

~~977~~

BID. T 4623

“ ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LAS DIFERENTES POBLACIONES DE CUERPOS SINÁPTICOS DE LAS PORCIONES PROXIMAL , INTERMEDIA Y DISTAL DE LA GLÁNDULA PINEAL DE LA RATA DURANTE LOS CICLOS CIRCADIANOS Y ESTACIONALES ” .

ANA AMPARO ZARAGOZA FERNÁNDEZ

UMI Number: U607481

All rights reserved

INFORMATION TO ALL USERS

The quality of this reproduction is dependent upon the quality of the copy submitted.

In the unlikely event that the author did not send a complete manuscript and there are missing pages, these will be noted. Also, if material had to be removed, a note will indicate the deletion.



UMI U607481

Published by ProQuest LLC 2014. Copyright in the Dissertation held by the Author.
Microform Edition © ProQuest LLC.

All rights reserved. This work is protected against
unauthorized copying under Title 17, United States Code.



ProQuest LLC
789 East Eisenhower Parkway
P.O. Box 1346
Ann Arbor, MI 48106-1346

BID. T 4623

FACULTAD: MEDICINA Y ODONTOLOGIA DE VALENCIA

DEPARTAMENTO: CIENCIAS MORFOLOGICAS.

Autor: ANA AMPARO ZARAGOZA FERNANDEZ

Título completo de la Tesis:

" ESTUDIO DE LA EVOLUCION DE LAS DIFERENTES POBLACIONES DE CUERPOS SINAPTICOS DE LAS PORCIONES PROXIMAL, INTERMEDIA Y DISTAL DE LA GLANDULA PINEAL DE LA RATA DURANTE LOS CICLOS CIRCADIANOS Y ESTACIONALES".

Calificación: APTO CUM LAUDEM

Fecha de Lectura: 4 JULIO 1996

Tribunal (Nombre y apellidos completos de los componentes):

MARIA LUISA PÍCAZO MEYER

JOSE LUIS BARDASANO RUBIO

TOMAS HERNANDEZ GIL DE TEJADA

VICTOR SMITH AGREDA

JUAN ROJO MORENO

Director/es. de la Tesis:

Dr. D. FRANCISCO MARTINEZ SORIANO

Dra. D^{ña}. AMPARO RUIZ TORNER

Dirección particular y teléfono del Autor:

C/ LUZ CASANOVA 26 PTA 6 3667582

SOTO CAMARGA SECTOR A u=12 3739598

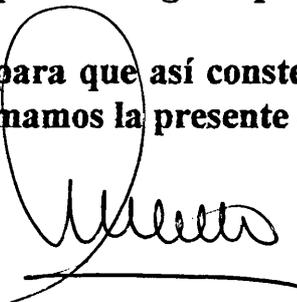
D. FRANCISCO MARTÍNEZ SORIANO , Catedrático de Anatomía Humana de la Facultad de Medicina y Odontología de Valencia .

D^a. AMPARO RUIZ TORNER , Profesora Titular de Anatomía Humana de la Facultad de Medicina y Odontología de Valencia .

CERTIFICAMOS :

Que Dña. ANA AMPARO ZARAGOZA FERNÁNDEZ Licenciada en Medicina y Cirugía y Licenciada en Odontología ha efectuado bajo nuestra dirección el proyecto de Tesis Doctoral en Medicina y Cirugía , titulado “ ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LAS DIFERENTES POBLACIONES DE CUERPOS SINÁPTICOS DE LAS PORCIONES PROXIMAL , INTERMEDIA Y DISTAL DE LA GLÁNDULA PINEAL DE LA RATA DURANTE LOS CICLOS CIRCADIANOS Y ESTACIONALES ” y que reúne la suficiente materia original e inédita para ser considerada como tesis doctoral , cumpliendo los requisitos exigidos por esta Universidad .

Y para que así conste, en cumplimiento con la legislación vigente , firmamos la presente en Valencia a de Abril de 1996.



Fco. Prof. F. Martínez Soriano



Fdo. Prof. A. Ruiz Torner

Mi agradecimiento a todo el Departamento de Ciencias Morfológicas de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia que ha puesto a nuestra disposición todos los laboratorios y medios necesarios para la realización del presente trabajo.

A Amparo Ruiz Torner por su inestimable colaboración y apoyo.

Mi muy especial gratitud al Prof. Dr. D. Francisco Martínez Soriano sin cuyo apoyo , ánimo y ayuda no hubiera sido posible la realización de la presente Tesis.

GRACIAS PACO .

A MANOLO , CARLOS Y JAVIER

GRACIAS.

BIEN AVENTURADA ES EL AGUA
QUE RIEGA EL CAMPO
UN CAMPO DE HOMBRES
SEMBRADOS AL AMANECER
Y CRECIDOS AL ATARDECER
POR ESE SOL DE LUZ
AMOR Y FE QUE HOMBRES DARAN
FRUTOS DEL QUERER.

EL LABRADOR

AÑO.

INDICE

A- INTRODUCCIÓN	Pg. 3
1- RECUERDO HISTORICO	4
2- DESCRIPCION ANATÓMICA	7
3- MORFOESTRUCTURA	12
4- HISTOQUIMIA	22
5- INERVACION	25
6- VASCULARIZACION	28
7- ASPECTOS FISIOLÓGICOS	30
B- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	37
C- MATERIAL Y METODO	39
D- RESULTADOS	48
E- DISCUSION	55
F- CONCLUSIONES	60
G- BIBLIOGRAFIA	62

INTRODUCCIÓN

RECUERDO HISTÓRICO

A pesar de su pequeño tamaño , y de su situación , la glándula pineal es conocida desde los tiempos mas remotos , habiendo despertado gran interés desde Herófilo de Alejandría (325-280 a. de C.) , que fue el primero en describirla asimilándole una función de regulación del paso de Pneuma o espíritu desde el tercer al cuarto ventrículo .

En el año 130 d. de C. Galeno la describe , parecida a la piña del pino , denominándola como "Konarion" .Galeno niega la función valvular que propugnaba Herófilo al señalar la falta de relación entre la glándula y los ventriculos y le atribuye una función en cierto modo glandular al asignarle una función puente entre los grandes vasos y el propio cerebro .

El concepto anatómico-funcional de la glándula Pineal no sufre modificación hasta el Renacimiento en el que Vesalio (1514-1564) describe su estructura y topografía pero sin modificar su función de comunicación entre el espíritu y el cuerpo .

Es sin embargo Descartes (1662-1709) quien modifica éste concepto , explicando que los estímulos del mundo exterior que son captados por los ojos y conducidos al cerebro por los cordones cerebrales , se dirigen a la glándula "H" (la glándula Pineal según su denominación) la cual responde a estos estímulos controlando el paso de los distintos "humores" a través de los "poros" de las paredes ventriculares y mediatizando la respuesta del organismo .

Durante el siglo siguiente decae nuevamente el interés por su estudio hasta que GUTZEIT en 1896 , asocia por primera vez la existencia de un tumor pineal con un síndrome de desarrollo sexual precoz , hecho que fue corroborado por HEUBNER en 1898 con un caso idéntico .

En 1943 BARGMANN basado en estudios de ROUSSY y MOSINGER (1938) y HOLMGREN (1959) , señala la relación de la glándula con la luz a la vez que le asigna una capacidad de regulación de la función hipotalámica mediante mecanismos nerviosos .

LERNER (1958) por fin consigue aislar la MELATONINA confirmando definitivamente el carácter Neuroendocrino de la glándula Pineal.

En la actualidad , el descubrimiento incesante en su parénquima de polipéptidos y enzimas involucrados en la práctica totalidad de los circuitos fisiológicos de los seres vivos , le convierte en un órgano crucial , que en dependencia de los cambios fotofásicos parece regular el comportamiento metabólico general .

**DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DE LA GLÁNDULA
PINEAL**

En términos generales , la glándula pineal es una pequeña estructura situada en la parte posterosuperior del techo del Diencéfalo entre las comisuras Habenuar y Caudal . Esta situación es común tanto a los vertebrados inferiores como a los mamíferos .

Pero si bien la glándula pineal existe en todas las especies, estructuralmente , presenta diferencias en relación al estadio evolutivo y al desarrollo cerebral de cada especie .

En los vertebrados inferiores la glándula pineal suele estar acompañada de otros órganos pineales accesorios , tales como el órgano parapineal del lampreas , el órgano frontal de los anuros o el ojo parietal de los lacertidos , por lo que en ellos se habla con mas propiedad de "complejo Pineal" . Funcionalmente además el complejo pineal de los vertebrados inferiores parece poseer un predominio fotosensorial con una enorme presencia de células fotorreceptoras en el parénquima pineal .

A medida que se asciende en la escala filogenética varía esta situación de forma que la glándula pineal esta conformada por una estructura única en los ofidios , aves y por supuesto mamíferos . Además la población de elementos fotorreceptores va disminuyendo hasta desaparecer en los mamíferos en los que el predominio exclusivo es de elementos celulares de carácter secretor .

Esta diferenciación se justifica en parte por el estado de desarrollo telencefálico de cada especie , de forma que en los vertebrados inferiores con escaso desarrollo del telencéfalo , el complejo pineal es rico en elementos fotorreceptores , mientras que en los mamíferos éstos elementos han debido emigrar a la retina transmitiendo los cambios lumínicos medioambientales desde ésta hasta la epífisis donde las células de naturaleza secretora predominantes las transforman en secreción hormonal .

