

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

ELECTROFISIOLOGIA DE LA GLANDULA PINEAL

TESIS PARA OBTENER EL GRADO
DE MAESTRO EN CIENCIAS
BIOMEDICAS, AREA FISIOLOGIA

PRESENTA:
CARLOS BARAJAS LOPEZ

MEDICO CIRUJANO

ASESOR:
CRUZ REYFS VAZQUEZ

MAESTRO EN CIENCIAS

MEXICO, D.F., ENERO DE 1984

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

UNAM



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	PAGINAS
PROLOGO.....	4-5
RESUMENES.....	6-7
INTRODUCCION GENERAL	
ASPECTOS MORFOLOGICOS.....	8-13
ASPECTOS BIQUIMICOS Y FISIOLOGICOS.....	13-21
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	21-31
EXPERIMENTO I	
OBJETIVO.....	32
METODO.....	33-39
RESULTADOS.....	39-44
DISCUSION.....	47-50
EXPERIMENTO II	
INTRODUCCION.....	51-53
OBJETIVO.....	54
METODO.....	54-57
RESULTADOS.....	58-68
DISCUSION.....	69-71
PERSPECTIVAS.....	72-75
REFERENCIAS.....	76-83

PROLOGO

En los organismos vivos, la interacción balanceada y adecuada entre los procesos biológicos y el medio ambiente, fenómeno conocido como adaptación, depende de vías rápidas y efectivas de comunicación. En los vertebrados, dos tipos de señales químicas, hormonas y neurotransmisores, median tal comunicación. Estos mensajeros provenientes de los sistemas endocrino y nervioso, respectivamente, muestran un grado de interacción muy complejo. Las interacciones de ambos sistemas ocurren a diferentes niveles del organismo, siendo el nivel hipotálamico uno de los más estudiados en la actualidad. Células especializadas conocidas como transductores neuroendocrinos, traducen las señales neurales en respuestas hormonales; estas células constituyen un punto de unión muy importante entre el sistema nervioso y los órganos endocrinos. En el hipotálamo, la presencia de respuestas inhibitorias y excitatorias a varias hormonas, o aún a los niveles circulantes de las hormonas ahí secretadas, permite sugerir la existencia de formas adicionales de interacciones hormono-neurotransmisores. Algunas neuronas quimiorreceptoras hipotálamicas, responden con cambios en su frecuencia de descarga a las fluctuaciones de los niveles plasmáticos de hormonas. Adicionalmente, existen áreas extrahipotalámicas que tienen una influencia importante en las interacciones neuroendocrinas, uno de estos sitios es la glándula pineal. Esta glándula es considerada como un órgano neuroendocrino activo, el cual responde fundamentalmente a

estímulos fóticos, muestra una actividad circádica, e influye en la actividad metabólica de un conjunto de glándulas endocrinas. Las células neuroendocrinas de la pineal, poseen una entrada neural (información luminosa) y una salida hormonal (liberación de melatonina). Sin embargo, se desconocen parte de los mecanismos bioquímicos y más aún los fisiológicos, que ocurren en este proceso de transducción.

Surge entonces, la necesidad de comprender los mecanismos mediante los cuales, la información fótica modula alguno de los parámetros fisiológicos de estas células y que darán origen a modificaciones hormonales específicas. Uno de los parámetros de los pinealocitos de fácil análisis es la actividad eléctrica, los cambios en la cual podrían modificar el metabolismo de la melatonina. La primera etapa en el estudio de este proceso de transducción, es estudiar las vías mediante las cuales la glándula pineal tiene acceso a la información fótica, y el efecto que esta información ejerce sobre la actividad eléctrica de estas células.

ELECTROFISIOLOGIA DE LA GLANDULA PINEAL.

Las funciones de la Glándula Pineal (GP) son reguladas por la luz ambiental. Aún cuando en animales como los peces y anfibios la GP es directamente sensible a la luz, en los mamíferos ésta depende de la información proveniente de los ojos para su regulación; aunque se desconocen las vías por las cuales la GP recibe tal información. Estudios morfológicos y bioquímicos mostraron que los Ganglios Cervicales Superiores (GCSs) son un enlace anatómico esencial entre los ojos y la GP. Sin embargo, se mostró que la extirpación de los GCSs no modificó los Potenciales Provocados Fótricos (PPFs) registrados en la GP. Esto suscitó que la pineal recibe también información luminosa a través de su tallo. En un primer estudio analizamos la participación del Tallo de GP (TGP) y de los GCSs en la generación de PPFs registrados en la GP. En ratas anestesiadas se implantaron Semimicroelectrodos (SMEs) a permanencia. Tres días después se registraron los PPFs, empleando un destello (0.2 Hz) como estímulo. Estos PPFs se amplificaron y se promediaron (32 barridos), con la ayuda de un microcomputador. Posterior a 3 registros controles, se lesionó electrolíticamente el TGP realizándose 3 sesiones de registro posesión y otras 3 después de la extirpación de los GCSs. Los resultados obtenidos muestran que ninguna de estas maniobras modificaron los PPFs registrados. Puesto que en este experimento lesionamos las 2 únicas aferencias a la GP, la persistencia de estas señales suscitó la posibilidad de que tales PPFs se generaran en estructuras circunvecinas a la pineal. Con el propósito de encontrar el origen de dichos PPFs efectuamos registros, mono y bipolares, a diferentes profundidades en ratas íntegras, con los Colículos Superiores (CSs) lesionados o la Corteza Visual (CxV) extirpada y en ratas sometidas a ambas procedimientos. Los animales se anestesiaron y colocaron en un aparato estereotáxico. Se utilizaron dos SMEs trenzados que se descendieron verticalmente a la GP en pesos de 200-400 μ m a partir de la Superficie del cráneo (SC). En los animales íntegros los PPFs monoculares se observaron desde la SC con un patrón trifásico característico. Tanto el patrón como la amplitud de estos PPFs, mostraron grandes cambios sólo ante pequeños movimientos de los SMEs dentro de los CSs. Por debajo de estos, resultaron ser la imagen en espejo de los encontrados en la GP. Los PPFs bipolares sólo se obtuvieron cuando los SMEs se encontraban dentro de los CSs. En los animales con los CSs lesionados, los PPFs monoculares se observaron desde la SC y mostraron el mismo patrón de los íntegros. La latencia del primer componente fue similar a la de los control (44.7 ms) y la amplitud de sus componentes fue disminuyendo a medida que los SMEs se descendieron, hasta desaparecer en el interior de los CSs. Esta amplitud en la GP, fue de un 25-35% de la observada en los animales íntegros. Los PPFs bipolares no fueron registrados a ninguna etapa del trayecto explorado. La extirpación de la CxV se relacionó con una menor amplitud (30-40%) de los PPFs observados en la pineal y los PPFs bipolares fueron similares a los control. En las ratas sometidas a ambas maniobras experimentales, no se observaron PPFs en todo el trayecto explorado. En conclusión: a) los PPFs registrados en la GP se originan tanto en los CSs como en la CxV; b) la GP no muestra actividad de campo después de la aplicación de destellos y c) por lo tanto, la técnica de PPFs no es adecuada para el estudio de las aferencias fótricas a la GP, como fue sugerido en otros estudios.

ELECTROPHYSIOLOGY OF THE PINEAL GLAND

Pineal Gland's (PG) functions are regulated mainly by the environmental light. Conversely to mammals, in lower animals PG has specialized extraretinal photoreceptors. In mammals, it is the action of light on the eyes that is essential in cueing the activity of PG. However, the pathways 'connecting' the retina with the PG are unknown. Biochemical and morphological studies have indicated that Superior Cervical Ganglia (SCG) could represent the anatomical link between the eyes and the PG. However, it was showed that the SCG extirpation did not modify the Photic Evoked Potentials (PEPs) recorded in PG. This suggested that PG receives photic information mainly through its stalk. In a first study we analyzed the participation of Pineal Stalk (PS) and SCG in the generation of PEPs, recorded in PG of unanesthetized freely moving rats implanted with Semimicroelectrodes (SMEs). Recordings were begun 3 days after implantation, using a flash (0.2 Hz) as stimulus. The PEPs were averaged using a microcomputer. In some rats the PS was lesioned either by electrolysis or by surgical means. Three recording sessions were performed before and after extirpation of SCG or lesion of PS. The PEPs were not modified after interrupting PG's connections with the rest of the CNS, suggesting that these PEPs could result of electrotonic transmission from neighboring structures. With the objective of search for the origin of such PEPs, mono and bipolar recordings were made in different areas, in control rats, in animals with either the Superior Coliculi (SC) lesioned or the Visual Cortex (VCx) removed, and in rats with both procedures. All animals were anesthetized and mounted on a stereotaxic apparatus. Two twisted SMEs were descended vertically to the PG, in steps of 200-400 μm , starting in the Skull's Surface (SS). In control animals monopolar PEPs were observed at the level of SS, showing a triphasic characteristic pattern. Small movements of SMEs in the SC produced important changes both in pattern and in PEPs' amplitude. Below these structures, inverted PEPs were obtained. Bipolar PEPs were observed only into SC. In the animals with SC lesioned, similar monopolar PEPs were observed, starting in the SC. The first wave latency was similar to the control animals (44.7 ms). Waves' amplitude was reducing as the SMEs were descended. These PEPs disappear when the SMEs were located at the level of the SC. PEPs recorded in PG had amplitudes 65-75% lower as compared with those of the control rats. Bipolar recordings were not observed in these lesioned animals. The removing of the VCx was related with a lower amplitude (30-40% of the monopolar PEPs). However, the bipolar PEPs were similar to the control rats. In animals with both experimental maneuvers, no one PEPs was recorded. In conclusion: a) the PEPs recorded in PG are originated both in SC and in VCx; b) PG does not show field activity after flash stimulation and c) as a consequence, the PEPs' technique is not suitable for the study the photic afferents, as it was suggested in other studies, to PG.

INTRODUCCION GENERAL.

ASPECTOS MORFOLOGICOS.

La glándula pineal o epifisis es una estructura intracraneal presente en casi todos los vertebrados. Su forma, tamaño y localización, son variables entre las diferentes especies; por ejemplo, en anfibios como la rana, es de tipo sacular y su cavidad se comunica con el tercer ventrículo. En estos vertebrados, la epifisis está unida con una estructura llamada órgano parapineal (o frontal) a través de un nervio. El órgano frontal se sitúa extracranealmente en animales como la rana y la lagartija, pero dentro del cráneo, en los teleostos y en la lamprea. La glándula pineal de estos animales, posee células fotosensibles con características morfológicas y funcionales similares a los bastones retinianos (54). En algunas aves persiste aún la estructura sacular de la glándula pineal; en otras, sus células se agrupan en folículos que conforman una estructura parenquimatosa (60). En la glándula pineal de algunas aves, existen también elementos celulares directamente fotosensibles (29,82). La estructura de la epifisis de los mamíferos es característicamente parenquimatosa (60). En la glándula pineal de ratas durante el desarrollo postnatal temprano, existen células directamente fotosensibles. Sin embargo, las células de la pineal de los mamíferos adultos han perdido ésta capacidad fotorreceptora, aunque no obstante, son indirectamente influenciadas por la luz (89,96).

INTRODUCCION GENERAL

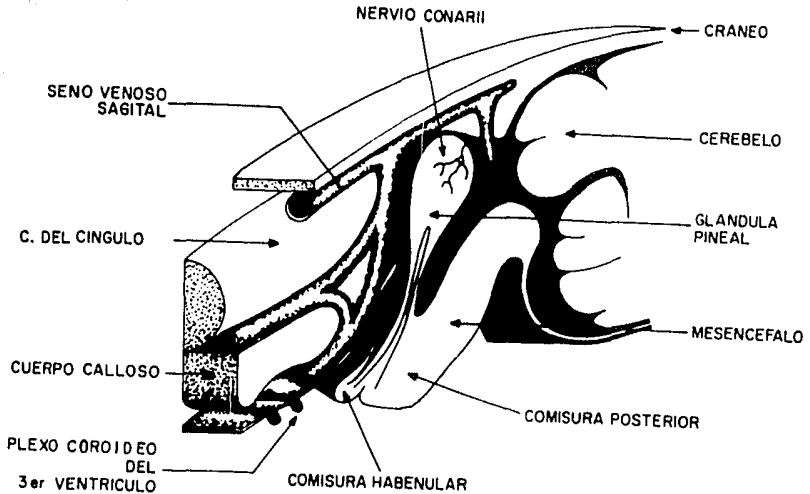


Fig. 1.- Representación sagital de la glándula pineal de rata, en la cual se muestran sus relaciones con otras estructuras. En este esquema se observa que la emergencia del tallo de la pineal ocurre entre la comisura habenuar y la posterior. Mientras que la inervación simpática, a través de los nervios conarii, se efectúa en la parte posterosuperior de la misma (tomado de Wurtman et al.; 94).

INTRODUCCION GENERAL.

La glándula pineal de los mamíferos, tiene su origen embrionario a partir de una evaginación del neuroepitelio del techo diencefálico, situado entre las comisuras habenuar y posterior (36,56). Las células de este neuroepitelio originan a las parenquimatosas (pinealocitos) y a las células de sostén (gliales), presentes en la pineal del animal adulto (36,60).

También existen constituyentes mesodérmicos que penetran a la epifisis a través de las cubiertas meníngeas, para formar los vasos sanguíneos. La glándula pineal es un órgano que posee una muy alta irrigación, su amplia red capilar proviene de 2 a 6 ramas de las arterias cerebrales posteriores. Las anastomosis de tales capilares, dan origen a las venas colectoras superficiales, las cuales desembocan en la gran vena cerebral y ésta a su vez, en la confluencia de los senos (30). Los capilares de la pineal de los mamíferos poseen fenestraciones de aproximadamente 500 \AA (60,68). Esta rica irrigación se relaciona con un alto flujo sanguíneo (4 ml/min/g de tejido), regulado por el sistema nervioso a través del sanglio simpático cervical superior (60). Por lo tanto, la extirpación bilateral de este sanglio, disminuye hasta 2/3 el flujo sanguíneo (61,72). A lo largo de los primordios vasculares formados, aparecen unas trabéculas (septa imperfecta) compuestas de tejido conectivo, las cuales separan a las agrupaciones parenquimatosas (60,62). El tejido conectivo también forma la cápsula de la glándula pineal. En los mamíferos, la glándula pineal está cubierta por las meninges y descansa sobre la línea media del mesencéfalo.

INTRODUCCION GENERAL

El cuerpo pineal de la rata adulta, se encuentra en la vecindad del cerebelo (Fig. 1), unido al techo del tercer ventriculo por medio de un delgado (200 μ m de diámetro) y largo (2700-3000 μ m) tallo. La emergencia de este tallo, ocurre entre las comisuras habenular y posterior. En estos animales, la glándula posee forma esferoide, y sus dimensiones son 1500-1600, 1300-1500 y 750-800 μ m en sus diámetros longitudinal (frontooccipital), transversal (lateral) y vertical (dorsoventral), respectivamente (11). Sus relaciones son: por arriba con la confluencia de los senos venosos, lateral y sagital superior; por su parte posterior con el cerebelo, y lateralmente con el giro cingulado de los lóbulos occipitales (96; Fig. 1).

