alteración de los mecanismos metabólicos intracelulares estimulados por dichos factores.
- Secreción de factores transformantes autocrinos, estimuladores de la proliferación celular, por parte de las células tumorales, los cuales permiten un crecimiento autónomo de las mismas (MASSAGUE, 1984) y, por tanto, contrarrestan la acción inhibidora de los CPIF.

Distintos autores que han estudiado factores inhibidores, han encontrado una interferencia entre factores estimuladores e inhibidores de la proliferación celular.

De hecho, nosotros hemos realizado experiencias aumentando la cantidad de factores estimuladores del crecimiento (aumento de la concentración de suero fetal de ternera) en el medio de cultivo, y en estas condiciones, hemos probado la acción inhibidora de la proliferación de células NIH 3T3 I por parte del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) (tablas y gráficas 71, 72, 73 y 74). Pudimos comprobar que la acción inhibidora de nuestro extracto disminuía conforme se incrementaba la concentración de suero fetal, es decir, que el C_{50} era menor y, por tanto, el I_{50} era mayor (tabla y gráfica 75).

Estos resultados nos daban a entender que entre los factores inhibidores de AFLE y los factores estimuladores del crecimiento celular, presentes en el suero fetal de ternera, existe una acción competitiva, de tal forma, que incrementando la concentración de suero fetal en el medio de cultivo se puede llegar a anular la acción inhibidora del AFLE.

Esto está de acuerdo con la teoría del "Yin y Yang" (MARX, 1986), según la cual, el crecimiento celular es el resultado de un delicado equilibrio entre los factores estimuladores e inhibidores del mismo.

5. MECANISMOS DE INHIBICION DE LA PROLIFERACION CELULAR

Hemos visto que el AFLE inhibía intensamente la proliferación de las células NIH 3T3 I, por lo que es posible que los factores presentes en dicho extracto intervengan en los mecanismos de "inhibición por contacto", característicos de estas células.

Por ello, decidimos estudiar la dinámica de crecimiento de estas células y, al mismo tiempo, la de las células NIH 3T3 T.

En primer lugar, observamos que el comportamiento, en líneas generales, de ambos tipos celulares (NIH 3T3 I y NIH 3T3 T) era diferente, ya que las células NIH 3T3 T crecieron mucho más que las NIH 3T3 I.

Así, si observamos la proliferación absoluta de distintas concentraciones celulares tras 24, 48 y 72 horas de cultivo (tablas y gráficas 43, 44 y 45), podemos comprobar que para las células NIH 3T3 I, dicha proliferación aumenta conforme se incrementa la concentración celular inicial en el cultivo, tanto a las 24 como a las 48 horas, mientras que a las 72 horas se mantiene el incremento de la proliferación conforme aumenta la concentración, excepto para las dos últimas concentraciones (250000 y 400000 cel/ml), en las cuales, la proliferación comienza a disminuir.

En cambio, las células NIH 3T3 I alcanzan un pico de proliferación absoluta a una concentración de 100000 cel/ml, tanto para 48 horas como para 72 horas de cultivo, y a partir de ahí, las cifras de proliferación absoluta son inferiores aunque se incrementa la concentración inicial de células en cultivo.

Por otra parte, si observamos las cifras de proliferación absoluta para cada concentración celular individualmente, tras 24, 48 y 72 horas de cultivo (tablas y gráficas 49 a 56), podemos observar que en el caso de las células NIH 3T3 T, para todas las concentraciones, la proliferación tras 48 horas de cultivo es superior que tras 24 horas, y la proliferación tras 72 horas es superior que tras 48 horas, con la excepción de la última concentración celular (400000 cel/ml), en la cual, las cifras de proliferación a las 72 horas de cultivo son inferiores que las cifras correspondientes a las 48 horas.

En cambio, en el caso de las células NIH 3T² I, para concentraciones iniciales en cultivo superiores a 20000 cel/ml, las cifras de proliferación absoluta tras 72 horas de cultivo son inferiores que tras 48 horas, e incluso, para concentraciones superiores a 200000 cel/ml las cifras de proliferación tras 48 horas de cultivo son inferiores a las correspondientes tras 24 horas de cultivo.

Por tanto, según esto, la proliferación de las células NIH 3T3 T es muy superior a la de las células NIH 3T3 I, las cuales parece que están sometidas a mecanismos de inhibición que impiden que sigan proliferando, probablemente mecanismos de inhibición por contacto, los cuales son característicos de las células NIH 3T3 I, y pueden estar alterados en el caso de las células NIH 3T3 T.

No obstante, la comparación del crecimiento de ambos tipos celulares en términos de proliferación absoluta no es del todo correcta, y nos pareció mucho más exacto hacerlo en términos de proliferación relativa.

Así, si observamos las cifras de proliferación relativa para distintas concentraciones de ambos tipos celulares (NIH 3T3 I y NIH 3T3 T), manteniendo constante el tiempo de cultivo, 24, 48 y 72 horas (tablas y gráficas 46, 47 y 48, respectivamente), podemos comprobar que dichas cifras, en términos generales, descienden conforme se incrementa la concentración celular inicial del cultivo, por lo que parece ser que ambos tipos de células están sometidos a mecanismos que frenan su proliferación.

En el caso de las células NIH 3T3 I, en el cultivo de 24 horas (tabla y gráfica 46), la proliferación relativa se incrementa conforme aumenta la concentración celular, y esto puede deberse a un efecto "feeder", por el cual, las células secretan factores estimuladores, los cuales, a su vez, son capaces de incrementar la proliferación celular. Esto da como resultado que las cifras de proliferación relativa son superiores conforme se incrementa el número de células iniciales en cultivo, ya que al aumentar el número de células aumenta también la proporción de factores estimuladores.

En cambio, en el cultivo de 48 horas (tabla y gráfica 47), la proliferación relativa es creciente entre las concentraciones de 10000 y 20000 cel/ml, debido al efecto "feeder", pero a partir de esa concentración, la proliferación relativa desciende.

En el cultivo de 72 horas de duración (tabla y gráfica 48) la proliferación relativa desciende conforme se incrementa la concentración celular, lo cual quiere decir, que aún a la concentración celular inicial inferior (10000 cel/ml), tras 72 horas de cultivo, estas células se encuentran inhibidas.

En cuanto a las células NIH 3T3 T, en el cultivo de 24 horas (tabla y gráfica 46), la proliferación relativa tiende a mantenerse estabilizada conforme se incrementa la concentración celular inicial, aunque muestra una cierta tendencia a descender. En los cultivos de 48 horas y 72 horas (tablas y gráficas 47 y 48), la proliferación relativa se incrementa entre las concentraciones de 10000 y 20000 cel/ml, debido al efecto "feeder", pero a partir de dicha concentración, tanto a las 48 como a las 72 horas de cultivo, la proliferación relativa desciende conforme se incrementa la concentración celular inicial en el cultivo.

Por tanto, podemos decir que las cifras de proliferación relativa, en términos generales, tienden a descender conforme se incrementa la concentración celular inicial del cultivo de ambos tipos de células (NIH 3T3 I y NIH 3T3 T), lo cual nos hace suponer que dichas células se encuentran sometidas a la actuación de mecanismos de inhibición que frenan su proliferación.

Puede resultar paradójico el hecho de que, aunque las células NIH 3T3 T proliferan mucho más que las células NIH 3T3 I, las cifras de proliferación relativa de éstas últimas, tras 24 horas de cultivo (tabla y gráfica 46), aumentan conforme se incrementa la concentración celular inicial, mientras que en el caso de las células NIH 3T3 T (tabla y gráfica 46) las cifras de proliferación relativa se mantienen estables o tienden a descender. No obstante, esto puede ser atribuido a que el hecho de que las células NIH 3T3 T proliferen mucho más, las hace también inhibirse antes, e incluso, en tiempos de cultivo cortos de 24 horas de duración, la

proliferación relativa comienza a frenarse conforme se incrementa la concentración celular.

No obstante, esto no supone que las células NIH 3T3 T no estén sometidas al efecto "feeder" del que hablábamos antes, y esto puede apreciarse mejor en las gráficas 57 y 58, donde se representan los valores de la pendiente de la recta que une los puntos correspondientes a las cifras de proliferación absoluta (incorporación de ³H-Timidina expresada en DPM) tras 24 y 48 horas de cultivo (gráfica 57) y tras 48 y 72 horas de cultivo (gráfica 58), para cada concentración inicial de células.

En general, el aumento del valor de la pendiente, conforme se incrementa la concentración celular, puede deberse al efecto "feeder", y podemos comprobar que dicho efecto es superior para las células NIH 3T3 T, tanto entre 24 y 48 como entre 48 y 72 horas de cultivo, lo cual está de acuerdo con el ritmo de proliferación mucho más alto que el de las células NIH 3T3 I. Esto puede ser debido, al menos en parte, a la secreción de factores transformantes autocrinos por parte de células tumorales, los cuales estimulan su proliferación (MASSAGUE, 1984). Además, como hemos visto antes, estas células son menos sensibles al efecto inhibitorio de los CPIF sobre la proliferación de las mismas.

En cuanto al descenso del valor de la pendiente, tanto en un tipo como en otro de células, se debe a mecanismos que inhiben la proliferación celular.

Según WIESER y OESCH (1986), el crecimiento de células normales "in vitro" es regulado por un control altamente efectivo que determina el cese de la proliferación cuando se alcanza una densidad celular y unas condiciones celulares determinadas. Esta regulación puede deberse a la intervención de tres mecanismos diferentes:

- a) Inhibición del crecimiento debido a la deplección de nutrientes en el medio de cultivo, condición equivalente a la acidosis de dicho medio.

- b) Acumulación de moléculas inhibitorias en el medio de cultivo, secretadas por las propias células.

- c) Inhibición del crecimiento por interacciones intercelulares específicas (inhibición del crecimiento dependiente del contacto).

Si observamos la gráfica 57, podemos comprobar que a partir de la concentración celular inicial de 200000 cel/ml hay un descenso brusco del valor de la pendiente entre 24 y 48 horas de cultivo, para ambos tipos celulares (NIH 3T3 I y NIH 3T3 T), y este descenso, aunque es poco probable, puede deberse, al menos en parte, al agotamiento de nutrientes o acidosis del medio de cultivo. Hay que tener en cuenta, que en el caso de presentarse esta posible acidosis, lo haría a concentraciones iniciales más altas en las células NIH 3T3 I con respecto a las NIH 3T3 T, ya que el ritmo de proliferación de estas últimas es superior y, por tanto, es lógico que agoten antes los nutrientes del medio.

No obstante, esta inhibición, como decíamos antes, es poco probable que se deba a la acidosis del medio, ya que experiencias realizadas en nuestro laboratorio con recambio del medio de cultivo cada 24 horas, han puesto de manifiesto que las células se siguen inhibiendo y, por tanto, parece lógico pensar que dicha inhibición se deba a otro mecanismo.

Además, si observamos de nuevo la gráfica 57, podemos comprobar que entre las concentraciones celulares de 100000 y 200000 cel/ml el valor de la pendiente es ascendente para las células NIH 3T3 T, mientras que es descendente para las células NIH 3T3 I. Este descenso de la pendiente no puede atribuirse a la acidosis del medio, ya que las células NIH 3T3 T, las cuales proliferan mucho más que las NIH 3T3 I, agotarían antes los nutrientes del medio, para una misma concentración celular inicial, y, por tanto, el valor de la pendiente debería ser descendente también para las células NIH 3T3 T en el intervalo correspondiente a dichas concentraciones celulares iniciales. Sin embargo, esto no es así y, por tanto, hay que pensar que las células NIH 3T3 I se encuentran sometidas a la actuación de otros mecanismos inhibidores distintos a la acidosis del medio, que pueden ser factores inhibidores secretados o la inhibición por contacto, como ya se ha definido en este tipo de células.

Por otra parte, si observamos las gráficas de proliferación relativa (gráficas 46, 47 y 48), podemos comprobar que dicha proliferación, en general, comienza a descender para concentraciones celulares muy bajas, tanto para células NIH 3T3 I como para NIH 3T3 T, por lo que parece ser que ambos tipos celulares pueden estar sometidos a la actuación de dichos mecanismos inhibidores, y no sólo las células NIH 3T3 I.

Si observamos las gráficas 43 y 44, correspondientes a la proliferación absoluta de las células NIH 3T3 I tras 24 y 48 horas de cultivo, y las gráficas 46 y 47, correspondientes a la proliferación relativa de las mismas células tras los mismos tiempos de cultivo, podemos comprobar lo siguiente.

En 24 horas, para la concentración celular de 400000 cel/ml, no hay pico de proliferación relativa, mientras que en 48 horas, para la concentración celular de 20000 cel/ml, sí hay pico de proliferación relativa.

Asimismo, el número de células proliferantes o la proliferación absoluta (equivalente a la captación de ^3H -Timidina) es superior a las 24 horas de cultivo para la concentración de 400000 cel/ml (180127 DPM) que a las 48 horas para la concentración de 20000 cel/ml (48624). Probablemente, en el primer caso, la densidad celular sea mayor que en el segundo caso, ya que el número de células proliferantes es también superior. Sin embargo, a la concentración celular de 400000 cel/ml, tras 24 horas de cultivo, no hay pico de proliferación relativa, mientras que a 20000 cel/ml, tras 48 horas de cultivo, aunque la densidad celular probablemente sea menor, sí lo hay, lo cual nos hace suponer que la inhibición, a estas bajas concentraciones o en los primeros estadios de la proliferación de estas células, no se debe al contacto célula-célula, sino, probablemente, a la secreción de factores inhibidores por parte de las mismas, cuando alcanzan una determinada tasa de proliferación.

Por otra parte, el hecho de que para concentraciones de células NIH 3T3 T muy bajas, de 20000 cel/ml, tras 48 y 72 horas de cultivo, la proliferación relativa alcance también un pico (gráficas 47 y 48), nos hace pensar que el descenso en las cifras

de dicha proliferación, conforme aumenta la concentración de estas células, tampoco se debe al contacto entre las mismas, sino a la secreción de factores inhibidores. Además, otros autores (BORDES y cols., 1988) y esta misma Tesis, han demostrado que las células tumorales pueden secretar factores que inhiben su proliferación, lo cual estaría de acuerdo con estos resultados.

Si observamos de nuevo las gráficas de proliferación absoluta y proliferación relativa para las células NIH 3T3 I, tras 48 horas de cultivo (gráfica 44 y gráfica 47), se puede ver que aunque la proliferación relativa comienza a descender para una concentración inicial de 20000 cel/ml, la proliferación absoluta sigue aumentando conforme se incrementa la concentración celular, y es a partir de 100000 cel/ml cuando comienza a disminuir.

Además, en la gráfica 57 se puede observar que este pico de descenso de la proliferación absoluta a partir de 100000 cel/ml, coincide con el descenso del valor de la pendiente a partir de esa misma concentración celular inicial.

Por tanto, parece ser que aunque las células NIH 3T3 I comienzan a inhibirse pronto (descenso en la cifra de proliferación relativa), después presentan un fenómeno inhibitorio adicional, de tal forma que alcanzan una inhibición mucho más intensa, la cual hace disminuir las cifras de proliferación absoluta para concentraciones celulares iniciales superiores. Puesto que este segundo mecanismo adicional entra en juego a concentraciones celulares superiores al primero (descenso en la proliferación relativa), parece ser que requiere para su actuación una densidad celular alta y, por tanto, es lógico pensar que podría tratarse de la inhibición por contacto.

No podemos atribuir este fenómeno inhibitorio a la acidosis o agotamiento de nutrientes en el medio, ya que, como hemos visto antes, dicha acidosis es poco probable que se presente en las células NIH 3T3 I, y en todo caso, lo haría para concentraciones celulares iniciales mucho más altas a 100000 cel/ml.

Por otra parte, si atribuimos el descenso de la proliferación relativa en estas células a la secreción de factores inhibidores por parte de las mismas, conforme aumenta la inhibición de su

proliferación, debería disminuir la secreción de estos factores por un mecanismo "feed-back", y, por tanto, las células dejarían de inhibirse. Sin embargo, las células no dejan de inhibirse, sino que incluso presentan una inhibición de su proliferación mucho más brusca (descenso de la proliferación absoluta), la cual, probablemente, se deba a un mecanismo adicional que, como hemos dicho antes, podría ser la inhibición por contacto.

En el caso de las células NIH 3T3 T, las cifras de proliferación absoluta no disminuyen al aumentar la concentración celular inicial, excepto para concentraciones celulares muy altas tras 72 horas de cultivo (gráfica 45), y en principio, lo más lógico es que dicho fenómeno se deba al agotamiento de nutrientes, aunque puede deberse también a una inhibición por contacto residual o deteriorada.

La posibilidad de que estas células secreten factores autocrinos que estimulen su crecimiento, junto con que tengan la inhibición por contacto deteriorada, les permitiría proliferar mucho más que las células NIH 3T3 I, las cuales tienen un ritmo de proliferación mucho más bajo.

Dada la complejidad de los resultados anteriores, podemos resumir la discusión de los mismos en los siguientes puntos:

- 1) La inhibición de las células tumorales está deteriorada con respecto a las células normales.

Esto se puede comprobar en las gráficas 44 y 45, en las cuales, se aprecia que las cifras de proliferación absoluta, tras 48 y tras 72 horas de cultivo, comienzan a descender a concentraciones iniciales inferiores para las células NIH 3T3 I con respecto a las NIH 3T3 T.

Asimismo, en la gráfica 57 se puede apreciar que el pico de la pendiente de proliferación absoluta entre 24 y 48 horas de cultivo aparece también a concentraciones iniciales inferiores para las células NIH 3T3 I con respecto a las NIH 3T3 T.

- 2) La inhibición de la proliferación celular, al menos a concentraciones iniciales no muy elevadas, no se debe a acidosis o agotamiento de nutrientes en el medio de cultivo.

Esto se puede apreciar también en la gráfica 57, ya que en el intervalo existente entre las concentraciones iniciales de 100000 y 200000 cel/ml, para las células NIH 3T3 I la pendiente es descendente, mientras que para las células NIH 3T3 T, las cuales tienen un ritmo superior de crecimiento y, por tanto, agotarían antes los nutrientes del medio, dicha pendiente es ascendente.

- 3) El hecho de que la proliferación relativa comience a disminuir a concentraciones iniciales muy bajas, para ambos tipos de células (gráfica 47), sugiere que dicho descenso no es atribuible a la inhibición por contacto, sino a la liberación de factores inhibidores solubles por las propias células proliferantes.

- 4) El progresivo descenso de la proliferación relativa de las células NIH 3T3 I, conforme se incrementa la concentración celular inicial (gráfica 47), hasta llegar a afectar a la proliferación absoluta, la cual comienza a disminuir a una concentración inicial superior (gráfica 44), parece indicar la presencia de un mecanismo adicional de inhibición, el cual aparece cuando las células se encuentran a una densidad elevada y, por tanto, activado por el contacto célula-célula (inhibición por contacto).

Finalmente, decidimos comparar la proliferación de células normales hematopoyéticas, como las de médula ósea de ratón, con la proliferación de células NIH 3T3 I, ambas cultivadas durante 24 horas, ya que las células de médula ósea no están adaptadas al cultivo continuado.

Aunque en nuestros resultados las células NIH 3T3 I, no se inhibían tras 24 horas de cultivo (tablas y gráficas 43 y 46), en otras experiencias realizadas con distinto suero fetal de ternera, en las cuales el ritmo de crecimiento alcanzado por dichas células era superior, pudimos comprobar que sí se inhibían, incluso en un tiempo de cultivo muy corto (24 horas) (tabla 59 y gráficas 59 A y B). Esto, probablemente, se debería a que al ser el suero fetal más rico, las células proliferarían más y, por tanto, también se inhibirían antes.

Sin embargo, para las células de médula ósea (tabla 60 y gráfica 60 A) la proliferación absoluta se incrementaba conforme aumentaba la concentración celular inicial del cultivo, aún a concentraciones celulares muy altas (3000000 cel/ml), lo cual nos hace pensar que estas células no se inhiben por contacto.

En cuanto a la proliferación relativa (tabla 60 y gráfica 60 B), podemos observar que para las concentraciones más bajas presenta un ritmo ascendente, quizás debido a un efecto "feeder", y luego se estabiliza a partir de 250000 cel/ml, y aún a concentraciones muy altas, no parece disminuir. Asimismo, no se observan las variaciones tan bruscas de dicha proliferación relativa que ocurrían en las células NIH 3T3 I.

Por tanto, parece ser que la proliferación de células de médula ósea no está influenciada, de forma intensa, por la actuación de mecanismos de inhibición por contacto, característicos de las células fibroblásticas NIH 3T3 I.

6. INHIBICION DE LAS CELULAS NIH 3T3 POR LOS FACTORES LIPIDICOS INHIBIDORES DE LA PROLIFERACION CELULAR

Anteriormente, al estudiar la actividad inhibidora de la proliferación de células tumorales (P815X2) por parte de distintos extractos lipídicos, hemos comentado que el aumento de la concentración celular, manteniendo constante la concentración de extracto lipídico en el cultivo, determina una disminución de la actividad inhibidora de dicho extracto.

Estos resultados, que parecen lógicos y evidentes, también se cumplen en el caso de células hematopoyéticas, como las de médula ósea de ratón (tabla y gráfica 70), ya que, al igual que ocurría con las células P815X2, la acción inhibidora del AFLE disminuía conforme aumentaba la concentración inicial de células en cultivo, es decir, conforme aumentaba la proporción de células correspondientes a cada μg de extracto lipídico.

Sin embargo, al estudiar esta experiencia en las células NIH 3T3 I encontramos que ocurría el fenómeno inverso. Efectivamente, pudimos observar que la inhibición del AFLE sobre la proliferación

de dichas células era mayor conforme se incrementaba la concentración celular del cultivo, llegando a ser máxima a una concentración de 200000 cel/ml, en la cual, se alcanza la confluencia celular (tablas y gráficas 61, 62, 63 y 64). Parece ser que estos factores inhibidores solubles tienen poca actividad sobre estas células cuando se encuentran a baja densidad, aumentando progresivamente dicha actividad conforme se incrementa la confluencia celular y ejerciendo, por tanto, un efecto inhibitor sinérgico con el mecanismo de inhibición por contacto.

Esta idea se observa mejor en la tabla y gráfica 65, donde podemos comprobar que el valor de C_{50} aumenta conforme se incrementa la concentración celular, es decir, que el número de células inhibidas por una misma cantidad de AFLE se incrementa conforme aumenta la concentración inicial de éstas. Con el valor de I_{50} ocurre el fenómeno inverso, es decir, que la cantidad de extracto necesaria para inhibir un porcentaje similar de células disminuye conforme se incrementa la concentración inicial de las mismas.

Si comparamos la acción inhibitoria del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la proliferación de células hematopoyéticas (médula ósea de ratón) y de células fibroblásticas (NIH 3T3 I), podemos deducir lo siguiente.

Para las células hematopoyéticas el contacto no influye sobre dicha acción inhibitoria, por lo que los factores solubles parecen ser más eficientes como mecanismo inhibitor.

En cambio, en el caso de las células fibroblásticas, el contacto facilita la actuación de factores solubles, potenciándose la acción inhibitoria. Esto parece confirmar la idea que apuntábamos anteriormente de que, probablemente, en este tipo de células actúan dos mecanismos de inhibición de la proliferación de las mismas: factores solubles e inhibición por contacto.

Por otra parte, el hecho de que las células hematopoyéticas sean móviles, dificulta el contacto mantenido entre las mismas y es lógico, por tanto, que se inhiban por factores solubles.

Sin embargo, las células fibroblásticas son estáticas y suelen estar próximas, por lo que el contacto entre una y otra debe ser más eficiente como mecanismo inhibitorio.

A pesar de que, como hemos visto antes, la acción inhibitoria del AFLE sobre la proliferación de células NIH 3T3 I se incrementaba conforme aumentaba la concentración celular inicial del cultivo, en experiencias con concentraciones celulares muy altas (800 cel/ μ g) (tabla 68 A y gráfica 68), pudimos observar que dicho efecto inhibitorio disminuía considerablemente. Esto podría deberse a que, a estas concentraciones tan altas, las células ya se encuentran inhibidas, o a que la proporción de células correspondientes a cada μ g de extracto presente en el cultivo es muy alta.

Para comprobar mejor la influencia de la concentración celular en la actuación de los CPIE sobre células normales y sobre células tumorales, decidimos comparar el efecto del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la proliferación de dos células de la misma estirpe (NIH 3T3 I y NIH 3T3 T) (tablas 68 A y 68 B, y gráfica 68).

En esta gráfica podemos observar tres zonas distintas: una zona de densidad celular muy alta (alrededor de 800 cel/ μ g), otra de densidad celular alta (alrededor de 400 cel/ μ g) y otra de densidad celular baja (inferior a 400 cel/ μ g).