Hay que hacer notar sin embargo que tambien existen casos excepcionales como son los cetáceos y elefantes en los que la glándula pineal es atrófica y algunos sirénidos y animales desdentados en los que parece no existir glándula pineal alguna .

VOLLRATH (1981) , clasifica las glándulas pineales de los mamíferos en tres tipos según su relación con el tercer ventrículo :

- Tipo A o PROXIMAL. Son pineales gruesas , cortas y próximas al tercer ventrículo . Ej: hombre , orangután ...

- Tipo AB o INTERMEDIA . Son alargadas . Ej: la vaca , cerdo..

- Tipo ABC o DISTAL : Son aún mas largas , llegando en ocasiones a las proximidades del cerebelo . Ej : ratón , cobaya ...

El desarrollo de estas tres partes no siempre es homogéneo pudiendo quedar alguna de ellas menos desarrollada o incluso atróficas . En éste caso, para poder clasificarlas , se sustituye la letra del alfabeto latino que identifica a la parte afectada , por una letra del alfabeto griego , en el caso de las hipotrofias o bien se omite en el caso de las atrofas . Según el mismo VOLLRATH sugiere , estas zonas podrían tener diferencias funcionales . HASAYAKA (1988) apoya esta sugerencia al comprobar que el volumen nuclear de los pinealocitos de la zona proximal (A) es inferior al de las otras zonas .

Estructuralmente según ROMIJN (1973) describe en el conejo , pueden diferenciarse una capa cortical y una capa medular , que además según estudios electrofisiológicos realizados por SEMM (1981) , podían a su vez organizarse en estructuras distintas , con especificidad para reaccionar de forma diferente a estímulos diversos .

La glándula Pineal humana aparece en el segundo mes de desarrollo uterino a partir de tres esbozos de la porción posterior de diencéfalo , de los que dos quedan atróficos desarrollándose únicamente el tercero dando lugar a una estructura que recuerda a la lengua sacada de la cavidad oral .

Tiene una coloración grisácea y se encuentra situada en el techo del tercer ventrículo , debajo del cuerpo calloso y encima de los tubérculos cuadrigéminos anteriores sobre los que se apoya .

Está unida al cerebro mediante dos pedículos que finalizan en la comisura posterior y la comisura Habenular . Ambas comisuras se encuentran separadas por el receso del ventrículo medio . El tercer ventrículo penetra en la glándula formando el receso pineal . La mayor parte del órgano se encuentra cubierta por los plexos coroideos .

Atendiendo a KOPSCH (1953) el tamaño de la glándula pineal humana es de (8x4x2) mm . Su volumen es de 46,12 mm cúbicos (LEGAIT y cols 1976 a/b) y su peso de 138,6 mg (LEGAIT y LEGAIT , 1977).

Estas cifras serían superiores para las pineales femeninas antes de los 30 años igualándose posteriormente para ambos sexos , según LEGAIT y cols (1973),sin embargo para RODIN y OVERAL (1967) , no existe ninguna diferencia que pueda ser atribuida al sexo , raza o peso del cerebro del individuo estudiado .

El tamaño de la pineal humana y su peso aumenta progresivamente desde su formación hasta la edad media de la vida (30-50 años) en la que aunque con pequeñas oscilaciones disminuye paulatinamente , (RODIN y OVERAL , 1967) , mientras que para VON EIL y GUSEK (1975) la glándula aumentaría igualmente hasta los 40-50 años , disminuiría hasta los 60 años y volvería posteriormente a aumentar hasta los 70 años comenzando entonces a disminuir discretamente .

La organización estructural de la glándula pineal humana es muy variable y depende por supuesto de la cantidad de tejido conectivo presente . El tejido conectivo aumenta con la edad aunque nunca llega a sustituir a mas del 50% de la población celular . La mayoría de las pineales humanas presentan una estructura lobular (QUAY , 1965 ; SCHAREN-BERG y LISS 1965; MOSKOWITS y WURTMAN ,1982) , sin embargo tambien han sido descritas estructuras en roseta , folículos , pseudoal-veolos , mixtas e incluso en personas mayores de 60 años sin estructura definida .

La organización estructural de la glándula y órganos parapineales presentes en los vertebrados inferiores mantienen sin embargo una estructura sacular .

El complejo pineal de la rata , objeto de nuestro estudio , presenta tres partes bien diferenciadas :

1- PINEAL PROFUNDA . Realiza la unión del complejo pineal con el epítalamo uniéndose a la comisura habenular por arriba y a la comisura posterior por abajo y estableciendo relación con el LCR a través de los recesos suprahabenular e infracomisural .

2- TALLO PINEAL , Está formado por tejido conectivo , vasos sanguíneos , fibras nerviosas y células parenquimatosas . Según BOECKMAN (1980) un 6% de los individuos no presenta células parenquimatosas en el tallo , un 76 % presentan células parenquimatosas que terminan en él y un 18 % restante presenta células parenquimatosas que llegan incluso a la pineal superficial .

3- PINEAL SUPERFICIAL , u órgano pineal propiamente dicho que presenta un tamaño de 1,6x1,95x0,82 mm según GREGOREK y cols (1977).

**MORFOESTRUCTURA DE LA GLÁNDULA
PINEAL .**

Independientemente del genero o especie a que pertenezca el individuo estudiado , incluida la rata , todas las pineales presentan tres tipos celulares comunes :

1- LA CÉLULA GLIAL .

2- LA CÉLULA GANGLIONAR, la menos conocida funcionalmente.

3- LA CÉLULA FOTORRECEPTORA , o neuroendocrina , según la escala animal (Pinealocito) .

El tipo celular mas característico de la glándulas pineales de los mamíferos es el Pinealocito , que según TAPP y HUXLEY (1972) ocuparía el 76 % de la población celular en las glándulas pineales masculinas humanas , y el 82% en las femeninas . El tipo celular mas frecuente de la pineal de la rata es según WALLACE y cols (1969) tambien el Pinealocito que representa un 82% de la población celular total .

Otras células que podemos encontrar son : Astrocitos fibrosos o protoplasmáticos , Células ependimarias , Células Cebadas, Células pigmentarias , o células musculares de tipo estriado .

PINEALOCITOS

Las primeras descripciones de los Pinealocitos se remontan a los estudios de ACHUCARRO y SACRISTAN (1912), ACHUCARRO (1913) y DEL RIO HORTEGA (1923), que las describieron como células mono , bi o multipolares , cuyas prolongaciones acababan en forma de clavos , tales prolongaciones ocupan distintas zonas de la glándula organizándose en diferentes formaciones del tipo de plexos marginales (ARIETI,1954) , o folículos residuales (WURTMANN y COLS,1968; BARGMMANN ,1943) y en proximidad con espacios perivasculares .

En general los Pinealocitos presentan poca afinidad por los colorantes lo que permite clasificarlos según QUAY (1965), TAPP y BLUMFIELD (1970) en cromófobos y cromófilos .

SMITH y cols (1972) los clasifica en:

- Pinealocito tipo I, que contiene serotonina , no es autofluorescente y persiste en la oscuridad .

- Pinealocito tipo II , que contiene triptofano , es autofluorescente , y está presente en condiciones de alternancia luz-oscuridad .

Según PEVET (1977) :

- PINEALOCITOS TIPO "1", célula clara o célula parenquimal . Es considerado como el pinealocito estricto por la mayoría de los autores .

- PINEALOCITO TIPO "2", o célula intersticial , es de coloración oscura y sus prolongaciones tienen una disposición predominantemente perivascular .

Su composición citoplasmática es más compleja que la del pinealocito tipo "1" y su interpretación funcional más controvertida .

En el órgano pineal de la rata (ARSTILA y HOPUSU ,1964; GUSEK y COLS ,1965), cobaya (LUES ,1971); conejo (WARTENBERG y GUSEK ,1965; ROMIJN ,1973/A); ratón (UPSON y cols ,1976) ; en el topo (PEVET , 1974) y en el visón (ROUVET ,1982), se acepta la existencia de dos tipos celulares epifisarios principales , la célula clara y la célula oscura . Para KARASEK ambos tipos celulares representarían estadios funcionales distintos de una misma estirpe celular . Sin embargo para GONZALEZ y cols (1969/a-b) y GONZALEZ y ALVAREZ-URIA (1970) la célula oscura es únicamente una célula acompañante , mientras que para LUO y cols (1984) la célula oscura presenta características estructurales similares a las de la neuroglia astrocítica , opinión que es apoyada por MOLLER y cols (1978) , LOWENTHAL y cols (1982) y HIGLEY y cols (1984) , los cuales utilizando técnicas histoquímicas concluyen que las células intersticiales son astrocitos .

Observados al microscopio los Pinealocitos presentan un aspecto polimorfo , presentando prolongaciones mono , bi o multipolares , formando retículos .

Se encuentran distribuidos formando cordones , continua o discontinuamente (HUSELMANN ,1967), presentando incluso diferencias de celularidad según se observen en la parte proximal , media o distal de la glándula (JUNG y VOLLRATH , 1982) .

Atendiendo a su forma se pueden delimitar en la glándula pineal dos zonas : una región cortical y una región medular , de forma que en la región cortical del gato y del perro (ZACH ,1960) y del caballo (FASSBENDER , 1962) , existen pinealocitos Monopolares de aspecto triangular , mientras que los de la región medular presentan cuatro prolongaciones . Los Pinealocitos de la región cortical de la rata presentan menor respuesta a la iluminación continua que los de la región medular (QUAY ,1957A-B;1961 MILINE y cols 1969) .