Las células parenquimatosas de la epifisis constituyen el 90% de los derivados neuroectodérmicos y se organizan en racimos, cordones, pseudosiveolos o en lóbulos, dependiendo de la especie y la edad (60). En los mamíferos el pineslocito es reconocido por su núcleo característicamente grande y lobulado, el cual posee un prominente nucleolo. Esta célula posee gran cantidad de prolongaciones citoplasmáticas que fueron estudiadas con técnicas de impregnación de plata y terminan en el tejido conectivo perivascular, frecuentemente cerca de los capilares. En otros casos se puede observar que tales prolongaciones terminan entre los mismos pineslocitos (68,69,88). El citoplasma de esta célula parenquimatosas es particularmente rico en organelos. Las mitocondrias son numerosas tanto en el cuerpo celular como en las porciones terminales de las prolongaciones citoplasmáticas,

INTRODUCCION GENERAL

susiriendo una alta tasa metabólica en estas células. Lisosomas, centriolos, ribosomas, aparato de Golgi y retículo endoplásmico tanto liso como rugoso, son otros de los organelos observados con frecuencia en el pericarion. Los microtúbulos son estructuras que se presentan en los procesos citoplásmáticos y posiblemente estén relacionados con el transporte de sustancias entre el cuerpo celular y las porciones terminales de las prolongaciones (56,60,68,69,88). La mayoría de los pineslocitos examinados muestran vesículas granulares, las cuales se propuso sean producidas por el aparato de Golgi en el cuerpo celular y transportadas a través de sus prolongaciones. En algunas de estas células, las vesículas granulares parecen estar ausentes pero las cisternas de su retículo endoplásmico están llenas de un material floculento electrodensado moderado. Tanto las vesículas granulares como el material anterior, pudieran ser el producto de secreción de los pineslocitos (68). Estructuras citoplásmicas electrodensas han sido encontradas en los pineslocitos durante el análisis al microscopio electrónico. Algunas de ellas han recibido una atención particular (19,45,69); las barras sinápticas ("Synaptic Ribbons"), son un ejemplo de estas inclusiones y consisten en cuerpos alargados electrodensos, rodeados por un conglomerado de vesículas de centro claro parecidas a aquellas observadas en los botones terminales de las sinápsis químicas (45,69). Las barras sinápticas se adyacentes a la membrana plasmática que usualmente se encuentra frente a otro pineslocito (45,69). El interés en esta estructura citoplásmática ha sido por tres razones: a) son bastantes

INTRODUCCION GENERAL

numerosas (69); b) su número cambia durante las fases de luz-obscuridad (45,69) y c) estas barras están presentes en células fotorreceptoras del sistema pineal de vertebrados inferiores (69); tales células, se cree son los precursores filogenéticos de los pinealocitos de la epifisis de los mamíferos (27). Por otro lado, diferencias estructurales en los pinealocitos de los mamíferos, han permitido clasificarlos en dos diferentes tipos celulares (I y II), o hasta en tres, durante las etapas fetales del desarrollo (69,55,56).

ASPECTOS BIOQUIMICOS Y FISIOLOGICOS.

Lerner aisló y caracterizó la melatonina a finales de la década de los cincuenta. Desde entonces, se ha logrado establecer que esta sustancia es una hormona sintetizada y liberada por la glándula pineal (12,67). Tanto la síntesis como liberación de esta hormona obedecen a un ritmo circádico, con niveles nocturnos máximos y niveles diurnos mínimos, con una relación fotoperiódica directa (12,67,52,85,96). La glándula pineal muestra además, la presencia de varios neuropéptidos, entre ellos, la arginina vasotocina (67) y la treonilseril-lisina (7). Se suspiró que estos péptidos podrían ser hormonas de la pineal. Sin embargo, trabajos experimentales recientes han puesto en duda esta suserencia (7) y actualmente, se desconoce si los péptidos aislados de la glándula pineal poseen algún papel funcional.

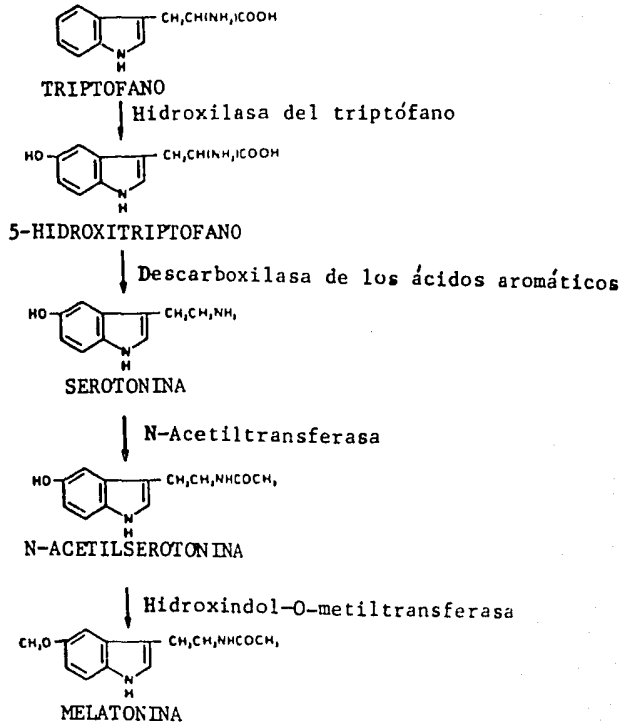


Fig. 2.- Esquema de la síntesis de melatonina en la glándula pineal; a partir de su precursor, el triptófano. La etapa en la cual participa la N-acetiltransferasa, se mostró es el paso limitante en la síntesis de melatonina (tomada de Klein; 40).

INTRODUCCION GENERAL.

La glándula pineal no es la única estructura que sintetiza la melatonina. También la glándula harrieriana, algunas de las células de la pared del intestino y la retina poseen melatonina; además de algunas enzimas que se conoce participan en la biosíntesis de esta sustancia (94). Aunque la bioquímica de la melatonina es mejor conocida en la glándula pineal.

Las células parenquimatosas de la pineal son las encargadas de la síntesis de melatonina (12,25,94). El triptófano es el aminoácido plasmático precursor de la misma. Este aminoácido es convertido a 5-hidroxitriptófano por acción de la hidroxilasa del triptófano (Fig. 2). La descarboxilación del 5-hidroxitriptófano es realizada por la descarboxilasa de los L-aminoácidos aromáticos, produciendo serotonina. Este indol, es utilizado como sustrato por una enzima específica, la N-acetiltransferasa, dando como producto la N-acetilserotonina. Esta enzima es considerada como la etapa limitante en la síntesis de melatonina (12). Esta indolemina es obtenida en una última reacción, por transferencia de un grupo metilo al grupo 5 hidroxilo de la N-acetilserotonina, para ello se requiere la presencia del cofactor S-adenosilmetionina; esta reacción es catalizada por la enzima Hidroxindol-O-metiltransferasa (12,67).

La concentración de melatonina en el plasma, guarda una estrecha relación con su producción en la glándula pineal (12). Por lo cual, probablemente la melatonina abandone el pineslocito por simple difusión. Después de ser secretada, es metabolizada por el hígado y secretada por el riñón.

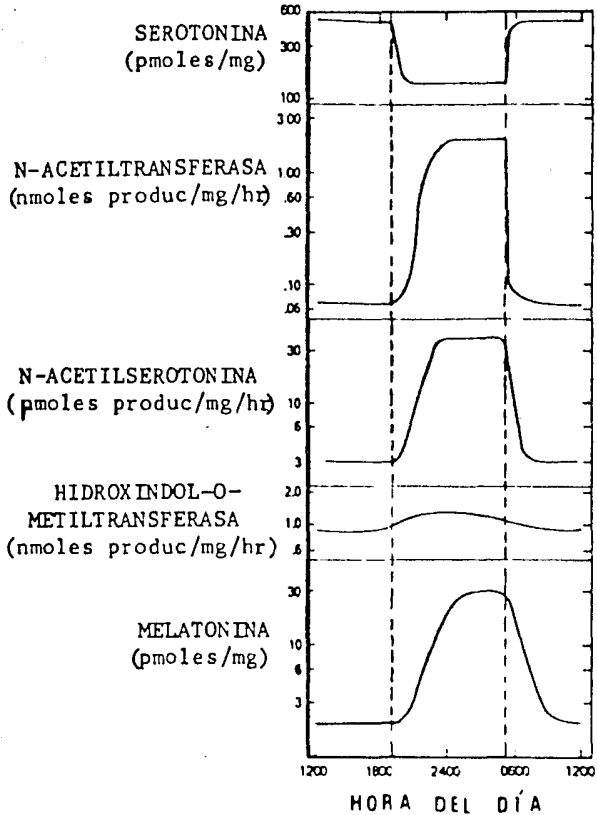


Fig. 3.- Representación de las modificaciones fotoperiódicas en las concentraciones de los metabolitos y las enzimas involucradas en las últimas dos etapas de la síntesis de melatonina, en la glándula pineal. Los niveles de melatonina alcanzan sus niveles máximos al final de la escotofase (tomada de Klein; 40).

INTRODUCCION GENERAL.

La regulación del metabolismo de los indoles en la glándula pineal, ha sido ampliamente estudiado en la rata. Así, se mostró que la producción de melatonina es máxima durante la escotofase y mínima durante la fotofase. Una producción similar a la de esta hormona, se observó para la N-acetilserotonina. Concurrentemente, las concentraciones de serotonina, el precursor de la melatonina, son las opuestas a las observadas para la melatonina y la N-acetilserotonina durante el fotoperiodo (Fig. 3). Estas observaciones se explican por las variaciones en la actividad de las enzimas que participan en la síntesis de melatonina. De tal forma, la actividad de la N-acetiltransferasa de la serotonina, es máxima durante la noche y mínima durante el día. Usualmente, similares variaciones pero de menor magnitud, muestra la actividad de la Hidroxindol-O-metiltransferasa (Fig. 3).

Los esfuerzos por encontrar la función de la glándula pineal han sido enormes. Ello ha resultado particularmente difícil debido a que sus funciones parecen ser distintas entre grupos de vertebrados. En algunos mamíferos, ha sido señalada la importancia de la pineal en la regulación del metabolismo (91), de la temperatura (62), de la composición de los líquidos corporales (2), de la actividad motora (22,63) y en la regulación de la actividad sexual (12,67,95). Esta última es, a nuestro juicio, la función de la pineal más ampliamente estudiada en los mamíferos.

INTRODUCCION GENERAL.

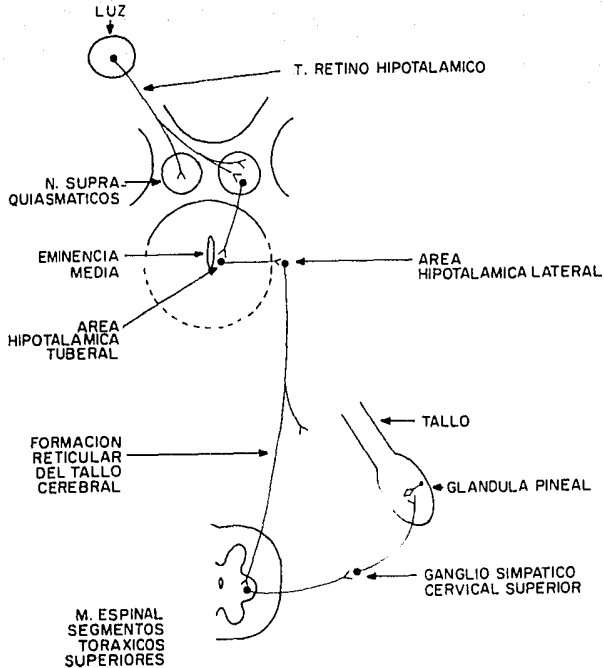


Fig. 4.- Modelo de la inervación funcional de la glándula pineal, propuesto para la rata. Se muestran las vías neurales, tanto centrales como periféricas, que participan en la transmisión fótica desde la retina hasta esta glándula. Este modelo está basado en estudios que analizan los efectos de lesiones neurales sobre el metabolismo de los indoles en la pineal (tomado de Moore; 51).

INTRODUCCION GENERAL

Cuando animales como el hámster son sometidos a días con menos de 12.5 horas de luz, o bien cuando se efectúa una enucleación ocular se produce una involución de los órganos sexuales después de 4 a 6 semanas (23). En estos animales, la pinealectomía previene la atrofia gonadal (31,64). Estos hallazgos sugieren que la glándula epifisaria es la estructura mediadora de tal atrofia. Entonces, la presencia de luz inhibe la producción y síntesis de melatonina, factor antigonadotrópico, con lo cual la actividad sexual del animal alcanza su máxima manifestación. Mientras que en ausencia de luz, la glándula pineal muestra su máxima actividad, los niveles de melatonina son altos y la función sexual está en su mínima expresión (25). Según Reiter (66), estas acciones homeostáticas fotoperiódicas de la glándula pineal, son particularmente importantes en animales que viven cerca de los polos, en los cuales, al acortarse los días durante el otoño se produce una atrofia gonadal mediada por la glándula pineal. Este estado hipogonadal evita la aparición de la fase estral y como consecuencia el nacimiento de nuevas crías durante el otoño e invierno, épocas poco propicias por la baja temperatura y la escasez de alimentos. En la rata, la enucleación ocular produce la atrofia gonadal sólo cuando ésta se acompaña de la lesión del bulbo olfatorio. Tal atrofia es también revertida por la pinealectomía (65).

Los efectos antigonadotrópicos de la pineal, son reproducidos por la aplicación de melatonina (12,25). Así, en el hámster sirio, la aplicación diaria única de melatonina induce

INTRODUCCION GENERAL.

regresión gonadal si esta administración se efectúa pocas horas antes de la fase de oscuridad del fotoperiodo, aunque tales inyecciones son inefectivas cuando se administran por la mañana o durante el periodo de oscuridad (86,87).

Cuando se someten ratas a periodos con iluminación continua, las concentraciones de melatonina permanecen mínimas durante todo este periodo (85). Si ahora el periodo de iluminación continua es gradualmente acortado, el ritmo de las indoleaminas de la pineal es revertido adaptándose al nuevo fotoperiodo (99). Los bajos niveles de melatonina durante la iluminación continua, explicarían el estro persistente que las ratas presentan en tal situación (99). La producción cíclica de melatonina no se pierde cuando estos animales son mantenidos en oscuridad continua (85).