En la primera zona, en la cual las células se encuentran muy inhibidas tras 72 horas de cultivo, el efecto inhibitorio del extracto era muy bajo, tanto para las células NIH 3T3 I (tabla 68 A y gráfica 68), como hemos comentado anteriormente, como para las células NIH 3T3 T (tabla 68 B y gráfica 68).

Sin embargo, paradójicamente, en las otras dos zonas el comportamiento del AFLE con los dos tipos celulares era diferente. Así, en la zona de densidad celular alta, el efecto inhibitorio del AFLE era muy alto para las células NIH 3T3 I y bajo para las células NIH 3T3 T, mientras que en la zona de densidad celular baja, dicho efecto inhibitorio era bajo para las células NIH 3T3 I y

muy alto para las células NIH 3T3 T. Este diferente comportamiento del AFLE con las células NIH 3T3 T, respecto a las NIH 3T3 I, podría deberse a dos posibilidades.

La primera de ellas, sería que las células NIH 3T3 T, al pasar a suspensión en el medio de cultivo, se comportan como hematopoyéticas, ya que el perfil de inhibición del AFLE es similar al mostrado por estas últimas.

Pero también, existía la posibilidad de que las células NIH 3T3 T, por tener un ritmo de proliferación muy alto, alcanzaran la confluencia a concentraciones muy bajas, incluso de 40 cel/ μ g, y por tanto, al encontrarse ya inhibidas, la acción del extracto fuese descendente conforme se incrementaba la concentración celular inicial del cultivo, pero para concentraciones celulares inferiores a 40 cel/ μ g la acción inhibitoria del extracto podría aumentar de forma paralela a dicha concentración. Según esto, el perfil de actuación del AFLE sobre este tipo de células sería similar al mostrado con las células NIH 3T3 I, pero desplazado a la izquierda en la gráfica.

Para excluir una de estas dos posibilidades, hicimos una experiencia similar, pero utilizando concentraciones celulares inferiores a 40 cel/ μ g (tabla y gráfica 69), con objeto de evitar una posible rápida confluencia en las células NIH 3T3 T.

Pudimos comprobar que, a estas bajas concentraciones, la actuación del AFLE mostraba un perfil similar al mostrado con células hematopoyéticas y con altas concentraciones de las propias células NIH 3T3 T. La acción inhibitoria de dicho extracto era muy alta, descendiendo levemente conforme aumentaba la concentración celular, es decir, conforme aumentaba la proporción de células correspondientes a cada μ g de extracto presente en el cultivo.

Esto confirmaba que la acción inhibitoria del extracto disminuía conforme se incrementaba la concentración inicial de células NIH 3T3 T, y esto estaba de acuerdo con los resultados obtenidos para otras células tumorales, las P815X2. Para este tipo de células la acción inhibitoria, no sólo del AFLE sino de otros extractos como el EMLE, SL2MLE y HSLE, también disminuía conforme se incrementaba la concentración celular inicial de dichas células.

Por tanto, parece ser que las células NIH 3T3 T se comportan de forma similar a las células hematopoyéticas, o al menos, como células que crecen en suspensión, siendo sensibles a la actuación de factores solubles sobre las mismas. Esto explicaría el descenso brusco de la proliferación relativa a bajas concentraciones iniciales que presentan estas células (tabla y gráfica 47), probablemente, debido a la liberación por ellas mismas de estos factores inhibidores. Al mismo tiempo, sugiere que tienen el mecanismo de inhibición por contacto deteriorado.

Puede resultar paradójico el hecho de que una célula que es más sensible a factores inhibidores solubles, tenga un ritmo de crecimiento más alto. Sin embargo, esto puede deberse a la secreción de factores autocrinos por activación de oncogenes, los cuales, probablemente, sobrepasan el efecto inhibitor de los factores solubles. Asimismo, puede deberse a que, como decíamos antes, estas células parecen tener deteriorada la inhibición por contacto.

En cambio, para los fibroblastos NIH 3T3 I, la confluencia celular facilita la actuación de dichos factores solubles. Es decir, parece ser que estas células, al hacerse confluentes, activan receptores en sus membranas que permiten la actuación de los factores inhibidores solubles, mientras que previamente a la situación de confluencia, no exponen estos receptores, siendo menor la inhibición debida a la actuación de dichos factores.

Si tenemos en cuenta que la acción inhibitora del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) puede ser atribuida, al menos en parte, a la acción de los gangliósidos, como veíamos anteriormente, nuestros resultados están de acuerdo con los obtenidos por RITTER y cols. (1986).

Estos autores han encontrado una concentración incrementada de glicosfingolípidos en la membrana celular de fibroblastos confluentes en cultivo, al comienzo del contacto intercelular. Este incremento de glicosfingolípidos no se observaba cuando las células eran transformadas, pero estas células se podían inhibir, de forma similar a los fibroblastos, cuando se añadían al cultivo

concentraciones de gangliósidos equivalentes a las encontradas en las membranas de los fibroblastos confluentes.

Por tanto, podemos concluir afirmando que los factores inhibidores presentes en nuestro extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) pueden actuar como factores solubles sobre células que pueden crecer en suspensión (células hematopoyéticas y células tumorales). Pero aparte de esto, dichos lípidos pueden intervenir y potenciar los mecanismos de inhibición por contacto, característicos de las células fibroblásticas como las NIH 3T3.

CONCLUSIONES

- 1.- El líquido amniótico humano contiene un conjunto de lípidos con capacidad de inhibir la proliferación celular. Estos lípidos tienen además actividad inmunorreguladora, por lo que podrían intervenir en el fenómeno de tolerancia materno-fetal que se presenta en el embarazo.
- 2.- El efecto de estos lípidos sobre la proliferación celular es:
 - a) Citostático y no citotóxico.
 - b) Reversible.
 - c) Inespecífico, ya que actúa sobre células de distinta estirpe y de distinta especie.
- 3.- Parte de estos lípidos inhibidores coinciden con los CPIF, detectados previamente en un linfoma T de ratón, y podrían corresponder a gangliósidos. El resto no coinciden con los CPIF, y podrían corresponder a ácidos grasos.
- 4.- Estos lípidos parecen ser factores ubícuos, detectándose en células y fluidos de distinta naturaleza.
- 5.- Las células tumorales se inhiben menos intensamente por estos lípidos que las células normales.
- 6.- Las células fibroblásticas normales presentan dos mecanismos de inhibición de su proliferación:
 - a) Factores solubles, entre los que se incluirían los lípidos detectados por nosotros.
 - b) Inhibición por contacto.Ambos mecanismos de inhibición tienen un efecto sinérgico sobre estas células.
- 7.- Las células fibroblásticas normales son menos sensibles que las células hematopoyéticas a la inhibición de su proliferación por factores lipídicos solubles.

8.- Las células fibroblásticas transformadas se comportan como células hematopoyéticas, siendo sensibles a la actuación de factores lipídicos solubles y poco sensibles al mecanismo de inhibición por contacto.

9.- Los factores lipídicos inhibidores de la proliferación celular actúan coordinadamente, aunque de forma opuesta, con los factores estimuladores de la misma. La regulación del crecimiento celular es probablemente el resultado de un equilibrio dinámico entre ambos tipos de factores, lo cual sustentaría la teoría del "Yin y Yang" sobre este proceso.

B I B L I O G R A F I A

ABDEL-GHANY M, NAKAMURA S, NAVARRO J, RACKER E. A membrane-bound human placental protein kinase activated by endogenous polypeptides. *Biosci Rep* 3: 275, 1983.

ABERCROMBIE M, HEAYSMAN JEM. Observations on the social behaviour of cells in tissue culture. II. "Monolayering" of fibroblasts. *Exp Cell Res* 6: 293, 1964.

ABRAMSKY O, LISAK RP, BRENNER T, ZEIDMAN A, BEYTH Y. Significance in neonatal myasthenia gravis of inhibitory effect of amniotic fluid on binding of antibodies to acetylcholine receptor. *Lancet* 2: 1333, 1979.

ADAMS SD, WISSLEY SP, HANDWERGER S, RECHLER MM. Developmental patterns of insulin-like growth factors I and II. Synthesis and regulation in rat fibroblasts. *Nature* 302: 150, 1983.

ADCOCK EW, TEASDALE F, AUGUST CS, COX S, MECCHIA G, BATTAGLIA FC, NAUGHTON MA. Human chorionic gonadotrophin: Its possible role in maternal lymphocyte suppression. *Science* 181: 845, 1973.

AGARWAL MK, NETER E. Effect of selected lipids and surfactants on immunogenicity of several bacterial antigens. *J Immunol* 107: 1448, 1971.

AGLIETTA M, PIACIBELLO W, GAVOSTO F. Responsiveness to prostaglandin E₁ of different subtypes of normal and pathological committed granulomonopoietic precursor. *Acta Haemat* 69: 376, 1983.

AHMED K, THOMAS BS. The effects of long chain fatty acids on sodium plus potassium ion-stimulated adenosine triphosphatase of rat brain. *J Biol Chem* 246: 103, 1971.

ALESSANDRI G, FILIPPESCHI S, SINIBALDI P, MORNET F, PASSENA P, SPREAFICO F, CAPPÀ PM, GULLINO PM. Influence of gangliosides on primary and metastatic neoplastic growth in human and murine cells. *Cancer Res* 47: 4243, 1987.

AL-IMARA LJ, DALE MM. The inhibitory effect of histamine on lymphoid tissue proliferation in mice. *Cell Immunol* 91: 284, 1985.

ALY R, MAILBACH H: Factors controlling skin bacterial flora, pp. 29-39. En: Aly R, ed. Skin microbiology relevance to clinical infection. Mailbach HI, 1981.

ANDERSEN JR, WEBER T. Correlations between PRL and chloside, sodium, potassium and calcium in amniotic fluid. Acta Obstet Gynecol Scand 64: 227, 1985.

ANDO K, KATO A, KIMURA S: Antitumor activity of fatty acids, pp. 136-141. En: Progress in antimicrobial and anticancer chemotherapy. Baltimore, Univ Park Press, 1970.

ANTONIADES HN, HUNKAPILLER MW. Human platelet-derived growth factors (PDGF): amino-terminal amino acid sequence. Science 220: 963, 1983.

ANTONIADES HN, OWEN AJ. Growth factors and regulation of cell growth. Ann Rev Med 33: 445, 1982.

ANZANO MA, ROBERTS AB, DE LARCO JE, WAKEFIELD LM, ASSOIAN RK, ROCHE NS, SMITH JM, LAZAROS JE, SPORN MB. Increased secretion of type beta transforming growth factor accompanies viral transformation of cells. Mol Cell Biol 5: 242, 1985.

ANZANO MA, ROBERTS AB, SPORN MB. Anchorage-independent growth of primary rat embryo cells is induced by platelet-derived growth factor and inhibited by type-beta transforming growth factor. J Cell Physiol 126: 312, 1986.

AOYAGI T, SUYA H, KATO N, NEMOTO O, KOBAYASHI H, MIURA Y. Epidermal growth factor stimulates release of arachidonic acid in pig epidermis. J Invest Dermat 84: 168, 1985.

ARGYRIS BF. Further studies on suppressor cell activity in the spleen of neonatal mice. Cell Immunol 48: 398, 1978.

ARMELIN HA, ARMELIN MCS, KELLY K, STEWART T, LEDER P, COCHRAN BH, STILES CD. Functional role for c-myc in mitogenic response to platelet-derived growth factor. Nature 310: 655, 1984.

ARVIDSON G, EKELUND H, ASTEDT B. Phospholipid composition of human amniotic fluid during gestation and at term. *Acta Obstet Gynecol Scand* 51: 71, 1972.

ASSOIAN RK, KOMORIYA A, MEYERS CA, MILLER DM, SPORN MB. Transforming growth factor-beta in human platelets. Identification of a major storage site, purification and characterization. *J Biol Chem* 258: 7155, 1983.

ASSOIAN RK, SPORN MB. Type beta transforming growth factor in human platelets: release during platelet degranulation and action on vascular smooth muscle cells. *J Cell Biol* 102: 1217, 1986.

BADET MT, BELL SC, BILLINGTON WD. Partial characterization of immunosuppressive factors from short-term cultures of mouse decidual tissue. *Ann Immunol* 134: 321, 1983a.

BADET MT, BELL SC, BILLINGTON WD. Immunoregulatory activity of supernatants from short-term cultures of mouse decidual tissue. *J Reprod Fertil* 68: 351, 1983b.

BALDWIN GS. Gastrin and the transforming protein of polyoma virus have evolved from a common ancestor. *FEBS Lett* 137: 1, 1982.

BARGMANN CI, HUNG MC, WEINBERG RA. The neu oncogene encodes an epidermal growth factor receptor-related protein. *Nature* 319: 226, 1986.

BASERGA R. The relationship of the cell cycle to tumor growth and control of cell division: a review. *Cancer Res* 25: 531, 1965.

BAUD L, PEREZ J, DENIS M, ARDAILLOU R. Modulation of fibroblasts proliferation by sulfidopeptide leukotrienes: effect of indomethacin. *J Immunol* 138: 1190, 1987.

BEISEL WR. Impact of infectious disease upon fat metabolism and immune functions. *Cancer Res* 41: 379, 1981.

BENNETT LR, CONNON FE. Effects of lytic agents on plasma membrane of Ehrlich ascites-tumor cells and mouse erythrocytes. *J Natl Cancer Inst* 19: 999, 1957.

- BENNETT A, McDONALD AM, SIMPSON JS, STAMFORD IF. Breast Cancer, prostaglandins, and bone metastases. *Lancet* 1: 1213, 1975.
- BENOS DJ, SAPIRSTEIN VS. Characteristics of an amiloride-sensitive sodium entry pathway in cultured rodent glial and neuroblastoma cells. *J Cell Physiol* 116: 213, 1983.
- BERENBLUM I: Sequential aspects of chemical carcinogenesis, pp. 451-484. En: Becker FF, ed. *Cancer: A Comprehensive Treatise*, Vol 1, 2nd edn. New York, Plenum Press, 1982.
- BERLINGER NT, LOPEZ C, GOOD RA. Facilitation or attenuation of mixed leukocyte culture responsiveness by adherent cells. *Nature* 260: 145, 1976.
- BERNSTEIN SC, WEINBERG RA. Expression of the metastatic phenotype in cells transfected with human metastatic tumor DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 1726, 1985.
- BERRIDGE MJ. Phosphatidylinositol hydrolysis: a multifunctional transducing mechanism. *Mol Cell Endocrinol* 24: 115, 1981.
- BERRIDGE MJ. Inositol trisphosphate and diacylglycerol as second messengers. *Biochem J* 220: 345, 1984.
- BERRIDGE MJ, HESLOP JP, IRVINE RF, BROWN KD. Inositol trisphosphate formation and calcium mobilization in Swiss 3T3 cells in response to platelet-derived growth factor. *Biochem J* 222: 195, 1984.
- BERRIDGE MJ, IRVINE RF. Inositol trisphosphate a novel second messenger in cellular signal transduction. *Nature* 312: 315, 1984.
- BETRICKS PJ, GILL GN. Self-phosphorylation enhances the protein-kinase activity of the epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem* 260: 14642, 1985.
- BEUTLER B, GREENWALD D, HULMES JD, CHANG M, PAN YCE, MATHISON J, ULEVITCH R, CERAMI A. Identity of tumour necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. *Nature* 316: 552, 1985b.
- BEUTLER B, MAHONEY J, LE TRANG N, PEKALA P, CERAMI A. Purification of cachectin, a lipoprotein lipase-suppressing hormone secreted by endotoxin-induced RAW 264.7 cells. *J Exp Med* 161: 984, 1985a.

BHAGWANANI SG, FAHMY D, TURNBULL AC. Quick determination of amniotic fluid lecithin concentration for prediction of neonatal respiratory distress. *Lancet* 2: 66, 1972.

BHATHENA SJ, GAZDAR AF, SCHECHTER GP, RUSSELL EK, SOEHNLEN FE, GRITSMAN A, RECANT L. Expression of glucagon receptors on T and B lymphoblasts: comparison with insulin receptor. *Endocrinology* 111: 584, 1982.

BIEZENSKI JJ. Amniotic fluid phospholipids in early gestation. *Obstet Gynecol* 41: 825, 1973.

BIEZENSKI JJ, POMERANCE W, GOODMAN J. Studies on the origin of amniotic fluid lipids. I. Normal composition. *Am J Obstet Gynec* 102: 853, 1968.

BILLAH MM, MITCHELL RH. Phosphatidylinositol metabolism in rat hepatocytes stimulated by glycogenolytic hormones. Effects of angiotensin, vasopressin, adrenaline, ionophore A23187 and calcium-ion deprivation. *Biochem J* 182: 661, 1979.

BILLINGHAM RE, BRENT L, MEDAVAR PB. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature* 172: 603, 1953.

BITTERMAN PB, SALTZMAN LE, ADELBERG SA, FERRANS VJ, CRYSTAL RG. Alveolar macrophage replication. One mechanism for the expansion of the mononuclear phagocyte population in the chronically inflamed lung. *J Clin Invest* 74: 460, 1984.

BLANCO JD, GIBBS RS, KREBS LF, CASTANEDA YS. The association between the absence of amniotic fluid bacterial inhibitory activity and intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol* 143: 749, 1982.

BODINE PV, TUPPER JT. Calmodulin antagonists decrease the binding of epidermal growth factor to transformed, but not to normal, human fibroblast. *Biochem J* 218: 629, 1984.

BOERNER P, RESNICK RJ, RACKER E. Stimulation of glycolysis and aminoacid uptake in WRK-49 cells by transforming growth factor beta and epidermal growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 1350, 1985.

BOHMER FD, LECHMANN W, NOLL F, SAMILEBEN R, LANGEN P, GROSSE R. Specific neutralizing antiserum against a polypeptide growth inhibitor for mammary cells purified from bovine mammary gland. *Biochem Biophys Acta* 846: 145, 1985.

BOHMER FD, LEHMANN W, SCHMIDT HE, LANGEN P, GROSSE R. Purification of a growth inhibitor for Ehrlich ascites mammary carcinoma cells from bovine mammary gland. *Exp Cell Res* 150: 466, 1984.

BOLDT DDH, SPECKART SE, RICHARDS RL, ALVING CR. Interactions of plant lectins with glycolipids in liposomes. *Biochem Biophys Res Commun* 74: 208, 1977.

BOLOGNESE RT, CORSON SL, TOUCHSTONE JC, LAKOFF KM. Correlation of amniotic fluid estriol with fetal age and well-being. *Obstet Gynecol* 37: 437, 1971.

BOON AM, BERESFORD BJ, MELLORS A. A tumor promotor enhances the phosphorylation of polyphosphoinositides while decreasing phosphatidylinositol labelling in lymphocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 129: 431, 1985.

BOUYENS J, MAGUIRE L. Dietary fats and cancer. *Med Hypotheses* 17: 351, 1985.

BORDES R, FIESTAS R, RUEDA R, GARCIA-OLIVARES E. Detection in a murine T lymphoma of a lipid-like factor that inhibits cell growth. *Nat Immun Cell Growth Regul* 7: 116, 1988.

BOUTWELL RK, VERMA AK, ASHENDEL CL, ASTRUP E. Mouse skin: A useful model system for studying the mechanism of chemical carcinogenesis. *Carcinog Compr Surv* 7: 1, 1982.

BOWEN-POPE DF, DICORIETO PE, ROSS R. Interactions between the receptors for platelet-derived growth factor and epidermal growth factor. *J Cell Biol* 96: 679, 1983.

BOWEN-POPE DF, ROSS R. Platelet-derived growth factor. *Clin Endocrinol Metabol* 13: 191, 1984.

BOYTON AL, WHIFIELD JF: The calcium induced cyclic AMP-dependent initiation of DNA synthesis in thymic lymphoblast and T51B liver cells, pp. 75-86. En: Kaplan JG, ed. The molecular basis of de immune cell function. Amsterdam, Elsevier/Nort-Holland Biochemical Press, 1979.

BOYUM A. Separation of leucocytes from blood in bone marrow. Scand J Clin Lab Invest 21: 51, 1968.

BRADLEY JS, YEAGER AS, DYSON DC, HENSLEIGH PA, MEDEAKIS AL. Neutralitation of herpes simplex virus by antibody in amniotic fluid. Obstet Gynecol 60: 318, 1982.

BRADSHAW RA, RUBIN JS. Polypeptide growth factors: some structural and mechanistic considerations. J Supramol Struct 225: 1722, 1980.

BRISSENDEN JE, ULLICH A, FRANCKE U. Human chromosomal mapping of genes for insulin-like growth factors I and II and epidermal growth factor. Nature 310: 781, 1984.

BROCK DJ, SUTCLIFFE RG. Alpha-fetoprotein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida. Lancet 2: 197, 1972.

BROOKS RF. Continuous protein synthesis is required to maintain the probability of entry into S phase. Cell 12: 311, 1977.

BROOKS RF, BENNETT DC, SMITH JA. Mammalian cell cycles need two random transitions. Cell 19: 493, 1980.

BROWN JJ, DAVIES DL, DOAK PB, LEVER AF, ROBERTSON JLS. The presence of renin in human amniotic fluid. Lancet 2: 64, 1964.

BROWN KD, BLAY J, IRVINE RF, HESLOP JP, BERRIDGE MJ. Reduction of epidermal growth factor receptor affinity by heterologous ligands: evidence for a mechanism involving the breakdown of phosphoinositides and the activation of protein kinase C. Biochem Biophys Res Commun 123: 377, 1984.

BROWN KD, DICKER P, ROZENGURT E. Inhibition of epidermal growth factor binding to surface receptors by tumour promoters. Biochem Biophys Res Commun 86: 1037, 1979.

- BROWN MS, GOLDSTEIN JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu Rev Biochem* 52: 223, 1983.
- BROWN RE, SETEELE RW, MARMER DJ, MUPSON JL, BREWSTER MA. Fatty acids and the inhibition of mitogen-induced lymphocyte transformation by leukemic serum. *J Immunol* 131: 1011, 1983.
- BUDZIK GP, DCNAHUE PK, HUTSON JM. A possible purification of mullerian inhibiting substance and a model for its mechanism of action. *Prog Clin Biol Res* 171: 207, 1985.
- BULLOUGH WS. The control of mitotic activity in adult mammalian tissues. *Biol Rev* 37: 307, 1962.
- BURGESS A. Growth factors and oncogenes. *Immunol Today* 6: 107, 1985.
- BURNS CP, ROZENGURT E. Serum, platelet-derived growth factor, vasopressin, and phorbol esters increase intracellular pH in Swiss 3T3 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 116: 931, 1983.
- BURNS CP, ROZENGURT E. Extracellular Na^+ and initiation of DNA synthesis: role of intracellular pH and K^+ . *J Cell Biol* 98: 1082, 1984.
- BURTON AC. The role of biochemical rhythms in contact inhibition of cellular division, pp. 249-266. *En: Cellular Membranes and Tumor Cell Behaviour*. Baltimore, The Williams and Wilkins Company, 1975.
- BUSS JE, KUDLOW JE, LAZAR CS, GILL GN. Altered epidermal growth factor (EGF)-stimulated protein kinase activity in a variant A431 cells with altered growth responses to EGF. *Proc Nats Acad Sci USA* 79: 2574, 1982.
- BYRD WJ, JACOBS DM, AMOSS MS. Synthetic polyamines added to cultures containing bovine sera reversibly inhibit in vitro parameters of immunity. *Nature* 267: 621, 1977.
- CALDERON P, FURNELLE J, CHRISTOPHE J. Phosphatidylinositol turnover and calcium movement in the rat pancreas. *Am J Physiol* 238: 247, 1980.

CAMPISI J, GRAY HE, PARDEE AB, DEAN M, SONENSHEIN GE. Cell-cycle control of c-myc but not c-ras expression is lost following chemical transformation. Cell 36: 241, 1984a.

CAMPISI J, MEDRANO EE, MORREO G, PARDEE AB. Restriction point control of cell growth by a labile protein: evidence for increased stability in transformed cells. Proc Natl Acad Sci USA 79: 436, 1982.

CAMPISI J, MORREO G, PARDEE AB. Kinetics of G₁ transit following brief starvation for serum factors. Exp Cell Res 152: 459, 1984b.

CAMPISI J, PARDEE AB. Post-transcriptional control of the onset of DNA synthesis by an insulin-like growth factor. Mol Cell Biol 4: 1807, 1984.

CANALIS E. Effect of growth factors on bone cell replication and differentiation. Clin Orthop 193: 246, 1985.

CANTRELL DA, SMITH KA. The interleukin-2 T-cell system: a new cell growth model. Science 224: 1312, 1984.

CARPENTER G, COHEN S. Epidermal growth factor. Ann Rev Biochem 48: 193, 1979.

CARPENTER G, COHEN S. Peptide growth factors. Trends Biochem Sci 9: 169, 1984.