No forman desmosomas (mácula adherens) ni uniones estrechas (zonula ocludens), lo que origina que entre ellos se formen espacios de separación denominados “lagos interfaciales” o “canales intrapineales” (WOLFE ,1965), que probablemente guarden relación con la actividad metabólica de la célula ya que varían en anchura y configuración siguiendo un ritmo circadiano (QUAY ,1972; CIMAS ,1992) habiéndose observado incluso cambios ante estímulos fotoluminosos , MARTÍNEZ SORIANO (1984) .

GONZALEZ y ALVAREZ-URIA (1971), describen “zónulas adherens” en las clavav terminales perivasculares del pinealocito del gato y las clavav terminales pseudofoliculares del pinealocito de la rata . Además KRSTIC (1974) describe la presencia de “fascia adherens” en los pinealocitos de la rata , corroborados en el hámster por SHERIDAN y REITER (1968) y en el cobaya por LUES (1971) , complejos que pueden tambien observarse de manera ocasional en la membrana plasmatica del pericarion .

Ultraestructuralmente , una de las organelas que mayor interés y controversia provocan son los cuerpos sinápticos . Son éstas estructuras de matriz densa y formas variadas , rodeadas de vesículas electrotransparentes.

Se distinguen tres tipos : Las Cintas SINAPTICAS , las Esferas y las formas Intermedias .

-CINTAS SINAPTICAS , o “Synaptic Ribbons”. Son sin duda alguna el elemento intracelular que mas intereses despierta en la actualidad.

Son estructuras que se observan en el pinealocito y que están formadas por una condensación central , el bastoncillo central cuyas dimensiones oscilan entre los 40-60 nm , lo que ya las diferencia de las ESFÉRULAS , rodeadas a modo de festón por numerosas vesículas de unos 50-60 nm de diámetro . Su número esta sujeto a variaciones que obedecen a un ritmo circadiano de forma que su presencia es mínima por la mañana y máxima por la noche en todas las especies estudiadas (VOLLRATH ,1973 ;

MATSUSHIMA ,1983; MARTÍNEZ SORIANO ,1984; KHALEDPOUR , 1987) .

Pueden aparecer como estructuras solitarias o formando grupos de tres o cuatro CINTAS o incluso en agrupaciones de numerosas CINTAS formando lo que se ha denominado “campos de CINTAS” o “ribbons fields”

Algunos autores prefieren diferenciar las CINTAS de los mamíferos denominándolas “CINTAS rodeadas de vesículas” , evitando el termino SINAPTICAS que solo emplean para los vertebrados inferiores en los que las CINTAS SINAPTICAS sí forman realmente parte de la sinapsis entre las células fotorreceptoras y las fibras nerviosas aferentes (COLLIN , 1969B; PEVET y COLLIN ,1976; PEVET y cols 1977) .

Si bien para algunos autores éstas estructuras representan un recuerdo de la función neurosensorial de la célula (KAPPERS , 1971), es decir que serían la consecuencia de la función fotosensorial que filogenéticamente tuvieron los pinealocitos (VOLLRATH ,1981), ha sido bien demostrada su reacción cuando el pinealocito ha sido estudiado bajo diversas condiciones fisiológicas o sometido a distintas condiciones experimentales (VOLLRATH,1973; VOLLRATH y HOWE,1976; KARASEK , 1976; KURUMADO y MORI,1977), lo que ha conducido a sugerir la hipótesis de que las CINTAS SINAPTICAS de los pinealocitos están involucradas en la comunicación entre pinealocitos adyacentes (VOLLRATH ,1973; VOLLRATH y HUSS ,1973) , permitiendo a los pinealocitos que no están en contacto directo con las fibras nerviosas aferentes , establecer circuitos interpinealocíticos que permitirían a la glándula actuar no como un mero subordinado Neuroendocrino sino de una manera mas activa e independiente

Para algunos autores podrían tener incluso funciones de comunicación intercelular .

El análisis de la localización topográfica de las cintas , su relación con estructuras intracelulares y la variación de su número en las distintas condiciones fisiológicas o tras ser sometidas a diversas condiciones experimentales demuestra que el 79-90% de las CINTAS , bien en forma aislada o bien formando campos de cintas , se sitúan próximas a la membrana celular (VOLLRATH,1973), habiéndose podido comprobar , incluso como el corazón electrodenso de las CINTAS llega a contactar con la membrana celular (ARSTILA , 1967), hecho que ha sido tambien corroborado por observaciones realizadas en la rata (ARSTILA y HOPUSU , 1964), en el gato y en el mono (WARTENBERG ,1968) .

El análisis de las relaciones topográficas demuestra que en el 93,1% de los casos las CINTAS estaban orientadas o dirigidas hacia pinealocitos adyacentes , en el 5,3% de los casos se orientan hacia los vasos sanguíneos, en el 1,3% hacia fibras nerviosas y en el 0,3 hacia fibras de colágeno (VOLLRATH ,1973). El hecho de que en la mayoría de los casos las CINTAS se relacionen espacialmente con otros pinealocitos significaría para ARSTILA y HOPUSU (1964) que los contactos axón-axón y cuerpo-axón son mucho mas frecuentes que los contactos axón-cuerpo o cuerpo-cuerpo .

Las concentraciones de las CINTAS en los lugares descritos varían según un ritmo circadiano perfectamente definido como han comprobado VOLLRATH (1973) en el cobaya , o KURUMADO y MORI (1977) en la rata con valores que disminuyen durante la mañana , se incrementan con el inicio de la tarde hasta hacerse máximos al principio de la noche para volver a descender posteriormente con la llegada de la fase diurna . Este hecho es paralelo además a secreción de MELATONINA cuyas cifras siguen el mismo ritmo como se desprende de los trabajos de RUDDEN y cols (1975), THERON y cols (1979), VOLLRATH (1975,1985) o MARTÍNEZ SORIANO (1984) .

Las CINTAS SINAPTICAS aumentan además considerablemente cuando el cobaya es sometido a iluminación continua durante mas de 60 días (VOLLRATH y HUSS 1973; LUES ,1971), apareciendo además cambios en la forma y localización de los mismos con la formación de los denominados "campos de cintas apareados" .

El concepto surgido de estos experimentos es que las CINTAS SINAPTICAS son funcionalmente importantes , concepto que es apoyado además por la exposición de diversas especies a distintas experimentaciones como la exposición al frío (KRSTIC ,1973) , inmovilización (MILNE 1968), simpatectomía (ROMIJN ,1975-A), orquidectomía (KARASEK , 1976), administración de drogas de acción conocida (ROMIJN ,1976), o exposición a iluminación continua (ROMIJN ,1975A) .

Sin embargo la verdadera función de las CINTAS SINAPTICAS de los pinealocitos no es conocida . Para BUNT (1971), GRAY y PEARSE (1971) los bastoncillos electrodensos guiarían a las vesículas que los circundan hacia la membrana presináptica . Para KARASEK (1976,b) tendrían también una función similar actuando a modo de cinta transportadora , conduciendo las vesículas hasta la membrana celular .

Sin embargo y a pesar de conocer todas sus características y las variaciones que sufren en topografía y número tanto en condiciones fisiológicas como de experimentación no estamos en condiciones de decir aún si la función que cubren es de carácter excitador o inhibidor , aunque no parece improbable suponer una acción excitadora de las CINTAS cuyo incremento ha sido sugerido que puede ser la expresión de una síntesis aumentada de MELATONINA . También explicaría este efecto el hecho de que las CINTAS aumentan tras la exposición continua o tras la simpatectomía en que la producción de la MELATONINA esta disminuida para contrarrestar la inhibición de la glándula .

El origen y formación de las CINTAS no está aún bien definida. Para unos autores como VOLLRATH (1973) , las CINTAS se formarían in situ , para otros tendrían su origen en el pericarion ; Para KARASEK (1976) la formación del bastoncillo central procedería de trazos microtubulares . Las vesículas tendrían su origen en el R.E.L. y serían los microfilamentos los encargados de su transporte hacia los lugares en que se forman nuevos bastoncillos (THERON y cols 1979) .

El estudio de las CINTAS a alta resolución demuestra que la masa central electrodensa presenta una estructura trilaminar típica formada por tres láminas paralelas de 7 nm de grosor que contienen un material granular fino . A la sección sin embargo los bastoncillos de las CINTAS muestran una gran variedad , de forma que las dimensiones encontradas son de 0,2 micras para el mono mandril (WELSH y REITER ,1978), 0,65 micras para el gato y el mono (WARTENBERG ,1968), 0,8 micras para la rata (WOLFE , 1965), 1 micra para el conejo (ROMIJN ,1973,B), 1-1,5 micras para el erizo (PEVET y SABOUREAU ,1973) y 2 micras para el cobaya . La distancia es equivalente para todas las especies alcanzando los 24-25 nm. . Al corte longitudinal las CINTAS suelen ser rectas o ligeramente torcidas (WARTENBERG ,1968; LUES ,1979). La exposición a iluminación continua incrementa el número de CINTAS torcidas (LUES ,1971; VOLLRATH y HUSS 1973), llegando en encontrarse CINTAS dobladas en forma de "U" en el conejo (ROMIJN ,1973,b), de rectángulo , arriñonadas y cuadrangulares (MARTÍNEZ SORIANO ,1984). También han sido descritas en el hámster (MATSUSHIMA ,1983) y cobaya (LUES ,1971; VOLLRATH y HUSS , 1973 ; KHALEDPOUR ,1987) .