Algunos hallazgos anatómoclínicos apoyan la idea de que la glándula pineal esté involucrada en aspectos reproductivos en el humano (13,98). Así, los síndromes de hipogonadismo y más frecuentemente el de pubertad precoz, acompañan con frecuencia los tumores de la pineal en el hombre. La incidencia de esta patología entre los pacientes con tumores de pineal es cercana al 30%. La mayoría de enfermos con pubertad precoz sufren tumores no parenquimatosos de esta glándula. Mientras que el hipogonadismo ocurre en pacientes con tumores parenquimatosos. Estas observaciones, hechas en pacientes con pinealomas, sugieren una acción antigonadotrófica de la glándula pineal en el humano. Además, existen otras sugerencias que también pueden explicar tales observaciones; por ejemplo, el pinealoma comprime e incluso

INTRODUCCION GENERAL

destruye, áreas vecinas, lo cual podría causar las alteraciones en el desarrollo sexual, observadas en los pacientes con este tipo de tumores (13,98).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Como se mencionó previamente, la glándula pineal de los mamíferos no posee células directamente fotosensibles. Por lo tanto, la información concerniente a la luz ambiental que recibe la glándula de estos vertebrados, proviene de la retina (52,68,89). Las conexiones neurales entre la retina y la pineal son parcialmente conocidas. La participación del hipotálamo y la médula espinal en dicha vía, fue sugerida al mostrarse que la lesión bilateral del núcleo supraquiasmático del hipotálamo o la sección de la médula espinal cervical suprimen el ritmo diario de las indolaminas en la glándula pineal (41,50). Además, la estimulación eléctrica del núcleo supraquiasmático produce inhibición de la liberación nocturna de melatonina; mientras que el ritmo de la actividad de la enzima N-acetiltransferasa de la serotonina, fue suprimido por la lesión de la salida neuronal de este núcleo (39,51). Probablemente, el núcleo supraquiasmático sea generador del ritmo metabólico de los indoles en la pineal y no un simple relevo, ya que sus neuronas muestran una actividad eléctrica circádica aún *in vitro* (83) y la actividad de la N-acetiltransferasa persiste aún después de su desferentación (39,51).

INTRODUCCION GENERAL

Otros estudios (39,51,85,92,95,99), en los cuales se analizan los efectos de las lesiones del sistema nervioso (central y periférico) sobre el metabolismo de las indolaminas, permiten proponer un modelo de las vías neurales que comunican al núcleo supraquiasmático con la glándula pineal (Fig. 4). En este modelo se propone que la luz recibida en la retina modula la actividad del núcleo supraquiasmático a través del tracto retinohipotálámico (52,89). Este tracto se origina en la capa ganglionar de la retina y está formado por un conjunto de fibras mielínicas, las cuales terminan en el hipotálamo, dentro del núcleo supraquiasmático ipsi y contralateral (Fig. 4; 28,33,49).

La influencia de este núcleo sobre la epifisis se propone se realice a través de una vía que atravesando el hipotálamo tuberal, se dirige al lateral. Para entonces regresar, a través de una vía posiblemente directa, hasta las astas laterales del cordón espinal torácico, esta vía forma parte de las fibras del haz proencefálico medial y más abajo, pasan por la formación reticular del tello cerebral. De las astas laterales espinales, parten las fibras preganglionares de las neuronas simpáticas y éstas, terminan en el ganglio cervical superior. Las fibras postganglionares forman dentro del cráneo un par de nervios, denominados conarii, cuyos axones terminan dentro de la glándula pineal (36,37,51,89). La lesión bilateral de esta vía, en cualquiera de las etapas mencionadas, suprime los ritmos diarios de las indolaminas en la pineal, además de prevenir la atrofia ganglial observada en ratas después de la enucleación ocular y la

lesión del bulbo olfatorio (6,34).

Resultados de estudios neurohistológicos y neuroquímicos, apoyan también el modelo neural descrito. Kappers (36), en un elegante análisis del encéfalo de rata, mencionó que las fibras posganglionares del simpático cervical terminan en el parénquima de la pineal y en sus vasos sanguíneos. Correlativamente, la estimulación eléctrica de los nervios cervicales superiores, simulan los cambios nocturnos en las indolaminas de la glándula pineal (90).

Como sucede en la mayoría de las terminales posganglionares simpáticas, el mediador químico es la norepinefrina. En la pineal, ésta se encuentra casi exclusivamente en las terminales nerviosas, e incluso, la norepinefrina prácticamente desaparece 24 horas después de la extirpación de los ganglios cervicales superiores (44). Estudios bioquímicos en rata, revelaron un mayor recambio de norepinefrina durante la fase de oscuridad con respecto al observado durante el periodo diurno (99). Esto, suscitó la hipótesis de que el ganglio cervical superior ejerce sus influencias sobre las células de la pineal a través de la norepinefrina (43,96). Tal influencia podría ejercerse mediante cambios en algunos parámetros electrofisiológicos de los pinealocitos (71,77), además del efecto sobre la tasa de perfusión sanguínea de la pineal (61,72). En concordancia con esta suserencia, se mostró que la aplicación de norepinefrina a pinealocitos en cultivo, produjo un incremento de la síntesis y liberación de melatonina, dicho efecto fue prevenido por el

INTRODUCCION GENERAL

Propranolol, un agente bloqueador β -adrenérgico (3,97). Adicionalmente, se observó una disminución en la concentración de serotonina y un incremento en la actividad de la enzima N-acetiltransferasa, por la aplicación de isoproterenol, un agonista β -adrenérgico (8,9). Empleando técnicas similares, se mostró un incremento de la síntesis de melatonina después de aplicar AMP dibutilil cíclico (97). Esto y el descubrimiento de una adenil ciclasa estimulada por catecolaminas en la glándula pineal, sugieren que el AMP cíclico sea mediador del incremento nocturno de la síntesis de melatonina, provocado por la norepinefrina en esta glándula (99).

De acuerdo con el modelo neural antes descrito, la luz aplicada a la retina se traduce en una disminución de los potenciales de acción registrados en el tronco del simpático cervical; esto a nivel de la glándula pineal, se manifestaría como una disminución en la liberación de norepinefrina y consecuentemente, de la síntesis y liberación de melatonina. Desde este punto de vista, la glándula pineal puede ser considerada como un modelo neuroendocrino típico. Con una única aferencia neural (Nervios Conarii) convertida en una salida hormonal simple (Melatonina). Sin embargo, algunos resultados experimentales recientes ponen en duda la validez de este modelo. Por ejemplo, algunos autores consideran que la melatonina no es la única hormona de la epifisis (2,7,12,67,68). Esta glándula parece responder también a diversas señales humorales, además de la información neural que recibe a través de los conarii (12).

INTRODUCCION GENERAL

Finalmente, la glándula pineal recibe otras dos aferencias neurales, una a través de su tallo y la segunda proveniente del sistema Parasimpático. Esta última vía neuronal fue reportada por Kenny en el mono (37), y por Romijn en el conejo (73). Tales fibras, de acuerdo con estos autores, se originan en el núcleo salival de la médula oblongada y viajan a través del nervio intermedio (VII) al gran nervio petroso, para ingresar a la pineal conjuntamente con los vasos sanguíneos y terminar en las neuronas de pequeños ganglios parasimpáticos intrapineales. Las fibras parasimpáticas postganglionares muestran una distribución intrapineal similar a las simpáticas. En la actualidad se desconoce el significado funcional de estas fibras, aunque se propone estén relacionadas con el control del tono vascular de la pineal (89).

La existencia de aferencias neurales a la glándula pineal a través de su tallo, ha sido motivo de mayores controversias. Kappers (36), en un estudio con microscopio de luz, reportó que las fibras del tallo no establecían contacto sináptico alguno con las células de esta glándula. Este autor encontró, que después de ingresar al tallo, tales fibras dan un giro de 180 grados a diferentes alturas y regresan hacia el encéfalo por el mismo tallo. Por lo tanto, este autor concluyó que las fibras de este tallo son aberrantes. Sin embargo, estudios más recientes reportaron datos sugerentes de que la glándula pineal recibe aferencias neurales a través de su tallo, así:

INTRODUCCION GENERAL

a) Pfister et al. (57) observaron axones mielinizados en el tallo, los cuales, al penetrar a la glándula pineal pierden su capa de mielina y se dividen en muchas ramas; la gangliectomia cervical superior bilateral, no modificó la morfología de estas fibras, ni en el hámster ni en la rata.

b) Moller (48), en un estudio de microscopia electrónica, reportó la presencia de un tracto habenulopineal en el feto humano.

c) Matsura y et al. (46), utilizando una técnica inmunohistoquímica, encontraron fibras peptidérgicas que contienen vasopresina, oxitocina y hormona liberadora de las somatotropinas, en la pineal de perros. Estas fibras, penetran a través del tallo de la pineal y provienen principalmente de la región de la comisura posterior. Las fibras que contienen vasopresina forman el mayor contingente. La mayoría de estas fibras terminan en la porción proximal de la pineal, aunque también fueron observadas en la porción distal. Las terminaciones de estas fibras peptidérgicas se encontraron no sólo en los espacios perivascuales, sino también entre las células parenquimatosas.

d) Buijs y Pevet (10), usando una técnica inmunohistoquímica, demostraron la presencia de fibras con arginina-vasotocina y oxitocina en el tallo de la pineal.

INTRODUCCION GENERAL

e) En la rata y mediante análisis con microscopía electrónica, se encontró degeneración de terminales nerviosas en los espacios perivasculares de la pineal, después de las lesiones electrolíticas del núcleo habenular medial (74).

f) Dafny (18), describió transporte retrógrado de la peroxidasa de rábano tipo VI, hasta el complejo habenular y la estria medularis, después de su aplicación en el cuerpo de la pineal; lo cual se interpretó como evidencia de que estas dos últimas estructuras envían fibras a la pineal.

g) En un estudio electrofisiológico realizado en ratas (75), se encontró un incremento de la actividad eléctrica extracelular de la glándula pineal, inducida por la estimulación del complejo habenular; lo cual se interpretó como prueba de la existencia de una vía neural habenulopineal.

h) En el cobayo, fibras del núcleo habenular y de la estria medularis penetran a la glándula pineal y terminan en los espacios intercelulares, aparentemente sin establecer contactos sinécticos con los pinealocitos (81). En el mismo estudio, se describe excitación o depresión de la actividad espontánea en más de un tercio de las unidades registradas en la pineal, después de la estimulación eléctrica de la habenula lateral.

Todas estas evidencias morfológicas y electrofisiológicas, apoyan fuertemente la idea de que la glándula pineal de los mamíferos recibe inervación a través de su tallo. Sin embargo, actualmente se desconoce el papel funcional de tales aferencias.

TRANSMISION RAPIDA

TRANSMISION LENTA

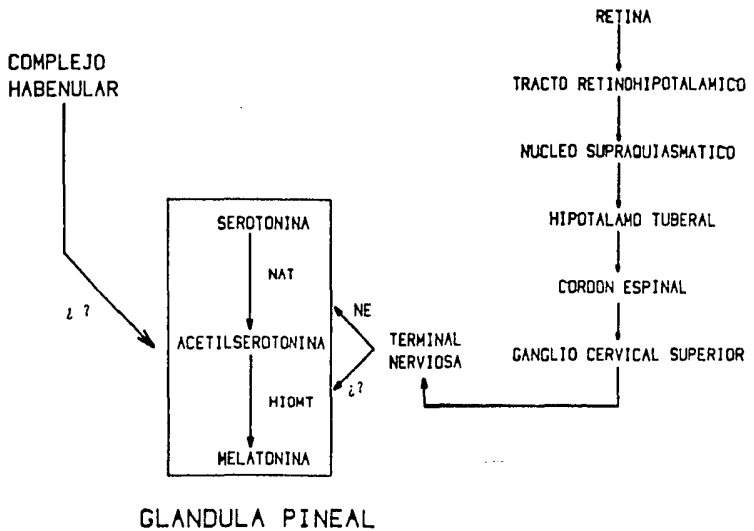


Fig. 5.- Estructuras que forman las dos vias propuestas que transmiten la información fótica hasta la glándula pineal. Este modelo se suscribió en base a estudios en los cuales se registran potenciales provocados en la glándula pineal. Se desconoce cual es el mediador químico utilizado por las aferencias habenulares y si la norepinefrina (NE) es el único mediador químico de las terminales simpáticas. NAT: enzima N-Acetiltransferasa y HIOMT: enzima Hidroindol-O-metiltransferasa. (tomado de Ebadi et al.; 20).

INTRODUCCION GENERAL.

Algunos reportes electrofisiológicos hacen suscribir que las aferencias a la pineal, a través de su tallo, podrían llevar información fótica. Así, Schapiro y Salas (79), quienes registraron la actividad 'electroencefalográfica' de la glándula pineal en ratas anestesiadas, reportaron que los cambios en los registros inducidos por la estimulación fótica no se modifican por la sangliectomía cervical superior, pero desaparecen después de la enucleación de ambos ojos. Estos resultados se interpretaron suscribiendo que la información fótica recibida por la pineal, proviene de una vía diferente a aquella de la cual forman parte los sanglios mencionados. En apoyo a esta idea, Dafny y et al. (15) y, McClung y Dafny (47), efectuaron registros de potenciales provocados y de actividad unitaria en la glándula pineal y reportaron modificaciones de la actividad eléctrica de esta glándula provocadas por la estimulación eléctrica del tracto óptico, complejo habenular, haz prosencefálico medial y del sanglio cervical superior. Las latencias ultracortas (de hasta 1.3 ms para el primer componente) observadas se tomaron como evidencias de la existencia de una vía de transmisión rápida entre el encéfalo y la glándula pineal y por consiguiente, distinta de aquella de transmisión lenta, la cual viajaría a través de los sanglios cervicales superiores. Con el propósito de encontrar más evidencias al respecto, Dafny (16,17), registró potenciales provocados fóticos en la pineal de ratas. Dicho autor observó la desaparición de únicamente los últimos componentes de tales potenciales después del bloqueo funcional (con xilocaina) o de la extirpación bilateral, de los sanglios cervicales superiores.

INTRODUCCION GENERAL.

Estos datos, se interpretaron como 'demostrativos' de la existencia de vías neurales más importantes y diferentes a los ganglios cervicales superiores, a través de las cuales se transmite la información fótica hacia la glándula pineal. El tallo de la epifisis fue propuesto como la ruta de dichas vías (9).

En base a estos resultados, algunos autores (16,17,20), propusieron un segundo modelo según el cual, dos vías neurales distintas transmiten la información fótica hacia la pineal (Fig. 5). Una de ellas, considerada como clásica, involucra a los ganglios cervicales superiores y se caracteriza por ser la de transmisión lenta. La otra vía involucra al complejo habenular y de aquí, por medio de su tallo, hasta la pineal. Esta última ruta, permitiría el acceso rápido de la información luminosa a esta glándula. Este modelo es apoyado por los resultados de un estudio efectuado en ratas anestesiadas (54), el cual mostró que la lesión quirúrgica del tallo de la pineal, suprime los potenciales provocados fóticos registrados en la epifisis.

En resumen, la extirpación bilateral del ganglio cervical superior no suprime los cambios inducidos por la estimulación fótica sobre la actividad 'electroencefalográfica' (79) ni, los potenciales provocados fóticos registrados en la glándula pineal (54). Resultados electrofisiológicos, apoyan la hipótesis, de acuerdo a la cual, la pineal recibe información fótica principalmente a través de su tallo (16,17,20). Aunque, los

INTRODUCCION GENERAL

experimentos clásicos reportaron que la extirpación de los ganglios cervicales superiores suprime, tanto las modificaciones bioquímicas de la pineal inducidas por la luz (44,53,64), como aquellos cambios del sistema reproductor que son inducidos por los fotoperiodos y mediados por esta glándula (96). Así, desde esta perspectiva, los animales con ganglionectomía se comportaron como si la glándula pineal no recibiera información luminosa.

EXPERIMENTO I

OBJETIVO.