CARSWELL EA, OLD LJ, KASSEL RL, GREEN S, FIORE N, WILLIAMSON B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. Proc Natl Acad Sci USA 72: 3666, 1975.

CASSEL D, ROTHENBERG P, ZHUANG YA, DEVEL TF, GLASER L. Platelet-derived growth factor stimulates Na⁺/H⁺ exchange and induces cytoplasmic alkalization in NR6 cells. Proc Natl Acad Sci USA 80: 6224, 1983.

CASTAGNA M, TAKAI Y, KAIBUCHI K, SANO K, UIKAWA U, NISHIZUKA Y. Direct activation of calcium-activated, phospholipid-dependent protein kinase by tumor-promoting phorbol esters. J Biol Chem 257: 7847, 1982.

CATE RL, MATIACIANO RJ, HESSION C, TIZARD R, FARBER NM, CHEUNG A, NINFA EG, FREY AZ, GASH DJ, CHOW EP. Isolation of the bovine and human genes for Mullerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. *Cell* 45: 685, 1986.

CAVAILLON JM, FITTING C, HAUTTECOEUR B, CAVAILLON NH. Inhibition by gangliosides of the specific binding of lipopolysaccharide (LPS) to human monocytes prevents LPS-induced interleukin-1 production. *Cell Immunol* 106: 293, 1987.

CHAIT A, IVERIUS PH, BRUNZELL JD. Lipoprotein lipase secretion by human monocyte-derived macrophages. *J Clin Invest* 69: 490, 1982.

CHAQUAT G, CHAFFAUX S, DUCHET-SUCHAUX M, VOISIN GA. Immunoactive products of mouse placenta. I. Immunosuppressive effects of crude and water soluble extracts. *J Reprod Immunol* 2: 127, 1980.

CHATELAIN P. Growth factors: from the cellular biology to clinics. *Arch Fr Pediatr* 42: 73, 1985.

CHATTERJEE-HASROUNI S, MONTGOMERY B, LALA PK. Alloantigenicity of trophoblast cells. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 3: 127, 1983.

CHAUDHURI S, LIEBERMAN I. Control of ribosome synthesis in normal and regenerating liver. *J Biol Chem* 243: 29, 1968.

CHEN JK, LI L, MIOH H. Differential responsiveness of normal and simian virus 40-transformed BALB/C 3T3 cells to retinoic acid: rapid enhancement of epidermal growth factor. *Cancer Res* 47: 4995, 1987.

CHENG H, SEHON AH, DELESPESE G. Immunoregulatory function of human cord blood lymphocytes on immunoglobulin production. *Am J Reprod Immunol* 5: 171, 1984.

CHERINGTON PV, SMITH BL, PARDEE AB. Loss of epidermal growth factor requirement and malignant transformation. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 3937, 1979.

CHERRY SH, ROSENFELD RE, KOCHWA S. Mechanism of accumulation of amniotic fluid pigment in erythroblastosis fetalis. *Am J Obstet Gynec* 106: 297, 1970.

- CHEUNG WY. Calmodulin plays a pivotal role in cellular regulation. *Science* 207: 19, 1980.
- CHILDS CB, PROPER JA, TUCKER RF, MOSES HL. Serum contains platelet-derived transforming growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 79: 5312, 1982.
- CHISARI F. Immunoregulatory properties of human plasma in very low density lipoproteins. *J Immunol* 119: 2129, 1977.
- CHOPRA IJ, CRANDALL BF. Thyroid hormone and thyrotropin in amniotic fluid. *N Engl J Med* 293: 740, 1975.
- CHOVAIB S, FRADELIZI D. The mechanisms of inhibition of interleukin-2 production. *J Immunol* 129: 2463, 1982.
- CLARK DA. Prostaglandins and immunoregulation during pregnancy. *J Reprod Immunol Microbiol* 9: 111, 1985.
- CLARK DA, CHAPUT A, WALKER C, ROSENTHAL KL. Active suppression of host-vs-graft reaction in pregnant mice. VI. Soluble suppressor activity obtained from decidua of allopregnant mice blocks the response to IL-2. *J Immunol* 134: 1659, 1985.
- CLARK DA, SLAPSYS RM, CROY BA, KRECEK J, ROSSANT J. Local active suppression by suppressor cells in the decidua. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 5: 78, 1984b.
- CLARK DA, SLAPSYS RM, CROY BA, ROSSANT J. Immunoregulation of host versus-graft responses in the uterus. *Immunol Today* 5: 111, 1984a.
- CLEMENTS LE, SIITERI PK, STITES DP. Mechanism of immuno-suppression of progesterone on maternal lymphocyte activation during pregnancy. *J Immunol* 122: 1978, 1985.
- COCHET C, GILL GN, MEISENHOLDER J, COOPER JA, HUNTER T. C-kinase phosphorylates the epidermal growth factor receptor and reduced its epidermal growth factor-stimulated tyrosine protein kinase activity. *J Biol Chem* 259: 2553, 1984.
- COFFINO P, BOURNE HR, FRIEDRICH U. Molecular mechanisms of cyclic AMP action: a genetic approach. *Recent Prog Horm Res* 32: 669, 1976.

- COHEN S. Purification of a nerve growth promoting protein from the mouse salivary gland and its neurocytotoxic antiserum. *Proc Natl Acad Sci USA* 46: 302, 1960.
- COHEN S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem* 237: 1555, 1962.
- COHEN S, CARPENTER G, KING L Jr. Epidermal growth factor (EGF)-receptor-protein kinase interactions: co-purification of receptor and EGF-enhanced phosphorylation activity. *J Biol Chem* 255: 4834, 1980.
- COHEN S, TAYLOR JM. Epidermal growth factor: Chemical and biological characterization. *Recent Prog Horm Res* 30: 533, 1974.
- COLBY WV, CHEN EY, SMITH DH, LEVINSON AD. Identification and nucleotide sequences of an human locus homologous to the v-myc oncogene of avian myelocytomatous virus MC29. *Nature* 301: 722, 1983.
- COLBURN NH. Tumor promotion and preneoplastic progression. *Carcinog Compr Surv* 5: 33, 1980.
- COLEMAN DL, MORRISON DC, RYAN JL. Gangliosides block the inhibition of macrophage Fc-dependent phagocytosis by lipopolysaccharide. *Cell Immunol* 100: 288, 1986.
- COLLINS DP, COOK DJ, RICARDO MJ Jr. Characterization of a low molecular weight suppressor of lymphocyte proliferation from Guinea pig L2C leukemia cells. *Cell Immunol* 105: 397, 1987.
- COLLINS MKL, ROZENGURT E. Binding of phorbol esters to high-affinity sites on murine fibroblastic cells elicits a mitogenic response. *J Cell Physiol* 112: 42, 1982a.
- COLLINS MKL, ROZENGURT E. Stimulation of DNA synthesis in murine fibroblasts by the tumour promoter teleacidin: relationship to phorbol esters and vasopressin. *Biochem Biophys Res Commun* 104: 1159, 1982b.

COLLINS MKL, ROZENGURT E. Homologous and heterologous mitogenic desensitization of Swiss 3T3 cells to phorbol esters and vasopressin: role of receptor and post-receptor steps. *J Cell Physiol* 118: 133, 1984.

COLLINS MKL, SINNETT-SMITH J, ROZENGURT E. Platelet-derived growth factor treatment decreases the affinity of the epidermal growth factor receptors of Swiss 3T3 cells. *J Biol Chem* 258: 11689, 1983.

CONE MJ, STEELE RV, MARMER DJ. Functional bacterial opsonic activity of human amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 142: 282, 1982.

CONTRACTOR SF, EATON BM, STANDARD PJ. Uptake and fate of exogenous immunoglobulin G in the perfused human placenta. *J Reprod Immunol* 5: 265, 1983.

COOPER GM. Cellular transforming genes. *Science* 218: 801, 1982.

COPPOCK DK, PARDEE AB. Regulation of thymidine kinase activity in the cell cycle by a labile protein. *J Cell Physiol* 124: 269, 1985.

CORPS AN, REES LH, BROWN KD. A peptide that inhibits the mitogenic stimulation of Swiss 3T3 cells by bombesin or vasopressin. *Biochem J* 231: 781, 1985.

COUSSENS L, YANG-FENG TL, LIAO YC, CHEN E, GRAY A, McGRATH J, SEEBURG PH, LIBERMANN TA, SCHLESSINGER J, FRANCKE U, LEVINSON A, ULLRICH A. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF-receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 230: 1132, 1985.

CREBA JA, DOWNES CP, HAWKINS PT, BREWSTER G, MITCHELL RH, KIRK CJ. Rapid breakdown of phosphatidylinositol 4-phosphate and phosphatidyl-inositol4,5-biphosphate in rat hepatocytes stimulated by vasopressin and other Ca^{2+} mobilizing hormones. *Biochem J* 212: 733, 1983.

CROSIGNANI PG, NENCIONI T, BRAMBATI B: Parallel assay of HCG and HCS in pregnancy at risk, pp. 94-112. En: Crosignani PG, Pardi G, ed. Fetal Evaluation During Pregnancy and Labor. New York, Academic Press, 1971.

CROY RG, PARDEE AB. Enhanced synthesis and stabilization of M-68,000 protein in transformed BALB/c-3T3 cells: candidate for restriction point control of cell growth. Proc Natl Acad Sci USA 80: 4699, 1983.

CUMMINGS KB, ROBERTSON RP. Prostaglandin: increased production by renal cell carcinoma. J Urol 118: 720, 1977.

CURTISS LK, EDGINGTON TS. Regulatory serum lipoproteins: regulation of lymphocyte stimulation by a species of low density lipoprotein. J Immunol 116: 1452, 1976.

CURTISS LK, FORTE TM, DAVIS PA. Cord blood plasma lipoproteins inhibit mitogen-stimulated lymphocyte proliferation. J Immunol 113: 1379, 1984.

CZECH MP. Molecular basis of insulin action. Ann Rev Biochem 46: 359, 1977.

CZECH MP. Structural and functional homologies in the receptors for insulin and the insulin-like growth factors. Cell 31: 8, 1982.

DAS M. Epidermal growth factor: mechanism of actions. Int Rev Cytol 78: 233, 1982.

DAVIS RJ, CZECH MP. Tumor promoting phorbol diesters mediate phosphorylation of the epidermal growth factor receptor. J Biol Chem 259: 8545, 1984.

DAWSON RMC, HEMINGTON NL, IRVINE RF. Diacylglycerol potentiates phospholipase attack upon phospholipid bilayers: possible connection with cell stimulation. Biochem Biophys Res Commun 117: 196, 1984.

DAYA S, CLARK DA, DEVLIN C, JARRELL J, CHAPUT A. Suppressor cells in human decidua. Am J Obstet Gynecol 151: 267, 1985.

- DAYER JM, GOLDRING SR, ROBINSON DR, KRANE SM. Effects of human mononuclear cell factor on cultured rheumatoid synovial cells. Interactions of prostaglandin E₂ and cyclic adenosine 3',5'-monophosphate. *Biochem Biophys Acta* 586: 87, 1979.
- DE KRUYFF RH, KIM YT, SISKIND I, WEKSLER ME. Age related changes in the in vitro immune response: increased suppressor activity in immature and aged mice. *J Immunol* 125: 142, 1980.
- DELHAYE C, VAN DEN DRIESSCHE R, REUSE JJ. Teneur en bradykininogène et activité kininasique de liquide amniotique humain en début de grossesse et à terme. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 197: 203, 1972.
- DEPPER JM, LEONARD WJ, KRÖNKE M, NOGUCHI PD, CUNNINGHAM RE, WALDMANN TA, GREENE WC. Regulation of interleudin 2 receptor expression: effects of phorbol diester, phospholipase C, and reexposure to lectin or antigen. *J Immunol* 133: 3054, 1984.
- DERYNCK R, JARRETT JA, CHEN Y, EATON DH, BELL JR, ASSOIAN RK, ROBERTS AB, SPORN MB, GOEDEL DV. Human transforming growth factor- β cDNA sequence and expression in tumor cell lines. *Nature* 316: 701, 1985.
- DERYNCK R, JARRETT JA, CHEN EY, GOEDEL DV. The murine transforming growth factor-beta precursor. *J Biol Chem* 261: 4377, 1986.
- DEVARE SG, REDDY EP, LAW DJ. Nucleotide sequence of the simian sarcoma virus genome: demonstration that its acquired cellular sequences encode the transforming gene product p28. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 731, 1983.
- DICKER P, POHJANPELTO P, PETTICAN P, ROZENGURT E. Similarities between FDGF and PDGF. *Exp Cell Res* 135: 221, 1981.
- DICKER P, ROZENGURT E. Phorbol ester stimulation of Na influx and Na-K pump activity in Swiss 3T3 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 100: 433, 1981.
- DICORLETO PE, BOWEN-POPE DF. Cultured endothelial cells produce a platelet-derived growth hactor. *Exp Cell Res* 135: 221, 1983.

DOOLITTLE RF, HUNKAPILLER MW, HOOD LE, DEVARE SG, ROBBINS KC, AARONSON SA, ANTONIADES HN. Serum-free sarcoma-virus onc gene, V-sis, is derived from the gene (or genes) encoding a platelet-derived growth factor. *Science* 221: 275, 1983.

DORAN TA, BJERRE S, PORTER CJ. Creatinine, uric acid and electrolytes in amniotic fluid. *Am J Obstet Gynec* 106: 325, 1970.

DORF MEK, BENACERRAF B. Suppressor cells and immunoregulation. *Ann Rev Immunol* 2: 127, 1984.

DOUGHTY RW, GELSTHORPE K. An initial investigation of lymphocyte antibody activity through pregnancy and in eluates prepared from placental material. *Tissue Antigens* 4: 291, 1974.

DOWNWARD J, YARDEN Y, MAYES E, SCRACE G, TOTTY W, STOCKWELL P, ULLRICH A, SCHALESSINGER J, WATERFIELD MD. Close similarity of epidermal growth factor receptor and V-erb B oncogene protein sequences. *Nature* 307: 521, 1984.

DREBIN JA, STERN DF, LINK VC. Monoclonal antibodies identify a cell-surface antigen associated with an activated cellular oncogene. *Nature* 312: 545, 1984.

DREW PA, PRETRUCCO OM, SHEARMAN DJC. A factor present in human milk, but not colostrum, which is cytotoxic for human lymphocytes. *Clin Exp Immunol* 55: 437, 1984.

DUC HT, MASSE A, BOBE P, KINSKY TG, VOISIN GA. Deviation of humoral and cellular alloimmune reactions by placental extracts. *J Reprod Immunol* 7: 27, 1985.

DULBECCO R. Topoinhibition and serum requirement of transformed and untransformed cells. *Nature* 277: 802, 1970.

DULBECCO R, STOKER MGP. Conditions determining initiation of DNA synthesis in 3T3 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 66: 204, 1970.

DUNN GA, IRELAND GW. New evidence that growth in 3T3 cell cultures is a diffusion-limited process. *Nature* 312: 63, 1984.

- DWYER JM, JOHNSON C. Comparative analysis of the suppression by cord blood mononuclear cells of adult and neonatal lymphocytes. *Cell Immunol* 81: 81, 1983.
- DYATIOVITSKAYA EU, NOVIKOV AM, GORKOVA NP, GERGELSON LD. Gangliosides of hepatoma 27, normal and regenerating rat liver. *Eur J Biochem* 63: 357, 1976.
- EBERT EC, ROBERTS AI, O'CONNELL SM, ROBERTSON FM, NAGASE H. Characterization of an immunosuppressive factor derived from colon cancer cells. *J Immunol* 138: 2161, 1987.
- EBINA Y, ELLIS L, JARNAGIN K, EDERY M, GRAF L, CLAUSNER E, OU JH, KASIAK F, KAN XW, GOLDFINE ID, ROTH RA, RUTTER NJ. The human insulin receptor cDNA: the structural basis for hormone activated transmembrane signalling. *Cell* 40: 747, 1985.
- EK B, HELDIN CH. Characterization of a tyrosine-specific kinase activity in human fibroblast membranes stimulates by platelet-derived growth factor. *J Biol Chem* 257: 10486, 1982.
- ELIAS JA, ROSSMAN MD, ZURIER RB, DANIELE RP. Human alveolar macrophage inhibition of lung fibroblasts growth. A prostaglandin-dependent process. *Am Rev Respir Dis* 131: 94, 1985.
- ELLIS NK, YOUNG MR, NIKCEVICH DA, NEWBY M, PLIOPLYS R, WEPSIC HT. Stimulation of prostaglandin-dependent macrophage suppressor cells by the subcutaneous injection of polyunsaturated fatty acids. *Cell Immunol* 102: 251, 1986.
- ELLNER JJ. Suppressor adherent cells in human tuberculosis. *J Immunol* 121: 2573, 1978.
- ELLNER JJ, SPAGNUOLO PJ. Suppression of antigen- and mitogen-induced human T lymphocyte DNA synthesis by bacterial lipopolysaccharide: mediation by monocyte activation and production of prostaglandins. *J Immunol* 123: 2689, 1979.
- EMERY AEH, BURT D, NELSON MM, SCRIMGEOUR JB. Antenatal diagnosis and amino acid composition of amniotic fluid. *Lancet* 1: 1307, 1970.

EPIFANOVA OI: Mechanism underlying the differential sensitivity of proliferating and resting cells to external factors. *Inter Rev of Cytol. Supplem.* NY, F Academic Press, 1977.

ESSELMAN WJ, MILLER HC. Modulation of B cell responses by glycolipid released from antigen-stimulated T cells. *J Immunol* 119: 1994, 1977.

ETLINGER HM, CHILLER JM. Maturation of the lymphoid system. I. Induction of tolerance in neonates with a T-dependent antigen that is an obligate immunogen in adults. *J Immunol* 122: 2558, 1979.

EVANS CH. Lymphotoxin-an immunologic hormone with anticarcinogenic and antitumor activity. *Cancer Immunol Immunother* 12: 181, 1982.

EVANS R, CULLEN RT. In situ proliferation of intratumor macrophages. *J Leukocyte Biol* 35: 561, 1984.

FAIN JN, BERRIDGE MJ. Relationship between phosphatidylinositol synthesis and recovery of 5-hydroxytryptamine-responsive Ca^{2+} flux in blowfly salivary glands. *Biochem J* 180: 655, 1979.

FANGER BO, WAKEFIELD LM, SPORN MB. Structure and properties of the cellular receptor for transforming growth factor type beta. *Biochemistry* 25: 3083, 1986.

FARRAR WL, ANDERSON WB. Interleukin-2 stimulates association of protein kinase C with plasma membrane. *Nature* 315: 233, 1985.

FARRAR JJ, BENJAMIN WR, HILFIKER ML, HOWARD M, FARRAR WL, FULLERFARRAR J. The biochemistry biology and role of interleukin 2 in the induction of cytotoxic T cell on antibody forming B cell responses. *Immunol Rev* 63: 129, 1982.

FAULK WP, YEAGER C, McINTYRE JA, MEDA M. Oncofetal antigens of human trophoblast. *Proc R Soc Lond* 206: 163, 1979.

FEDOROVA OE. Transplacental maternal lymphocytes migration to the blood of human fetus. *Am J Reprod Immunol* 7: 65, 1985.

FELBER SM, BRAND MD. Concanavalin A causes an increase in sodium permeability and intracellular sodium content of pig lymphocytes. *Biochem J* 210: 893, 1983.

- FINE LG, HOLLEY RV, NASRI H, BADIJEZFOOLY B. BSC-1 growth inhibitor transforms a mitogenic stimulus into a hypertrophic stimulus for renal proximal tubular cells: relationship to Na^+/H^+ antiport activity. Proc Natl Acad Sci USA 82: 6163, 1985.
- FISCHBACHER PH, QUINLIVAN WL. Qualitative and quantitative analysis of the proteins in human amniotic fluid. Amer J Obstet Gynec 108: 1051, 1970.
- FISHMAN PH, BRADY RO. Biosynthesis and function of gangliosides. Science 194: 906, 1976.
- FISHMAN PH, BRADY RO, AARONSON SA. A comparison of membrane glycoconjugates from mouse cells transformed by murine and primate RNA sarcoma viruses Biochemistry 15: 201, 1976.
- FLEISCHMAN LF, CHAHWALA SB, CANTLEY L. Ras-transformed cells: altered levels of phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate and catabolites. Science 231: 407, 1986.
- FOA R, GLUBELLINO MC, FIERRO MT, LUSSO P, FERRANDO ML. Immature T lymphocytes in human cord blood identified by monoclonal antibodies: A model for the study of the differentiation pathway of T cells in humans. Cell Immunol 89: 194, 1984.
- FOGELMAN AM, SHECHTER I, SEAGER J, HOKOM M, CHILD JS, EDWARDS PA. Malondialdehyde alteration of low density lipoproteins leads to cholesterol ester accumulation in human monocyte-macrophages. Proc Natl Acad Sci USA 77: 2214, 1980.
- FOKER JE, MALKINSON AM, SHEPPAROL JR, WANG T: Studies of cyclic AMP metabolism in proliferating lymphocytes, pp. 75-86. Ed: Kaplan JG, ed. The Molecular Basis of the Immune Cell Function. Amsterdam, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1979.
- FOWLER S, SHIO H, HALEY NJ. Characterization of lipidladen aortic cells from cholesterol-fed rabbits. IV. Investigation of macrophage-like properties of aortic cell populations. Lab Invest 41: 372, 1979.

FRASIER SD, THORNEYCROFT IH, WEISS BA, HORTON R. Elevated amniotic fluid concentration of 17 α -hydroxyprogesterone in congenital adrenal hyperplasia. *J Pediatr* 1: 310, 1975.

FRITZE LMS, CHRISTOPHER RF, ROSEBERG RD. An antiproliferative heparan sulfate species produced by post-confluent smooth muscle cells. *J Cell Biol* 100: 1041, 1985.

FROLIK CA, WAKEFIELD LM, SMITH DM, SPORN MB. Characterization of a membrane receptor for transforming growth factor-beta in normal rat kidney fibroblasts. *J Biol Chem* 259: 10995, 1984.

FUCHS AR: Uterine activating hormones, pp. 286-305. Ed: Fuchs F, Klopper A, ed. *Endocrinology of Pregnancy*. New York, Hoeber Medical Division, Harper and Row, 1971.

FUJITA T, TAKAOKA C, MATSUI H, TANIGUCHI T. Structure of the human interleukin 2 gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 7437, 1983.

FUJIWARA H, ELLNER JJ. Spontaneous production of a suppressor factor by the human macrophage-like cell line U937. I. Suppression of interleukin 1, interleukin 2, and mitogen-induced blastogenesis in mouse thymocytes. *J Immunol* 136: 181, 1986.

GALLO RC, WONG-STAAAL F. Retroviruses as etiologic agents of some animal and human leukemias and lymphomas and a stools for elucidating the molecular mechanism of leukemogenesis. *Blood* 60: 545, 1982.

GAMBEL PI, FERGUSON FG. Suppression of cellular immune response by mouse amniotic fluids. *J Clin Lab Immunol* 8: 203, 1982.

GARCIA-GIRALT E, BERUMEN L, MACIEIRA-COELHO A. Growth inhibitory activity in the supernatants of nondividing WI-38 cells. *J Nat Cancer Inst* 45: 649, 1970.

GARCIA-OLIVARES E, RODRIGUEZ-VEDIA N. Detection of a cell proliferation inhibiting factor detected in the cell free ascitic fluid of intraperitoneal mouse tumours. *Oncology* 42: 5560, 1985.

GEHA RS, REINHERZ E. Identification of circulating maternal T and B lymphocytes in uncomplicated severe combined immunodeficiency by HLA typing of subpopulations of T cells separated by the fluorescence-activated cells Sorter and Epstein Barr virus derived B cell lines. *J Immunol* 130: 2493, 1983.

GERRARD JM, PHILLIPS DR, RAO GHR. Biochemical studies of two patients with the gray platelet syndrome. *J Clin Invest* 66: 102, 1980.

GIANTURCO SH, BRADLEY WA, GOTTO AM, MORRISSETT JD, PEAVY DL. Hypertriglyceridemic very low density lipoproteins induce triglyceride synthesis and accumulation in mouse peritoneal macrophages. *J Clin Invest* 70: 168, 1982.

GILLIBRAND PN. Changes in the electrolytes, urea and osmolality of the amniotic fluid with advancing pregnancy. *J Obstet Gynaec Brit Cwlth* 76: 898, 1969.

GLEICHER N, BEERS P, KERENYI TD, COHEN CT, GUSBERG SB. Leukocyte migration enhancement as an indicator of immunologic enhancement. I. Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 136: 1, 1980.

GLEICHER N, COHEN CJ, KERENYI TD, GUSBERG SB. A blocking factor in amniotic fluid causing leukocyte migration enhancement. *Am J Obstet Gynecol* 133: 386, 1979.