Las vesículas circundantes se disponen en general en una sola capa si bien ocasionalmente forman una doble corona (LUES ,1971). Su anchura es de 30-50 nm (WOLFE ,1965; ARSTILA ,1967 ;LUES ,1971; ROMIJN , 1973,B; PEVET y SABOUREAU ,1973; WELSH y REITER ,1978) y son similares a las vesículas sinápticas de las neuronas colinérgicas , aunque no

existen en ellas indicios de actividad acetilcolinesterasa (ARSTILA ,1967 ; ERANKO y cols 1976a-b) que puedan excluir mecanismos colinérgicos .

Se conoce muy poco acerca de la composición química de los bastones y de las vesículas circundantes . Tras la observación por LUES (1971) y OSBORNE y THORNHILL (1972) , de que su electronegatividad disminuye con la administración de Reserpina se piensa que los bastones puedan estar involucrados en el almacenamiento de Monoaminas . Forman parte de su composición proteínas , hidratos de carbono y cantidades detectables de Sodio y Calcio ionicos (KRSTIC ,1975D,1976A). En otros órganos contienen proteínas y acúmulos de DNA. y RNA (BUNT , 1971; SZAMER ,1974).

Las vesículas pueden contener ocasionalmente un corazón electrodenso (ARSTILA ,1967; ROMIJN ,1973B) aunque estudios citoquímicos demuestran que son claramente diferentes de las vesículas presentes en las fibras nerviosas simpáticas según KRSTIC (1976A),quien ademas concluye que contiene GABA , aunque este concepto debe ser aún comprobado .

Un hallazgo interesante aunque sin explicación funcional adecuada es la formación de los denominados "Campos de Cintas" (VOLLRATH y HUSS ,1973; KARASEK ,1976B; KURUMADO y MORI ,1977), en que se agrupan el 40% de las CINTAS encontradas (el 60% restante aparecen aisladas), pudiendo hallarse agrupaciones de 2 a 12 CINTAS y mas raramente agrupaciones mas numerosas de incluso 21 CINTAS (VOLLRATH ,1973; VOLLRATH y HUSS ,1973). Parece ser que el agrupamiento tiene una cierta relación con la edad , de forma que a mayor número de CINTAS existe un menor número de agrupaciones que se van incrementando a medida que las CINTAS se hacen mas escasas y probablemente mas viejas . No se conoce si los campos de CINTAS son estructuras estáticas o si se mueven hacia la membrana celular (VOLLRATH y HUSS ,1973).

Los campos de cintas pueden ser modificados bajo distintas condiciones fisiológicas y/o experimentales , incrementándose tras la exposición a iluminación continua (VOLLRATH y HUSS ,1973) .

Aunque las CINTAS de los pinealocitos de los mamíferos pueden situarse en oposición directa a las de otro pinealocito dando la impresión de ser una única estructura que atraviesa ambos plasmalemas , su verdadera significación funcional y el de los campos de cintas está aun lejos de dilucidar .

Considerando los cambios numéricos de las CINTAS durante un ciclo de 24 horas se puede concluir que las CINTAS tienen una vida media de 8 horas .

- ESFERULAS SINAPTICAS. Son aún poco conocidas , posiblemente porque ocasionalmente puedan semejar el aspecto de las CINTAS SINAPTICAS si son cortadas transversalmente . También porque estudios comparativos realizados en las células ciliadas del órgano vestibular demuestran que en los mamíferos aparecen CINTAS SINAPTICAS mientras que en los elasmobranchios , teleósteos , lagartos y pájaros aparecen ESFERULAS sinápticas (WERSAALL y BAGGEROSAJ-BACK ,1974).

Son estructuras que contienen una masa interior de material electrodenso de unos 120 nm de diámetro , rodeada de una única corona formada por 8-12 de vesículas electrolúcidas de unos 30 nm de diámetro .

En el conejo han sido descritas como “estructuras semejantes a rosetas” (LEONARD ,1967; ROMIJN ,1973B,1975A) . En el cobaya han sido denominadas como “bolas coronadas de vesículas” (LUES ,1971). Este autor además describe en el mismo animal la existencia de estructuras semejantes a cilindros que pueden ser el origen de las ESFÉRULAS .

LEONARD (1967) , describe la relación de las ESFÉRULAS con el plasmalema y la aparente descarga del material electrodenso al espacio libre intracelular , por lo que se ha considerado la posibilidad de que este material fuera una sustancia de secreción de los pinealocitos .

El hecho de que las ESFÉRULAS y las CINTAS puedan fusionarse hace pensar en que puedan ser estructuras similares sin embargo el hecho de que la simpatectomía cervical en el conejo provoque una aumento inicial de esférulas y un aumento posterior de CINTAS y de que la observaciones realizadas en conejillas gestantes muestren un incremento de CINTAS ligero y un incremento mucho mayor de las ESFÉRULAS (LUES 1971) , sugiere que exista una verdadera diferencia funcional entre ambas .

Además apoya esta diferencia el hecho de que aunque las ESFÉRULAS también están sometidas a variaciones que siguen un ritmo circadiano , no son superponibles a las de las CINTAS (VOLLRATH , 1973,1981; MARTÍNEZ SORIANO ,1984).

- Las FORMAS INTERMEDIAS han sido descritas en determinadas especies tales como el hámster (MATSHUSIMA ,1983), conejo (MARTÍNEZ SORIANO ,1984), cobaya (KHALEDPOUR ,1987), vaca, oveja y cerdo (STRUWE ,1990) y su morfología oscila entre formas cuadrangulares , triangulares y ovoideas , habiéndose descrito también ocasionalmente formas arriñonadas y de otras morfologías . Su número es bastante menor que el de Cintas y Esferas aunque presentan oscilaciones circadianas similares a las anteriores . Su regulación funcional es desconocida .

HISTOQUIMIA DE LA GLÁNDULA PINEAL

Del estudio fisiológico de la glándula pineal se deriva que en su funcionamiento intervienen diversas sustancias sujetas a un ritmo circadiano como :

- MONOAMINAS : Entre ellas encontramos :

- NORADRENALINA , localizada en las terminaciones SINAPTICAS (WOLFE ,1962). Sus niveles son bajos durante el día y elevados durante la noche (WURTMAN y AXELROD ,1965).

- FENILALANINA .

- TIROSINA .

- INDOLAMINAS : Entre las que encontramos :

- SEROTONINA : que es sintetizada por los pinealocitos. Esta también sujeta a un ritmo circadiano en el que existen altos niveles diurnos y bajos niveles nocturnos (QUAY ,1963; REITER ,1984).

- MELATONINA : Aislada por LERNER y cols (1958), es sintetizada a partir del triptofano que se transforma en serotonina y mediante la acción de dos enzimas NAT (N-acetil-transferasa) y la HIOMT (hidroxi-indol-O-metil-transferasa)(AXELROD y WEISSBACH 1960,1961 ; WURTMAN y cols 1965) .

Según WURTMAN y AXELROD la actividad de la HIOMT disminuye en presencia de luz y aumenta en la oscuridad , lo que origina que la concentración de la MELATONINA siga el mismo ritmo circadiano (REITER ,1966; VOLLRATH ,1982; MARTÍNEZ SORIANO ,1984).

- DOPAMINA

- HISTAMINA

- SISTEMA ARGININA-VASOTOCINA (A.V.T.) . Es sintetizada en las células endocrinas , aunque puede almacenarse en las demás células como son los Pinealocitos (PAVEL ,1978) .

- COMPONENTES INORGÁNICOS , como Cobre , Zinc , Manganeso , Calcio, Fósforo , Sulfuros y Estroncio . Es frecuente encontrar calcificaciones intrapineales llamadas calcoforitos , mas frecuentes a medida que aumenta la edad de las personas y mas frecuentes en la raza blanca posiblemente relacionados con factores genéticos , aunque según LEWINSKI (1983) además de la herencia intervendría la latitud geográfica.

- ENZIMAS : Se conocen cinco grupos :

- Oxidorreductasas .

- Transferasas .

- Hidrolasas .

- Lipasas .

- Isomerasas .

INERVACIÓN DE LA GLÁNDULA PINEAL

TIPOS DE FIBRAS NERVIOSAS

- A - FIBRAS CENTRALES O COMISURALES :

Son de procedencia cerebral , aunque los centros en que se originan no están bien definidos . Penetran en la glándula a través de las comisuras Habenuar y Caudal (KAPPERS ,1960; HUSELMAN ,1971).

Hacen sinapsis en los pinealocitos y en las neuronas intrapineales cuando estas existen (MOLLER ,1974; MARTÍNEZ SORIANO ,1979).

Según NIELSEN (1975), DAVID (1973) Y DAFNY (1975), pueden transmitir los estímulos que proceden de la circunvolución límbica

- B- FIBRAS VEGETATIVAS O AUTÓNOMAS :

1- FIBRAS SIMPÁTICAS. Son de procedencia periférica . Tienen relación con los cambios circadianos y la producción de MELATONINA . Liberan Adrenalina y estimulan la producción de hormonas a través de receptores Beta y del sistema Adenilciclasa .

Tienen su origen en el Ganglio Cervical Superior , de forma homolateral e independiente .