En un intento de aclarar tal contradicción, decidimos estudiar la importancia de los ganglios cervicales superiores y del tallo de la pineal, en la transmisión de la información fótica hacia la glándula pineal de la rata. Con este propósito, registramos los potenciales provocados fóticos en el cuerpo encefálico en situación control y después de la extirpación bilateral de los ganglios cervicales superiores y de la lesión del tallo de la pineal. Además, registramos el mismo tipo de potenciales en el hipotálamo lateral y el complejo habenular, estructuras sugeridas están involucradas en la transmisión de la información luminosa hacia la glándula pineal (8,16:17,18,81). Debido a que los anestésicos inducen alteraciones importantes en la excitabilidad neuronal y por lo tanto, en la generación y transmisión de señales eléctricas, en este experimento los registros se realizaron en ratas sin anestesia y con movimiento libre.

METODO.

Se utilizaron 24 ratas macho, Wistar (200-250 g), con libre acceso al alimento (Purina, "rat chow") y al agua. Estos animales se colocaron en jaulas individuales donde estuvieron expuestos a ciclos ambientales de luz/oscuridad. Los experimentos se realizaron en los meses de marzo a agosto.

En todos los animales, bajo anestesia general (pentobarbital sódico, 55 mg/kg, i.p.), se colocaron semimicroelectrodos para registro (50 μ m de diámetro, acero inoxidable y aislados con teflón) en la glándula pineal, hipotálamo lateral y el complejo habenular. Las coordenadas utilizadas, para las tres estructuras anteriores, se muestran en el cuadro I. Para la implantación de los electrodos, los sujetos se colocaron en un aparato estereotáxico y se les realizó una incisión de 2 cm de longitud en la piel de la parte superior. Después de rechazar los tejidos blandos y limpiar esta región del cráneo, se realizaron los agujeros (300 μ m de diámetro) necesarios para implantar los electrodos. Se colocó un tornillo de acero inoxidable (1 y 3 mm de diámetro y longitud, respectivamente) en el hueso frontal y se utilizó como electrodo de referencia. Otros dos tornillos se colocaron a los huesos parietales y se utilizaron para sostener los electrodos.

El grupo IA (n=5) se formó por ratas a las cuales únicamente se les implantaron estos semimicroelectrodos, mientras que a los animales del grupo IB (n=9), además de implantar los

EXPERIMENTO I

semimicroelectrodos en las mismas estructuras, el tallo de la glándula pineal fue seccionado, usando una navaja de 5 y 1 mm de largo y ancho respectivamente. Finalmente, a un tercer grupo de ratas (Grupo IC; n=10), adicionalmente a los 3 semimicroelectrodos de registro, se les implantó un electrodo para lesión (acero inoxidable, de 250 μ m de diámetro y con cubierta de teflón) 0.5-1 mm posterior de la emergencia de la glándula pineal. Los electrodos se conectaron a un "amphenol" con conectores macho y éste se fijó al cráneo de la rata mediante cemento acrílico dental.

En las sesiones de registro, las ratas se colocaron en una caja de lucita transparente (17 X 28 X 44 cm), que a su vez se encontraba dentro de una cámara de Faraday, localizada dentro de un cuarto oscuro (Fig. 6). Veinte minutos después, se iniciaron los registros. Los electrodos del cráneo del animal se conectaron a un conmutador, el cual permitía el contacto físico entre los electrodos y el resto del sistema de registro, independientemente del movimiento de los animales. A su vez, las salidas de este conmutador se conectaron a sondas de baja impedancia, y éstas a la entrada de tres preamplificadores (Grass, P511J) con los filtros de corte de frecuencias de 10 y 1000 Hz). Un pulso eléctrico se utilizó para sincronizar un fotoestimulador (Grass, PS-22). El estímulo fótico fue un destello de 750 000 bujías de intensidad, 10 μ s de duración y 0.2 Hz de frecuencia, colocando la lámpara del fotoestimulador 30 cm de la caja de registro. El pulso eléctrico de sincronía se

EXPERIMENTO I

grabó en una cinta electromagnética, simultáneamente con los potenciales provocados fóticos provenientes de las tres estructuras registradas. Con el propósito de verificar la grabación de los potenciales, las salidas del grabador se conectaron a un osciloscopio de memoria (Nicolet, 206). Posteriormente, estos potenciales grabados se promediaron y analizaron en una microcomputadora (LSJ-11).

Las sesiones de registro, una cada 24 horas, se iniciaron 3 días después de la implantación de los electrodos. Cada sesión consistió en el registro de 32 potenciales provocados fóticos del hipotálamo lateral, del complejo habenuar y de la glándula pineal, simultáneamente. Después de las primeras 3 sesiones de registro, todas las ratas del grupo IA (n=5) y 4 del grupo IB se anestesiaron nuevamente con pentobarbital sódico, para extirparles los ganglios cervicales superiores. Con tal fin, a estos animales se les realizó una incisión de la piel en la línea media de la cara anterior del cuello y con ayuda de un estereoscopio e instrumental de microcirugía, se disecaron los ganglios cervicales superiores. Estos, en la rata, tienen dimensiones de 2.5 y 0.7 mm de largo y ancho, respectivamente. Los ganglios se localizan por dentro y detrás de la bifurcación carótidas. Una vez diseccionados cuidadosamente los ganglios, con unas tijeras de iris se cortaron las fibras pre y postganglionares y entonces fueron extraídos. Tres sesiones de registro se realizaron a partir del tercer día postganglionectomía.

EXPERIMENTO I

CUADRO I

ESTRUCTURA	COORDENADAS (mm)*		
	POSTERIOR	LATERAL	PROFUNDIDAD
Hipotálamo Lateral	2.30	1.60	8.20
Complejo Habenular	3.06	0.50	4.80
Glándula Pineal	7.29	0.00	2.10
Tallo de la Pineal	5.43	0.00	3.50

Coordenadas utilizadas para la implantación de los semimicroelectrodos, determinadas del atlas de Konig and Klippel (42). (*): Posterior a bregma; Lateral a la sutura sagital y Profundidad por debajo del nivel de la superficie del cráneo.

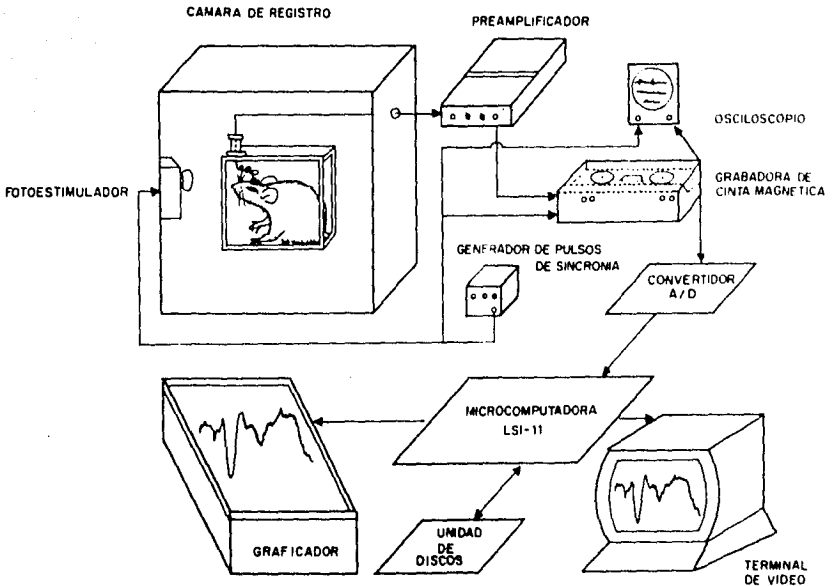


Fig. 6.- Esquema del procedimiento utilizado para la captación, amplificación, grabación, conversión y el análisis, de los potenciales provocados fóticos registrados en las ratas con conducta libre.

EXPERIMENTO I

Después de efectuar 3 sesiones de registro control, las ratas del grupo IC ($n=10$) se anestesiaron con éter y a través del electrodo de lesión, localizado cerca de la emergencia del tallo de la pineal, se aplicó una corriente anódica de lesión (1-2 mA durante 30-45 s). Tres nuevos registros se realizaron después de 3 días de realizada la lesión electrolítica del tallo. En 5 de las 10 ratas del grupo IC, se efectuó, además de la lesión del tallo, una sanblionectomía cervical para finalmente, realizar 3 sesiones de registro más, iniciando 72 horas después de esta última cirugía. Así, estos últimos animales tenían su glándula pineal, completamente desferentada.

Después de la última sesión de registro, todos los animales recibieron una sobredosis de pentobarbital sódico y posteriormente, se pasó corriente anódica ($300 \mu\text{A}$ durante 5 s) a través de cada semimicroelectrodo. A continuación, las ratas se perfundieron, a través del ventrículo izquierdo, con una solución de formaldehído al 10%, saturada con ferrocianuro de potasio. El encéfalo fue extraído y almacenado por 2 semanas en formaldehído al 10%. Posteriormente, se realizaron cortes histológicos ($60-80 \mu\text{m}$) por congelación del encéfalo, con el propósito de observar la localización de los puntos con azul de Prussia, resultado de la reacción del ferrocianuro de potasio con los iones de hierro depositados por la punta del semimicroelectrodo (84). Tales puntos nos permitieron determinar los sitios de registro.

EXPERIMENTO I

Las medias de las latencias de los 3 componentes fueron comparados mediante una prueba de análisis de varianza (ANOVA; 78).

RESULTADOS.

Los puntos de lesión (teñidos con azul de Prussia) se encontraron en el cuerpo pineal en todos los animales. Estos puntos estuvieron localizados entre 100 y 700 micras, por debajo de la superficie de la glándula. Los puntos azules pudieron ser observados en el hipotálamo lateral, únicamente en 15 del total de ratas y en 12 en el complejo habenular. La figura 7 muestra los sitios del hipotálamo lateral, del complejo habenular y de la glándula pineal, donde los puntos con azul de Prussia se encontraron con mayor frecuencia. En todas las ratas del grupo IB el tallo de la pineal se encontró seccionado. En este mismo grupo, se observó una lesión en estructuras circunvecinas al tallo de la pineal, las cuales incluyen la porción medial del área 18 de la corteza cerebral y los colículos superiores (en la porción media del striatum griseum superficial y sólo en ocasiones el striatum opticus). La lesión electrolítica produjo la interrupción completa del tallo de la pineal en todas las ratas del grupo IC (Fig. 8). Este tipo de lesión involucró también las estructuras ya mencionadas y vecinas a dicho tallo. Los datos discutidos aquí son aquellos que provienen de animales en los cuales los registros y las lesiones se realizaron en las

EXPERIMENTO I

estructuras deseadas. En todas las ratas en las cuales se realizó la extirpación de los ganglios cervicales superiores, esta maniobra se verificó postmortem.

El promedio de los potenciales provocados fóticos, registrados en las 3 estructuras de las ratas intactas (grupo IA y IC; registros control), mostraron un patrón trifásico característico (Fig. 9). En la glándula pineal, el primer componente fue una onda negativa (N1) seguida por una positiva (P1) y otra negativa (N2). En el complejo habenular y en el hipotálamo lateral, el primer componente de los potenciales provocados analizados fue una onda positiva (P1), seguida por una negativa (N1) y otra positiva (P2).

El cuadro II muestra el promedio (X) y error estándar (EE) de las latencias de los componentes de los potenciales provocados registrados. El componente N1, en la glándula pineal, mostró una latencia promedio de 36.1, mientras la del P1 fue de 57.5 y la de N2 fue de 82.4 ms (n=24). En el complejo habenular (n=12) las latencias promedio fueron de 39.8, 57.8 y 79.0 ms para las ondas P1, N1 y P2, respectivamente. Las latencias de los componentes de los potenciales registrados en el hipotálamo lateral (n=15), mostraron latencias promedio de 35.3, 58.8 y 84.6 ms para las componentes P1, N1 y P2, respectivamente (Cuadro II).

EXPERIMENTO I

CUADRO II

ESTRUCTURA		CONTROL (n=9)	POSPEDUNCULOTOMIA (n=8)	POSGANGLIONECTOMIA (n=8)
Glándula Pineal	N1	36.1±1.2	37.8±1.8	37.6±2.3
	P1	57.5±1.1	60.2±1.2	59.7±2.2
	N2	82.4±2.8	84.7±1.6	82.1±2.5
Hipotálamo Lateral	F1	35.3±1.7	33.2±1.4	37.0±2.4
	N1	58.0±2.2	57.1±1.3	56.9±2.6
	F2	84.6±3.5	80.2±2.5	77.6±3.0
Complejo Habenular	F1	38.8±1.6	38.6±1.4	36.3±2.6
Habenular	N1	57.8±2.3	57.2±1.4	52.9±2.7
	F2	79.0±3.9	81.2±3.3	72.6±2.8

Latencias ($X \pm EE$) en milisegundos de los 3 principales componentes de los potenciales provocados ópticos registrados en la pineal, el hipotálamo lateral y complejo habenular, de ratas control, después de la lesión del tallo de la pineal y la extirpación bilateral del ganglio cervical superior. La comparación estadística (mediante la prueba ANOVA; 78) de las medias de cada componente, entre los tres grupos, reveló que no existen diferencias significativas entre éstos ($P < 0.05$).

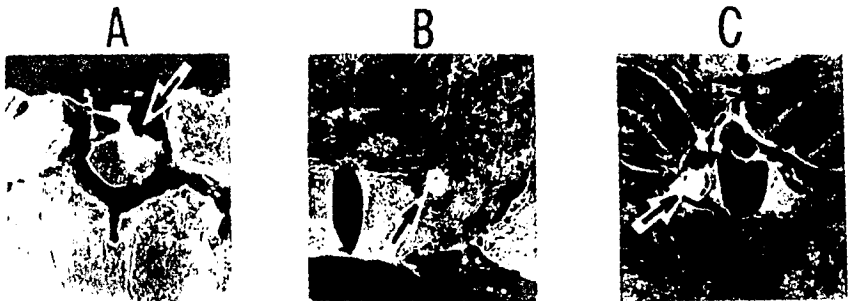


Fig. 7.- Cortes histológicos representativos del cerebro de ratas, que muestran los sitios de registro (†) en la glándula pineal (A), hipotálamo lateral (B) y complejo habenular (C).



Fig. 8.- Fotografía de una glándula pineal y de su tallo. Las flechas indican los puntos 'azules', en la glándula, sitio donde los potenciales provocados fóticos se registraron y en el extremo del tallo donde se realizó la lesión electrolítica. Calibración = 0.6 mm.

EXPERIMENTO I

Las amplitudes de las ondas de los potenciales fueron más variables que las latencias, aunque los potenciales registrados en la glándula pineal, mostraron las mayores amplitudes en todos los casos. Así, en la pineal N1 osciló entre 75 y 150 μV , F1 entre 150 y 250 μV y, N2 de 10 a 75 μV . En las otras 2 estructuras, las amplitudes de estos potenciales provocados mostraron oscilaciones similares y variaron de 5 a 90, 50 a 150 y entre 10 y 80 μV para F1, N1 y F2, respectivamente. Si la amplitud de los componentes disminuía o aumentaba con respecto a la observada el día anterior, este cambio se generalizó para todas las estructuras registradas.