GLEICHER N, THEOFILOPOULOS AN, BEERS P. Immune complexes in pregnancy. *Lancet* 2: 1108, 1978.

GLOBERSON A, ZINKERNAGEL RM, UMIEL T. Immunosuppression by embryonic liver cells. *Transplantation* 20: 480, 1975.

GLUCK L, KULOVICH MV, BORER RC, BRENNER PH, ANDERSON GG, SPELLACY WN. Diagnosis of respiratory distress syndrome by amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 109: 440, 1971.

GLUCK L, KULOVICH MV, EIDELMAN AI, CORDERO L, KHAZIN AF. Biochemical development of surface activity in mammalian lung. IV. Pulmonary lecithin synthesis in the human fetus and newborn and etiology of the respiratory distress syndrome. *Pediatr Res* 6: 81, 1972.

- GOEDERT M, STOCKEL K, OTTEN U. Biological importance of the retrograde axonal transport of nerve growth factor in sensory neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 5895, 1981.
- GOLANDER A, ZAKUTH V, SHECHTER Y, SPIKER Z. Suppression of lymphocyte reactivity in vitro by a soluble factor secreted by explants of human decidua. *Eur J Immunol* 11: 849, 1981.
- GOLDFARB M, SHIMUZU K, PERUCHO M, WIGLER M. Isolation and preliminary characterization of a human transforming gene from T24 bladder carcinoma cells. *Nature* 296: 404, 1982.
- GONVA TA, WESTRICK MA, MACHER BA. Inhibition of mitogen- and antigen-induced lymphocyte activation by human leukemia cell gangliosides. *Cancer Res* 44: 3467, 1984.
- GOODLIN RC: *Handbook of Obstetrical and Gynecological Data*. California, Geron-X, 1972.
- GOODWIN JS, BANKURST AD, MESSNER RP. Suppression of human T-cell mitogenesis by prostaglandins. *J Exp Med* 146: 1719, 1977.
- GOODWIN JS, CEUPPENS J. Regulation of the immune response by prostaglandins. *J Clin Immunol* 13: 295, 1983.
- GOODWIN JS, MESSNER RP, BANKHURST AD, PEAKE GT, SAIKI JH, WILLIAMS RC Jr. Prostaglandins producing suppressor cells in Hodgkin's disease. *N Engl J Med* 297: 263, 1977.
- GOSPODAROWICZ D. Localization of a fibroblasts growth factor and its effect alone and with hydrocortisone on 3T3 cell growth. *Nature* 249: 123, 1974.
- GOSPODAROWICZ D. Purification of a fibroblast growth factor from bovine pituitary. *J Biol Chem* 250: 2515, 1975.
- GOUBIN G, GOLDMAN DS, LUCE J, NEIMAN PE, COOPER GM. Molecular cloning and nucleotide sequence of a transforming gene detected by transfection of chicken B-cell lymphoma DNA. *Nature* 302: 114, 1983.
- GRAHAM JM, MILLER ME, STEPHAN MJ, SMITH DW. Limb reduction anomalies and early in utero limb compression. *J Pediatr* 96: 1052, 1980.

- GREEN H, KEHINDE O. An established preadipose cell line and its differentiation in culture. II. Factors affecting the adipose conversion. *Cell* 5: 19, 1975.
- GREENBERG ME, ZIFF EB. Stimulation of 3T3 cells induces transcription of the c-fos protooncogene. *Nature* 311: 433, 1984.
- GREENE LA, SHOOTER EM. The nerve growth factor: Biochemistry, synthesis, and mechanism of action. *Ann Rev Neurosci* 3: 353, 1980.
- GREENGARD P. Phosphorylated proteins as physiological effectors. *Science* 199: 146, 1978.
- GREGORY H. Isolation and structure of urogastrone and its relationship to epidermal growth factor. *Nature* 257: 325, 1975.
- GUEVARA LA, PETERSSON M, GRÖNBERG A, KIESSLING R. Genetic studies on a tumor growth-inhibitory factor in serum of normal mice and its relationship to NK activity. *Nat Immun Cell Growth Regul* 5: 267, 1986.
- GUPTA GS, KINSKY RG, DUC HT, VOISIN GA. Effects of placental extracts on the immune response to histocompatibility antigens: Class deviation of alloantibody response and allograft enhancement. *Am J Reprod Immunol* 6: 117, 1984.
- GUSDEN JP Jr, WAITE BM. A colorimetric method for amniotic fluid phospholipids and their relationship to respiratory distress syndrome. *Am J Obstet Gynec* 112: 62, 1972.
- HABENICHT AJR, GLOMSET JA, KING WC, NIST C, MITCHELL CD, ROSS F. Early changes in phosphatidylinositol and arachidonic acid metabolism in quiescent Swiss 3T3 cells stimulated to divide by platelet-derived growth factor. *J Biol Chem* 256: 12329, 1981.
- HADDEN LW, HADDEN EH. Guanosine-3'-5'-cyclic monophosphate: a possible intracellular mediator of mitogenic influences in lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 69: 3024, 1972.

HADDOX MK, MAGUN BE, RUSSELL DH. Differential expression of type I and type II cyclic AMP dependent protein kinases during cell cycle and cyclic AMP-induced growth arrest. Proc Natl Acad Sci USA 77: 3445, 1980.

HAIGLER HT. Receptor-mediated endocytosis of epidermal growth factor. Methods enzymol 98: 283, 1983.

HAKOMORI S. Structures and organization of cell surface glycolipids: dependency on cell growth and malignant transformation. Biochem Biophys Acta 417: 55, 1975.

HAKOMORI S, GAHMBERG CC, LAINE R, KIJIMOTO S: Growth behavior, contact and surface structure of cell, pp. 461-472. En: Clarkson R, Baserga R, ed. Control of Proliferation in Animal Cells, Vol 1. Cold Spring Harbor Laboratory, 1974.

HALLMAN M, GLUCK L. Phosphatidylglycerol in lung surfactant. Biochem Biophys Res Commun 60: 1, 1974.

HAMAOKA T. Trophoblast-derived immunoregulatory factor. J Reprod Immunol 10 (Suppl), 1983.

HAMLIN JL, PARDEE AB. Control of DNA synthesis in tissue culture cells. In Vitro 14: 119, 1978.

HANLEY MR. Growth factors: Neuropeptides as mitogens. Nature 315: 14, 1985.

HARANAKA K, SATOMI N, SAKURAI A. Antitumor activity of murine tumor necrosis factor (TNF) against transplanted murine tumors and heterotransplanted human tumors in nude mice. Int J Cancer 34: 263, 1984.

HARDT C, RÖLLINGHOFF M, PFIZENMAIER K, MOSMANN H, WAGNER H. Ly-23⁺ cyclophosphamide-sensitive T cells regulate the activity of an interleukin 2 inhibitor in vivo. J Exp Med 154: 262, 1981.

HARDY B, GLOBERSON A, DANON D. Ontogenic development of the reactivity of macrophages to antigenic stimulation. Cell Immunol 9: 282, 1973.

- HARDY B, MOZER E. Expression of T cell suppressor activity in the immune response of newborn mice to a T independent synthetic polypeptide. *Immunology* 35: 757, 1978.
- HAREL L, BLAT C, CHATELAIN G. Regulation of cell proliferation: inhibitory and stimulating factors diffused by 3T3 cultured cells. *J Cell Physiol* 123: 139, 1985.
- HAREL L, CHATELAIN G, COLDE A. Density-dependent inhibition of growth: inhibitory diffusible factors from 3T3- and Rous Sarcoma Virus (RSV)-transformed 3T3 cells. *J Cell Physiol* 119: 101, 1984.
- HARPER RA, SAVAGE CR. Vitamin A potentiates the mitogenic effect of epidermal growth factor in cultures of normal adult human skin fibroblasts. *Endocrinology* 107: 2113, 1980.
- HARPER GP, THOENEN H. Target cells, biological effects and mechanism of action of nerve growth factor and its antibodies. *Am Rev Pharm and Toxicol* 21: 205, 1981.
- HASFGAWA-SASAKI H. Early changes in inositol lipids and the metabolites induced by platelet-derived growth factor in quiescent Swiss mouse 3T3 cells. *Biochem J* 232: 99, 1985.
- HASLER F, BLUESTEIN H, ZVAIFLER N, EPSTEIN L. Analysis of the defects responsible for the impaired regulation of EBV-induced cell proliferation by rheumatoid arthritis lymphocytes. *J Exp Med* 157: 173, 1983a.
- HASLER F, BLUESTEIN HG, ZVAIFLER NJ, EPSTEIN LB. Analysis of the defects responsible for the impaired regulation of EBV-induced cell proliferation by rheumatoid arthritis lymphocytes. II. Role of monocytes and the increased sensitivity of rheumatoid arthritis lymphocytes to prostaglandin E. *J Immunol* 131: 768, 1983b.
- HATAKEYAMA M, MINAMOTO S, UCHIYAMA T, HARDY RR, YAMADA G, TANIGUCHI T. Reconstitution of functional receptor for interleukin-2 in mouse cells. *Nature* 318: 467, 1985.
- HAWLEY HP, GORDON GB. The effects of long-chain free fatty acids on human neutrophil function and structure. *Lab Invest* 34: 216, 1976.

- HAYASHI I, CARR BI. DNA synthesis in rat hepatocytes: inhibition by a platelet factor and stimulation by an endogenous factor. *J Cell Physiol* 125: 82, 1985.
- HAYFLICK L, MOORHEAD PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 25: 585, 1961.
- HAYWARD AR, MERRILL D. Requirement for OKT8⁺ suppressor cell proliferation for suppression by human newborn T cells. *Clin Exp Immunol* 45: 468, 1981.
- HEBY O. Cell cycle phase specificity and therapeutic effectiveness of polyamine synthesis inhibitors, pp. 189-198. In: 13th International Cancer Congress, Part C: Biology of Cancer (2). New York, Liss AR, 1983.
- HEBY O, ANDERSSON G, GRAY JW. Interference with S and G₂ phase progression of polyamine synthesis inhibitors. *Exp Cell Res* 111: 461, 1978.
- HEIMARK RL, SCHWARTZ SM. The role of membrane-membrane interactions in the regulation of endothelial cell growth. *J Cell Biol* 100: 1934, 1985.
- HELDERMAN JH, EDWARDS L. Role of insulin in the intermediary metabolism of the activated thymic-derived lymphocyte. *J Clin Invest* 67: 1636, 1981.
- HELDERMAN JH, STROM TB. Specific insulin binding site on T and B lymphocytes as a marker of cell activation. *Nature* 274: 62, 1978.
- HELLMAN S, BOTNICK LE, HANNON EC. Proliferative capacity of murine hematopoietic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 75: 490, 1978.
- HELMY FM, HACK MH. Comparison of the lipids in maternal and cord blood and of human amniotic fluid. *Proc Soc Exp Biol Med* 110: 91, 1962.
- HELSON L, HELSON C, GREEN S. Effects of murine tumor necrosis factor on heterotransplanted human tumors. *Exp Cell Biol* 47: 53, 1979.

HENDLER FJ, OZANNE BW. Human squamous-cell lung cancers express increased epidermal growth factor receptors. *J Clin Invest* 74: 647, 1984.

HESKETH R: Cation fluxes and lymphocyte transformation, pp. 39-56. En: Kaplan JG, ed. *The Molecular Basis of the Immune Cell Function*. Amsterdam, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1979.

HESKETH TR, SMITH GA, MOORE JP, TAYLOR MV, METCALFE SC. Free cytoplasmic calcium concentration and the mitogenic stimulation of lymphocytes. *J Biol Chem* 258: 4876, 1983.

HEULIN MH, ARTUR M, STRACZEK J, BELLEVILLE F, NABET P, HERMANN A, LEBEURRE MD, SCHIMPF RM. Effect of low molecular weight human serum factors and human somatomedin peptides on human lymphocyte cultures. *J Cell Sci* 57: 129, 1982.

HEYNERS: Antigens of trophoblast and early embryo, pp. 182-203. En: Dhindsa DS, Schumacher GFB, ed. *Immunological aspects of infertility and fertility regulation*. Amsterdam, Elsevier, 1980.

HIRATA F, AXELROD J. Phospholipid methylation and biological signal transmission. *Science* 209: 1082, 1980.

HIRATA Y, UCHIHASHI M, FUJUTA T, MATSUKURA S, MOTOYAMA T, KAKU M, KOSHIMIZU K. Characteristics of specific binding of epidermal growth factor (EGF) on human tumor cell lines. *Endocrinol Jpn* 30: 601, 1983.

HOFFMANN MK, OETTIGEN HF, OLD LJ, MITTLER RS, HAMMERLING V. T-cell-mediated suppression of anti-tumor immunity. *J Reticuloend Soc* 23: 307, 1978.

HOKIN LE. Receptors and phosphoinositide-generated second messengers. *Ann Rev Biochem* 54: 205, 1985.

HOLLEY RW. Control of growth of mammalian cells in cell culture. *Nature* 258: 487, 1975.

HOLLEY RW, BÖHLEN P, FAVA R, BALDWIN JH, KLEEMAN G, ARMOUR R. Purification of kidney epithelial cell growth inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 5989, 1980.

- HOLLEY RV, KIENAN JA. "Contact inhibition" of cell division in 3T3 cells. Proc Natl Acad Sci USA 60: 300, 1968.
- HOOPER DC, MURGITA RA. Evidence for two distinct neonatal suppressor cell populations. Fed Proc 39: 354, 1980.
- HOOTON JW, RIENDEAU D, PAETKAU V. Is IL-2 regulated by a serum inhibitor?. Cell Immunol 95: 311, 1985.
- HOTTA H, BAIRD A. Differential effects of transforming growth factor type beta on the growth and function of adrenocortical cells in vitro. Proc Natl Acad Sci USA 83: 7795, 1986.
- HOTTA M, BAIRD A. The inhibition of low density lipoprotein metabolism by transforming growth factor-beta mediates its effects on steroidogenesis in bovine adrenocortical cells in vitro. Endocrinology 121: 150, 1987.
- HOWARD M, MATIS L, MALEK TR, SHEVACH E, KELL W, COHEN D, NAKAWISHI K, PAUL WE. Interleukin 2 induces antigen-reactive T cell lines to secrete BCGF-I. J Exp Med 158: 2024, 1983.
- HOWARD F, PELC SR. Nuclear incorporation of ^{32}P as demonstrated by autoradiographs. Exp Cell Res 2: 178, 1951.
- HSU YM, BARRY JM, WANG JL. Growth control in cultured 3T3 fibroblasts: neutralization and identification of a growth-inhibitory factor by a monoclonal antibody. Proc Natl Acad Sci USA 81: 2107, 1984.
- HSU YM, WANG JL. Growth control in cultured 3T3 fibroblasts. V. Purification of an M_r 13,000 polypeptide responsible for growth inhibitory activity. J Cell Biol 102: 362, 1986.
- HUMES JL, BONNEY RJ, PELUS L, DAHLGREN ME, SADOWSKI SJ, KUHEL FA Jr, DAVIES P. Macrophages synthesize and release prostaglandins in response to inflammatory stimuli. Nature 269: 149, 1977.
- HUNT P, EARDLEY DD. Suppressive effects of insulin and insulin-like growth factor-1 (IGF1) on immune responses. J Immunol 136: 3994, 1986.

HUNTER T, COOPER JA. Protein-tyrosine kinases. *Ann Rev Biochem* 54: 897, 1985.

HUNTER T, LING N, COOPER JA. Protein kinase C phosphorylation of the EGF receptor at a threonine residue close to the cytoplasmic face of the plasma membrane. *Nature* 311: 480, 1984.

IGNOTZ RA, MASSAGUE J. Type beta transforming growth factor controls the adipogenic differentiation of 3T3 fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 8530, 1985.

IGNOTZ RA, MASSAGUE J. Transforming growth factor- β stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracellular matrix. *J Biol Chem* 261: 4337, 1986.

IMANISHI J, HOSHINO S, MATSUOKA H, UEMURA H, IMANISHI T, TANAKA A, NISHINO H, KISHIDA T. Tumor degeneration by human embryonic fibroblasts and its enhancement by interferon. *Cancer Res* 43: 4323, 1983.

IMBODEN JB, STOBO JD. Transmembrane signalling by the T cell antigen receptor. *J Exp Med* 161: 446, 1985.

INMAN WH, COLOWICK SP. Stimulation of glucosa uptake by transforming growth factor beta: evidence for the requirement of epidermal growth factor-receptor activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 1346, 1985.

IRVINE RF, BROWN KD, BERRIDGE MJ. Specificity of inositol trisphosphate-induced calcium release from permeabilized Swiss-mouse 3T3 cells. *Biochem J* 221: 269, 1984.

IRVINE RF, LETCHER AJ, LANDER DJ, BERRIDGE MJ. Specificity of inositol phosphate-stimulated Ca^{2+} mobilization from Swiss-mouse 3T3 cells. *Biochem J* 240: 301, 1986.

ITO Y, HAMAGISHI Y, SEGAWA K, DALIANIS T, APPELLA EY, WILLINGHAM H. Antibodies against a nonapeptide of polyomavirus middle T antigen cross-reaction with a cellular protein(s). *J Virol* 48: 709, 1983.

IVANYI D. Antigenic phenotype of NIH 3T3 cell line. *J N C I* 79: 149, 1987.

IWASHITA S, FOX CF. Epidermal growth factor and potent phorbol tumor promoters induce epidermal growth factor receptor phosphorylation in a similar but distinctively different manner in human epidermoid carcinoma A431 cells. *J Biol Chem* 259: 2559, 1984.

IWATA KK, FRYLING CM, KNOTT WB, TODARO GJ. Isolation of tumor cell growth-inhibiting factors from a human rhabdomyosarcoma cell line. *Cancer Res* 45: 2689, 1985.

JACKSON KM, YATES AJ, OROSZ CG, WHITACRE CC. Gangliosides suppress the proliferation of autoreactive cells in experimental allergic encephalomyelitis: ganglioside effects on IL-2 activity. *Cell Immunol* 104: 169, 1987.

JACOBY DR, OLDING LB, OLDSTONE MBA. Immunologic regulation of fetal-maternal balance. *Adv Immunol* 35: 157, 1984.

JACOBY DR, OLDSTONE MB. Delineation of suppressor and helper activity within the OKT4-defined T lymphocyte subset in human newborns. *J Immunol* 131: 1765, 1983.

JAINCHILL JL, AARONSON SA, TODARO GJ. Murine sarcoma and leukemia viruses: Assay using clonal lines of contact-inhibited mouse cells. *J Virol* 4: 549, 1969.

JAMES R, BRADSHAW RA. Polypeptide growth factors. *Ann Rev Biochem* 53: 259, 1984.

JELINEK DF, THOMPSON PA, LIPSKY PE. Regulation of human B cell activation by prostaglandin E₂: suppression of the generation of immunoglobulin-secreting cells. *J Clin Invest* 75: 1339, 1985.

JENKINSON EJ, OWEN V. Ontogeny and distribution of major histocompatibility (MHC) antigens on mouse placental trophoblast. *J Reprod Immunol* 2: 173, 1980.

JENSEN RT, JONES SV, FOLKERS K, GARDNER JD. A synthetic peptide that is a bombesin receptor antagonist. *Nature* 309: 61, 1984.

JETTEN AM. Retinoids specifically enhance the number of epidermal growth factor receptors. *Nature* 284: 626, 1980.

- JETTEN AM. Action of retinoids and phorbol esters on cell growth and the binding of epidermal growth factor. *Ann NY Acad Sci* 359: 200, 1981.
- JETTEN AM. Effects of retinoic acid on the binding and mitogenic activity of epidermal growth factor. *J Cell Physiol* 110: 234, 1982.
- JETTEN AM, JETTEN MER, SHAPIRO S, POON J. Characterization of the action of retinoids on mouse fibroblasts cell lines. *Exp Cell Res* 119: 289, 1979.
- JIMENEZ DE ASUA L, OTTO AM, ULRICH MD, MARTIN-PEREZ J, THOMAS G: The regulation of DNA replication in animals cells by prostaglandin F₂, pp. 309-331. En: *Prostaglandin and Cancer, First International Conference*. New York, Liss AR, 1982.
- JOHNSON HM, TORRES BA. Peptide growth factors PDGF, EGF and FGF regulate Interferon- γ production. *J Immunol* 134: 2824, 1985.
- JOHNSON PM, FAULK WP, WANG AC. Immunological studies of human placentae: Subclass and fragment specificity of binding of aggregated Ig G by placental endothelial cells. *Immunology* 31: 659, 1976.
- JOHNSON PM, MOLLOY CM. Localization in human placental bed and amniochorion of cells bearing trophoblast antigens identified by monoclonal antibodies. *Am J Reprod Immunol Microbio* 4: 33, 1983.
- JONAK GJ, KNIGHT E Jr. Selective reduction of c-myc mRNA in Daudi cells by human β interferon. *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 1747, 1984.
- JONES GE, ARUMUGHAM, TANZER ML. Fibronectin glycosylation modulates fibroblasts adhesion and spreading. *J Cell Biol* 103: 1663, 1986.
- JONES LM, COCKCROFT S, MITCHELL RH. Stimulation of phosphatidylinositol turnover in various tissues by cholinergic and adrenergic agonists, by histamine and by caerulein. *Biochem J* 182: 669, 1979.
- JONES WR. Immunological aspects of infertility, pp. 127-167. En: Scott JS, Jones WR, ed. *Immunology of human reproduction*. London, Academic Press, 1976.

JOSEPHS SF, GUO C, RATNER L, WONG-STALL F. Human proto-oncogene nucleotide sequence corresponding to the transforming region of simian sarcoma virus. *Science* 223: 487, 1984.

JOSEPH SK, THOMAS AP, WILLIAMS RJ, IRVINE RF, WILLIAMSON JR. Myo-Inositol 1,4,5-triphosphate. A second messenger for the hormonal mobilization of intracellular Ca^{2+} in liver. *J Biol Chem* 259: 3077, 1984b.

JOSEPH SK, WILLIAMS RJ, CORKEY BE, MATSCHINSKY FM, WILLIAMSON JR. The effect of inositol triphosphate on Ca^{2+} fluxes in insulin-secreting tumor cells. *J Biol Chem* 259: 2952, 1984a.

JOSIMOVICH JB: The role of pituitary prolactin in fetal and amniotic fluid water and electrolyte balance, pp. 27-50. En: Crosignani PG, Robyn C, ed. *Prolactin and Human Reproduction*. New York, Academic Press, 1977.

JOSIMOVICH JB, KOSOR B, BOCCELLA L: Human placental lactogen (chorionic somatomammotropin), pp. 85-112. En: Caplan RM, Sweeney WJ, ed. *Advances in Obstetrics and Gynecology*, Vol II. Baltimore, Williams and Wilkins, 1978.

KAMATA N, CHIDA K, RIKIMARU K, HORIKOSHI M, ENOMOTO S, KUROKI T. Growth-inhibitory effects of epidermal growth factor and over-expression of its receptors on human squamous cell carcinoma in culture. *Cancer Res* 46: 1648, 1986.

KAMO I, PATEL C, KATELEY J, FRIEDMAN H. Immunosuppression induced in vitro by mastocytoma tumor cells and cell-free extracts. *J Immunol* 114: 1749, 1975.

KAPLAN DR, CHAO FC, STILES CD. Platelet alpha granules contain a growth factor for fibroblast. *Blood* 53: 1043, 1979.

KASUGA M, VAN OBBERGHEN E, NISSLEY SP, RECHLER MM. Demonstrations of two subtypes of insulin-like growth factor receptors by affinity cross linking. *J Biol Chem* 256: 5305, 1981.

- KATCHMAN BJ, ZIPF RE, MURPHY JP. The effect of fatty acids upon tumor cell respiration and transplantability. *Clin Chem* 9: 530, 1963.
- KATOPODIS N, HIRSHAUT Y, GELLER N, STOCK CC. Lipid-associated sialic acid test for the detection of human cancer. *Cancer Res* 42: 5270, 1982.
- KAY HH, HOBBS JC. Correlation of amniotic fluid estrogens with L/S ratios and urinary estriols. *J Reprod Med* 29: 222, 1984.
- KAYE M: Immunological relationships between mother and fetus during pregnancy, pp. 3-32. En: Hearn JP, ed. *Immunological aspects of reproduction and fertility control*. Lancaster, MTP Press Ltd, 1980.
- KEHRL JH, WAKEFIELD LM, ROBERTS AB, JAKOWLEW S, ALVAREZ-MON M, DEKYNCK R, SPORN MB, FAUCI AS. Production of transforming growth factor β by human T lymphocytes and its potential role in the regulation of T cell growth. *J Exp Med* 163: 1037, 1986.
- KEIRSE MJNC, TURNBULL AC. The fetal membranes as a possible source of amniotic fluid prostaglandins. *Brit J Obstet Gynaec* 83: 146, 1976.
- KELLY RH, MILLER DH, RODMAN GP, HAGMAN J. Prostaglandin-mediated inhibition of lymphokine secretion in normal individuals and patients with progressive systemic sclerosis (scleroderma PSS). *Agents Actions* 12: 471, 1982.
- KINDERS RJ, JOHNSON TC. Isolation of cell surface glycopeptides from bovine cerebral cortex that inhibit cell growth and protein synthesis in normal but not in transformed cells. *Biochem J* 206: 527, 1982.
- KINDERS RJ, MILENKOVIC AG, NORDIN P, JOHNSON TC. Characterization of cell-surface glycopeptides from mouse cerebral cortex that inhibit cell growth and protein synthesis. *Biochem J* 190: 605, 1980.
- KING AC, CUATRECASAS P. Resolution of high and low affinity epidermal growth factor receptors: inhibition of high affinity component by low temperature, cycloheximide and phorbol esters. *J Biol Chem* 257: 3053, 1982.