Sus fibras transportan potenciales que se originan a partir de los estímulos luminosos que excitan las terminaciones nerviosas de la capa ganglionar de la retina desde donde a través de fibras amielínicas se dirigen hacia el Núcleo Supraquiasmático , desde éste se proyectan fibras hacia el Área Periventricular de la Región Tuberal Ventral del Hipotálamo (SWANSON y COWAN ,1975). Las neuronas de este área contactan a su vez con las del Área Hipotalámica Lateral que a su vez proyecta fibras que hacen sinapsis en el asta intermedio-lateral de la médula cervical (SHAPER Y COLS ,1976) desde donde salen fibras hacia el ganglio cervical superior que provee un plexo nervioso a la glándula pineal formando el nervio Conario , si bien algunas fibras llegan a la Pineal a través de los vasos piales (KAPPERS ,1960).

El Nervio Conario puede , en el hombre , ser un nervio único o en ocasiones formar un verdadero par nervioso. (KENNY 1961; KAPPERS ,1965).

Antes de que el Nervio Conario penetre en la glándula Pineal desprende un fascículo que se dirige al Órgano Subcomisural (MARTÍNEZ SORIANO ,1987A).

- 2- FIBRAS PARASIMPÁTICAS : Han sido demostradas en el mono por KENNY (1965) y en el conejo por ROMIJN (1973A/B y 1976).

Son fibras preganglionares que se postula puedan provenir del Nervio Salivar Superior , si bien su destino no es bien conocido

- C- FIBRAS EFERENTES . En el feto humano y también en el adulto se ha descrito un gran ganglio parasimpático que se encuentra pegado en ocasiones al Nervio Conario o en ocasiones a otro ganglio (G. de Pastori) y un Nervio localizados en el espacio Subaracnoideo caudal a la glándula pineal y un tercer ganglio parasimpático dorsal a la glándula , que podrían conectar la glándula con el Sistema Nervioso Central .

VASCULARIZACIÓN

La irrigación de la glándula corre a cargo de las dos arterias coroideas posteriores , que son ramas de las arterias cerebrales posteriores .

Sus arteriolas no se acompañan de venulas no existiendo un sistema porta como el existente a nivel hipotálamo-hipofisario .

El drenaje sanguíneo confluye hacia la vena de Galeno .

ASPECTOS FISIOLÓGICOS.

Como ya hemos señalado , la luz , cuyos estímulos son recogidos en las terminaciones sensitivas de la retina y conducidos a través de las fibras simpáticas a la glándula pineal , juega un papel muy importante en la regulación de la función de la glándula .

En general se puede aseverar que la presencia de luz provoca una inhibición de la glándula , mientras que la ausencia de luz provoca una estimulación de su funcionalismo .

Esta influencia se traduce en variaciones morfofuncionales de la glándula que siguen un ritmo circadiano paralelo a las variaciones lumínicas día/noche , encontrándose variaciones estacionales y de latitud geográfica .

Las condiciones normales en que la luz actúa sobre la glándula pineal siguiendo la vía retinohipotalámica descrita pueden ser variadas voluntariamente por el experimentador apareciendo a su vez variaciones del ritmo morfofuncional normal de la glándula .

Se han efectuado experimentos sometiendo a los animales de experimentación a condiciones de iluminación continua , de oscuridad continua , a enucleación de ambos ojos, a la sección de los nervios simpáticos etc...

EFFECTOS DE LA ILUMINACIÓN CONTINUA .

Los primeros estudios realizados sometiendo a los animales a condiciones de iluminación continua fueron hechos por MILINE (1957,a/b) , que observó signos de atrofia en los pinealocitos de la rata y el conejo .

El mismo efecto fue comprobado en hámsters por QUAY (1961) y en ratones por KACHI y cols (1971).

Según BOSTELMANN (1968) aparecería un incremento de los plegamientos observados en los núcleos de los pinealocitos y disminución del número de nucleolos y de Mitocondrias , que además aparecerían para HALARIS Y MATUSSEK (1969) hinchadas , mostrando una pérdida de las crestas mitocondriales .

En 1985 DOI y cols demuestran , estudiando embriones de pollo , un retraso del desarrollo de la glándula y de su actividad enzimática .

EFFECTOS DE LA OSCURIDAD CONTINUA .

El resultado de mantener bajo condiciones de oscuridad mantenida a la rata provoca según BOSTELMANN (1968) un aumento del tamaño del núcleo de los pinealocitos , un incremento de los ribosomas y un incremento de las Mitocondrias . Aumentan además según LUES (1971) el Ap.de Golgi y según LIN (1973) el RER .

Para YOCHIM y WALLEN ,(1974) , la glándula continúa produciendo MELATONINA persistentemente y según WURTMAN y AXELROD (1964C) la HIOMT también está incrementada .

HOFFMANN y MELVIN (1974) mantienen un grupo de hámsters en fotoperiodos largos de oscuridad observando un freno reproductivo .

HOFFMANN y LUCINDA (1985) , manteniendo un grupo de hámsters machos de 4 semanas en condiciones de oscuridad total comprueban un mayor peso testicular y una menor respuesta a niveles bajos de iluminación , llegando a afirmar que la glándula pineal no solamente responde a las variaciones de iluminación sino que además actuaría como un fotodosímetro requiriendo para provocar su respuesta un nivel mínimo de iluminación .

BRAINARD y cols (1988) realizando estudios sobre humanos voluntarios sometidos a luz monocromática en relación a la secreción de MELATONINA demuestran que el umbral de irradiación que desencadena una disminución de la secreción de MELATONINA oscila entre 1,6-5 microwatios/cm² .

ROBERTSON y HOWART (1987) evalúan el efecto que los cambios de luz (luz/oscuridad o bien día/noche) tienen sobre la conformación de las CINTILLAS sinápticas , demostrando que mientras que las CINTILLAS de los animales sometidos a la luz eran rectas, el 50% de las CINTILLAS de los animales sometidos a oscuridad eran curvas .

VOLLRATH (1986) comprueba que tras la exposición a iluminación continua se incrementa el número de CINTILLAS y disminuye el de esférulas , existiendo además diferencias regionales dentro de la glándula , de forma que el incremento de CINTILLAS es mayor en las regiones intermedia y distal mientras que la disminución de esférulas es menor en las regiones intermedia y proximal .

CIMAS y cols (1987) analizan la relación circadiana entre el número de CINTILLAS de la glándula pineal de la rata y el nivel de MELATONINA en su suero , obteniendo resultados que indican que es posible que las CINTILLAS sean los órganos estimuladores de la transmisión facilitando la función secretora de la glándula .

EFFECTOS DE LA ALTERACIÓN DEL RITMO NORMAL LUZ/OSCURIDAD .

REITER y HOFFMAN manteniendo un grupo de hámsters en condiciones de oscuridad durante 23 horas seguidas de iluminación durante una hora observan una atrofia gonadal que no se produce si el animal es previamente sometido a pinealectomía .

BRONSTEIN y cols (1987) realizan el mismo experimento sobre ratas exponiéndolas a la acción de un foco luminoso de longitud de onda de 460-580 nm observando una disminución de la actividad de la N-acetiltransferasa pineal .

Para KARASEK (1988) este experimento provoca una reducción de la actividad del pinealocito con disminución del tamaño y número de sus organelas , del número de bandas y del número de vesículas sinápticas .

ELLIOT y cols (1972) mantiene grupos de hámsters sometiéndolos a periodos de iluminación continua de 6 horas separados por periodos de oscuridad de 18, 30, 42 y 54 horas deduciendo que mientras que para los periodos de alternancia luz /oscuridad de 24 horas en los que se aprecia una disminución del tamaño testicular , para el resto de ciclos de 36-60 horas se aprecia un incremento del peso gonadal .

HAYASAKA (1988) tras someter a ratones machos jóvenes (40 días) y machos adultos (100 días) a fotoperiodos de 12 horas de luz 12 horas de oscuridad y observarlos tras su sacrificio en diversos periodos de tiempo durante las 24 horas , observa que los volúmenes nuclear y citoplasmático de los pinealocitos de la región distal y media aumentan en relación a los de la región proximal y mas en los adultos que en los jóvenes.

RELACIÓN CON EL PERIODO HORARIO

La Glándula pineal presenta cambios morfofuncionales que como ya hemos indicado siguen un ritmo circadiano , de forma que puede constatarse que :

- El número de CINTILLAS sinápticas se incrementa durante la noche y disminuye durante el día (VOLLRATH ,1986) .

- El número de los cuerpos densos (dense core) se incrementa durante el día (VOLLRATH ,1986) .

- Las Monoaminas y la MELATONINA aumentan durante la noche y disminuyen durante el día , adelantándose o retrasándose su pico máximo en relación directa a la aparición de días mas o menos largos (ALLEVA ,1989)

- La Serotonina disminuye durante la noche y aumenta durante el día.

RELACIÓN CON EL PERIODO ESTACIONAL (FOTOPERIODO).

Estudios de QUAY (1963) y WURTMAN (1963) muestran que la actividad pineal está relacionada con el fotoperiodo , comprobando en los ratones una hiperactividad de la glándula pineal durante el invierno que se acompaña de regresión de los órganos genitales .

PFLÜGELDER /1965) describe las mismas reacciones estudiando el hámster dorado .

Según LINCOLN (1976), se produce un incremento del tamaño del núcleo de los pinealocitos de la rata en el otoño .