En el grupo IB ($n=7$), las ratas con sección quirúrgica del tallo de la pineal, los potenciales provocados fóticos registrados en las 3 estructuras, mostraron el mismo patrón característico (latencia, amplitud y polaridad), observado en aquellos animales intactos (Fig. 9 y 10). Similarmente, las lesiones electrolíticas del tallo de la pineal, realizadas en 10 animales (Grupo IC), no modificaron, en ninguna de las 3 estructuras, alguna de las características de los potenciales provocados fóticos registrados antes de la lesión (Cuadro II y Fig. 9).

En las 14 ratas simpatetomizadas (5 del Grupo IA; 4 y 5 ratas del Grupo IB y IC, respectivamente), los potenciales registrados, permanecieron sin cambio alguno después de la extirpación de los ganglios señalados (Fig. 9 y 10). Después de la simpatetomía, todos los animales mostraron una atosis

EXPERIMENTO I

palpebral bilateral, la cual ocluyó el 80% de la superficie del globo ocular que comúnmente se muestra.

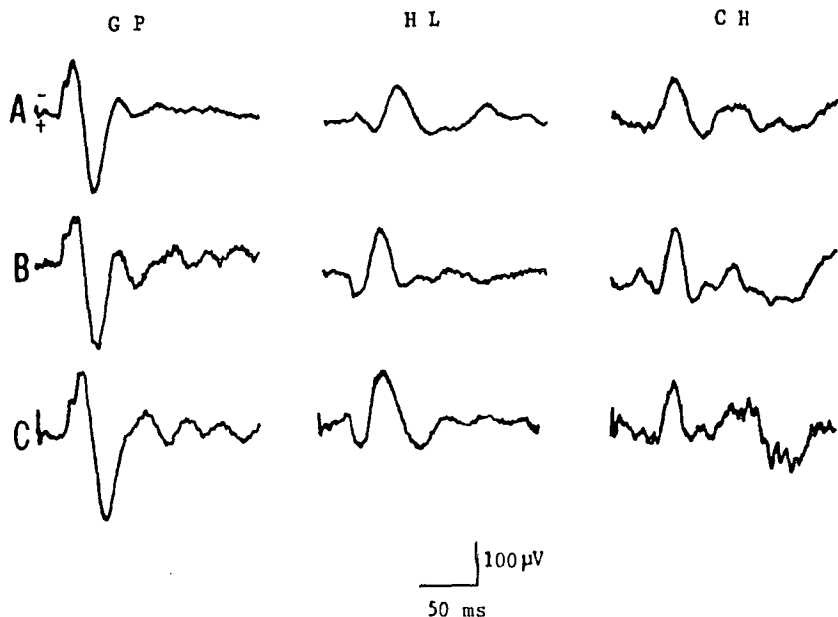


Fig. 9.- Potenciales provocados fáticos promedio (n=32), registrados en la glándula pineal (GP), hipotálamo lateral (HL) y en el complejo habenular (CH), de una rata del grupo IC. A, representa los registros control; B y C, muestran los potenciales registrados después de la lesión electrolítica del tallo de la epifisis y después de la glandinectomía, respectivamente. Obsérvese como ninguna de tales maniobras modificó estas señales eléctricas.

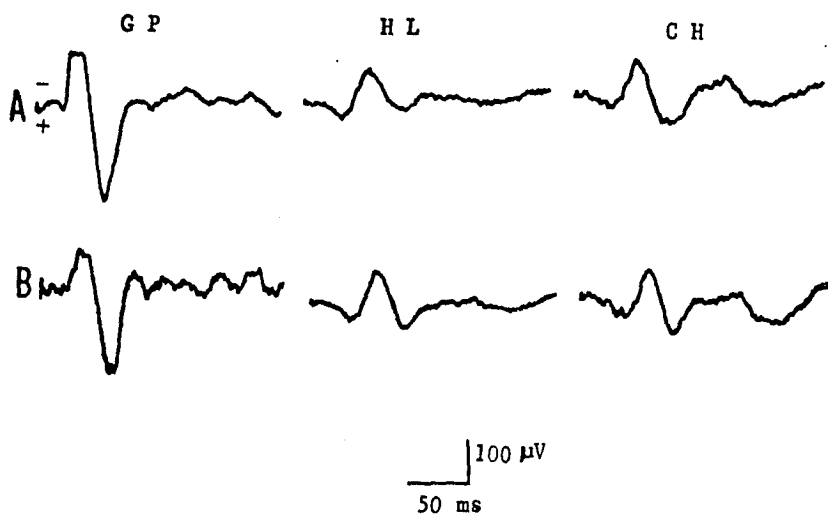


Fig. 10.- Potenciales provocados fóticos representativos, registrados en la glándula pineal (GP), el hipotálamo lateral (HL) y en el complejo habenular (CH), de una rata del grupo IB, después de la lesión quirúrgica del tallo de pineal (A) y la extirpación bilateral del ganglio cervical superior (B).

EXPERIMENTO I

DISCUSION.

Resumiendo los resultados más importantes de este experimento, son:

- a) la estimulación fótica produce potenciales con un patrón característico en las 3 estructuras registradas;
- b) la amplitud de los potenciales provocados fóticos de la glándula pineal fue mayor que la del hipotálamo lateral y del complejo habenular;
- c) los potenciales provocados fóticos de las 3 estructuras, mostraron componentes con latencias similares (Cuadro II) y
- d) el patrón, la latencia y amplitud, no se modificaron ni por la lesión del tallo de la pineal ni por la extirpación de los ganglios simpáticos cervicales (referencias neurales a la glándula pineal; 17,52,89,20; Cuadro II, Fig. 9 y 10).

Varios trabajos demostraron que la glándula pineal de las ratas adultas no poseen elementos fotosensibles (89). Por lo tanto, los resultados observados en el presente experimento sugieren fuertemente que los potenciales provocados fóticos registrados en la glándula pineal, son generados en otras estructuras encefálicas. De tal forma, estos potenciales podrían representar una proyección electrofónica de voltajes generados en estructuras circunvecinas. Probablemente de los colículos superiores, los cuales están localizados debajo del cuerpo pineal y reciben importantes referencias visuales (1,14,24). Aunque otra posibilidad es la corteza visual, localizada en las inmediaciones de la pineal.

EXPERIMENTO I

Contrariamente a nuestros resultados, Dafny (17), usando un procedimiento de registro similar, reportó la desaparición de los últimos componentes de los potenciales registrados en la pineal, después de la extirpación bilateral del ganglio cervical superior. Este autor registró estos potenciales durante las dos primeras horas postganglionectomía, cirugía realizada bajo anestesia con pentobarbital. Sin embargo, en ese mismo trabajo se muestra que dicho anestésico es capaz de inducir también alteraciones en los componentes tardíos de los mismos potenciales. Por lo tanto, los hallazgos encontrados por Dafny (17) pueden ser debidos a los efectos del pentobarbital más que, a la gangliectomía cervical superior. En el presente experimento, los registros se realizaron 72 horas después del uso de anestésicos, cuando sus acciones depresoras ya no existen. De acuerdo con nuestros resultados, Fazio (51) reportó que la gangliectomía cervical no modificó los potenciales provocados fóticos registrados en la glándula pineal. Este autor, realizó los registros control y los postganglionectomía, en ratas no anestesiadas e inmovilizadas con xelamina.

La persistencia de los potenciales provocados fóticos en la pineal después de la gangliectomía, se interpretó a favor de la idea de que esta glándula recibe información a través de su tallo (17,54). En apoyo de esta idea, Fazio (54), mostró que las respuestas provocadas, registradas en la pineal, por la estimulación fótica, y por la estimulación eléctrica del tracto óptico, amígdala, nervio cístico, complejo habenular y área

EXPERIMENTO I

septal, desaparecen después de la lesión quirúrgica del tallo de la pineal. Este autor realizó los registros inmediatamente después de la pedunculotomía y hasta 3 a 4 horas más tarde. Contrariamente a los estudios realizados por Pazo (54), en el presente trabajo se mostró la persistencia de los potenciales provocados fóticos en la glándula pineal, después de su pedunculotomía. Debido a su localización anatómica (Fig. 1), la lesión del tallo de la pineal siempre involucra a otras estructuras circunvecinas, como se pudo determinar en los análisis histológicos del presente experimento. Además de estas lesiones anatómicas, lesiones funcionales o transitorias de estructuras vecinas al tallo, podrían ser esperadas durante o tiempo después de la pedunculotomía de la pineal. Estas lesiones transitorias podrían ser las responsables de la abolición de los potenciales provocados fóticos registrados en el cuerpo pineal, como lo reportó Pazo (54). Esta interpretación también explicaría la presencia de estos potenciales en nuestros registros realizados 72 horas después de la pedunculotomía, cuando las alteraciones transitorias de las estructuras circunvecinas al tallo de la pineal, y verdaderas generadoras de estos potenciales, han desaparecido. Es importante mencionar, que todas aquellas estructuras del SNC cuya estimulación se ha mostrado (15,54) induce potenciales de campo en la glándula pineal, mantienen conexiones directas o indirectas con los colículos superiores (1,14,21,26).

EXPERIMENTO I

En conclusión, proponemos que los potenciales provocados fóticos registrados en la glándula pineal, no son generados en esta estructura, sino que son el resultado de la transmisión electrofisiológica de respuestas eléctricas provenientes de otras regiones, tales como los colículos superiores o la corteza visual. Además, estos resultados demuestran que este tipo de técnica electrofisiológica no es conveniente para el estudio de la inervación de la glándula pineal. Como consecuencia, las interpretaciones de artículos que usaron esta técnica deben ser tomadas con precaución.

Los resultados obtenidos en este experimento han sido ya reportados en la literatura científica internacional (4).

EXPERIMENTO II

INTRODUCCION.

Dentro de las estructuras localizadas cerca de la glándula pineal y que poseen importantes aferencias fóticas, destacan la corteza visual y los colículos superiores. Esta última estructura, está conformada por 6 a 9 láminas y constituye el principal centro para la integración visual en los vertebrados inferiores (14,35,59; p.e. aves). Estos colículos, reciben información visual proveniente de la corteza visual y poseen conexiones directas con la capa ganglionar de la retina. Los tractos aferentes provenientes de la retina y de la corteza occipital, llegan al colículo superior a través del braquium y penetran en el stratum opticum (35,59,76). Muchas de estas aferencias, dan un giro para terminar en el stratum griseum superficiale. Neuronas de esta capa envían fibras al stratum griseum profundum, que cruzan el stratum opticum. De estas fibras salen colaterales transversalmente, que se dirigen a la capa más superficial, el stratum zonale (14,35,93). Las importantes relaciones anatómicas de la glándula pineal con los colículos superiores, los convierte en importantes candidatos como generadores de los potenciales provocados fóticos registrados en la pineal.

EXPERIMENTO II

Son múltiples las maniobras electrofisiológicas que permiten la localización de estructuras generadoras de potenciales de campo, como los potenciales provocados. Esto es debido a que ninguna de estas técnicas es concluyente.

Los potenciales provocados fóticos son potenciales de campo temporalmente relacionados con la aplicación de un estímulo luminoso y fundamentalmente son resultado de la descarga sincrónica de un conjunto de neuronas espacial y temporalmente organizadas (58). Los potenciales de campo pueden ser registrados a distancia de su origen, con una atenuación que depende de la distancia y la naturaleza del medio conductor. El patrón del potencial registrado dependerá de la relación entre el diólo y los electrodos de registro (derivación). Cuando sólo uno de los electrodos se coloca lejos (electrodo de referencia) y el otro cerca de la estructura generadora (electrodo activo), se obtiene un registro llamado monopolar; un registro bipolar se obtiene si ambos electrodos se encuentran muy próximos. Este último, permite registrar voltajes localizados únicamente cerca del sitio explorado. Adicionalmente, la identificación de las estructuras generadoras de un potencial de campo, requiere de un análisis experimental que involucre la lesión de los sitios probables de origen del potencial (58,80).

En un registro monopolar, cuando el electrodo activo esté lejano a la fuente generadora del potencial de campo, grandes cambios en la posición del electrodo tienen poco efecto sobre las características del potencial registrado a distancia; lo

EXPERIMENTO II

contrario sucede si el electrodo se encuentra cerca de la estructura generadora, es decir, pequeños movimientos del electrodo de registro ocasionan grandes cambios en el potencial observado. Esto explica el porqué en un registro bipolar se observan voltajes sólo cuando los electrodos se encuentran "muy" cerca del generador. Si se registran potenciales colocando el electrodo activo a uno y a otro lado del generador, estos mostrarán componentes de polaridad exactamente opuesta. Lo cual se debe a que nos encontramos en ambos extremos de los dipolos (58,80).

EXPERIMENTO II

OBJETIVO.

Estudiar el papel de los colículos superiores y de la corteza visual en la generación de los potenciales provocados fóticos registrados en la glándula pineal de la rata adulta, realizando para esto registros mono y bipolares, en distintas profundidades, combinados con la lesión de estas posibles estructuras generadoras.

METODO.

Los experimentos se realizaron en forma asuda, utilizando 24 ratas macho (200-250 g). El primer enfoque experimental consistió en realizar registros bipolares y monoelctros a diferentes profundidades, desde la superficie del cráneo hasta 4.8 mm por debajo, es decir una profundidad tal que atraviese tanto la glándula pineal como los colículos superiores. Estos registros se realizaron en animales control, en ratas con los colículos superiores lesionados y en animales con extirpación de la corteza visual. Estos dos últimos procedimientos se realizaron bajo anestesia general (pentobarbital sódico 55 mg/kg i.p.) y con los animales colocados en un aparato estereotáxico. En 8 ratas, con el propósito de lesionar lo más completamente los colículos superiores, se administró corriente en 2 puntos diferentes de cada colículo (uno anterior "A", y uno posterior "B", Fig. 15), con diferentes intensidades de corriente ("A"=1.5 mA/60 s y "B"=1.0 mA/60 s). Para ello se descubrió el

EXPERIMENTO II

cráneo y se realizaron 4 trépanos (300 μ m de diámetro) por donde se descendió el electrodo de lesión (acero inoxidable, 200 μ m de diámetro y cubierto con teflón). En otras ratas (n=6), con la intención de extirpar la mayor parte de la corteza visual (areas 17 y 18), se efectuó bilateralmente un trépano de 5 mm de diámetro (a partir de 1 mm anterior y lateral a las suturas parietoccipital e interparietal, respectivamente), a través de estos trépanos se succionó la corteza visual bilateralmente. Finalmente, 4 ratas se sometieron a la lesión electrolítica de los colículos y a la extirpación de la corteza visual.

Una a 3 semanas después de realizar las maniobras anteriores, todos los animales (incluyendo 6 ratas íntegras) se anestesiaron con uretano (1,2 g/kg) y se les efectuó una incisión en la línea media anterior del cuello. La tráquea se disecó, rechazando el tejido celular subcutáneo y los músculos anteriores a ella. Una incisión en 'T' invertida se realizó en la tráquea y a través de ella, se colocó una cánula de polietileno (2 mm de diámetro). La cual se fijó a la tráquea mediante seda (000) y el otro extremo de ésta se ocluyó con este mismo material. En 4 de las ratas con lesión electrolítica de los colículos superiores, los ganglios cervicales superiores se disecaron (como se describe en el experimento I) y refirieron mediante un hilo de seda (6-0). Después, los bordes de la piel del cuello se afrontaron mediante una grapas quirúrgicas y los animales se colocaron en un aparato estereotáxico. A continuación, ambos páneados se mantuvieron abiertos mediante un par de puntos realizados con Nylon (6-0).