KING BF. Absorption of peroxidase-conjugated immunoglobulin G by human placenta: An in vitro study. *Placenta* 3: 395, 1982.

KING GL, KAHN CR. Non-parallel evolution of metabolic and growth promoting functions of insuline. *Nature* 292: 644, 1981.

KING GL, KAHN CR: The growth-promoting effects of insulin, pp. 223-265. En: Guroff G, ed. *Growth and maturation factors*. USA, Wiley-Interscience publications, 1984.

KING GL, KAHN CR, RECHLER MM, NISSLEY SP. Direct demonstration of separate receptors for growth and metabolic activities of insulin and multiplication-stimulating activity using antibodies to the insulin receptor. *J Clin Invest* 66: 130, 1980.

KING LE, CARPENTER GF: Epidermal growth factor, pp. 269-281. En: Goldsmith L, ed. *Biochemistry and Physiology of the Sking*. New York, Oxford Univ Press, 1983.

KIRK D, KAGAWA S, VENER G. Comparable growth regulation of five human tumor cell lines by neonatal human lung fibroblasts in semisolid culture media. *Cancer Res* 43: 3754, 1983.

KIRK D, SZALAY MF, KAIGHN ME. Modulation of growth of a human prostatic cancer cell line (PC-3) in agar culture by normal human lung fibroblasts. *Cancer Res* 41: 1100, 1981.

KIRKWOOD KJ, BELL SG. Inhibitory activity of supernatants from murine decidua cell cultures on the mixed lymphocytes reaction. *J Reprod Immunol* 3: 243, 1981.

KLAUS GG, HAWRYLOWICZ CM. Activation and proliferation signals in mouse B cells. II. Evidence for activation (G_0 to G_1) signals differing in sensitivity to cyclosporine. *Eur J Immunol* 14: 250, 1984.

KLEIN J: *The science of self-Non-self discrimination*. John Wiley and sons, 1982.

KLOPPEL TM, KEENAN TV, FREEMAN NJ, MORRE DJ. Glycolipidbound sialic acid in serum: increased levels in mice and humans bearing mammary carcinomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 74: 3011, 1977.

KOCH MS, LEFFERT HL. Increased sodium ion influx is necessary to initiate rat hepatocyte proliferation. *Cell* 18: 153, 1979.

KOCHAN I, BERENDT M. Fatty acid-induced tuberculocidal activity in sera of guinea pigs treated with *Bacillus Calmette-Guerin* and lipopolysaccharide. *J Infect Dis* 129: 696, 1971.

KOGOSHI S, ITO R. High levels of free fatty acids in lymphoid cells, with special reference to their cytotoxicity. *Experientia* 29: 1408, 1973.

KOHLER K, LIPTON A. Platelets as a source of fibroblast growth-promoting activity. *Exp Cell Res* 87: 297, 1974.

KOJIMA I, LIPPES H, KOJIMA K, RASMUSSEN H. Aldosterone secretion: effect of phorbol ester and A23187. *Biochem Biophys Res Commun* 116: 555, 1983.

KOPROWSKI H, HERLYN M, STEPLEWSKI Z, SEARS HF. Specific antigen in serum of patients with colon carcinoma. *Science* 212: 53, 1981.

KORC M, MELTZER P, TRENT J. Enhanced expression of epidermal growth factor receptor correlates with alterations of chromosome 7 in human pancreatic cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 5141, 1986.

KORN JH, HALUSHKA PV, LE ROY EC. Mononuclear cell modulation of connective tissue function. Suppression of fibroblasts growth by stimulation of endogenous prostaglandin production. *J Clin Invest* 65: 543, 1980.

KORSMEYER SJ, GREENE WC, COSSMAN J, HSU SM, NECKERS LM, MARSHALL SL, JENSEN JP, BAKHSI A, LEONARD WJ, DEPPER JM, JAFFE ES, WALDMANN TA. Rearrangement and expression of immunoglobulin genes and expression of Tac antigen in hairy cell leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 4522, 1983.

KOURIDES IA, HEATH CV, GINSBERG-FELLNER F. Measurement of thyroid-stimulating hormone in human amniotic fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 54: 635, 1982.

KOZAK RW, HASKELL JF, WALDMAN TA, NISSLEY SP. Insulin-like growth factors receptors on activated human T lymphocytes. Fed Proc 44: 1308, 1985.

KRAEHNBUHL JP, BRON C, SORDAT B. Transfer of humoral secretory and cellular immunity from mother to offspring. Curr Top Pathol 66: 105, 1979.

KRKO CJ, GOLDBERG EH. Major histocompatibility antigens on preimplantation mouse embryos. Transplant Proc 9: 1367, 1977.

KRIS R, LAX I, GULLICK M, WATERFIELD M, ULLRICH A, FRIDKIN M, SCHLESSINGER J. Antibodies against a synthetic peptide as a probe for the kinase activity of the avian EGF-receptor and V-erb-B proteins. Cell 40: 619, 1985.

KRISHNARAJ R, KEMP RG. Gangliosides do not raise cyclic AMP levels during inhibition of lymphocyte mitogenesis. Biochem Biophys Res Commun 104: 1453, 1982.

KRISHNARAJ R, LENGLE EE, KEMP RG. Murine leukemia. Proposed role for gangliosides in immune suppression. Eur J Cancer Clin Oncol 18: 39, 1982.

KRISHNARAJ R, SAAT YA. Murine thymic leukemogenesis: endogenous ganglioside immunosuppression. IRCS Med Sci Cancer 9: 314, 1981.

KRODNTIRIS TG, COOPER GM. Transforming activity of human tumor DNAs. Proc Natl Acad Sci USA 78: 1181, 1981.

KRUG U, KRUG F, CUATRECASAS P. Emergence of insulin receptors on human lymphocytes during in vitro transformation. Proc Natl Acad Sci USA 69: 2604, 1972.

KRYCEVE-MARTINERIE C, LAWRENCE DA, CROCHET J, JULLIEN P, VIGIER P. Further study of beta-TGFs released by virally transformed and non-transformed cells. Int J Cancer 35: 553, 1985.

KURLAND JI, BOCKMAN R. Prostaglandin E production by human monocytes and mouse macrophages. J Exp Med 147: 95, 1978.

LADISCH SK, GILLARD B, WONG C, ULSH L. Shedding and immunoregulatory activity of YAC-1 lymphoma cell gangliosides. *Cancer Res* 43: 3808, 1983.

LADISCH S, WONG C, ULSH L, DELAY AM. Suppression of antigen-specific lymphocyte blastogenesis responses by tumor cell-derived gangliosides. *Clin Res* 29: 528, 1981.

LAITINEN R, JALANKO H, KOLHO KL, KOSKULL HV, VUORI E. Zinc and α -fetoprotein in amniotic fluid from early pregnancies with fetal malformations. *Am J Obstet Gynecol* 152: 561, 1985.

LALA PK, CHATTERJEE-HASROUNI S, KEARNS M, MONTGOMERY P, COLARINCENZO V. Immunobiology of the feto-maternal interface. *Immunological Rev* 75: 87, 1983.

LALA PK, KEARNS M. Immunology of the decidual tissue. *Contrib Gynecol Obstet* 14: 1, 1985.

L'ALLEMAIN G, PARIS S, POUYSSEUR J. Growth factor action and intracellular pH regulation in fibroblasts. Evidence for a major role of the Na^+/H^+ antiport. *J Biol Chem* 259: 5809, 1984.

LAND H, PARADA LF, WEINBERG RA. Cellular oncogenes and multistep carcinogenesis. *Science* 222: 771, 1983.

LARK MW, CULP LA. Multiple classes of heparan sulfate proteoglycans from fibroblast-substratum adhesion sites. Affinity fractionation on columns of platelet factor IV, plasma fibronectin and octyl-sepharose. *J Biol Chem* 259: 6773, 1984.

LARSEN B, DAVIS B. Enhancement of the antibacterial property of amniotic fluid by hyperthermia. *Obstet Gynecol* 63: 425, 1984.

LAWIER SD, KLONDA PT, BAGSHAVE KD. Immunogenicity of molar pregnancies in the HLA system. *Am J Obstet Gynecol* 120: 857, 1974.

LAX I, KRIS R, SASSON I, ULLRICH A, HAYMAN MJ, BEUG H, SCHLESSINGER J. Activation of C-erb-B in avian leukosis virus-induced erythroblastosis leads to the expression of a truncated EGF-receptor kinase. *Eur Mol Biol Organ J* 4: 3179, 1985.

- LAZEBNIK R, EISENBERG Z, LAZEBNIK N, SPIRER Z, WEISMAN Y. Vitamin D metabolites in amniotic fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 56: 632, 1983.
- LEBON P, GIRARD S, THEPOT F, CHANY C. The presence of alpha-interferon in human amniotic fluid. *J Gen Virol* 59: 393, 1982.
- LECHNER JF, McCLENDON IA, LAVECK MA, SHAMSUDDIN AM, HARRIS CC. Differential control by platelet factors of squamous differentiation in normal and malignant human bronchial epithelial cells. *Cancer Res* 43: 5915, 1983.
- LE DOUARIN NM, DIETERLEN-LIEVRE F, OLIVER PD. Ontogeny of primary lymphoid organs and lymphoid stem cells. *Am J Anat* 170: 261, 1984.
- LEE DC, ROSE TM, NEBB NR, TODARO GJ. Cloning and sequence analysis of a cDNA for rat transforming growth factor- α . *Nature* 313: 489, 1985.
- LEE LS, WEINSTEIN IB. Mechanism of tumour promoter inhibition of cellular binding of epidermal growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 5168, 1979.
- LEE SH, AGGARWAL BB, RINDERKNECHT E, ASSISI F, CHIU H. The synergistic anti-proliferative effect of gamma interferon and human lymphotoxin. *J Immunol* 133: 1053, 1984.
- LELCHUK R, SCHMIDT JA, HUDSON K, ASTON R, LIEW FY. Is there an Interleukin-2 inhibitor in human serum? *Cell Immunol* 104: 126, 1987.
- LEMOINE NR, WYNFORD-THOMAS V, WYNFORD-THOMAS D. Optimisation of conditions for detection of activated oncogenes by transfection of NIH 3T3 cells. *Br J Cancer* 55: 639, 1987.
- LENGLE EC. Increased levels of lipid-bound sialic acid in thymic lymphocytes and plasma from leukemic AKR/J mice. *J Natl Cancer Inst* 62: 1565, 1979.
- LENGLE EE, KRISHNARAJ R, KEMP RG. Inhibition of the lectin-induced mitogenic response of thymocytes by glycolipids. *Cancer Res* 39: 817, 1979.

- LENNOX B: Tumors, pp. 272-309. En: Anderson JR, ed. Muir's Textbook of Pathology. Chicago, Year Book Medical Publishers Inc, 1976.
- LEOF EB, WHARTON W, VAN WYK JJ, PLEDGER WJ. Epidermal growth factor (EGF) and somatomedin C regulate G₁ progression of competent BALB/c 3T3 cells. *Exp Cell Res* 141: 107, 1982.
- LEVI-MONTALCINI R. Growth control of nerve cells by a protein factor and its antiserum. *Science* 143: 105, 1964.
- LEVINE AE, HAMILTON DA, McRAE LJ, BRATTAIN MG. Elevated growth factors levels in transformed mouse embryo cells treated with N,N-dimethylformamide. *Cancer Res* 45: 108, 1985.
- LEVINE L: Stimulation of cellular prostaglandin production by phorbol esters and growth factors and inhibition by cancer chemopreventive agents, pp. 189-204. En: Prostaglandins and Cancer, First International Conference. New York, Liss AR, 1982.
- LIBERMANN TA, NUSSBAUM HR, RAZON N, KRIS R, LAX I, SOREQ M, WHITTLE N, WATERFIELD MD, ULLRICH A, SCHLESSINGER J. Amplification, enhanced expression and possible rearrangement of the EGF-receptor gene in primary human brain tumors of glial origin. *Nature* 313: 144, 1985.
- LIBERMAN TA, RAZON N, BARTAL AD, YARDEN Y, SCHLESSINGER J, SOREQ H. Expression of epidermal growth factor receptors in human brain tumors. *Cancer Res* 44: 753, 1984.
- LIEBERMAN MA, GLASER L. Density-dependent regulation of cell growth: an example of a cell recognition phenomenon. *J Membr Biol* 63: 1, 1981.
- LILEY AW: Amniotic fluid, pp. 228-251. En: Corey HM, ed. *Modern Trends in Human Reproductive Physiology*. London, Butterworths, 1963.
- LIN CR, CHEN WS, KRUIGER W, STOLARSKY LS, WEBER W, EVANS RM, VERMA IM, GILL GN, ROSENFELD MG. Expression cloning of human EGF receptor, complementary-DNA-gene amplification, and 3 related messenger-RNA products in A431 cells. *Science* 224: 843, 1984.

- LIN CT. Immunoelectron microscopic localization of immunoglobulin G in human placenta. *J Histochem Cytochem* 28: 336, 1980.
- LIND T, BILLEWICZ WZ, CHEYNE GA. Composition of amniotic fluid and maternal blood through pregnancy. *J Obstet Gynaec Brit Cwlth* 78: 505, 1971.
- LINDQUIST P, OSTLUND-LINDQUIST AM, WITSTUM JL, STEINBERG D, LITTLE JA. The role of lipoprotein lipase in the metabolism of triglyceride-rich lipoproteins by macrophages. *J Biol Chem* 258: 9086, 1983.
- LIU CM, OKAYASU T, GOLDMAN P, SUZUKI Y, SUZUKI K, WHELOCK F. Immune regulation of the L5178Y murine tumor-dormant state. *J Exp Med* 164: 1259, 1986.
- LIUNEH E, GLASER L, SEGAL D, SCHLESSINGER J, SHILO BZ. The drosophila EGF-receptor gene homolog conservation of both hormone binding and kinase domains. *Cell* 40: 599, 1985.
- LOPEZ-RIVAS A, ADELBERG EA, ROZENGURT E. Intracellular K^+ and the mitogenic response of 3T3 cells to peptide factors in serum-free medium. *Proc Natl Acad Sci USA* 79: 6275, 1982.
- LOPEZ-RIVAS A, STROOBANT P, WATERFIELD MD, ROZENGURT E. Ionic responses rapidly elicited by porcine platelet-derived growth factor in Swiss 3T3 cells. *Eur Mol Biol Organ J* 3: 939, 1984.
- LOTAN R. Effects of vitamin A and its analogs (retinoids) on normal and neoplastic cells. *Biochem Biophys Acta* 605: 33, 1980.
- LU CY, BELLER DI, UNANUE ER. During ontogeny Ia-bearing accessory cells are found early in the thymus but late in the spleen. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 1579, 1980.
- LU CY, CALAMAJ EG, UNANUE ER. A defect in the antigen-presenting function of macrophages from neonatal mice. *Nature* 282: 327, 1979.
- LU CY, CHANGELIAN PS, UNANUE ER. Alpha protein inhibits macrophage expression of Ia antigens. *J Immunol* 132: 1722, 1984.

- LUCKENBACH GA, KENNEDY MM, KELLY A, MANDEL TE. Suppression of an in vitro humoral immune response by cultured fetal thymus cells. *Eur J Immunol* 8: 8, 1978.
- LYNCH NR, SALOMON J. Tumor growth inhibition and potentiation of immunotherapy by indomethacin in mice. *J Natl Cancer Inst* 62: 117, 1979.
- MACA RD. Inhibition of interleukin-2-induced proliferation of mouse T cells by normal mouse serum. *J Biol Response Mod* 2: 360, 1983.
- MACARA IG, MARINETTI GU, BALDUZZI PC. Transforming protein of an avian sarcoma virus UR2 is associated with phosphatidylinositol kinase activity: possible role in tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 2728, 1984.
- MAGNANI JL, BROCKHAUS M, SMITH DF, GINSBURG V, BLASZCZYK M, MITCHELL KF, STEPLEWSKI Z, KOPROWSKI H. A monosialoganglioside is a monoclonal antibody-defined antigen of colon carcinoma. *Science* 212: 55, 1981.
- MAGUN BE, MATRISTAN LM, BOWDEN GT. Epidermal growth factor. Ability of tumour promoter to alter its degradation, receptor affinity and receptor number. *J Biol Chem* 255: 6373, 1980.
- MAHONEY EM, HAMILL AL, SCOTT WA, COHN ZA. Response of endocytosis to altered fatty acyl composition of macrophage phospholipids. *Proc Natl Acad Sci USA* 74: 4895, 1977.
- MALEK TR, ROBB RJ, SHEVACH EM. Identification and initial characterization of a rat monoclonal antibody reactive with the murine interleukin-2 receptor-ligand complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 5694, 1983.
- MANNINO RJ, BALLMER K, ZELTNER D, BURGUER M. An inhibitor of animal cell growth increases cell-to-cell adhesion. *J Cell Biol* 91: 855, 1981.
- MARCUS DM. A review of the immunogenic and immuno-modulatory properties of glycosphingolipids. *Mol Immunol* 21: 1083, 1984.

MARCUS DM, DUSTIRA A, DIEGO I, OSOVITZ S, LEWIS DE. Studies of the mechanism by which gangliosides inhibit the proliferative response of murine splenocytes to concanavalin A. *Cell Immunol* 104: 71, 1987.

MARQUARDT H, TODARO GJ. Human transforming growth factor. Production by a melanoma cell line purification and initial characterization. *J Biol Chem* 257: 5220, 1982.

MARTIN TFJ. Thyrotropin-releasing hormone rapidly activates the phosphodiester hydrolysis of polyphosphoinositides in GH3 pituitary cells. Evidence for the role of a polyphosphoinositide-specific phospholipase C in hormone action. *J Biol Chem* 258: 14816, 1983.

MARX JL. The yin and yang of cell growth control. *Science* 232: 1093, 1986.

MASON AJ, HAYFLICK JS, LING N, ESCH F, UENO N, YING SY, GUILLEMIN R, NIALL H, SEEBURG PH. Complementary DNA sequences of ovarian follicular fluid inhibin show precursor structure and homology with transforming growth factor-beta. *Nature* 318: 659, 1985.

MASSAGUE J. Factores polipeptídicos de transformación oncogénica: Aislamiento caracterización e interacción con receptores celulares. Conferencia en el X Congreso de la Sociedad Española de Inmunología. Córdoba, 1984.

MASSAGUE J. Subunit structure of a high-affinity receptor for type beta-transforming growth factor. Evidence for a disulfide-linked glycosylated receptor complex. *J Biol Chem* 260: 7059, 1985.

MASSAGUE J, LIKE B. Cellular receptors for type beta transforming growth factor ligand binding and affinity labeling in human and rodent cell lines. *J Biol Chem* 260: 2636, 1985.

MATTHEWS N. Tumor necrosis factor from the rabbit. II. Production by monocytes. *Br J Cancer* 38: 310, 1978.

MATTHEWS N. Tumor-necrosis factor from the rabbit. V. Synthesis in vitro by mononuclear phagocytes from various tissues of normal and BCG-injected rabbits. *Br J Cancer* 44: 418, 1981.

- MCCARTHY EP, OOI YM, HSU A, OOI BS. Evidence for an endothelial cell-derived factor which stimulates the growth of human peripheral blood mononuclear cells. *Cell Immunol* 91: 492, 1985.
- McCLURE DB. Anchorage independent colony formation of SV40 transformed Balb/c 3T3 cells in serum-free medium role of cell-derived and serum-derived factors. *Cell* 32: 999, 1983.
- McCULLOCH EA. Granulopoiesis in cultures of human haemopoietic cells. *Clin Haematol* 4: 509, 1975.
- McDONALD PC, SCHULTZ FM, DUENHOELTER JH. Initiation of human parturition. Mechanism of action of arachidonic acid. *Obstet Gynecol* 44: 629, 1974.
- McINTYRE JA, FAULK WF. Trophoblast modulation of maternal allogeneic recognition. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 4029, 1979.
- McINTYRE JA, PAGE FW. Maternal blocking factors in human pregnancy and found in plasma not in serum. *Lancet* 2: 821, 1979.
- McKEEHAN NL, McKEZHAN KA. Serum factors modify the cellular requirement for Ca^{+2} , K^{+} , Mg^{+2} , phosphate ions, and 2-oxocarboxylic acids for multiplication of normal human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 3417, 1980.
- McMAHON JB, FARRELLY JG, IYPE PT. Purification and properties of a rat liver protein that specifically inhibits the proliferation of nonmalignant epithelial cells from rat liver. *Proc Natl Acad Sci USA* 79: 456, 1982.
- McMAHON JB, IYPE PT. Specific inhibition of proliferation of nonmalignant rat hepatic cells by a factor from rat liver. *Cancer Res* 40: 1249, 1980.
- MEAN F, PESCIA G, VOJDA D, FELBER JP, MAGRINI G. Amniotic fluid testosterone in prenatal sex determination. *J Genet Hum* 29: 441, 1981.
- MEANS AR, DEDMAN JR. Calmodulin: an intracellular calcium receptor. *Nature* 285: 73, 1980.

MEDOFF JR, CLACK VD, ROCHE JK. Characterization of an immunosuppressive factor from malignant ascites that resembles a factor induced in vitro by carcinoembryonic antigen. *J Immunol* 137: 2057, 1986.

MEDOFF JR, JEGASOTHY BV, ROCHE JK. Carcinoembryonic antigen-induced release of a suppressor factor from normal human lymphocytes in vitro. *Cancer Res* 44: 5822, 1984.

MENDOZA SA, SCHNEIDER JA, LOPEZ-RIVAS A, SINNETT-SMITH JV, ROZENGURT E. Early events elicited by bombesin and structurally related peptides in quiescent Swiss 3T3 cells. II. Changes in Na^+ and Ca^{2+} fluxes, Na^+/K^+ pump activity, and intracellular pH. *J Cell Biol* 102: 2223, 1986.

MENDOZA SA, WIGGLESWORTH NM, POHJANPELTO P, ROZENGURT E. Na entry and Na-K pump activity in murine, hamster and human cells. Effect of moneurin, serum, platelet extract, and viral transformation. *J Cell Physiol* 103: 17, 1980a.

MENDOZA SA, WIGGLESWORTH NM, ROZENGURT E. Vasopressin rapidly stimulates Na entry and Na-K pump activity in quiescent cultures of mouse 3T3 cells. *J Cell Physiol* 105: 153, 1980b.

MERIMEE TJ, GRANT M, TYSON JE. Insulin-like growth factors in amniotic fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 59: 752, 1984.

MERRITT WD, BAILEY JM, PLUZNICK DH. Inhibition of interleukin-2-dependent cytotoxic T-lymphocyte growth by gangliosides. *Cell Immunol* 89: 1, 1984.

MILLER HC, ESSELMAN WJ. Modulation of immune response by antigen-reactive lymphocytes after cultivation with gangliosides. *J Immunol* 115: 839, 1975.

MITNICK MA, CHIEFFO V, GIBBONS JM Jr, HANLEY KJ: Isolation of TRH and LRH from human amniotic fluid and their in vitro binding to human chorio-amniotic membranes (Abstract). En: Program 56th Ann Mtg of the Endocrine Society. Atlanta, 1974.

MIYAGAWA Y. Further characterization of Ig M antibodies against maternal alloreactive T cells produced by cloned Epstein Barr virus-transformed cord B cells. *J Immunol* 133: 1270, 1974.

MIYAGAWA Y, KOMIYAMA A, AKAGANE T. Demonstration of T lymphocytotoxic human fetal antibody against maternal T and concanavalin A-inducible adult T cells in cord Ig M. *Eur J Immunol* 11: 106, 1981.

MIYAGAWA Y, KOMIYAMA A, AKABANE T, UEHARA Y, YANO A. Cord Ig M antibody specific for human killer T cells: T lymphocytotoxic human fetal antibody (TLFA) recognizing the maternal killer dT cells proliferating in the presence of interleukin-2. *J Immunol* 129: 1993, 1982.

MOOLENAAR WH, MUMMERY CL, VAN DER SAAG PT, DE LAAT SW. Rapid conic events and the initiation of growth in serum-stimulated neuroblastoma cells. *Cell* 23: 789, 1981.