Para HOFFMANN (1979) , en algunas especies como el hámster que poseen un ciclo gonadal anual , las estaciones de fotoperiodo largo (primavera y verano) producen un estímulo gonadal , mientras que las estaciones de fotoperiodo corto (otoño e invierno) provocan en el animal una regresión gonadal . Esta reacción se complementaría para VITALE y cols (1985), con disminución de peso , torpor diurno y desarrollo del pelaje de invierno . Estos efectos no aparecerían si previamente se hubiera sometido al animal de experimentación a pinealectomía , gonadectomía , inyección de testosterona o durante las estaciones de fotoperiodo largo .

SHIOTANI y cols (1985) someten hámsters a fotoperiodos cortos de ciclos de 3 horas de luz y 21 de oscuridad y además a condiciones de baja temperatura durante 5 semanas comprobando un incremento en el pinealocito del RER , REL , gotas lipídicas , cuerpos mieloides , aumento de las mamotrofinas y disminución de las gonadotrofinas con atrofia de los testículos y caracteres sexuales secundarios , concluyendo que las hormonas pineales secretadas bajo condiciones de invierno inhiben la descarga de LHRH .

KARASEK y cols (1986) , encuentran en la rata del algodón en estación de fotoperiodo corto un incremento de las Mitocondrias , RER , Ribosomas , Ap de Golgi y de vesículas SINÁPTICAS .

En 1988 KARASEK y cols realizan un estudio mensual a lo largo de todo un año encontrando que en primavera y otoño se incrementa el número de CINTILLAS sinápticas mientras que disminuye el de vesículas sinápticas .

DONALD (1989) encuentra asimismo una regresión gonadal y una disminución del peso corporal durante el fotoperiodo corto estudiando el *Microtus Pennsylvanicus* .

RELACIÓN CON EL ESPECTRO LUMINOSO

DODT (1963) demuestra que las células de la glándula pineal se estimulan o se inhiben dependiendo de la longitud de onda de los estímulos lumínicos que llegan a la glándula .

VOLLRATH (1981) afirma que la luz verde provoca una fuerte inhibición de la glándula pineal , la luz azul y la amarilla provocan una inhibición inferior a la verde y la luz roja no provoca ningún efecto . La luz ultravioleta produce una estimulación transitoria .

BRAINARD y cols (1986) observan disminución de los niveles de MELATONINA tras la exposición de hámsters a ondas lumínicas de longitud de onda entre 340-405 nm y monocromáticas 360 nm , efecto que no se produce en animales ciegos .

BROWNSTEIN y cols (1987) describen una disminución de la actividad de la N-acetiltransferasa pineal de la rata albina tras su exposición a estímulos luminosos de longitud de onda entre 460-580 nm .

RELACIÓN CON LA LATITUD GEOGRÁFICA .

Parece , según QUAY (1963), que la latitud geográfica es un factor importante en la actividad de la glándula pineal ya que el entorno tanto luminoso como térmico varía en dependencia de la proximidad al ecuador o a los polos . Así la foca posee una glándula pineal que es 10 veces superior en tamaño a la de un perro de su mismo tamaño que viva en una región templada . Además el contenido en lípidos de este animal en invierno es muy elevado mientras que en verano desaparece .

CUELLO Y TREMEZZANI (1969) lo confirman también en el pingüino .

RELACIÓN CON LA TEMPERATURA AMBIENTE .

Según MILNE (1969) y MILNE y cols (1970) la exposición a temperaturas de 3-10°C produce una hipertrofia e hiperplasia de los pinealocitos .

Además en las ratas adultas aumenta la producción de MELATONINA según URRY y cols (1976) .

La exposición de un grupo de hámsters dorados a un fotoperiodo de 3 horas de luz y 21 de oscuridad mantenido durante 5 semanas añadido a una temperatura de 5°C provoca un incremento del número de organelas del pinealocito junto con una disminución de los niveles de gonadotrofinas hipofisarias y atrofia gonadal .

La exposición a temperaturas elevadas provoca una depresión de la actividad de la HIOMT según NIR y cols (1975) y de la NAT , según NIR y HIRSCHMANN (1978).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Teniendo en cuenta las características fisiológicas de la glándula dependientes de la fotoluminosidad, y conociendo las variaciones del número de cuerpos sinápticos dependientes de la luz y la supuesta organización topográfica y funcional de la Pineal en tres partes , el presente trabajo de Tesis se plantea como un estudio que trata de establecer las variaciones del número de cuerpos sinápticos a lo largo de 24 horas y durante cada una de las cuatro estaciones en las diferentes porciones pineales de la rata A, B y C, para de ésta manera poder observar si existen diferencias de comportamiento entre las mismas que puedan ser indicativas de su independencia funcional .

MATERIAL Y MÉTODO.

Para la realización del presente trabajo se han utilizado un total de 120 ratas albinas macho adultas de la Cepa Wistar , con un peso medio aproximado de 250 gr. +/- 50 gr. .

Estos 120 especímenes han sido divididos en 4 grupos de 30 animales cada uno .

Cada uno de estos grupos ha sido subdividido a su vez en 6 subgrupos de cinco animales cada uno para establecer de esta manera :

- 4 GRUPOS ESTACIONALES:

1. PRIMAVERA (mayo).
2. VERANO (Agosto).
3. OTOÑO (Noviembre).
4. INVIERNO (Febrero).

- 6 PERIODOS HORARIOS (hora local) idénticos para cada uno de los grupos :

1. 06 HORAS
2. 10 HORAS
3. 14 HORAS
4. 18 HORAS
5. 22 HORAS
6. 02 HORAS

Todos los animales utilizados en la experimentación fueron sometidos a las mismas condiciones higiénicas , dietéticas y ambientales , exponiéndolas al efecto de la luz natural propia de cada periodo estacional .

TÉCNICA EXPERIMENTAL.

Los grupos de animales fueron sacrificados en los puntos horarios referidos (hora local) según la sistemática que se describe:

1- ANESTESIA del animal con Pentobarbital Sódico (Nembutal) en disolución al 10%. Se realizó inyección intraperitoneal a una dosis de 0,5 mg/gr. de peso del animal .

2- CONTROL DEL PESO de cada animal .

3- LAPAROTOMIA Y TORACOTOMÍA BILATERAL . Una vez administrada la anestesia se procede al sacrificio de los animales realizando una incisión sagital media en abdomen llegando hasta el apéndice xifoides , prolongando dicha incisión por abajo hacia las extremidades inferiores y por arriba rodeando las arcadas costales . Pinzamos el apéndice xifoides con un a pinza de mosquito rechazándola hacia arriba dejando al descubierto toda la cavidad abdominal del animal . Liberamos la parrilla costal seccionándola y descubriendo la caja torácica teniendo acceso directo al corazón para proceder así a la perfusión .

4- TÉCNICA DE LA PERFUSION.

El objeto es cambiar la sangre por suero fisiológico tamponado lavando todo el árbol vascular para posteriormente inyectar el fijador de tejidos . Para ello hemos de seccionar los ligamentos cardiacos y retirar el pericardio , tras lo cual introducimos la mitad de la aguja de un advocat por el apex cardiaco , fijándolo en esta posición mediante una pinza mosquito.

A continuación seccionamos la Aurícula derecha que actúa como válvula de salida de sangre y líquidos que inyectamos . Previamente hemos preparado dos cubetas , una con glutaraldehido de Buffer Fosfato al 5% y otra con una solución salina tamponada compuesta por :

- Sacarosa	8 gr.
- ClNa	8 gr.
- Glucosa	4 gr.
- Agua destilada	1000 c.c.

Se comienza la perfusión del suero inyectándolo a periodos constante y a una temperatura que oscile entre los 38-40 °C .

Cuando por la Aurícula derecha fluye solamente el suero limpio de sangre se comienza la inyección del líquido fijador , inicialmente asociado al suero en un 50% para posteriormente suprimir el suero e inyectarlo directamente solo .

Cuando existe una buena perfusión , la introducción del fijador se acompaña de una fibrilación del animal a la vez que va quedándose rígido . La perfusión del animal debe continuar hasta que el animal deje de fibrilar tras lo cual se procede a la extracción de la glándula pineal .

5- EXTRACCIÓN DE LA GLÁNDULA PINEAL .

6- TÉCNICAS DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA.

FIJACIÓN .

La fijación es el procedimiento por el que conseguimos mantener la estructura celular , conservando su morfología y composición química con el menor numero de artificios y sin que exista degradación posterior .

El fijador utilizado se prepara mezclando:

- | | |
|---------------------------------|-------------|
| - Sol de Glutaraldehido al 25 % | 1 volumen |
| - Sol. Buffer Fosfato (pH =7,5) | 4 volúmenes |

Tras la extracción de la glándula pineal , se la deposita en un pocillo lleno de líquido fijador en el que se mantiene 2 horas en nevera a 4°C, removiéndola periódicamente para que quede bien impregnada. A continuación se lava la pieza mediante dos pasos consecutivos de 15 minutos :

- Sol A : Fosfato Potasico (PO_4H_2K) 98 gr. en 100 cc de agua destilada .

- Sol B : Fosfato mono o bisodico (PO_4HNA_2) 23,76 gr. en 2200 cc de agua destilada .

Se mezclan en el momento de su uso para conseguir el pH de 7,5 .