EXPERIMENTO II

La superficie del cráneo se expuso nuevamente y se colocó un tornillo (acero inoxidable y 1 mm de diámetro) en el hueso frontal, éste fue usado como electrodo de referencia en los registros monopolares. Un trépano (300 μm) se realizó en el cráneo por encima de la pineal (línea media, 0.8 mm por atrás de lambda) y a través de él se descendió un electrodo bipolar (alambre de acero inoxidable, trenzado, 50 μm de diámetro y cubierto con teflón), en etapas de 200-400 μm desde el cráneo hasta por debajo de los colículos superiores. En cada etapa se registraron 32 potenciales provocados fóticos mono y bipolares, simultáneamente. La lámpara del fotoestimulador (Grass PS-22) se colocó 25 cm de la cabeza del animal. La amplificación de los potenciales se realizó de igual manera que en el experimento I (Fig. 6) y simultáneamente se determinó el promedio mediante un microcomputador (LSI-11). En este mismo sesarto se determinaron las latencias de los diferentes componentes (medida desde la aplicación del destello hasta la mayor amplitud de la onda) de los potenciales promedio (n=32) obtenidos. Mediante el mismo computador, se determinó la amplitud, midiendo la distancia del pico máximo de cada componente a la línea basal. Adicionalmente, se calculó el área debajo de la curva de cada onda de los potenciales promedio. Al final de los registros, se marcaron dos de las etapas del trayecto, utilizando la misma técnica descrita para esto, en el experimento I. La lesión de la corteza visual se verificó observando el encéfalo con una lupa y posteriormente, el tejido se incluyó en parafina y se realizaron cortes de 25 μm de grosor. Los cortes fueron teñidos con la técnica de

EXPERIMENTO II

hematoxilina eosina o la de Nissl y se observaron al microscopio de luz, con el propósito de observar las lesiones de los colículos superiores y delimitar la profundidad y extensión de las lesiones de la corteza visual.

Los promedios de las latencias, amplitud y área debajo la curva, de cada uno de los componentes de los potenciales de los distintos grupos de animales se compararon mediante una prueba de análisis de varianza (ANOVA). En los casos en que esta prueba mostró diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0.05$) entre las medias de los grupos, la prueba de Dunnet se utilizó, para determinar cual de los grupos mostraba la diferencia estadística. Todos los cálculos se realizaron utilizando un computador (VAX/VMS) y el paquete estadístico (STAR) de la unidad de computación de esta Facultad de Medicina (78).

RESULTADOS.

Análisis histológico.

En los animales con extirpación cortical (n=10) se observó, en todos ausencia del área cortical 17, 18 y la porción lateral y posterior del área 18a (Fig. 12A). En aquellas ratas en que se administró corriente en los colículos superiores, el análisis histológico mostró la lesión de un 90-100% de estas estructuras (Fig. 12B y C). La correlación de la altura medida estereotáxicamente con los puntos de azul de Prussia encontrados en el análisis histológico mostró que a 2 mm por debajo de la superficie del cráneo nos encontramos 100-250 μ m por debajo de la superficie de la glándula pineal; mientras a 4.2 mm, se correspondió con una altura de 100-250 μ m por debajo de la línea media de los colículos superiores (Fig. 11).

Potenciales provocados fóticos de animales íntegros (n=6).

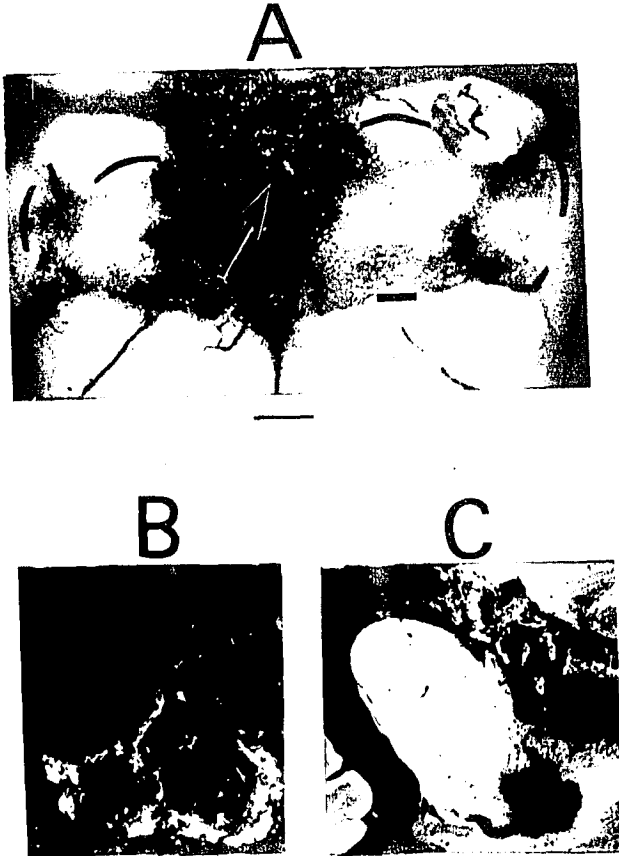
En estos animales, se observaron potenciales monoculares a partir de la superficie del cráneo. En la glándula pineal (2.0-2.4 mm por debajo de la superficie del cráneo), estos fueron característicamente trifásicos (Fig. 13 y 14), de manera similar a los observados en el experimento I. El primer componente fue una onda negativa (N1) seguido de una positiva (P1) y otra negativa (N2). La latencia promedio de N1 fue de 44.7 y de 67.3 y 103.3 milisegundos para P1 y N2, respectivamente (Cuadro III). Los potenciales provocados fóticos registrados en

EXPERIMENTO II

la pineal, mostraron componentes con amplitudes más constantes que las de los registrados en el experimento I, sus valores promedio y su error estandar, de los diferentes grupos de animales, se muestran en el cuadro III. El promedio del área debajo de la curva, de cada uno de los 3 componentes de los potenciales, se muestra en la figura 16, ésta se utilizó como control y se comparó con el obtenido en cada uno de los grupos de animales lesionados (Fig. 14). La morfología, las amplitudes y latencias de los potenciales provocados fóticos, mostraron pequeños cambios (Fig. 13) desde el cráneo hasta pasar el stratum griseum superficial de los colículos superiores (3.2-3.4 mm por debajo de la superficie del cráneo). Por debajo de este nivel, la amplitud de los componentes se modificó notablemente e incluso pequeños movimientos del electrodo originaron cambios importantes en el patrón de los potenciales registrados (Fig. 13). Al pasar la comisura de los colículos superiores (4.0-4.2 mm por debajo de la superficie del cráneo), se observó la imagen en espejo de los potenciales provocados fóticos registrados en el cuerpo pineal (Fig. 13). Los potenciales bipolares, se observaron sólo por debajo del stratum griseum profundum y hasta que ambas puntas del semimicroelectrodo estuvieron fuera de los colículos superiores. La latencia del pico del primer componente fue la misma que la del potencial monopolar, registrado simultáneamente.



Fig. 11.- Fotografía de un corte histológico, mostrando el trasecto del semimicroelectrodo de resistencia (1) y 2 de los puntos de azul de Prusia (↑); estos mismos puntos a 2 y 4,2 mm por debajo del nivel de la superficie del cráneo, de acuerdo a la lectura del estereotáxico. Señal de calibración 1 mm.



Fis. 12.- A, muestra la corteza cerebral extirpada (líneas interrumpidas) y la flecha señala a la glándula pineal. B y C son cortes histológicos que muestran la lesión característica de los colículos superiores, vista en los planos coronal y sagital, respectivamente. Las señales de calibración corresponden a 1 mm.

EXPERIMENTO II

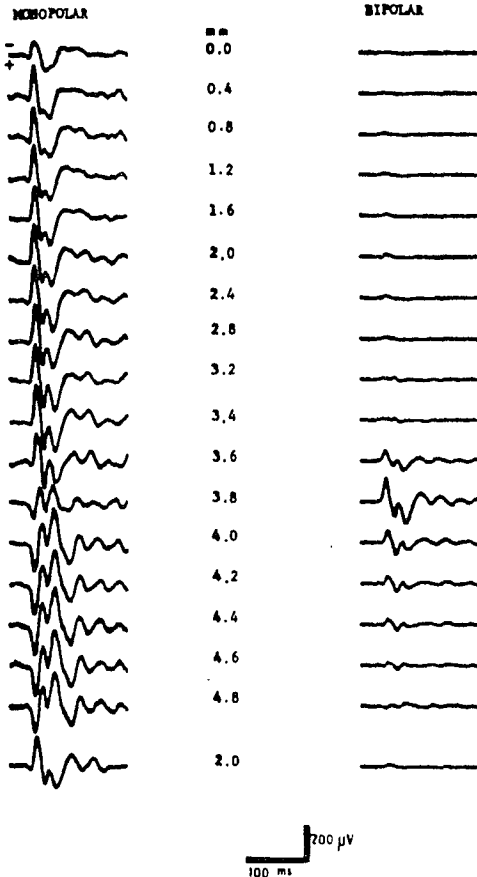


Fig. 13.- Potenciales provocados fóticos promedio representativos, registrados en diferentes etapas (mm) por debajo del nivel de la superficie del cráneo inmediatamente superior a la glándula pineal. Los registros mono y bipolares se efectuaron simultáneamente en una rata íntegra. El análisis histológico mostró que la glándula pineal se encontró desde 1.7 hasta 2.6 mm por debajo de la superficie del cráneo.

EXPERIMENTO II

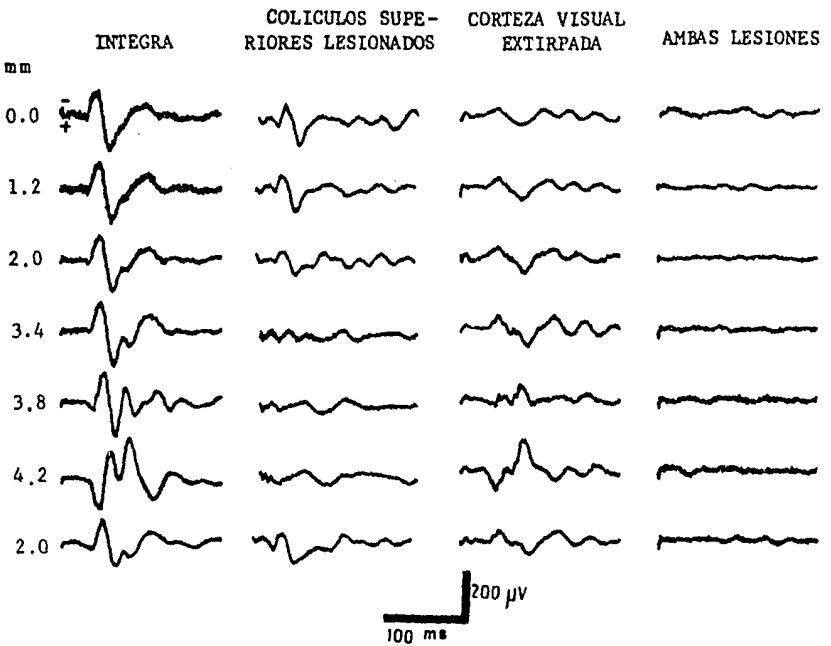


Fig. 14.- Gráficas de los potenciales provocados fóticos promedio, registrados a distintas profundidades del nivel de la superficie del cráneo, superior a la físis, en 4 ratas sometidas a diferentes lesiones 1-3 semanas antes de los registros.

EXPERIMENTO II

Potenciales provocados fóticos de ratas con lesión en colículos superiores (n=8).

Los potenciales monopares registrados en la glándula pineal de estos animales, mostraron un patrón trifásico (NPN) y latencias de los diferentes componentes, similares a las de los animales control (Fig. 14, Cuadro III). Contrariamente, en esta misma altura, los potenciales muestran componentes con una amplitud (Cuadro III y Fig. 14), menor que aquéllas de las ratas íntegras ($P < 0.01$). Además, el área debajo la curva de cada uno de los componentes, fue significativamente menor ($P < 0.01$) que la de los animales íntegros (Fig. 16). Interesantemente, los potenciales registrados fueron disminuyendo de amplitud al ir descendiendo el electrodo observándose sólo pequeños potenciales dentro de los colículos superiores, los cuales no se invirtieron en los registros por debajo de esta estructura (Fig. 13). No se observaron potenciales bipolares en el trayecto explorado, en ninguna de estas ratas.

Potenciales provocados fóticos de ratas con extirpación de corteza visual (n=6).

La latencia y el patrón (NPN) de los potenciales monopares registrados a nivel de pineal, fueron similares a los observados en las ratas íntegras (Cuadro III y Fig. 14). Igual que en los animales íntegros, la amplitud de los 3 componentes fue mayor a medida que al semimicroelectrodo se acercó a superficie de los colículos superiores, sin embargo, a nivel de la glándula pineal,

EXPERIMENTO II

ésta fue significativamente menor ($P < 0.01$) que la observada en los animales íntegros (Fig. 14; Cuadro III). De acuerdo con esto el área debajo la curva de cada componente, de este mismo grupo, fue menor ($P < 0.01$) que la de los animales control (Fig. 16). En estos sujetos, los potenciales bipolares fueron observados durante las mismas etapas de registro que en los animales íntegros.

Potenciales provocados fóticos de los animales con extirpación de la corteza visual y lesionados de los colículos superiores ($n=4$).

En ninguno de los animales de este grupo, se observó algún potencial, mono o bipolar, característico en todo el trayecto explorado (Fig. 14).

CUADRO III

ANIMALES		C O M P O N E N T E		
		N1	P1	N2
INTEGROS (n=6)	Latencia (msec)	44.73±1.2	67.37±5.4	109.34±8.8
	Amplitud (μV)	136.20±17.0	151.43±22.1	77.00±14.5
COLICULOS SUPERIORES LESIONADOS (n=8)	Latencia	41.90±4.0	62.32±3.6	95.42±11.0
	Amplitud	39.23±9.0*	40.35±8.5*	19.72±4.6*
CORTEZA VISUAL EXTIRPADA (n=6)	Latencia	45.51±4.8	74.39±9.9	106.88±9.3
	Amplitud	54.87±7.8*	61.14±4.9*	29.64±4.7*
VALOR DE F= (ANOVA)	Latencia	1.398	5.766	2.053
	Amplitud	19.611	19.207	12.554

(*) $P < 0.01$ (Prueba de Dunnet de dos colas; 78)

Promedio y error estandar ($\bar{X} \pm EE$) de las latencias y amplitudes observadas para los 3 componentes de los potenciales provocados fóticos registrados en la glándula pineal de ratas íntegras y con lesión de los colículos superiores o de la corteza visual. Nótese que no aparecen datos sobre las ratas (n=4) sometidas a ambos tipos de lesiones, lo cual se debe a que en éstas no se observó potencial fótico alguno. N y P significan negativo y positivo, respectivamente.