MOOLENAAR WH, TERTOOLEN LGJ, DE LAAT SW. Phorbol ester an diacylglycerol mimic growth factors in raising cytoplasmic pH. *Nature* 312: 371, 1984.

MOOLENAAR WH, TSIEN RY, VAN DER SAAG PT, DE LAAT SW. Na^+/H^+ exchange and cytoplasmic pH in the action of growth factors in human fibroblasts. *Nature* 304: 645, 1983.

MOOLENAAR WH, YARDEW Y, DE LAAT SW, SCHLESSINGER J. Epidermal growth factor induces electrically silent Na^+ influx in human fibroblasts. *J Biol Chem* 257: 8502, 1982.

MOSES HL, BRANUM EB, PROPER JA, ROBINSON RA. Transforming growth factor production by chemically transformed cells. *Cancer Res* 41: 2842, 1981.

MOSES HL, TUCKER RF, LEOF EB, COFFEY RJ Jr, HALPER J, SHIPLEY GD. Type- β transforming growth factor is a growth stimulator and a growth inhibitor. *Cancer Cells* 3: 65, 1985.

MOSIER DE, JOHNSON BM. Ontogeny of mouse lymphocyte function. II. Development of the ability to produce antibody is modulated by T lymphocytes. *J Exp Med* 141: 216, 1975.

MOSIER DE, MATHIESON BJ, CAMPBELL PS. Ly phenotype and mechanism of action of mouse neonatal suppressor T cells. *J Exp Med* 146: 59, 1977.

MUCHMORE AV, DECKER JM. Uromodulin: A unique 85-kilodalton immunosuppressive glycoprotein isolated from urine of pregnant women. *Science* 229: 479, 1985.

MULCAHY LS, SMITH MR, STACEY DW. Requirement for ras protooncogene function during serum-stimulated growth of NIH 3T3 cells. *Nature* 313: 241, 1985.

MURAOKA S, MILLER RG. Cells in murine fetal liver and in lymphoid colonies grown from fetal liver can suppress generation of cytotoxic T lymphocytes directed against their self antigens. *J Immunol* 131: 45, 1983.

MURGITA RA, GOIDL EA, KONTIAINEN S, BEVERLEY PC, WIGZELL H. Adult murine T cells activated in vitro by alpha fetoprotein and naturally occurring T cells in newborn mice. Identity in function and cell surface differentiation antigens. *Proc Natl Acad Sci USA* 75: 2897, 1978.

MURGITA RA, PECK AB, WIGRELL H: Immunosuppressive elements in the fetal and neonatal environment, pp. 317-340. En: Wegmann TG, Cill TJ, ed. *Immunology of reproduction*. New York, Oxford Univ Press, 1983.

MURPHY BEP. Cortisol in amniotic fluid during human gestation. *J Clin Endocr* 40: 164, 1975.

MURPHY TL, DECKER G, AUGUST T. Glycoproteins of coated pits, cell junctions, and the entire cell surface revealed by monoclonal antibodies and immunoelectron microscopy. *J Cell Biol* 97: 533, 1983.

MURRAY J, NORRIE DL, RUTHVEN CRJ. Liquor bilirubin levels in normal pregnancy: a reassessment of early prediction of haemolytic disease. *Br Med J* 4: 387, 1970.

NADLER PI, KLINGENSTEIN RJ, HODES RJ. Ontogeny of murine accessory cells: Ia antigen expression and accessory cell function "in vitro" primary antibody responses. *J Immunol* 125: 914, 1980.

NAGATA K, HUMPHRIES MJ, OLDEN K, YAMADA KM. Collagen can modulate cell interactions with fibronectin. *J Cell Biol* 101: 386, 1985.

NAIDITCH WP, CUNNINGHAM DD. Hexose uptake and control of fibroblast proliferation. *J Cell Physiol* 92: 319, 1977.

NAKAMURA T, NAKAYAMA Y, ICHIHARA A. Reciprocal modulation of growth and liver functions of mature rat hepatocytes in primary culture by an extract of hepatic plasma membranes. *J Biol Chem* 259: 8056, 1984a.

NAKAMURA T, NAKAYAMA Y, TERANOTO H, NAWA K, ICHIHARA A. Loss of reciprocal modulations of growth and liver function of hepatoma cells in culture by contact with cells or cell membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 6398, 1984b.

NAKAMURA T, YOSHIMOTO K, NAKAYAMA Y, TOMITA Y, ICHIHARA A. Reciprocal modulation of growth and differentiated functions of mature rat hepatocytes in primary culture by cell-cell contact and cell membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 7229, 1983.

NAKAYAMA E, ASANO S, KODO H, MIWA S. Suppression of mixed lymphocyte reaction by cells of human first trimester pregnancy endometrium. *J Reprod Immunol* 8: 25, 1985.

NARASIMHAM R, HAY JB, GREAVES MF, MURRAY RK. Studies on the glycolipids of sheep thymus and of normal and concanavalin A-stimulated sheep peripheral lymphocytes. *Biochem Biophys Acta* 43: 578, 1976.

NATRAJ CV, DATTA P. Control of DNA synthesis in growing Balb/c 3T3 mouse cells by a fibroblast growth regulatory factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 75: 6115, 1978.

NELSON GH. Amniotic fluid phospholipid patterns in normal and abnormal pregnancies. *Am J Obstet Gynec* 105: 1072, 1969.

NEWMARK P. Events at the surface of the cell. *Nature* 317: 380, 1985.

NILSSON J, THYBERG J, HELDIN CH, WESTERMARK B, WASTESON B, WASTESON A. Surface binding and internalization of platelet-derived-growth factor in human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 5592, 1983.

NILSSON J, VON EULER AM, DALSGAARD CJ. Stimulation of connective tissue cell growth by substance P and substance K. *Nature* 315: 61, 1985.

NISHIZUKA Y. Turnover of inositol phospholipids and signal transduction. *Science* 225: 1365, 1984a.

NISHIZUKA Y. The role of protein kinase C in cell surface signal transduction and tumour promotion. *Nature* 308: 693, 1984b.

NISSLEY SP, RECHLER MM. Multiplication-stimulating activity (MSA): a somatomedin-like polypeptide from cultured rat liver cells. *Natl Cancer Inst Monogr* 48: 166, 1978.

NOGUCHI H, REDDY GPV, FARDEE AB. Rapid incorporation of label from ribonucleoside diphosphates into DNA by a cell-free high molecular weight fraction from animal cell nuclei. *Cell* 32: 443, 1983.

NUSBAUM MJ, ZETNER A. The content of calcium, magnesium, copper, iron, sodium and potassium in amniotic fluid from eleven to nineteen week's gestation. *Am J Obstet Gynecol* 115: 219, 1973.

OETTGEN HC, TERHORST C, CANTLEY LC, ROSOFF PM. Stimulation of the T3-T cell receptor complex induces a membrane-potential-sensitive calcium influx. *Cell* 40: 583, 1985.

OFFNER H, VANDENBARK AA. Gangliosides inhibit phenotypic and functional properties of an encephalitogenic T-helper lymphocyte line. *Cell Immunol* 95: 84, 1985.

OH SK, MOOLTEN FL. Purification and characterization of an immunosuppressive factor from ovarian cancer ascites fluid. *Eur J Immunol* 11: 780, 1981a.

OH SK, MOOLTEN FL. Nonspecific immunosuppressive factors in malignant ascites: further characterization and possible relationship to erythrocyte receptors of human peripheral T cells. *J Immunol* 127: 2300, 1981b.

OKUDAIRA H, KATAOKA T, OKADA H. Cytotoxic factor demonstrated in lymph node extract. *J Biochem* 68: 379, 1970.

OLABUENAGA SE, BROOKS CG, GILLIS SK, HENNEY CS. Interleukin 2 is not sufficient for the continuous growth of clones NK-like cytotoxic cell lines. *J Immunol* 131: 2386, 1983.

OLDING LB, OLDSTONE MBA. Lymphocytes from human newborns abrogate mitosis of their mothers' lymphocytes. *Nature* 249: 161, 1974.

OLDING LB, OLDSTONE MBA. Thymus-derived peripheral lymphocytes from human newborns inhibit division of their mothers' lymphocytes. *J Immunol* 116: 682, 1976.

OLDSTONE MBA, TISHON A, MORETTA L. Active thymus derived suppressor lymphocytes in human cord blood. *Nature* 269: 333, 1977.

O'NEILL C, RIDDLE P, ROZENGURT E. Stimulating the proliferation of quiescent 3T3 fibroblasts by peptide growth factors or by agents which elevate cellular cyclic AMP level has opposite effects on motility. *Exp Cell Res* 156: 65, 1985.

O'SHEA JJ, HARFORD JB, YLAUSNER RD. Identification and characterization of the phosphatidylinositol kinase in membranes of murine T lymphocytes. *J Immunol* 137: 971, 1986.

OTTEN U, LOREZ HP. Nerve growth factor increases substance P, cholecystoquinin and vasoactive intestinal polypeptide immunoreactivities in primary sensory neurones of newborn rats. *Neurosci Lett* 34: 153, 1983.

OTTESEN EA. Modulation of the host response in human schistosomiasis. I. Adherent suppressor cells that inhibit lymphocyte proliferative responses to parasite antigens. *J Immunol* 123: 1639, 1979.

OTTO AM, NILSEN-HAMILTON NI, BOSS BD, ULRICH MD, JIMENEZ DE ASUA L. Prostaglandins E₁ and E₂ interact with prostaglandin F_{2α} to regulate initiation of DNA replication and cell division in Swiss 3T3 cells. Proc Natl Acad Sci USA 79: 4992, 1982.

OWEN JJ, COOPER MD, RAFT MC. In vitro generation of B lymphocytes in mouse fetal liver, a mammalian "bursa equivalent". Nature 249: 361, 1974.

OWEN WE, VILLERREAL ML. Lys-bradykinin stimulates Na⁺ influx and DNA synthesis in cultured human fibroblasts. Cell 32: 979, 1983.

PARDEE AB. A restriction point for control of normal animal cell proliferation. Proc Natl Acad Sci USA 71: 1286, 1974.

PARDEE AB. Molecules involved in proliferation of normal and cancer cells: presidential address. Cancer Res 47: 1488, 1987.

PARHAR RS, LALA PK. Local immunosuppression of lymphocyte alloreactivity by human decidua cells. Anat Rec 211: 147, 1985.

PARIS S, POUYSSEGUR J. Growth factors activate the Na⁺/H⁺ antiporter in quiescent fibroblasts by increasing its affinity for intracellular H⁺. J Biol Chem 259: 10989, 1984.

PARKER F, BAGDADE JD, ODLAND GF, BIERMAN EL. Evidence for chylomicron origin of lipids accumulating in diabetic eruptive xanthomas: a correlative lipid biochemical, histochemical, and electron microscopic study. J Clin Invest 49: 2172, 1970.

PARKER J, CALDINI G, KRISHNAMURTI C, AHRENS PB, ANKEL H. Binding of interleukin 2 to gangliosides. FEBS Lett 170: 391, 1984.

PARKINSON CE, TAN JC, GAL I. Vitamin A concentration in amniotic fluid and maternal serum related to neural-tube defects. Br J Obstet Gynaecol 89: 935, 1982.

PASTAN I: Cell transformation, pp. 368-370. En: Jakoby WB, Pastan IH, ed. Methods in enzymology, vol LVII, cell culture. New York, Academic Press, 1979.

PASTAN I, JOHNSON SG. Cyclic AMP and the transformation of fibroblast. Adv Cancer Res 19: 303, 1974.

- PELUS C, BOCKMAN R. Increased prostaglandin synthesis by macrophages from tumor-bearing mice. *J Immunol* 123: 2118, 1979.
- PELUS LM, STRAUSSER HR. Indomethacin enhancement of spleen-cell responsiveness to mitogen stimulation in tumorous mice. *Int J Cancer* 18: 653, 1976.
- PENNICA D, NEDWIN GE, HAYFLICK JS, SEEBURG PH, DERYNCK R, PAULADINO MA, KOHR WJ, AGGARWAL BB, GOEDEL DV. Human tumour necrosis factor: precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. *Nature* 312: 724, 1984.
- PERLMAN M, LEVIN M. Fetal pulmonary hypoplasia, anuria and oligohydramnios: clinico-pathologic observations and review of the literature. *Am J Obstet Gynecol* 118: 1119, 1974.
- PETERSON SW, LERCH U. Inhibition of DNA synthesis in SV3T3 cultures by isolated 3T3 plasma membranes. *J Cell Biol* 97: 276, 1983.
- PETERSON SW, LERCH V, MOYNAHAM ME, CARSON MP, VALE R. Partial characterization of a growth-inhibitory protein in 3T3 cell plasma membranes. *Exp Cell Res* 142: 447, 1982.
- PFIZENMAIER K, SCHEURICH P, DAUBENER W, KRONKE M, ROLLINGHOFF M, WAGNER H. Quantitative representation of all T cells committed to develop into cytotoxic effector cells and for interleukin 2 activity-producing helper cells within murine T lymphocyte subsets. *Eur J Immunol* 14: 33, 1984.
- PIAK W, SKOWRON-CENDRZAK A. Fetal suppressor cells. Their influence on the cell-mediated immune responses. *Transplantation* 24: 45, 1977.
- PIERRES M, GERMAIN RN. Antigen-specific T cell-mediated suppression. IV. Role of macrophages in generation of L-Glutamic Acid⁶⁰-L-Alanine³⁰-L-Tyrosine¹⁰ (GAT)-specific suppressor T cells in responder mouse strains. *J Immunol* 121: 1306, 1978.
- PIGUET PF, IRLE C, VASSALLI P. Immunosuppressor cells from newborn mouse spleen are macrophages differentiating in vitro from monoblastic precursors. *Eur J Immunol* 11: 56, 1981.

PIKE LJ, BOWEN-POPE DF, ROSS R, KREBS E. Characterization of platelet derived growth factor-stimulated phosphorylation in cell membranes. *J Biol Chem* 258: 9383, 1983.

PILCH PF, CZECH MP. The subunit structure of the high affinity insulin receptor. Evidence for a disulfide-linked receptor complex in fat cell and liver plasma membranes. *J Biol Chem* 225: 1722, 1980.

PIIKIN RM, ZWIREK SJ. Amniotic fluid creatinine. *Am J Obstet Gynec* 98: 1135, 1967.

PLENTL AA. Formation and circulation of amniotic fluid. *Clin Obstet Gynecol* 9: 427, 1966.

PLESCIA OJ, SMITH AH, GRENVICH K. Subversion of the immune system by tumor cells and the role of prostaglandins. *Proc Natl Acad Sci USA* 72: 1858, 1975.

POLEVA GN, TRUNOVA LA. Concanavalin A-induced suppressors from healthy newborns and pregnant women. *Am J Immunol* 7: 68, 1985.

POPOLO L, ALBERGHINA L. Identification of a labile protein involved in the G₁-to-S transition in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 31: 120, 1984.

POPOLO L, VAI H, ALBERGHINA L. Identification of a glycoprotein involved in cell cycle progression in yeast. *J Biol Chem* 261: 3479, 1986.

PORTOUKALIAN J, ZWINGELSTEIN GK, ABDULMALAK N, DORE JF. Alterations of gangliosides in plasma and red cells of human-bearing melanoma tumors. *Biochem Biophys Res Commun* 85: 916, 1978.

POSTLETHWAITE AE, KESKI-OJA J, MOSES HL, KANG AH. Stimulation of the chemotactic migration of human fibroblasts by transforming growth factor β . *J Exp Med* 165: 251, 1987.

- POUYSSÉGUR J, CHAMBARD JC, FRANCHI A, PARIS S, VAN OBERGHEN-SCHILLING E. Growth factor activation of an amiloride-sensitive Na^+/H^+ exchange system in quiescent fibroblasts: coupling to ribosomal protein S6 phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 79: 3935, 1982.
- POUYSSÉGUR J, SARDET C, FRANCHI A, L'ALLEMAIN G, PARIS S. A specific mutation abolishing Na^+/H^+ antiport activity in hamster fibroblasts precludes growth at neutral and acidic pH. *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 4833, 1984.
- POWLES TH, COOMES RC, NEVILLE AM, FORD HT, GAZET JC, LEVINE L. 15-keto-13,14-dihydroprostaglandin E_2 concentrations in serum of patients with breast cancer. *Lancet* 2: 138, 1977.
- PRENTKI M, WOLHEIM CB, LEW, PD. Ca^{2+} homeostasis in permeabilized human neutrophils. Characterization of Ca^{2+} -sequestering pools and the action of inositol 1,4,5-triphosphate. *J Biol Chem* 259: 13777, 1984.
- PRESCOTT DM. The cell cycle and the control of cellular reproduction. *Adv Genet* 18: 99, 1976.
- PRESCOTT SM, MAJERUS PV. Characterization of 1,2-diacylglycerol hydrolysis in human platelets. Demonstration of an arachidonoyl-monoacylglycerol intermediate. *J Biol Chem* 258: 764, 1983.
- PRITCHARD JA, McDONALD PC: *Williams Obstetrics*, 16th edn. New York, Appleton Century-Crofts, 1980.
- PRPIC V, BLACKMORE PF, EXTON JH. Phosphatidylinositol breakdown induced by vasopressin and epinephrine in hepatocytes is calcium-dependent. *J Biol Chem* 257: 11323, 1982.
- PRUSS RM, HERSCHMAN HR. Cholera toxin stimulates division of 3T3 cells. *J Cell Physiol* 98: 469, 1979.
- PRYWES R, LIVNEH E, ULLRICH A, SCHLESSINGER J. Mutations in the cytoplasmic domain of EGF-receptors affect EGF-binding and receptor internalization. *Eur Mol Biol Organ J* 5: 2179, 1986.

PUMA P, BUXSER SE, WATSON L. Purification of the receptor for nerve growth factor from A875 melanoma cells by affinity chromatography. *J Biol Chem* 258: 3370, 1983.

PUTNEY JW, BURGESS GM, HALENDA SP, MCKINNEY JS, RUBIN RP. Effects of secretagogues on (³²P)phosphatidyl-inositol 4,5-bisphosphate metabolism in the exocrine pancreas. *Biochem J* 212: 483, 1983.

QUASH G, KEOLOUANGKHDT T, GAZZOLO L, RIPOLL H, SAEZ S. Diamine oxidase and polyamine oxidase activities in normal and transformed cells. *Biochem J* 177: 275, 1979.

QUEENAN JT. Amniotic fluid analysis. *Clin Obstet Gynecol* 14: 505, 1971.

RABEN D, LIEBERMAN M, GLASER L. Growth inhibitory protein(s) in 3T3 cell plasma membrane. Partial purification and dissociation of growth inhibitory events from inhibition of amino acid transport. *J Cell Physiol* 108: 35, 1981.

RABIONOWICH H, BAHARY C, BEN-ADERET N, KLAJMAN A. Cellular and humoral suppressor activity induced by concanavalin A-stimulated human fetal liver cells. *Transplantation* 35: 452, 1983.

RAINES E, ROSS R. Platelet-derived growth factor. I. High yield purification and evidence for multiple forms. *J Biol Chem* 257: 5154, 1982.

RAPPAPORT RS, DODGE GR. Prostaglandin E₂ inhibits the production of human interleukin 2. *J Exp Med* 155: 943, 1982.

RATTLE HW, KNEALE GG, BALDWIN JP: Histone complexes, nucleosomes, chromatin and cell-cycle dependent modification of histones, pp. 451-513. En: Nicilini CA, ed. *Chromatin structure and function*. N Y, Plenum Press, 1978.

RAZ A, BUCANA C, FOGLER WE, POSTE G, FIDLER I. Biochemical, morphological and ultrastructural studies on the uptake of liposomes by murine macrophages. *Cancer Res* 41: 487, 1981.

REBECCHI MJ, GERSHENGORN MC. Thyroliberin stimulates rapid hydrolysis of phosphatidylinositol4,5-biphosphate by a phosphodiesterase in rat mammatropic pituitary cells. Evidence for an early Ca^{2+} -independent action. *Biochem J* 216: 287, 1983.

REDDY GPV, PARDEE AB. Multienzyme complex for metabolic channeling in mammalian DNA replication. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 3312, 1980.

REDDY EP, REYNOLDS RK, SANTOS E, BARBACID M. A point mutation is responsible for the acquisition of transforming properties by the T-24 human bladder carcinoma oncogene. *Nature* 300: 149, 1982.

REEM GH, YEH NH. Interleukin 2 regulates expression of its receptor and synthesis of gamma interferon by human T lymphocytes. *Science* 225: 429, 1984.

RESCH K: The role of the plasma membrane in the initiation of lymphocyte activation, pp. 109-125. In: Kaplan JG, ed. *The Molecular Basis of the Immune Cell Function*. Amsterdam, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1979.

RICE MC, O'BRIEN SJ. Genetic variance of laboratory outbred Swiss mice. *Nature* 283: 157, 1980.

RICHARDSON PM, EBENDAL T. Nerve growth activities in rat peripheral nerve. *Brain Res* 246: 57, 1982.

RINDERKNECHT E, HUMBEL RE. Primary structure of human insulin-like growth factor II. *FEBS Lett* 89: 283, 1978.

RIOPPELLER JR, KLEARMAN M, SUTTER A. Nerve growth factor receptors: analysis of the interaction of Beta-NGF with membranes of chick embryo dorsal root ganglia. *Brain Res* 199: 63, 1980.

RITTER K, HARTL R, BANDLOW G, THOMSEN R. Cytostatic effect of gangliosides present in the membrane of macrophages. *Cell Immunol* 97: 248, 1986.

ROBB RJ. Interleukin 2: the molecule and its function. *Immunol Today* 5: 203, 1984.

ROBB RJ. The suppressive effect of gangliosides upon IL2-dependent proliferation as a function of inhibition of IL2-receptor association. *J Immunol* 136: 971, 1986.

ROBB RJ, MUNCK A, SMITH KA. T cell growth factor receptors. Quantitation, specificity and biological relevance. *J Exp Med* 154: 1455, 1981.

ROBERTS AB, ANZANO MA, LAMBJ LC, SMITH JM, SPORN MB. New class of transforming growth factors potentiated by epidermal growth factor: isolation from non-neoplastic tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 5339, 1981.

ROBERTS AB, ANZANO MA, LAMB LC, SMITH HM, SPORN MB. Antagonistic actions of retinoic acid and dexamethasone on anchorage independent growth and epidermal growth factor binding of normal rat kidney cells. *Cancer Res* 44: 1635, 1984.

ROBERTS AB, ANZANO MA, MEYERS CA, WIDEMAN J, BLACHER R, PAN YC, STEIN S, LEHRMAN SR, SMITH JM, LAMB LC. Purification and properties of a type beta transforming growth factor from bovine kidney. *Biochemistry* 22: 5692, 1983.

ROBERTS AB, ANZANO MA, WAKEFIELD LM, ROCHE NS, STERN DF, SPORN MB. Type B transforming growth factor: A bifunctional regulator of cellular growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 119, 1985b.

ROBERTS AB, ROCHE NS, SPORN MB. Selective inhibition of the anchorage-independent growth of myc-transfected fibroblasts by retinoic acid. *Nature* 315: 237, 1985a.

ROBERTS AB, SPORN MB, ASSOIAN RK, SMITH JM, ROCHE NS, WAKEFIELD LM, HEINE UI, LIOTTA LA, FALANGA VA, KEHRL JH, FAUCI AS. Transforming growth factor type β : rapid induction of fibrosis and angiogenesis in vivo and stimulation of collagen formation in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 4167, 1986.

ROCKLIN RE, KITZMILLER JL, KAYE MD. Immunobiology of the maternal-fetal relationship. *Ann Rev Med* 30: 375, 1979.

- RODRIGUEZ-PENA A, ROZENGURT E. Disappearance of Ca^{2+} sensitive, phospholipid-dependent protein kinase activity in phorbol ester-treated 3T3 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 120: 1053, 1984.
- RODRIGUEZ-PENA A, ROZENGURT E. Phosphorylation of an acidic M-80,000 cellular protein in cell-free system and intact Swiss 3T3 cells: a specific marker of protein kinase C activity. *Eur Mol Biol Organ J* 5: 77, 1986.
- ROHRER H, SCHAFFER T, KORSCHING S, THOENEN H. Internalization of nerve growth factor by pheochromocytoma PC12 cells: Absence of transfer to the nucleus. *J Neurosci* 2: 687, 1982.
- ROOK AH, KEHRL JH, WAKEFIELD LM, ROBERTS AB, SPORN MB, BURLINGTON DB, LANE HC, FAUCI AS. Effects of transforming growth factor beta on the functions of natural killer cells: depressed cytolytic activity and blunting of interferon responsiveness. *J Immunol* 136: 3916, 1986.
- ROSSENBLUM AA, SAEK T, FISHER DA. The circulating vasopressinase of pregnancy: species comparison with radioimmunoassay. *Am J Obstet Gynecol* 121: 316, 1975.
- ROSENFELD RG, THORSSON AV, HINTZ RL. Characterization of a specific receptor for somatomedin C (SM-C) on cultured human lymphocytes: evidence that SM-C modulates homologous receptor concentration. *Endocrinology* 107: 1841, 1980.
- ROSENFELDER G, YOUNG VW Jr, HAKOMORI S. Association of the glycolipid pattern with antigenic alterations in mouse fibroblasts transformed by murine sarcoma virus. *Cancer Res* 37: 1333, 1977.
- ROSENTHAL M. Accumulation of neutral lipids by human skin fibroblasts. Differential effects of saturated and unsaturated fatty acids. *Lipids* 16: 173, 1981.
- ROSENTHAL P, RIMM IJ, UMIEL T. Ontogeny of human hematopoietic cells: analysis utilizing monoclonal antibodies. *J Immunol* 131: 232, 1983.