Posteriormente se emplea el Tetraoxido de Osmio (OsO_4) en 25 cc de una solución de 5 gr. de Sacarosa en 100 cc de una solución Buffer , para obtener una solución de OsO_4 al 2% , para conseguir la fijación completa de proteínas y lípidos . Tras ello se lava nuevamente en dos pasos sucesivos de 15 minutos en solución Buffer para eliminar los restos del OsO_4 .

DESHIDRATACIÓN .

Una vez lavada la pieza se procede a su deshidratación , que se realiza en tres pasos sucesivos de 30 minutos cada uno , utilizando acetona al 30%, al 50% y el 74,5% sucesivamente .

Contrastamos los cortes mediante un paso en acetona al uranilo al 2% en acetona al 75% durante 2 horas y a 4°C, a continuación un paso por acetona al 90 % media hora y otros dos pasos en acetona al 100% durante media hora tambien y se procede a la inclusión .

INCLUSIÓN

Como medio de inclusión hemos empleado el DURCOPAN (de la casa Fluka), que es una resina poco hidrosoluble , de baja viscosidad y que se filtra fácilmente en los tejidos . El proceso se realiza en varios pasos de 2 horas cada uno :

1- DURCOPAN I , en acetona al 100% :

Acetona al 100%	3 volúmenes
Durcopan I	1 volumen

2- DURCOPAN I EN ACETONA AL 100%

Acetona al 100 %	1 volumen
Durcopan I	1 volumen

3- DURCOPAN I en acetona al 100%

Acetona al 100%	1 volumen
Durcopan I	3 volúmenes

4- DURCOPAN I

5- DURCOPAN I

6- DURCOPAN II

La casa Fluka presenta este preparado separado envasado en cuatro frascos marcados con las siglas A/M ; B ; C ; D , que combinados entre sí nos permiten fabricar los dos tipos de Durcopan I y II .

El DURCOPAN I se obtiene mezclando en un matraz Erlenmeyer con un agitador las siguientes cantidades de los distintos frascos :

A/M	10 cc.
B	10 cc.
C	0,15 cc.

El DURCOPAN II se obtiene mezclando igual que el anterior :

A/M	10 cc.
B	10 cc.
C	0,45 cc.
D	0,15 cc.

POLIMERIZACION .

Se emplea el DURCOPAN II durante 72 horas en una estufa a 60°C

OBTENCIÓN DEL ULTRACORTE .

Una vez finalizado el proceso de la inclusión y de que el medio haya adquirido la consistencia necesaria , se procede al corte de la pieza . Para ello es conveniente reducir al máximo la superficie del corte para lo que se realiza una operación de tallado del taco de inclusión en forma de tronco de pirámide en cuya base menor queda situada la pieza . La morfología se consigue con un PIRAMITONE LKB11.800 , procediendo a realizar los cortes con un Ultramicrotomo de la casa LKB , el ULTRAMICROTOME III control uniat tipo 8.802 . En éste se coloca el tronco de pirámide sobre el que descende una cuchilla de cristal , fabricada también por la casa LKB (el aparato 7.801-B) y se selecciona mediante control microscópico del filo . Tras la cuchilla hay un pocillo lleno de agua destilada donde caen los cortes de 1 micra , que inmediatamente son depositados en un portaobjetos cubierto de agua destilada y que debe ser colocado sobre una plancha metálica calentada a 40°C para que e evapore el agua . Tras esto se tiñe con azul de toluidina para identificar la zona de tejido a estudiar y seleccionar el lugar que nos interese para la obtención de los ultracortes .

COLORACIÓN DE LOS CORTES DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA .

1- Tinción con Azul de Toluidina Alcalina. Reactivos :

- 1. Bórax al 1%. Se disuelven 2 gr. de borato de sodio en 200 cc de agua destilada .**
- 2. Se disuelven 0,5 gr. de azul de toluidina en 100 cc de bórax al 1% , filtrándose antes de su uso .**

2- Técnica : Se añaden 2-3 gotas de azul de toluidina alcalina directamente al corte cuando aún esta en el portaobjetos sobre la plancha metálica y al cabo de un par de minutos se forma un anillo metálico en la periferia , momento en el que lavamos con agua destilada y se seca con un papel de filtro o se deja secar en la plancha caliente .

3- El resultado es una coloración estable. Los MPS ácidos pueden sufrir una reacción metacromática, indicando que existe MPS ácidos carboxilados , sulfatados o fosfatados .

Una vez elegida la zona adecuada de los cortes de 1 micra se realizan los ultracortes , de los que se seleccionan para el montaje en las "rejillas" solamente los que tengan un grosor comprendido entre los 600-900 amstrongs . El resto de los ultracorte sobrenadantes en el pocillo que contiene agua destilada presentan varios colores en dependencia del grosor que posean de forma que existe una tabla que nos indica el grosor que tienen según su tonalidad :

ULTRACORTES ÚTILES :

- | | |
|----------------------|------------------------------|
| - COLOR GRIS | 600 amstrongs o menos |
| - COLOR PLATA | 600.900 amstrongs. |

ULTRACORTES DESECHABLES:

- | | |
|-------------------------|---------------------------|
| - COLOR ROJO | 900-1500 amstrongs |
| - COLOR AZUL | 1500-1900 " |
| - COLOR VERDE | 2400-2800 " |
| - COLOR AMARILLO | 2800-3200 " |

Los ultracortes útiles son recogidos mediante "rejillas de cobre" que tienen un grosor de 0.05 mm y un diámetro de 3 mm , previamente cubiertas con una membrana de Formvar , que aumenta su estabilidad . Una vez montados los cortes se colocan las rejillas en placas de Petri para que se sequen y se contrastan con Citrato de Plomo según el Método de REYNOLDS (1963) :

Solución de Citrato de Plomo :

Nitrato de Plomo	1.33 gr.
Citrato Sódico	1.76 gr.
Agua destilada	30 cc.

El agua destilada se hierve a fuego lento 15 minutos para que se desprendan los gases que pueda contener (O, CO) tras los cuales se enfría por inmersión en agua fría bruscamente y se añaden 8 cc de hidróxido Sódico agitándola hasta que es totalmente transparente . Se colocan unas gotas de Citrato de Plomo en una placa de Petri que contenga cera de dentista en el fondo para que las gotas sean visibles . Se aplican las rejillas por el lado que están montados los ultracortes durante 15-30 minutos tras los cuales se recoge la rejilla y se lava con agua destilada y se secan con un papel de filtro quedando listas para observarlas al microscopio electrónico .

El MICROSCOPIO ELECTRÓNICO utilizado es el modelo E.M. 9.A de la Casa Carl Zeiss con una capacidad de resolución de 14 a.

Las Electromicrofotografía han sido realizadas a los siguientes aumentos :

Escalón 1	1750
Escalón 2	6000
Escalón 3	18000
Escalón 4	40000

El MATERIAL FOTOGRÁFICO utilizado han sido placas para negativo de la casa AGFA, placas 7x7 AGFA GEVAERT SCIENTIFIC FILMS 23D.56.

DETERMINACIÓN DE CINTAS POR SUPERFICIE.

Para ello evaluamos el número de células y organelas en ocho superficies cuadradas de una rejilla de 65 x 65 micras con una superficie total de 33.800 micras cuadradas, expresándose los resultados en 20.000 μ^2 . Este proceso se realiza a 12.000 aumentos en una o mas secciones de un animal hasta completar la superficie.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los datos obtenidos fueron comparativamente analizados a través de contraste de hipótesis y la evaluación de su significado . La significación estadística fue considerada a partir de un valor de $p_{<0.05}$.

La hipótesis de normalidad de las variables fue sistemáticamente contrastada por test no paramétricos .

Como en el estudio estaban involucradas variables cuantitativas continuas , estas fueron comparadas mediante el test de Student para muestras pequeñas .

El análisis de la varianza fue utilizado para establecer unos bloques de comparación de las diferentes medias obtenidas a lo largo del tiempo de experimento en cada uno de los grupos .

Todo el análisis estadístico fue realizado en un ordenador Apple McIntosh II Si. utilizando los programas Stat-View II y Cricket-Graph II .

RESULTADOS.

Durante el estudio de las diferentes piezas objeto del análisis morfo-métrico, no hemos encontrado ningún dato de relevante interés, fuera de lo descrito en la literatura , solo cabe destacar en la porción A , la observación frecuente de unas estructuras microtubulares de apariencia ciliar (Figuras 1 y 2).

Del estudio , análisis y recuento de las diferentes preparaciones de tejido pineal hemos constatado la existencia de una abrumadora mayoría de cintas sinápticas (98,8%) , bien asiladas o agrupadas en dos o mas elementos (Fig. 3 y 4), y solo una presencia muy reducida de otros cuerpos "sinápticos" (1,7%) tales como esferas (1,1%) (Fig. 5) y formas triangulares (0,6%) (Fig. 6). Excepcionalmente se observó alguna forma rectangular, que por su carácter ocasional , no ha sido considerada en este trabajo .

El total de cuerpos "sinápticos" contabilizados en el tejido analizado ha sido 15809 , distribuidos en la forma y porcentajes que se reflejan en la tabla 1 .

En ella podemos observar que tanto el mayor porcentaje del total de cuerpos (48,5%) como el de cintas (48,5%) corresponde a la parte C y el menor (16,9% y 16,4% respectivamente) a la A , mientras que la mayor proporción de esferas (0,46%) y de formas triangulares (0,33%) se da en la parte A y la menor en la C .