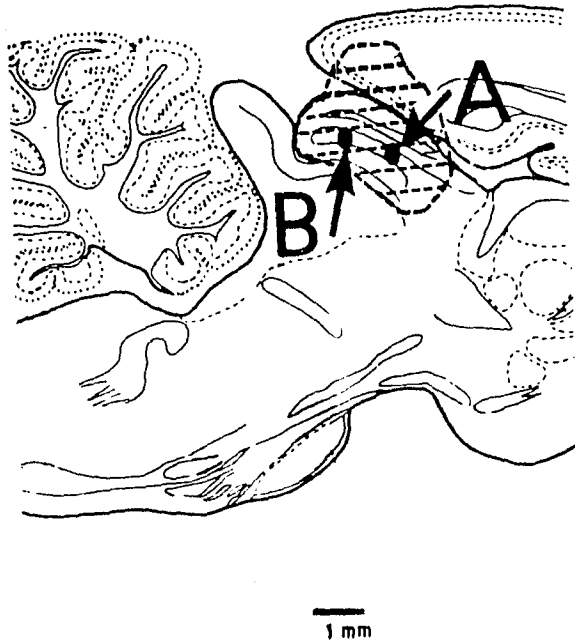


Fig. 15.- Esquema de un corte sagital (1 mm lateral) del encéfalo de ratona, representando la lesión del encéfalo después de administrar corriente en los colículos superiores. Los puntos 'A' y 'B', muestran los sitios donde se administró la corriente de lesión (A=1.5 mA y B=1 mA/60 s).

EXPERIMENTO II

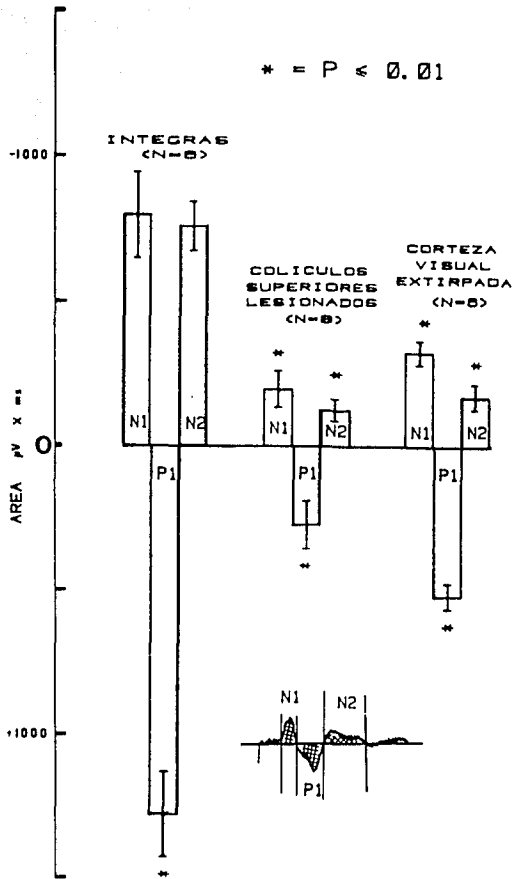


Fig. 16.- Histograma del promedio (barras) y error estandar (líneas) del área debajo de la curva ($\mu V \times msec$) de cada uno de los 3 componentes (NPN) de los potenciales provocados fóticos registrados en la pineal (2 mm de altura) de 3 distintos grupos de animales. Abajo se muestra uno de los potenciales y las áreas determinadas de los tres componentes.

DISCUSION.

Los potenciales provocados fóticos registrados en la pineal durante el presente experimento, mostraron una mayor latencia que la de los potenciales registrados en el experimento I; esto puede ser interpretado como efecto debido al uretano, utilizado como anestésico durante los registros (Cuadros II y III). Adicionalmente, la amplitud de los potenciales registrados en los animales del experimento I, fue muy variable, a diferencia de la observada en los animales íntegros del presente experimento; lo que podría ser el resultado de las condiciones experimentales en las cuales se realizaron los registros, es decir, los animales con conducta libre, podían no necesariamente, estar con los ojos abiertos y dirigidos a la lámpara del fotoestimulador. Los potenciales monopolares registrados por arriba de los colículos superiores únicamente modifican su amplitud. Esta se incrementa a medida que se acerca el semimicroelectrodo a estas estructuras (Fig. 13). Estos potenciales mostraron grandes modificaciones en los registros realizados dentro de los colículos superiores, obteniéndose la inversión. Este potencial invertido, persiste aún cuando los registros se obtienen en sitios más profundos a los colículos superiores. Concordantemente, los potenciales bipolares sólo se observaron dentro de los colículos mencionados (Fig. 13). Estos datos sugieren que los potenciales provocados

EXPERIMENTO II

fóticos se propagan electrotónicamente, de su origen en los colículos superiores, a estructuras circunvecinas, incluyendo a la glándula pineal. De acuerdo con esta idea, la amplitud y el área debajo la curva de los potenciales provocados fóticos, registrados en la pineal de ratas con los colículos superiores lesionados, es significativamente menor ($P < 0.01$) que la correspondiente observada en los animales control (Cuadro III). Sin embargo, la persistencia de potenciales provocados fóticos de pequeña intensidad, en las ratas con una lesión completa de los colículos superiores, sugiere la participación de otra(s) estructura(s) en la generación de tales potenciales. Los potenciales registrados en las ratas con lesión de los colículos superiores (Fig. 14), mostraron una mayor amplitud cerca de la superficie del cráneo, hasta desaparecer a una altura de 2.8 a 3.2 mm del trayecto registrado. Estos datos sugirieron que los potenciales de pequeña amplitud, observados después de la lesión de los colículos se generaran en una estructura cercana al cráneo, p.e. la corteza visual.

La extirpación de la corteza occipital modificó importantemente no sólo la amplitud de las respuestas fóticas registradas en la epifisis sino también las del resto del trayecto, incluyendo aquellas obtenidas en los colículos superiores (Fig. 14). Tal efecto, podría ser resultado de la interrupción de las aferencias provenientes de la corteza visual que poseen los colículos mencionados (14,74,35). Estos datos sugieren que los potenciales registrados en la glándula pineal

EXPERIMENTO II

tienen un origen, al menos dual. Así, se requiere de la integridad tanto de los colículos superiores como de la corteza visual, para obtener potenciales fóticos en la pineal. Lo cual es apoyado por el hecho de que al quitar los colículos superiores o la corteza visual aún se observan potenciales en la pineal, mientras que después de ambas maniobras los potenciales desaparecen (Fig. 14).

En conclusión, estos resultados explican porque, ni la sindliectomía cervical bilateral ni la pedunculotomía de la glándula pineal, modifican este tipo de respuesta, registradas en esta glándula (Experimento I).

PERSPECTIVAS

En este par de experimentos se mostró que la glándula pineal no genera potenciales de campo después de la estimulación luminosa, aunque de ninguna manera, esto sugiere que la glándula pineal no recibe información fótica a través de su tallo o de los ganglios cervicales superiores. Nuestros resultados son indicativos de que la pineal no recibe dicha información como una descarga sincronizada de sus aferencias neurales, necesaria para generar un potencial de campo, como había sido sugerido; sino que tal vez, esta glándula tenga acceso a la información fótica de una forma más compleja y aún no completamente conocida.

El efecto facilitador de la norepinefrina (liberada por las terminales de los nervios conarii), sobre la síntesis y liberación de la melatonina en la glándula pineal, ha sido bien documentada (3,8,9,97). Por otro lado, la estimulación eléctrica de los ganglios cervicales superiores, produce un incremento de la frecuencia de disparo en los potenciales de acción registrados en la glándula pineal; efecto reproducido por la aplicación de norepinefrina y bloqueado por propranolol (70,71). Esto sugiere, indirectamente, que al menos parte de las influencias que los ganglios cervicales superiores ejercen sobre la liberación de melatonina, podría ser medida por la actividad eléctrica de los pinealocitos.

PERSPECTIVAS

Varios estudios sugieren también una interacción compleja entre la pineal y la luz. Por ejemplo, algunos reportes bioquímicos han señalado que la actividad de la N-acetiltransferasa es revertida en un 50% de sus niveles nocturnos, por la exposición de los animales a la luz. Sin embargo, tal reversión únicamente se obtiene cuando se aplican pulsos luminosos con una duración de al menos 3 minutos (38), pulsos de menor duración muestran una efectividad menor hasta que la aplicación de pulsos de 60 segundos son inefectivos (39). Esto sugiere que la sensibilidad fótica de la glándula pineal es tal, que sólo puede responder cuando el estímulo luminoso, tiene una persistencia de varios minutos. Así, los destellos luminosos de corta duración, como los empleados para registrar potenciales provocados y que generalmente poseen una duración de 10 microsegundos, podrían no constituir un verdadero estímulo fótico para esta glándula. Otro aspecto importante de la complejidad con la que la glándula pineal responde a la luz, se refiere al momento de aplicación de este estímulo. Es decir, se ha mostrado que la reversión de los niveles enzimáticos en la glándula por efecto de la luz, ocurre sólo cuando la estimulación fótica se aplica alrededor de las 00:15 horas (32). Estos resultados indican que los estímulos luminosos son detectados por la pineal, o el sistema que controla a ésta, de manera distinta durante el ciclo luz/obscuridad. Si estos cambios bioquímicos, tienen como mecanismo subyacente un cambio en la actividad eléctrica de las células transductoras neuroendocrinas entonces, la actividad eléctrica de las células de la pineal, también

mostrarán una respuesta diferente a la estimulación fótica, dependiendo de la etapa del fotoperiodo en la cual ésta se aplique. Probablemente, la complejidad de las relaciones entre la luz y la glándula pineal sea debida en parte a la participación del núcleo supraquiasmático en los procesos de la transmisión fótica. Así, se ha sugerido que la información fótica que alcanza la glándula pineal, es integrada y modificada por la intervención de ese núcleo. Cuando el supraquiasmático se lesiona, se pierde la producción cíclica de indoles, lo cual no sucede después de las lesiones de la vía visual previas a dicho núcleo (38,51).

Estas reflexiones de la complejidad de los efectos de la estimulación fótica sobre la glándula pineal nos orientan en las técnicas de estudio que deben ser utilizadas para analizar tales efectos. Así, si se quieren conocer las influencias de la luz sobre la actividad eléctrica de la glándula pineal, la importancia de estructuras como la habenula o la estria medularis (que se presume se conectan a la glándula pineal a través de su tallo) y de los ganglios cervicales en tales influencias (además de la interrelación funcional de estas posibles aferencias neurales), proponemos un enfoque experimental que involucre el registro de la actividad unitaria en distintas fases del fotoperiodo, ante estímulos luminosos de distinta intensidad y duración. Estos experimentos deben realizarse en animales con lesiones en distintas porciones de las vías neurales propuestas, asociando a los registros unitarios y a las maniobras anteriores,

PERSPECTIVAS

la técnica de microiontoforesis. Esta última nos permitirá analizar la importancia funcional y farmacológica de distintas sustancias, entre ellas algunos posibles neurotransmisores y hormonas que se sabe influyen a la glándula pineal.

REFERENCIAS

1. Altman, J., y M. B. Carpenter. 1962. Fiber projections to the superior colliculus in the cat. *J. Comp. Neurol.* 116: 157-177.
2. Anton-Tay F., A. Escobar y S. M. Anton (1962). Estudios sobre la glándula pineal. II. Inhibición de la hipertrofia suprarrenal compensadora por la administración de extracto pineal. *Bol. Inst. Estud. Biol., Mex.* 20: 281-285.
3. Axelrod J., H. M. Shein y R. J. Wurtman (1969). Stimulation of C(14)-melatonin synthesis from C(14)-tryptophan by noradrenaline in rat pineal in organ culture. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 62: 544-549.
4. Bernaldes-López C., M. A. Berrientos-Martínez y C. Reyes-Vázquez (1986). Persistence of photic responses in pineal gland after pedunculotomy and superior cervical ganglionectomy. *J. Pineal Res.*, en prensa.
5. Bernaldes-López C. y C. Reyes-Vázquez. Pineal photic potentials are generated in cortical and mesencefalic structures. *Enviado a Brain Res.* Bull.
6. Black D. E., R. J. Reiter, y L. Y. Johnson (1977). Pineal-induced alterations in reproductive function and pituitary prolactin in the female rat: The effects of bilateral superior cervical ganglionectomy and nervi coaractii transection. *J. Neurosci. Res.* 2: 127-133.
7. Black D. E., M. K. Vaughan y R. J. Reiter (1983). Pineal peptides and reproduction. En: *The Pineal Gland*, (Ed.) Reiter R. Elsevier Science Publishing USA.
8. Brownstein M., J. Sasveda y J. Axelrod (1973). Control of pineal N-acetylserotonin by a beta-adrenergic receptor. *Mol. Pharmacol.* 9: 605-611.
9. Brownstein M., R. Holz y J. Axelrod (1973). The regulation of pineal serotonin by a beta adrenergic receptor. *J. Pharmacol. Ther.* 186: 109-113.
10. Buijs R. M., y F. Pevel (1980). Vasopressin and oxytocin-containing fibers in the pineal gland and subcommissural organ of the rat. *Cell Tissue Res.* 205: 11-17.
11. Calvo J. y J. Bova (1984). Postnatal evolution of the rat pineal gland: light microscopy. *J. Anat.* 139: 47-53.

REFERENCIAS

12. Cardinali D. P. (1981) Melatonin. A Mammalian Pineal Hormone. *Endocrine Rev.* 2: 327-346.
13. Cardinali D. P. y M. I. Vacas (1984) Pineal gland, photoperiodic responses, and puberty. *J. Endocrinol. Invest.*, 7: 157-165.
14. Crosby, E. C., T. Humphrey, y E. W. Lauer. 1962. Correlative Anatomy of the Nervous System. The MacMillan Company, New York. 221-267.
15. Dafny N., R. McClune y S. J. Strada (1975). Neurophysiological properties of the pineal body (I. Field Potentials). *Life Sci.*, 16: 611-620.
16. Dafny N. (1977). Electrophysiological evidence of photic, acoustic, and central input to the pineal body and hypothalamus. *Exp. Neurol.* 55: 449-457.
17. Dafny N. (1980). Two photic pathways contribute to pineal evoked responses. *Life Sci.*, 26: 737-742.
18. Dafny N. (1983). Evidence that the rat pineal has neuronal connections via the pineal stalk. *Exp. Neurol.* 79: 858-861.
19. Delmas J. A., L. J. A. Didio, E. R. Gentre y O. Ohtani (1982). The fixed rat pineal gland as revealed in SEM and TEM. *Ann N Y Acad Sci*: 119-126.
20. Ebedi M., A. Chen, M. Itoh, H. M. Hamada, S. Swanson y P. Govittrakorn (1984). The role of 5-hydroxytryptophan in regulation of melatonin synthesis in bovine pineal gland. En: *Dynamics of Neurotransmitter Function* (Ed.) I. Hanin. Raven Press, New York, 177-187.
21. Edwards, E. S., C. L. Ginsburgh, D. K. Herbol, y E. E. Stein. 1979. Sources of subcortical projections to the superior colliculus in the rat. *J. Comp. Neurol.* 184: 309-330.
22. Ellis G. B. y F. W. Turek (1979). Changes in locomotor activity associated with the photoperiodic response of the testes in male golden hamsters *J. Comp. Physiol.* 132: 277-284.
23. Elliott J. (1976) Circadian Rhythms and Photoperiodic Time Measurement in Mammals, *Fed. Proc.* 35: 2339-2346.
24. Giolli, A. R., y M. D. Guthrie. 1971. Organization of subcortical projection of visual areas I and II in the rabbit. An experimental denervation study. *J. Comp. Neurol.* 142: 351-376.
25. Goldman E. D. (1983). The physiology of melatonin in mammals. En: *Pineal Res. Reviews*, Vol I. (Ed.) R. J. Reiter. Alan R. Inc. New York. 145-182.