ROSS R. Atherosclerosis: a problem of the biology of arterial wall cells and their interactions with blood components. *Arteriosclerosis* 1: 293, 1981.

ROSS R, VOGEL A. The platelet-derived growth factor. *Cell* 14: 203, 1978.

ROSSOW PW, RIDDLE UGH, PARDEE AB. Synthesis of labile serum-dependent protein in early G₁ controls animal cell growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 4446, 1979.

ROTH JA, GRIMM EA, GUPTA RK, AMES RS. Immunoregulatory factors derived from human tumors. I. Immunologic and biochemical characterization of factors that suppress lymphocyte proliferative and cytotoxic responses in vitro. *J Immunol* 128: 1955, 1982.

ROTH JA, OSBORNE BA, AMES RS. Immunoregulatory factors derived from human tumors. II. Partial purification and further immunobiochemical characterization of a human sarcoma-derived immunosuppressive factor expressing HLA-DR and immunoglobulin-related determinants. *J Immunol* 130: 303, 1983.

ROZENGURT E: The mitogenic response of cultures 3T3 cells: integration of early signals and synergistic effects in a unified framework, pp. 429-452. Ed: Cohen P, Houslay M, ed. *Molecular Mechanisms of Transmembrane Signalling*. Elsevier Science Publishers, 1985.

ROZENGURT E, BROWN, KD, PETTICAN P. Vasopressin inhibition of epidermal growth factor binding to cultured mouse cells. *J Biol Chem* 256: 716, 1981a.

ROZENGURT E, COLLINS M. Molecular aspects of growth factor action: receptors and intracellular signals. *J Pathol* 141: 309, 1983.

ROZENGURT E, COLLINS M, BROWN KD, PETTICAN P. Inhibition of epidermal growth factor binding to mouse cultured cells by fibroblasts-derived growth factor. *J Biol Chem* 257: 3680, 1982.

ROZENGURT E, HEPPEL LA. Serum rapidly stimulates oua-bain-sensitive ^{86}Rb influx in quiescent 3T3 cells. Proc Natl Acad Sci USA 72: 4492, 1975.

ROZENGURT E, LEGG A, STRANG G, COURTENAY-LUCK N. Cyclic AMP: A mitogenic signal for Swiss 3T3 cells. Proc Natl Acad Sci USA 78: 4392, 1981b.

ROZENGURT E, MENDOZA SA. Synergistic signal in mitogenesis: role of ion fluxes, cyclic nucleotides and protein kinase C in Swiss 3T3 cells. J Cell Sci 3: 229, 1985.

ROZENGURT E, RODRIGUEZ-PENA A, COOMBS M, SINNETT-SMITH J. Diacylglycerol stimulates DNA synthesis and cell division in mouse 3T3 cells: role of Ca^{2+} -sensitive phospholipid-dependent protein kinase. Proc Natl Acad Sci USA 81: 5748, 1984.

ROZENGURT E, RODRIGUEZ-PENA A, SINNETT-SMITH J. Signalling mitogenesis in 3T3 cells: role of Ca^{2+} -sensitive, phospholipid-dependent protein kinase. In growth factors in Biology and Medicine. Ciba Found Symp 116: 66, 1985.

ROZENGURT E, RODRIGUEZ-PENA A, SMITH KA. Phorbol esters, phospholipase C, and growth factors rapidly stimulate the phosphorylation of an M.80,000 protein in intact quiescent 3T3 cells. Proc Natl Acad Sci USA 80: 7244, 1983.

ROZENGURT E, SINNETT-SMITH J. Bombesin stimulation of DNA synthesis and cell division in cultures of Swiss 3T3 cells. Proc Natl Acad Sci USA 80: 2936, 1983.

RUDLAND PS, JIMENEZ DE ASUA L. Action of growth factors in the cell cycle. Biochem Biophys Acta 560: 91, 1979.

RUFF MR, GIFFORD GE: Tumor necrosis factor, pp. 235-272. En: Fick E, ed. Lymphokines. New York, Academic Press, 1981.

RUGGIERO R, BONFIL RD, DOGNE PASQUALINI C. Etiología del cáncer: hacia una teoría unificada. Sangre 29: 52, 1984.

SAEED SA, STRICKLAND DM, YOUNG DC, DANG A, MITCHELL MD. Inhibition of prostaglandin synthesis by human amniotic fluid: acute reduction in inhibitory activity of amniotic fluid obtained during labour. *J Clin Endocrinol Metab* 55: 801, 1982.

SALEM HH, WALTERS WA, PERKIN JL, HANDLEY CJ, FIRKIN BG. Aggregation of human platelets by amniotic fluid. *Br J Obstet Gynaecol* 89: 733, 1982.

SALOMON DS. Inhibition of epidermal growth factor binding to mouse embryonal carcinoma cells by phorbol esters mediated by specific phorbol ester receptors. *J Biol Chem* 256: 7958, 1981.

SAJI F, KOYAMA M, KAMEDA T, NEGORO T, NAKAMURA K, TANIZAWA O. Effect of a soluble factor secreted from cultured human trophoblast cells on in vitro lymphocyte reactions. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 13: 121, 1987.

SANCHO L, HERA A, NOGALES A, MARTINEZ C, MONTALBAN MA, ALVAREZ M. Inducción de actividad citotóxica espontánea (NK) en el recién nacido. XI Congreso Nacional Inmunología. Alicante, 1985.

SAP J, MUÑOZ A, DAMM K, GOLDBERG Y, GHYSDAEL J, LEUTZ A, BEUG H, VENNSTROM B. The c-erb-A protein is a high affinity receptor for thyroid hormone. *Nature* 324: 635, 1986.

SATO GH, ROSS R: Hormones and cell culture. N Y, Cold Spring Harbor Laboratory, 1979.

SATO N, GOTO T, HAKAKANA K, SATOMI N, NARIUCHI H, NANO-HIRANO Y, SAWASAKI Y. Actions of tumor necrosis factor on cultured vascular endothelial cells: morphologic modulation, growth inhibition, and cytotoxicity. *J N C I* 76: 1113, 1986.

SATO N, SATO T, TAKAHASHI S, OKUBO M, YAGIHASHI A, KOSHIBA H, KIKUCHI K. Identification of transformation-related antigen by monoclonal antibody on Swiss 3T3 cells induced by transfection with murine cultured colon 36 tumor DNA. *J N C I* 78: 307, 1987.

- SCANE TM, HAWKINS DF. Antibacterial activity in human amniotic fluid: relationship to zinc and phosphate. *Br J Obstet Gynaecol* 91: 342, 1984.
- SCHAFFNER T, TAYLOR K, BARTUCCI EJ, FISCHER-DZOGA K, BEESON JH, GLAGOV S, WISSLER RW. Arterial foam cells with distinctive immunomorphological and histochemical features of macrophages. *Am J Pathol* 100: 57, 1980.
- SCHECHTER AL, STERN DG, VAIDYANATHAN L, DECKER SJ, DREBIN JA, GREENE MI, WEINBERG RA. The neu oncogene: and erb-B-related gene encoding a 185,000-M. tumor antigen. *Nature* 312: 513, 1984.
- SCHER CJ, PETTENMIER CW. The *fms* gene and the CSF-1 receptor. *Cancer Surv* 5: 221, 1986.
- SCHIMPF RM, REPELLIN AM, SALVATONI A, THIERIOT-PRESVOT G, CHATELAIN P. Effect of purified somatomedins on thymidine incorporation into lectin-activated human lymphocytes. *Acta Endocrinol* 102: 21, 1983.
- SCHINKEL PG, FERGUSON KA. Citado por Rocklin y cols., 1979.
- SCHIRAR A, VIELH JP, ACCINDOR LG, GANTRAY JP. Amniotic fluid phospholipids and fatty acids in normal pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 121: 653, 1975.
- SCHLAGER SI, MADDEN LD, MELTZER MS, BARA S, MAMULA MJ. Role of macrophage lipids in regulating tumoricidal activity. *Cell Immunol* 77: 52, 1983.
- SCHALAMOWITZ M. Membrane receptors in the specific transfer of immunoglobulins from mother to young. *Immunol Commun* 5: 481, 1976.
- SCHLESSINGER J. Allosteric regulation of the epidermal growth factor receptor kinase. *J Cell Biol* 103: 2067, 1986.
- SCHMIDT JA, MIZEL SB, COHEN D, GREEN I. Interleukin 1, a potential regulator of fibroblast proliferation. *J Immunol* 128: 2177, 1982.
- SCHNEIDERMAN MH, DEWEY WC, HIGHFIELD DP. Inhibition of DNA synthesis in synchronized Chinese hamster cells treated in G₁ with cycloheximide. *Exp Cell Res* 67: 147, 1971.

SCHREIER MH, ISCOVE MN, TEES R, AARDEN L, VON BOEHMER H. Clones of killer and helper T cells: growth requirements specificity and retention of function in long-term culture. *Immunol Rev* 51: 315, 1980.

SCHREINER WE, SCHMID J: The clinical significance of biochemical tests on the amniotic fluid, pp. 20-45. En: Huntingford PJ, Hüter KA, Saling E, ed. *The Early Detection of Fetal Hypoxia*. Stuttgart, Thieme, 1969.

SCHROIT AJ, GALLILY R. Macrophage fatty acid composition and phagocytosis: effect of unsaturation on cellular phagocytic activity. *Immunology* 36: 199, 1979.

SCHUBERT D: Developmental biology of cultured nerve, muscle and glia, pp. 130-135. Wiley J and Sons, 1984.

SCHULDINER S, ROZENGURT E. Na^+/H^+ antiport in Swiss 3T3 cells: mitogenic stimulation leads to cytoplasmic alkalization. *Proc Natl Acad Sci USA* 79: 7778, 1982.

SCHULMAN JD, QUEENAN JT, DOORES L. Gas chromatographic analysis of concentrations of amino acids in amniotic fluid from early, middle and late periods of human gestation. *Am J Obstet Gynecol* 114: 243, 1972.

SCHULTZ RM, PAVLIDIS NA, STYLOS WA, CHIRIGOS MA. Regulation of macrophage tumoricidal function: a role for prostaglandins of the E series. *Science* 202: 320, 1978.

SCOTT RE, FLORINE DL, WILLE JJ Jr, YUN K. Coupling of growth arrest and differentiation at a distinct state in the G_1 phase of the cell cycle: G_0 . *Proc Natl Acad Sci USA* 79: 845, 1982a.

SCOTT RE, HOERL BJ, WILLE JJ Jr, FLORINE DL, KRAVISH BR, YUN K. Coupling of proadipocyte growth arrest and differentiation. II. A cell cycle model for the physiological control of cell proliferation. *J Cell Biol* 94: 400, 1982b.

SCOTT RE, MARJORIE LW, WILLE JJ Jr. Mechanisms for the initiation and promotion of carcinogenesis: A review and a new concept. *Mayo Clin Proc* 59: 107, 1984.

SEEDS AE, HALLEGERS AE. Acid-base determinations in human amniotic fluid throughout pregnancy. *Am J Obstet Gynec* 101: 257, 1968.

SEKI S, MUELLER GC. Dissociation and reconstitution of the DNA replicase system of Hela cell nuclei. *Biochem Biophys Acta* 435: 236, 1976.

SEPPALA M, AHO I, TISSARI A, RUOSLAHTI E. Radioimmunoassay of oxytocin in amniotic fluid, fetal urine and meconium during late pregnancy and delivery. *Am J Obstet Gynecol* 114: 788, 1972.

SEYBERTH HW, SEGRE GV, MORGAN JL, SWEETMAN BJ, POITS JT, OATES JA. Prostaglandins as mediators of hypercalcemia associated with certain types of cancer. *N Engl J Med* 293: 1278, 1975.

SEYEDIN SM, THOMAS TC, THOMPSON AY, ROSEN DM, PIEZ KA. Purification and characterization of two cartilage-inducing factors from bovine demineralized bone. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 2267, 1985.

SHAPIRO DN, ADAMS BS, NIEDERHUBER JE. Antigen-specific T cell activation results in an increase in cytoplasmic free calcium. *J Immunol* 135: 2256, 1985.

SHAPIRO JR, ROWE DW. Imperfect osteogenesis and osteoporosis (editorial). *N Engl J Med* 310: 1738, 1984.

SHAPOT US: Biochemical Aspect of Tumour Growth. Moscow, M I R, 1980.

SHEIFETZ S, LIKE B, MASSAQUE J. Cellular distribution of type I and type II receptors for transforming growth factor- β . *J Biol Chem* 261: 9972, 1986.

SHIH C, PADHY LC, MURRAY M, WEINBERG RA. Transforming genes of carcinomas and neuroblastomas introduced into mouse fibroblasts. *Nature* 290: 261, 1981.

SHILO B, RIDDLE UGH, PARDEE AB. Protein turnover and cell cycle initiation in yeast. *Exp Cell Res* 123: 221, 1979.

SHIPLEY GD, PITTELKOW MR, WILLE JJ, SCOTT RE, MONES HL. Reversible inhibition of normal human prokeratinocyte proliferation by type beta transforming growth factor-growth inhibitor in serum-free medium. *Cancer Res* 46: 2068, 1986.

SHOYAB M, DE LARCO JE, TODARO GJ. Biologically active phorbol esters specifically alter affinity of epidermal growth factor membrane receptors. *Nature* 279: 387, 1979.

SIEGEL I, DUDKIEWICZ A, FRIBERG J. Inhibition of sperm motility and agglutination of sperm cells by free fatty acids in whole semen. *Fertil Steril* 45: 273, 1986.

SIEGEL I, LIU TL, YAGHOUBZADEH E, KESKEY TS, GLEICHER N. Cytotoxic effects of free fatty acids on ascites tumor cells. *J N C I* 78: 271, 1987.

SINGH EJ, ZUSPAK FP. Content of amniotic fluid prostaglandins in normal, diabetic and drug-abuse human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 118: 358, 1974.

SKUWRON-CENDRZAK A, PTAK W. Suppression of local graft-versus-host reactions by mouse fetal and newborn spleen cells. *Eur J Immunol* 6: 541, 1976.

SILVERSTEIN AM: Immunological maturation in the foetus: modulation of the pathogenesis of congenital infections diseases, pp. 17. En: *Ciba Foundation Symposium. Ontogeny of Acquired Immunity.* Amsterdam, Elsevier, 1972.

SIMKIN NJ, JELINEK DF, LIPSKY PE. Inhibition of human B cell responsiveness by prostaglandin E₂. *J Immunol* 138: 1074, 1987.

SINNETT-SMITH J, ROZENGURT E. Diacylglycerol treatment rapidly decreases the affinity of the epidermal growth factor receptors of Swiss 3T3 cells. *J Cell Physiol* 124: 81, 1985.

SITTMAN DB, GRAVES RA, MARZLUFF WF. Histone mRNA concentrations are regulated at the level of transcription and mRNA degradation. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 1849, 1983.

SKIPSKI VP, GITTERMAN CO, PRENDERGAST JS, BITET-YEN K, LEE G, LUELL G, STOCK CC. Possible relationship between glycosphingolipids and the formation of metastasis in certain human experimental tumors. J Natl Cancer Inst 65: 249, 1980.

SKIPSKI VP, KATOPODIS N, PRENDERGAST JS, STOCK CC. Gangliosides in the blood serum at normal rats and Morris hepatoma 5123tc-bearing rats. Biochem Biophys Res Commun 67: 1122, 1975.

SLAMON DJ, DE KERNION JB, VERMA IM, CLINE MJ. Expression of cellular oncogenes in human malignancies. Science 224: 256, 1984.

SLAPSYS RM, CLARK D. Active suppression of host-vs-graft reaction in pregnant mice. IV. Local suppressor cells in decidua and uterine blood. J Reprod Immunol 4: 355, 1982.

SLAPSYS RM, CLARK DA. Active suppression of host-versus-graft reaction in pregnant mice. V. Kinetics, specificity, and in vivo activity of non-T suppressor cells. Am J Reprod Immunol Microbiol 3: 65, 1983.

SMITH AD, CONROY DM, BELIN J. Membrane lipid modification and immune function. Proc Nutr Soc 44: 201, 1985a.

SMITH CJ, MASCHLER R, MAURER HR, ALLEN JC. Inhibition of cells in culture by polyamines does not depend on the presence of ruminant serum. Cell Tissue Kinet 16: 269, 1983.

SMITH CJ, OTTO AM, JIMENEZ DE ASUA L. Prostaglandins and the proliferation of cultured animal cells, pp. 131-160. Ed: Guroff G, ed. Growth and maturation factors, Vol 2. USA Wiley-Interscience Publication, 1984.

SMITH DW: Recognizable Patterns of Human Malformation, 3rd edn. Philadelphia, Saunders WB, 1982.

SMITH JB, ROZENGURT E. Serum stimulates the Na⁺, K⁺ pump in quiescent fibroblasts by increasing Na⁺ entry. Proc Natl Acad Sci USA 75: 5560, 1978.

- SMITH JM, SPORN MB, ROBERTS AB, DERYNCK R, WINKLER ME, GREGORY H. Human transforming growth factor- α causes precocious eyelid opening in newborn mice. *Nature* 315: 515, 1985b.
- SMITH KA. Continuous cytotoxic T-cell lines. *Contemp Top Immunobiol* 11: 139, 1980.
- SNYDER DS, LU CY, UNANUE ER. Control of macrophage Ia expression in neonatal mice. Role of a splenic suppressor cell. *J Immunol* 128: 1458, 1982.
- SPANDIDOS DA. The human T24 Ha-ras-1 oncogene: a study of the effects of overexpression of the mutated ras gene product in rodent cells. *Anticancer Res* 6: 259, 1986.
- SPECTOR AA, FLETCHER JE. Transport of fatty acid, pp. 229-249. En: Dietschy JM, Gotto AM, Ontko JA, ed. *Disturbance in lipid and lipoprotein metabolism*. Bethesda, MD: Ann Physiol Soc, 1978.
- SPELLACY WN, BUHI WC, BRADLEY B, HOLSINGER KT. Maternal fetal and amniotic fluid levels of glucose, insulin and growth hormone. *Obstet and Gynec* 41: 323, 1973.
- SPIEGEL S, YA ADA KM, POM BE, MOSS J, FISHMAN PH. Fibillar organization of fibronectin is expressed coordinately with cell surface gangliosides in a variant murine fibroblasts. *J Cell Biol* 102: 1898, 1986.
- SPORN MB, ROBERTS AB. Autocrine growth factors and cancer. *Nature* 313: 745, 1985.
- SPORN MB, ROBERTS AB. Peptide growth factors and inflammation, tissue repair, and cancer. *J Clin Invest* 78: 329, 1986.
- SPORN MB, ROBERTS AB, SHULL JH, SMITH JM, WARD JM, SODEK J. Polypeptide transforming growth factors isolated from bovine sources and used for wound healing in vivo. *Science* 219: 1329, 1983.
- SPORN MB, ROBERTS AB, WAKEFIELD LM, ASSOLAN RK. Transforming growth factor- β : biological function and chemical structure. *Science* 233: 532, 1986.

- SPORN MB, TODARO GJ. Autocrine secretion and malignant transformation of cells. *N Engl J Med* 303: 878, 1980.
- STALLCUP KC, BURAKOFF SJ, MESCHER MF. Growth inhibitory activity of lymphoid cell plasma membranes. II. Partial characterization of inhibitor. *J Cell Biol* 99: 1223, 1984c.
- STALLCUP KC, BURAKOFF ST, MESCHER MF. Inhibition of non-T lymphocyte responses by cell membranes. *Cell Immunol* 89: 1, 1984a.
- STALLCUP KC, DAWSON A, MESCHER MF. Growth inhibitory activity of lymphoid cell plasma membranes. I. Inhibition of lymphocyte lymphoid tumor cell growth. *J Cell Biol* 99: 1217, 1984b.
- STALLCUP KC, LIU YN, DORF ME, MESCHER MF. Inhibition of lymphoid cell growth by a lipid-like component of macrophage hybrid cells. *J Immunol* 136: 2723, 1986.
- STECK PA, BLENIS J, VOSS PG, WANG JL. Growth control in cultured 3T3 fibroblasts. II. Molecular properties of a fraction enriched for growth inhibitory activity. *J Cell Biol* 92: 523, 1982.
- STECK PA, VOSS PG, WANG JL. Growth control in cultures of fibroblasts. Assays of cell proliferation and demonstration of growth inhibitory activity. *J Cell Biol* 83: 562, 1979.
- STEELE JK, STAMMERS AT, CHAN A, MAIER T, LEVY JG. Preliminary characterization of a soluble immunosuppressive molecule from DBA/2 spleen cells using monoclonal antibody immunoadsorbence. *J Immunol* 90: 303, 1985.
- STEIN KE, MARCUS DM. Glycosphingolipids of purified human lymphocytes. *Biochemistry* 16: 5285, 1977.
- STEINERT PM, WANTZ ML, IDLER WV. O-phosphoserine content of intermediate filament subunits. *Biochem* 21: 177, 1982.
- STEINMAN RM, MELLMAN IS, MULLER WA, COHN ZA. Endocytosis and recycling of plasma membrane. *J Cell Biol* 96: 1, 1983.
- STENSON WF, PARKER CW. Prostaglandins and the immune response. 30. En: Lee JB, ed. *Prostaglandins*. New York, Elsevier, 1982.

- STEWART CC. Local proliferation of mononuclear phagocytes in tumor. *J Reticuloendothel Soc* 34: 23, 1983.
- STILES CD, CAPONE GI, SCHER CD, ANTONIADES HN, VAN WYK JJ, PLEDGER WJ. Dual control of cell growth by somatomedins and platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 1279, 1979.
- STILES CD, DEMON W, CHUMAN LM, SATO G, SAIER J. Growth regulation of heterologous tissue culture cells in the congenitally athymic nude mice. II. Relationship of growth behaviour "in vitro" to tumorigenicity. *Cancer Res* 36: 3300, 1976.
- STILES CD, PLEDGER WJ, TUCKER RV, MARTIN RG, SCHER CD. Regulation of the Balb/c-3T3 cell cycle: effects of growth factors. *J Supramol Struct* 13: 489, 1980.
- STIMSON WH. Are pregnancy-associated serum proteins responsible for the inhibition of lymphocyte transformation by pregnancy serum? *Clin Exp Immunol* 40: 157, 1980.
- STITES DP, SIITERI PK. Steroids as immunosuppressants in pregnancy. *Immunological Rev* 75: 117, 1983.
- STOBO JD. Immunosuppression in man: suppression by macrophages can be mediated by interactions with regulatory T cells. *J Immunol* 119: 918, 1977.
- STOKER MGP. Role of diffusion boundary layer in contact inhibition of growth. *Nature* 246: 200, 1973.
- STOKER MGP, PIGGOTT D. Shaking 3T3 cells: further studies on diffusion boundary effects. *Cell* 3: 207, 1974.
- STOKER MGP, RUBIN H. Density-dependent inhibition of cell growth in culture. *Nature* 215: 171, 1967.
- STONE DL, SUZUKI Y, WOOD GW. Human amnion as a model for Ig G transport. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 13: 36, 1987.
- STONE-WOLFF DS, YIP YK, KERKER HC, LE J, HENRIKSEN-DeSTETANO D, RUBIN B, RINDERKNECHT E, AGGARWAL BB, VILCEK J. Interrelationships of human interferon-gamma with lymphotoxin and monocyte cytotoxin. *J Exp Med* 159: 828, 1984.