REFERENCIAS

26. Grofova, I. O., P. Ottersen, y E. Rinvik. (1978). Mesencephalic and diencephalic afferents to the superior colliculus and periaqueductal gray substance demonstrated by retrograde axonal transport of horseradish peroxidase in the cat. *Brain Res.* 146: 205-220.
27. Hansen J. T. y M. Karasek (1982). Neuron or endocrine cell? The pinealocyte as a paraneuron. En: *The Pineal and its Hormones.* (Ed:) R. J. Reiter. Alan R. Liss Inc. pp 1-9.
28. Hendrickson A. E., N. Wasoner y W. M. Cowan (1972). An autoradiographic and electron microscopic study of retino-hypothalamic connections. *Z. Zellforsch* 135: 1-26.
29. Herbute S. y J. D. Bayle (1974). Multiple-Unit activity in the pineal gland of the Japanese quail: Exponential firing and responses to photic stimulations. *Neuroendocrinol.* 16: 52-64.
30. Hodde K. C. y W. A. M. Veltman (1979). The vascularization of pineal gland (epiphysis cerebri) of the rat. *Scan. Elect. Microsc.* 3: 369-374.
31. Hoffman R. A. y R. J. Reiter (1966). Response of some endocrine organs of female hamsters to pinelectomy and light. *Life Sci.* 5: 1147-1151.
32. Illnerova H. y J. Nanecak (1984). Circadian rhythm in inducibility of rat pineal N-Acetyltransferase after brief light pulses at night: control by a morning oscillator. *J. Comp. Physiol.* 154: 739-744.
33. Jacobs M. S. y P. J. Morgane (1964). Retino-hypothalamic connections in Cetacea. *Nature*, 203: 778-780.
34. Johnson L. Y. (1978). The pineal gland and its effects on mammalian reproduction. *Prog. Reprod. Biol.* 4: 116-156.
35. Kappers A., C. U. Huber y E. C. Crosby (1936). *The Comparative Anatomy of Nervous System of Vertebrates, Including Man.* Vol. 2, Macmillan Co. New York N.Y.
36. Kappers J. A. (1960). The development, topographical relations and innervation of the epiphysis cerebri in the albino rat. *Z. Zellforsch.* 52: 163-215.
37. Kenns G. C. J. (1951). The "nervus conarii" of the monkey. *J. Neurosath. Exp. Neurol.* 23: 563-470.
38. Klein D. C. y J. L. Weller (1972). Rapid light-induced decrease in pineal serotonin N-Acetyltransferase activity. *Science*, 177: 532-533.

39. Klein D. C. y R. J. Moore (1979). Pineal N-acetyltransferase and Hydroxyindole-O-Methyltransferase: Control by the retino-hypotalamic tract and the supra-chiasmatic nucleus. *Brain Res.*, 174: 245-262.
40. Klein D. C., M. A. Namboodiri y D. A. Auerbach (1981). The melatonin rhythm generating system: Developmental aspects. *Life Sci.*, 28: 1975-1986.
41. Kneisley L. W., M. A. Moskowitz y H. J. Lynch (1978). Cervical spinal cord lesions disrupt the rhythm in human melatonin excretion. *J. Neural Transm.*
42. Konis J. F. R. y R. A. Klippel (1963). *The Rat Brain. A Stereotaxic Atlas of the Forebrain and Lower Parts of the Brain Stem*. R. E. Krieger Publishing Co., Inc.
43. Lews A. J. (1983). Biochemistry and regulation of mammalian melatonin production. En: *The Pineal Gland*. (Ed:) Balkin R. Elsevier Science Publishing USA.
44. Luchelli-Fortis M. A., F. J. E.E Stefano y C. J. Perez (1982). Degeneration Activity of Pineal Gland After Sympathetic Denervation. *Naunsn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 321: 298-301.
45. Matsushima C., Y. Morisawa, I. Aida y K. Ahe (1983). Circadian variations in pinealocytes of the Chinese hamster. *Cricetulus criseus*. *Cell Tissue Res.*, 288: 231-244.
46. Matsuura T., M. Kawata, H. Yamada, K. Fujino y Y. Sano (1983). Immunohistochemical studies on the serotonergic nerve fibers in the pineal organ of the dog. *Arch. histol. Jap.*, 46: 373-379.
47. McClung R. y N. Dufny (1975). Neurophysiological properties of the pineal body II. (single unit recordings. *Life Sci.*, 16: 621-628.
48. Moller M. (1978). Presence of a pineal nerve (nervus pinealis) in the human fetus; a light and electron microscopical study of the innervation of the pineal gland. *Brain Res.* 154: 1-12.
49. Moore Y. M. y N. J. Lenn (1972). A retinohypothalamic projection in the rat. *J. Comp. Neurol.* 146: 1-14.
50. Moore R. Y. y D. C. Klein (1974). Visual pathways and the central neural control of a circadian rhythm in pineal serotonin N-acetyltransferase activity. *Brain Res.*, 71: 17-33.
51. Moore R. Y. (1978). The innervation of the mammalian pineal gland. *Prog. Reprod. Biol.*, 4: 1-29.

REFERENCIAS

52. Moore R. Y. (1978). Neural control of pineal function in mammals and birds. *J. Neural Transm. (Suppl.)* 13: 47-58.
53. Nasle C. A., D. P. Cardinali y J. M. Rosner (1973). Retinal and pineal Hydroxy-indole-O-Methyl Transferases in the rat: Changes following cervical sympathectomy, pinealectomy or blinding. *Endocrinol.*, 92: 1560-1565.
54. Pazo J. H. (1981). Electrophysiological study of evoked electrical activity in the pineal gland. *J. Neural Transm.*, 52: 137-148.
55. Pevet P. (1981). Ultrastructure of the mammalian pinealocyte. En: *The Pineal Gland vol I. Anatomy and Biochemistry.* (Ed:) R. J. Reiter. CRC Press, Boca Raton, pp 121-154.
56. Pevet P. (1983). Anatomy of the pineal gland of mammals. En: *The Pineal Gland*, (Ed:) Reiter R. Elsevier Science Publishing USA.
57. Pfister A., J. Muller, F. Lettner, C. Guerillot, E. Vendrely y C. Deslase (1978). Investigations on a possible extraorthosympathetic innervation of the pineal in rat and hamster. *J. Neural Transm. (Suppl.)* 13: 390-391.
58. Picton T. W. (1980). The use of human event-related potentials in psychology. En: *Techniques in Psychophysiology.* (Ed:) Martin I. y P. H. Venables, John Wiley & Sons Ltd., New York N.Y., 357-395.
59. Polzak G. (1957). Optic nerves, chiasm, tracts, and subcortical visual centers. En: *The vertebrate visual system.* (Ed:) Kluver H. The University of Chicago Press, Chicago, 289-309.
60. Quay W. B. (1965) Histological structure and cytology of the pineal organ in birds and mammals. *Proc. Soc. Res.* 10: 49-86.
61. Quay W. B. (1972). Pineal vasoconstriction at daily onset of light: Its physiological correlates and control. *Physiologist* 15: 241.
62. Ralph L. C., B. T. Firth, A. Gerns H. W. Quens (1979). The pineal complex and thermoregulation. *Biol. Rev.*, 54: 41-72.
63. Reiss M., R. H. Davis, M. B. Sideman y E. S. Plichta (1963). Pineal gland and spontaneous activity of rats. *J. Endocrin* 28: 127-128.
64. Reiter R. J. y R. J. Hester (1966). Interrelationships of the pineal gland, the superior cervical ganglia and the photoperiod in the regulation of the endocrine systems of hamsters. *Endocrinol.*, 79: 1168-1170.
65. Reiter R. J. y F. Fraschini (1969). Endocrine aspects of the mammalian pineal gland: a review. *Neuroendocrinol.*, 5: 219-255.

REFERENCIAS

66. Reiter R. J. (1973). *Comparative physiology*. Pineal Ann. Rev. Physiol. 35: 305-328.
67. Reiter R. J. (1980). The pineal and its hormones in the control of reproduction in mammals. *Endocr. Rev.*, 1: 109-131.
68. Reiter R. J. (1981) The mammalian pineal: Structure and function. *Amer. J. Anat.* 162: 287-313.
69. Reiter R. J. (1981). *Anatomy-Mammals*. En: *The Pineal*, vol. 6. (Ed:) J. Reiter. Eden Press. pp 14-40.
70. Reyes-Vázquez, C. y N. Dafny (1985). Interaction of norepinephrine and superior cervical ganglion input in the rat pineal body. *Exp. Neurol.*, 90:348-356.
71. Reyes-Vázquez, C., B. Prieto-Gómez, L. D. Aldas, y N. Dafny. The rat pineal exhibits two electrophysiological patterns of response to microiontophoretical norepinephrine application. *Enviado a Publicación*.
72. Rollag M. D., F. L. O'Callaghan y G. D. Niswender (1978). Dynamics of photo-induced alterations in pineal blood flow. *J. Endocrinol.* 76: 547-548.
73. Romijn H. J. (1975). The ultrastructure of the rabbit pineal gland after sympathectomy, parasympathectomy, continuous illumination, and continuous darkness. *J. Neurol. Transm.* 36: 183-194.
74. Ronnekleiv O. K. y M. Møller (1979). Brain-Pineal nervous connections in the rat: An ultrastructural study following habenular lesions. *Exp. Brain Res.* 37: 551-562.
75. Ronnekleiv O. K., M. J. Kelly y W. Wuttke (1980). Single unit recordings in the pineal gland: Evidence for habenulo-pineal neural connections. *Exp. Brain Res.* 39: 187-192.
76. Ruch T. C. (1979). Visual fields and central visual pathways. En: *Physiology and Biophysics, The brain and neural function* (Vol I). (Ed:) Ruch T. y H. B. Patton, W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA, 514-541.
77. Sakai K. K. y B. H. Marks (1972). Adrenergic effects on pineal cell membrane potential. *Life Sci.*, 11: 285-291.
78. Sánchez-Villanreal F., A. Jiménez-Huesca, E. Varrón-Ortega y M. A. Berrientos-Martínez (1981). *Manual del sistema interactivo de análisis bioestadístico*. Desarrollado en la Unidad de Computación de la Fac. de Med. UNAM, México D.F.

REFERENCIAS

79. Shapiro S. y M. Sales (1971). Effects of ase, light and sympathetic innervation on electrical activity of the rat pineal gland. *Brain Res.* 28: 47-55.
80. Schlas J. (1973). Generation of Brain evoked potentials. En: *Methods in Physiological Psychology (Bioelectric recording techniques, Vol I part A)*, (Ed:) Thomson R. F. y M. M. Patterson. Academic Press New York and London, 273-316.
81. Semm P., T. Schneider y L. Vollrath (1981). Morphological and electrophysiological evidence for habenular influence on the Guinea-Pig pineal gland. *J. Neural Transm.*, 50: 247-266.
82. Semm D. y C. Demarine (1983). Electrical responses to direct and indirect photic stimulation of the pineal gland in the pigeon. *J. Neural Transm.*, 58: 281-289.
83. Shibata S., Y. Omura, S. Y. Liou y S. Ueki (1984). Electrophysiological studies of the development of supersynchronous neuronal activity in hypothalamic slice preparations. *Develoe. Brain Res.*, 13: 29-35.
84. Skinner J. E. (1975) *Neurociencia (Manual de Laboratorio)*. Editorial Trillas, Mexico D. F.
85. Snyder S. H., M. Zweig J. Axelrod y J. E. Fischer (1965). Control of the circadian rhythm in serotonin content of the rat pineal gland. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 53: 301-305.
86. Tamerkin L., W. K. Westrom, A. I. Hamill y Goldman E. D. (1976). Effects of melatonin on the reproductive systems of male and female hamsters: a diurnal rhythm in sensitivity to melatonin. *Endocrinology* 99: 1534-1541.
87. Tamerkin L., N. G. Lefebvre, C. W. Hollister y E. D. Goldman (1977). Effect of melatonin administered during the night on reproductive function in the Syrian hamster. *Endocrinology* 101: 631-634.
88. Tapp E. (1979). The Histology and pathology of the human pineal. *Proc. in Brain Res.* 481-500.
89. Ueck M. (1979). Innervation of the pineal. En: *The Pineal Gland of Vertebrates Including Man*, (Ed:) J. A. Kasperd y P. Pevet (Prosr. Brain Res., Vol 52) Elsevier, Amsterdam, pp 45-88.
90. Volkman P. H. y A. Heller (1971). Pineal N-acetyltransferase activity: Effect of sympathetic stimulation. *Science* 173: 839-840.
91. Vriend J. (1983). Pineal-thyroid Interactions. *Pineal Res. Rev.* 1: 183-206.

REFERENCIAS

92. Weiss B. y E. Costa (1967). Adenyl cyclase activity in rat pineal gland: Effects of chronic denervation and norepinephrine. *Science* 156: 1750-1752.
93. Whitteridge D. (1960). Central Control of Eye Movements. En: *Handbook of Physiology*, section 1 Neurophysiology Vol II, (Ed:) Field J., Magoun H. W. y V. E. Hall; American Physiological Society, Washington, D.C., 1089-1109.
94. William A. G. y C. Kern (1983). Evolution of melatonin's functions and effects. *Pineal Res. Rev.* 1: 49-90.
95. Wurtman R. J., J. Axelrod y L. S. Phillips (1963). Melatonin synthesis in the pineal gland: Control by the lish. *Science* 142: 1071-1073.
96. Wurtman R. J., J. Axelrod y D. E. Kelly (1968). *The pineal*. Academic Press, New York, London.
97. Wurtman R. J., H. M. Shein y F. Larin (1971). Mediation by beta-adrenergic receptors of effect of norepinephrine on pineal synthesis of (C(14)) serotonin and (C(14)) melatonin. *J. Neurochem.* 18: 1683-1687.
98. Wurtman R. J. (1977). The pineal gland's pathology. En: *Harrison's Principles of Internal Medicine*. McGraw-Hill, (Ed:) G. W. Thorn, A. Braunwald, K. J. Isselbacher y R. G. Petersdorf, U.S.A. 726-728.
99. Zatz N., J. W. Kababian y R. F. Odde (1978). Regulation of -Adrenergic function in the rat pineal gland. En: *Receptors and Hormone Action*, Vol. III. (Ed:) Birnbaumer L. y E. W. O'Malley, Academic Press, Inc., New York, N.Y., 195-219.