- STREB H, BAYERDORFFER E, HAASE W, IRVINE RF, SCHULZ J. Effect of inositol-1,4,5-triphosphate on isolated subcellular fractions of rat pancreas. *J Membr Biol* 81: 241, 1984.
- STROBEL-STEVENS JD, LACEY JC Jr. Further evidence for an inhibitor of proliferation elaborated by normal human fibroblasts in culture: partial characterization of the inhibitor. *J Cell Physiol* 106: 201, 1981.
- STROBER S. Natural suppressor (NS) cells, neonatal tolerance and total lymphoid irradiation. *Ann Rev Immunol* 2: 219, 1984.
- SUGAMURA K, NAKAI S, FUJII M, HINUMA V. Interleukin 2 inhibits in vitro growth of human T cell lines carrying retrovirus. *J Exp Med* 161: 1243, 1985.
- SUGARMAN BJ, LEVIS GD, BESSALV TE, AGGARWAL BB, SHEPARD HM. Effect of growth factors on the antiproliferative activity of TNF. *Cancer Res* 47: 780, 1987.
- SUGIMOTO Y, WHITMAN M, CANTLEY LC, ERICKSON RL. Evidence that the Rous sarcoma virus transforming gene product phosphorylates phosphatidylinositol and diacylglycerol. *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 2117, 1984.
- SUNDERLAND CA, REDMAN CWG, STIRRAT GM. HLA A,B,C antigens are expressed on nonvillous trophoblast of the early human placenta. *J Immunol* 127: 2614, 1981.
- SUZUKI K, TOMASI TS. Mechanism of immune suppression by murine neonatal fluids. *J Immunol* 125: 1806, 1980.
- SVENDSEN EK, GRUNDT I. Total lipids and lipid pattern in amniotic fluid and vernix caseosa. A preliminary report. *Acta Obstet Gynec Scand* 45, Suppl 9: 80, 1966.
- TABOR CW, TABOR H. Polyamines. *Ann Rev Biochem* 53: 749, 1984.
- TAFFET SM, PACE JL, RUSSELL SW. Lymphokine maintains macrophage activation for tumor cell killing by interfering with the negative regulatory effect of prostaglandin E₂. *J Immunol* 127: 121, 1981.

TAFFET SM, RUSSELL SW. Macrophage-mediated tumor cell killing: regulation of expression of cytolytic activity by prostaglandin E. *J Immunol* 126: 424, 1981.

TAKEMURA-HATTORI R, YAMAZAKI M, KURISU M, MIZUNO D. Depression of macrophage function by lipoprotein from tumorous ascites. *Gaun* 71: 206, 1980.

TAMBY RAJA RL, KARIM SMM, SALMON JA, RATNAM SS: Prostaglandins and post-maturity, pp. 271-278. Ed: Karim SMM, ed. *Obstetric and Gynaecological Uses of Prostaglandins*. Lancaster, M T P, 1976.

TATEYAKA I, TOMINAGA T, KAMITANI N, MORI T. Tumorigenicity of the cell lines (TTK-1 cell lines) derived from normal human decidua in nude mouse. *Acta Obstet Gynecol Jpn* 36: 2115, 1984.

TATSUMI K, MORI T, MORI E, KANZAKI H, MORI T. Immunoregulatory factor released from a cell line derived from human decidual tissue. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 13: 87, 1987.

TAVERNE J, MATTHEWS N, DEPLEDGE P, PLAYFAIR JHL. Malarial parasites and tumor cells are killed by the same component of tumor necrosis serum. *Clin Exp Immunol* 57: 293, 1984.

TAYLOR MV, METCALFE JC, HESKETH TR, SMITH GA, MOORE JP. Mitogens increase phosphorylation of phosphoinositides in thymocytes. *Nature* 312: 462, 1984.

THOENEN H, SCHWAB M, OTTEN U. Nerve growth factor as a mediator of information between effector organs and innervating neurons. *Symposium of the Society for Developmental Biology* 35: 101, 1978.

TEMIN HM. Stimulation by serum of multiplication of stationary chick cells. *J Cell Physiol* 78: 161, 1971.

TERSKIKH VV: Periods of rest in normal and malignant cell systems, pp. 165-193. *Cellular cycle*. Moscow, Nauka, 1973.

THOMAS G, THOMAS G. Translational control of mRNA expression during the early mitogenic response in Swiss mouse 3T3 cells: identification of specific proteins. *J Cell Biol* 103: 2137, 1986.

- THOMAS KA, BAGLAN NC, GRADSHAW RA. The amino acid sequence of the gamma-subunit of mouse submaxillary gland 75 nerve growth factor. *J Biol Chem* 256: 9156, 1981.
- THOMPSON PA, JELINEK DF, LIPSKY PE. Regulation of human B cell proliferation by prostaglandin E₂. *J Immunol* 133: 2446, 1984.
- THRASH CR, CUNNINGHAM DD. Growth limitation of 3T3 mouse fibroblasts by available growth surface area and medium components. *J Cell Physiol* 86: 301, 1975.
- TILDEN AB, BALCH CM. A comparison of PGE₂ effects on human suppressor cell function and on interleukin 2 function. *J Immunol* 129: 2469, 1982.
- TING CC, HARGROVE ME. Regulation of the activation of cytotoxic T-lymphocytes by prostaglandins and antigens. *J Immunol* 133: 660, 1984.
- TODARO GJ, DeLARCO JE, COHEN S. Transformation by murine and feline sarcoma viruses specifically blocks binding of epidermal growth factor to cells. *Nature* 264: 26, 1976.
- TODARO GJ, FRYLING C, DeLARCO JE. Transforming growth factors produced by certain human tumor cells: polypeptides that interact with human EGF-receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 5258, 1980.
- TODARO GJ, GREEN H. Quantitative studies of the growth of mouse embryo cells in culture and their development into established lines. *J Cell Biol* 17: 299, 1963.
- TODER V, NEBEL L, ELRAD H. Studies of natural killer cells in pregnancy. II. The immunoregulatory effect of pregnancy substances. *J Clin Lab Immunol* 14: 129, 1984.
- TOLNAI S, MORGAN JF. Studies on the in vitro antitumor activity of fatty acids. V. Unsaturated acids. *Can J Biochem Physiol* 40: 869, 1962.
- TOMAS CD: Clinics in haematology. Aplastic anaemia. Londres, WB Saunders, 1978.

TOMASI TB, MURGITA RA, THOMPSON RL: Alpha-fetoprotein and the immune response during murine pregnancy and neonatal development, pp. 273-285. En: Dayton DB, ed. Development of Host Defenses. New York, Raven Press, 1977.

TRUNEH A, ALBERT F, GOLDSTEIN P, SCHMITT-VERHULST AM. Early steps of lymphocyte activation bypassed by synergy between calcium ionophores and phorbol ester. *Nature* 313: 318, 1985.

TSIEN RY, POZZAN T, RINK TJ. T-cell mitogen causes early changes in cytoplasmic free Ca^{2+} and membrane potential in lymphocytes. *Nature* 295: 68, 1983.

TSUJIMOTO M, YIP YK, VILCEK J. Tumor necrosis factor: specific binding and internalization in sensitive and resistant cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 7626, 1985.

TSUJIMOTO M, YIP YK, VILCEK J. IFN-gamma enhances expression of cellular receptors for tumor necrosis factor. *J Immunol* 136: 2441, 1986.

TUCKER RF, BRANUM EL, SHIPLEY GD, RYAN RJ, MOSES HL. Specific binding to cultured cells of ^{125}I -labeled type β transforming growth factor from human platelets. *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 6757, 1984a.

TUCKER RF, SHIPLEY GD, MOSES HL, HOLLEY RW. Growth inhibitor from BSC-1 cells closely related to platelet type beta transforming growth factor. *Science* 226: 705, 1984b.

TUCKER RF, VOLKENANT ME, BRANUM EL, MOSES HL. Comparison of intra- and extracellular transforming growth factors from nontransformed and chemically transformed mouse embryo cells. *Cancer Res* 43: 1581, 1983.

TURNER JE, SCHWAB ME, THOENEN H. Nerve growth factor stimulates neurite outgrowth from goldfish retinal explants: The influence of a prior lesion. *Develop Brain Res* 4: 59, 1982.

TURNER LV, GARLICK PJ. The effect of unilateral phrenicectomy on the rate of protein synthesis in rat diaphragm in vivo. *Biochem Biophys Acta* 563: 155, 1974.

TURNER WA, TAYLOR JD, HONN KV: Effects of prostaglandin A series on tumor cells "in vitro", pp. 369-373. En: *Prostaglandins and Cancer, First International Conference*. New York, Liss AR, 1982.

TUSHINSKY RJ, WARNER JR. Ribosomal proteins are synthesized preferentially in cells commencing growth. *J Cell Physiol* 112: 128, 1982.

ULLRICH A, BELL JR, CHEN EY, HERRERA R, PETRUZZELLI LM, DULL TJ, GRAY A, COUSSENS L, LIAO YC, TSUBOKAWA M, MASON A, SEEBURG PH, GRUNFIELD C, ROSENFELD DM, RAMACHANDRAN J. Human insulin receptor and its relationship to the tyrosine kinase family of oncogenes. *Nature* 313: 756, 1985.

ULLRICH A, COUSSENS L, HAYFLICK JS, DULL TJ, GRAY A, TAM AV, LEE J, YARDEN Y, LIBERMANN TA, SCHLESSINGER J, DOWNWARD J, MAYES ELV, WHITTLE N, WATERFIELD MD, SEEBURG PH. Human epidermal growth factor receptor cDNA sequence and aberrant expression of the amplified gene in A-431 epidermoid carcinoma cells. *Nature* 309: 418, 1984.

UNGAR F, GEIGER B, BEN-ZE'EV A. Cell contact- and shape-dependent regulation of vinculin synthesis in cultured fibroblasts. *Nature* 319: 787, 1986.

USHIRO H, COHEN S. Identification of phosphotyrosine as a product of epidermal growth factor-activated protein kinase in A-431 cell membranes. *J Biol Chem* 255: 8363, 1980.

UTERMOHLEN V, TUCKER MAN. Possible effects of dietary n-6 series polyunsaturated fatty acids on the development of immune dysfunction and infection. *Proc Nutr Soc* 45: 327, 1986.

VALE RD, PETERSON SW, MATIUCK NV, FOX CF. Purified plasma membranes inhibit polypeptide growth factor-induced DNA synthesis in subconfluent 3T3 cells. *J Cell Biol* 98: 1129, 1984.

- VANDERBEEKEN Y, Vlieghe MP, DELESPESE G, DUNCHATEAU J. Characterization of immunoregulatory T cells during pregnancy by monoclonal antibodies. *Clin Exp Immunol* 48: 118, 1982.
- VAN DER WERF AJM. Are lymphocytotoxic iso-antibodies induced by early human trophoblast? *Lancet* 1: 595, 1971.
- VAN FRUTH R, DISSELHOFF-DEN DULK MMC. Dual origin of mouse spleen macrophages. *J Exp Med* 160: 1273, 1984.
- VAN FURTH R, VAN DER MEER JWM, BLUSSE VAN OUD ALBAS A, SLUITER V: Development of mononuclear phagocytes, pp. 25. En: Cohn ZA, Mizuno D, Takeya K, Ishida N, ed. *Self-Defence Mechanism-Role of Macrophages*. Tokyo, University of Tokyo Press, 1982.
- VAN GEUNS HJ, VEIH AFL, VAN KESSEL H: Creatinine in the amniotic fluid, pp. 157-170. En: Eskes TKAB, ed. *Aspects of Obstetrics Today*. Amsterdam, Excerpta Medica, 1975.
- VAN TOL MJD, ZIJLSTRA J, HEIJNEW CJ, KUIS W, ZEGERS BJM, BALLIEUX RE. Antigen-specific plaque-forming cell response of human cord blood lymphocytes after in vitro stimulation by T cell-dependent antigens. *Eur J Immunol* 13: 390, 1983.
- VARA F, ROZENGURT E. Stimulation of Na^+/H^+ antiport activity by epidermal growth factor and insulin occurs without activation of protein kinase C. *Biochem Biophys Commun* 130: 646, 1985.
- VARA F, SCHNEIDER JA, ROZENGURT E. Ionic responses rapidly elicited by activation of protein kinase C in quiescent Swiss 3T3 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 2384, 1985.
- VARON S, NOMURA J, SHOOTER EM. Subunit structure of a high-molecular-weight form of the nerve growth factor from mouse submaxillary gland. *Biochem* 57: 1782, 1967.
- VILCEK J, PALOMBELLA VJ, HENRIKSEN-DeSTEFANO D, SWENSON C, FEINMAN R, HIRAI M, TSUJIMOTO M. Fibroblasts growth enhancing activity of tumor necrosis factor and its relationship to other polypeptide growth factors. *J Exp Med* 163: 632, 1986.

VIRELLA G, NUNES M, TAMAGNINI G. Placental transfer of Ig G subclass. Clin Exp Immunol 10: 475, 1972.

VIROLAINEN M, DIFFENDI V. Dependence of macrophage growth in vitro upon interaction with other cell types. Wistar Inst Symp Monogr 7: 67, 1967.

VISHWANATHA JK, COUGHLIN SA, WESOLOWSKI-OWEN M, BARIL EF. A multiprotein form of DNA polymerase α from HeLa cells. J Biol Chem 261: 6619, 1986.

VITIELLO A, MACCARIO R, MONTAGNE D. Lymphocyte subpopulations in the neonate: A subset of HNK-1⁻, OKT3⁻, OKT8⁺ lymphocytes displays natural killer activity. Cell Immunol 85: 252, 1984.

VOGEL A, ROSS R, RAINES E. Role of serum components in density-dependent inhibition of growth of cells in culture. Platelet-derived growth factor is the major serum determinant of saturation density. J Cell Biol 85: 377, 1980.

VOSS PG, STECK PA, CALAMIA JC, WANG JL. Growth control in cultured 3T3 fibroblasts. III. Binding interactions of a growth inhibitory activity with target cells. Exp Cell Res 135: 397, 1982.

WADEE AA, MENDELSON D, RABSON AR. Characterization of a suppressor cell-activating factor (SCAF) released by adherent cells treated with M tuberculosis. J Immunol 130: 2266, 1983.

WAGSTAFF TI, WHYLEY GA, FREEDMAN G. Factors influencing the measurement of the lecithin/sphingomyelin ratio in amniotic fluid. J Obstet Gynaec Brit Cwlt 81: 264, 1974.

WALKER P. The mouse submaxillary gland: a model for the study of hormonally dependent growth factors. Review article. J Endocrinol Invest 5: 183, 1982.

WALNOWSK J, CONTE FA, GROMBACH MM. Practical and theoretical implications of fetal/maternal lymphocyte transfer. Lancet 1: 1119, 1969.

- WANG JL, STECK PA, KURTZ JW. Growth control in cultured 3T3 fibroblasts: molecular properties of a growth regulatory factor isolated from conditioned medium. Cold Spring Harbor Conf Cell Proliferation 9: 305, 1982.
- WARDEN CH, FRIEDKIN M. Regulation of choline kinase activity and phosphatidylcholine biosynthesis mitogenic growth factors in 3T3 fibroblasts. J Biol Chem 260: 6006, 1985.
- WASSERMAN V, RICHTER JD, SMITH LD. Protein synthesis during maturation promoting factor- and progesterone-induced maturation in *Xenopus* oocytes. Dev Biol 89: 152, 1982.
- WATFIELD MD, SCRACE GT, WHITTLE N, STROOBAND P, JOHNSON A, WASTESON A, WESTERMARK G, HELDIN G, HUANG JS, DEVEL TF. Platelet-derived growth factor in structurally related to the putative transforming protein-P28SIS of simian sarcoma virus. Nature 304: 35, 1983.
- WEINBERGER C, THOMPSON CC, ONG ES, LEBO R, GRUOL DJ, EVANS RM. The c-erb-A gene encodes a thyroid hormone receptor. Nature 324: 641, 1986.
- WEISS A, WISKOCIL RL, STOBO JD. The role of T3 surface molecules in the activation of human T cells: a two-stimulus requirement for IL 2 production reflects events occurring at a pretranslational level. J Immunol 133: 123, 1984.
- WEISS SJ, MCKINNEY JS, PUTNEY JW. Receptor-mediated net breakdown of phosphatidylinositol4,5-biphosphate in parotid acinar cells. Biochem J 206: 555, 1982.
- WEISS SJ, PUTNEY JW. The relationship of phosphatidylinositol turnover to receptors and calcium-ion channels in rat parotid acinar cells. Biochem J 194: 463, 1981.
- WELLS V, MALLUCCI L. Properties of a cell growth inhibitor produced by mouse embryo fibroblasts. J Cel Physiol 117: 148, 1983.

- WELTE K, ANDREEF MK, PLATZER E, HOLLOWAY K, RUBIN BY, MOORE MAS, MERTELSMANN R. Interleukin 2 regulates the expression of Tac antigen on peripheral blood T lymphocytes. *J Exp Med* 160: 1390, 1984.
- WHISLER RL, YATES AJ. Regulation of lymphocyte responses by human gangliosides. *J Immunol* 125: 2106, 1980.
- WHITELEY B, CASSEL D, ZHUANG Y, GLASER L. Tumor promoter phorbol 12-myristate 13-acetate inhibits mitogen stimulated Na^+/H^+ exchange in human epidermoid carcinoma A-431 cells. *J Cell Biol* 99: 1162, 1984.
- WHITELEY B, DUEL T, GLASER L. Modulation of the activity of the platelet-derived growth factor receptor by phorbol myristate acetate. *Biochem Biophys Res Commun* 129: 854, 1985.
- WHITELEY B, GLASER L. EGF promotes phosphorylation at Threonine-654 of the EGF-receptor: possible role of protein kinase-C in homologous regulation of the EGF-receptor. *J Cell Biol* 103: 1355, 1986.
- WHITELEY PJ, NEEDLEMAN P. Mechanism of enhanced fibroblasts arachidonic acid metabolism by mononuclear cell factor. *J Clin Invest* 74: 2249, 1984.
- WHITTENBERGER B, GLASER L. Inhibition of DNA synthesis in cultures of 3T3 cells by isolated surface membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 74: 2251, 1977.
- WHITTENBERGER B, RABN D, LIEBERMAN MA, GLASER L. Inhibition of growth of 3T3 cells by extract of surface membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 75: 5457, 1978.
- WIER ML, HOERL BJ, SCOTT RE. The integrated control of stem cell proliferation and differentiation (Abstrac). *Fed Proc* 42: 388, 1983.
- WIESER RJ, HECK R, OESCH F. Involvement of plasma membrane glycoproteins in the contact-dependent inhibition of growth of human fibroblasts. *Exp Cell Res* 158: 493, 1985.

WIESER RJ, OESCH F. Contact inhibition of growth of human diploid fibroblasts by immobilized plasma membrane glycoproteins. *J Cell Biol* 103: 361, 1986.

WILD AE: Mechanism of protein transport across the rabbit yolk sac endoderm, pp. 155-167. In: Hemmings WA, ed. *Maternofetal transmission of immunoglobulins*. London, Cambridge University Press, 1976.

WILE AG, HENSEN D, NAHABEDIAN M, IBSEN KH, GRANGER GA. Soluble suppressor factors elaborated in experimental malignant ascites. *Cell Immunol* 86: 347, 1984.

WINKLER MM, NELSON EM, LASHBROOK C, HERSHEY JWB. Multiple levels of regulation of protein synthesis at fertilization in sea urchin eggs. *Dev Biol* 107: 290, 1985.

WITTE LD, KAPLAN KL, NOSSEL HL. Studies of the release from human platelets of the growth factor for cultured human arterial smooth muscle cells. *Circulatory Res* 42: 402, 1978.

WOLF RL, ANDREONI J. Soluble inhibitory factor (SIF) in normal human serum. *Cell Immunol* 67: 299, 1982.

WOLF RL, ILEKIS J, BENVENISTE R. Characterization of an immune suppressor from transformed human trophoblastic JEG-B cells. *Cell Immunol* 78: 356, 1983.

WOLF RL, MERLER E. Role of lipids in the immune response. I. Localization to a lipid containing fraction of the active moiety of an inhibitor (SIF) of lymphocyte proliferation. *J Immunol* 123: 1169, 1979.

WOOD GW. Role of macrophages in the elimination of anti-fetal antibody during its transport through the human placenta. *Surv Synth Path Res* 1: 196, 1983.

WOOD GW, BJERRUM K, JOHNSON B. Detection of Ig G bound within human trophoblast. *J Immunol* 129: 1479, 1982.

WOOD GW, KING CR. Binding of antigen-antibody complexes to mononuclear phagocytes in chorionic villi of human placenta. *Placenta* 3: 85, 1981.

WOOD GW, KING CR. Trapping antigen-antibody complexes within the human placenta. *Cell Immunol* 69: 347, 1982.

WRANN M, FOX CF, ROSS R. Modulation of epidermal growth factor receptors on 3T3 cells by platelet-derived growth factor. *Science* 210: 1363, 1980.

WU KF, POPE JH, ELLEM KAO. Inhibition of growth of certain human tumour cell lines by a factor derived from human fibroblasts-like cell lines. I. Demonstration by mixed culture and by use of cell washings. *Int J Cancer* 35: 477, 1985.

YAMAMOTO T, NISHIDA T, MIYAJIMA M, KAWAI S, OOI T, TOYOSHIMA K. The erb-B gene of avian erythroblastosis virus is a member of the src gene family. *Cell* 35: 71, 1983.

YAMAZAKI M, IKENAMI M, YUI S, ESUMIKURISU M, MIZUNO D. Antitumor activity of macrophages grown in tumorous ascitic fluid. *Gann* 74: 155, 1983.

YANG HC, PARDEE AB. Insulin-like growth factor I regulation of transcription and DNA replicating enzyme induction necessary for DNA synthesis. *J Cell Physiol* 127: 410, 1986.

YAOI Y. Growth-inhibitory glycopeptides obtained from the cell surface of cultured chick embryo fibroblasts. *Exp Cell Res* 154: 147, 1984.

YARDEN Y, HARARI I, SCHALESSINGER J. Purification of an active EGF-receptor kinase with monoclonal anti-receptor antibodies. *J Biol Chem* 260: 315, 1985.

YATES AJ, HITCHCOCK CL, STEWART SS, WHISLER RL: Immunological properties of gangliosides, pp. 419-433. In: Sweeley CC, ed. *Cell Surface Glycolipids*. Washington, DC: American Chemical Society, 1980.

YING SY, BECKER A, LING N, UENO N, GUILLEMIN R. Inhibin and beta type transforming growth factor (TFG beta) have opposite modulating effects on the follicle stimulating hormone (FSH)-induced aromatase activity of cultured rat granulosa cells. *Biochem Biophys Res Commun* 136: 969, 1986.

YOGEESWARAN G. Incorporation of asialo GM₂ and gangliosides in cell surface of cultured metastatic and nonmetastatic Balb/3T3 cell lines: altered adhesion to substrate in vitro and subcutaneous tumor cell take. *J Natl Cancer Inst* 66: 303, 1981.

YOGEESWARAN G, SALK PL. Metastatic potential is positively correlated with cell surface sialylation of cultured murine tumor cell lines. *Science* 212: 1515, 1981.

YOUNG WV, HAKOMORI SI, DURDIK SM, HENNEY CS. Identification of ganglio-N-tetraosylceramide as a new cell surface marker for murine natural killer (NK) cells. *J Immunol* 124: 199, 1980.

YUI S, MIZUNO D, YAMAZAKI M. Induction of macrophage growth by heat-stable factor in tumorous ascitic fluid. *Jpn J Exp Med* 54: 117, 1984.

YUI S, MIZUNO D, YAMAZAKI M. Induction of macrophage growth by lipoprotein. *Jpn J Exp Med* 55: 79, 1985.

YUI S, YAMAZAKI M. Induction of macrophage growth by lipids. *J Immunol* 136: 1334, 1986.

YUN K, HOERL BJ, SCOTT RE. Efficient differentiation of proadipocyte stem cells on nonadherent surfaces: evidence for differentiation without DNA synthesis. *J Cell Physiol* 117: 249, 1983.

YUNIS AA, WU MC, MILLER AM: Growth and maturation factors, pp. 209-247. Ed: Guroff G, ed. Vol 1. New York, Wiley-Interscience, 1983.

ZACHARY I, ROZENGURT E. High affinity receptors for peptides of the bombesin family in Swiss 3T3 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 7616, 1985.

ZACHARY I, SINNETT-SMITH JW, ROZENGURT E. Early events elicited by bombesin and structurally related peptides in quiescent Swiss 3T3 cells. I. Activation of protein kinase C and inhibition of epidermal growth factor binding. *J Cell Biol* 102: 2211, 1986.

ZAPF J, RINDERKNECHT E, HUMBEL RE, PROESH ER. Nonsuppressible insulin-like activity (NSILA) from human serum: recent accomplishments and their physiological implications. *Metabolism* 27: 1803, 1978.

ZETTERBERG A, LARSSON O. Kinetic analysis of regulatory events in G₁ leading to proliferation or quiescence of Swiss 3T3 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 5365, 1985.

ZUSPAN FP, BEHRMAN R, PATON J. Amniotic fluid epinephrine and norepinephrine. I. Comparison between the human and baboon. *Am J Obstet Gynecol* 118: 837, 1974.