Su localización , a lo largo del tejido analizado y de forma general, es más frecuente en las prolongaciones (83,3%) que en el pericarion (16,7%) y un 33,7% se encontraban adosadas a la membrana .

La distribución y porcentaje en cada una de las partes pineales y en cada estación se expresan en la tabla 2. De estos datos destaca que mientras en las porciones A y B el mayor porcentaje de cuerpos y de cintas se da durante el Invierno , en la porción C se da durante el Otoño. Por el contrario las esferas son mayoritarias durante el Invierno en la parte proximal y en la distal y se mantienen en proporciones muy constantes en la parte intermedia. Finalmente , las formas triangulares predominan durante el Verano y el Otoño en las porciones A y B , y aumentan en el Invierno y desaparecen durante la Primavera en la parte C .

CINTAS SINAPTICAS .

La evolución circadiana durante cada una de las diferentes estaciones es variable según el tipo de cuerpo "sináptico" y la parte pineal analizada .

Las cintas sinápticas durante la Primavera (Gráfica 1) experimentan las variaciones y diferencias mas interesantes . El número máximo se da en la porción B y muestra una curiosa inversión de los picos máximos (a las 22:00 y 02:00) y mínimos (14:00 y 06:00) con respecto a la porción C .

La porción A es la que muestra una evolución menos abrupta y mas uniforme .

En la estación de máxima luminosidad , el verano (Gráfica 2) , las curvas evolutivas de las tres porciones siguen un recorrido a lo largo del día bastante uniforme , con valores mínimos entre las 10:00 y las 14:00 horas y máximos sobre las 02:00 en todas las porciones , siendo ostensiblemente menores los valores de la porción A en todos los puntos horarios con respecto a las otras pineales .

Durante el Otoño las curvas a lo largo del día mantienen la evolución general descrita en la gráfica anterior pero con algunas diferencias que son claramente visibles en la gráfica 3 . En la parte B el pico de las 02:00 horas se hace mas agudo , por tener un valor medio mayor , que el correspondiente de la parte C, y experimenta igualmente una subida a las 14:00 horas.

Finalmente , durante el Invierno (Gráfica 4), destaca la unificación en número y en evolución de las porciones B y C , estando prácticamente superpuestas durante todo el día . La parte A sigue una evolución con las mismas características que las estaciones anteriores .

Durante la evolución estacional (Gráfica 5), se puede observar una clara diferencia entre las tres partes a lo largo del ciclo . Mientras la parte A tiene unas evoluciones a lo largo de las cuatro estaciones , con valores máximos en Primavera y Otoño y mínimos en el Verano , la parte B presenta una evolución mas uniforme y ligeramente ascendente , con su valor máximo en Invierno . La parte C expresa una evolución clara y progresivamente ascendente desde sus valores mínimos en primavera a los máximos en Invierno .

En ésta gráfica estacional también es interesante destacar que mientras las porciones B y C tienden a unificar su número de estructuras durante las estaciones de menor luminosidad , la parte A tiene un comportamiento mas

irregular y claramente diferenciado con las otras dos porciones . Si comparamos el comportamiento evolutivo de la porción A circanualmente con su evolución durante los ciclos luminosos diarios (ver gráficas), llama la atención de que en éstos, es la porción pineal de evolución mas uniforme , mientras que en el ciclo estacional es la mas irregular .

La aplicación del análisis de la Varianza tomando como posibles factores de influencia sobre las variaciones del número de cintas , a los puntos horarios , a las estaciones y a las diferentes porciones pineales , puso de manifiesto que existe una muy alta significación estadística ($p < 0.000$) en todos los casos . (Ver Tabla 3), de lo que se deduce que el comportamiento evolutivo de estas estructuras está influenciado por los factores analizados .

Las diferencias entre los valores nocturnos y diurnos en cada una de las diferentes estaciones y porciones pineales, se expresan en el diagrama 1.

En él podemos apreciar como los valores nocturnos son significativamente superiores en las estaciones de Verano , Otoño e Invierno en las tres porciones . Durante la Primavera también se dan valores nocturnos significativamente mayores en la porción A , no se dan diferencias significativas en la Porción B y aparecen valores superiores significativos en la porción C .

Numero y Distribución : Total 15.809

Cintas : 15.534 (98,2%)

Esferas : 179 (1,1%)

Formas Triangulares : 96 (0,6%)

Parte A : Total 2685 /16,9%)

Cintas : 2559 (16,4%)

Esferas : 73 (0,46%)

Formas Triangulares : 53 (0,33%)

Parte B : Total 5456 (34,5 %)

Cintas : 5382 (34,06%)

Esferas: 47 (0,29%)

Formas Triangulares : 27 (0,17%)

Parte C : Total 7668 (48,5%)

Cintas : 7593 (48,05%)

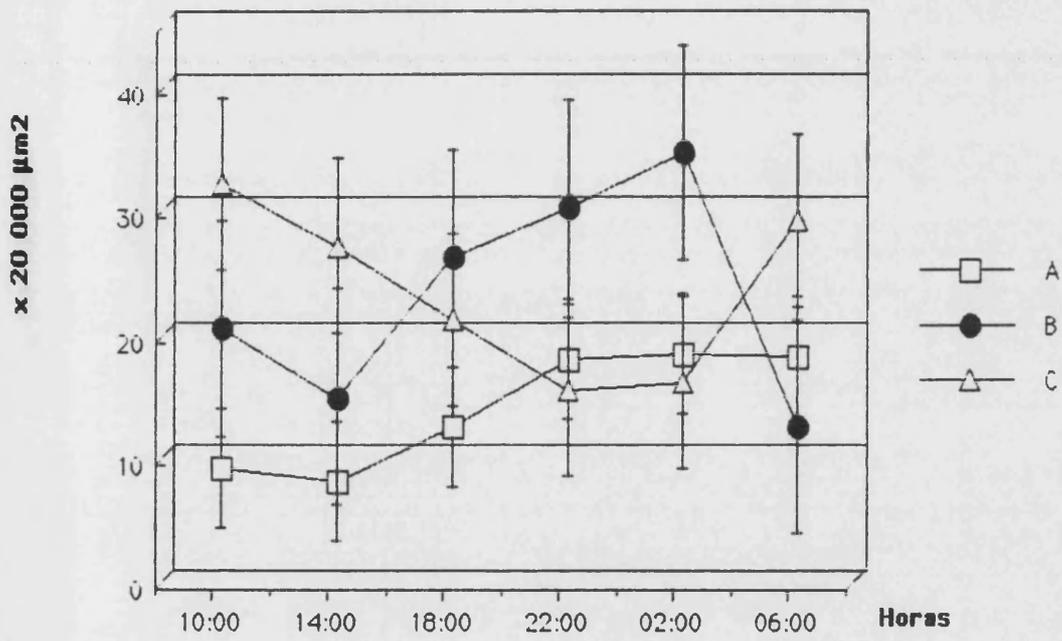
Esferas : 59 (0,37%)

Formas Triangulares 16 (0,10%)

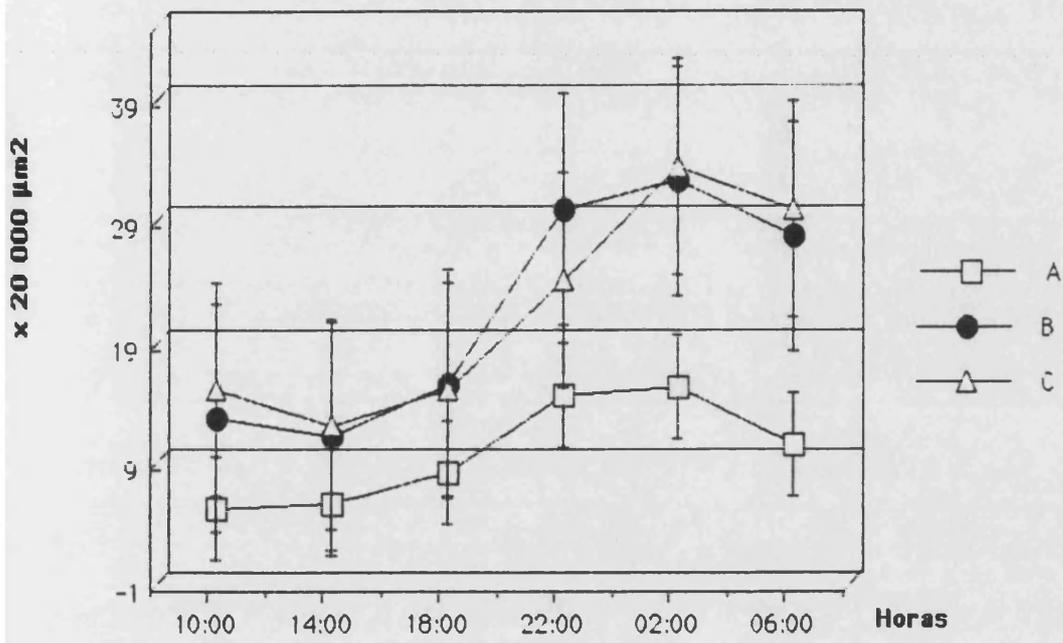
Tabla 1. Porcentaje de distribución de los cuerpos “sinápticos” en la glándula pineal de la rata albina.

	PARTE A TOTAL : 2658	PARTE B TOTAL : 5361	PARTE C TOTAL 7668
PRIMAVERA	689 (25,6%)	1234 (23,0%)	1190 (15,5%)
CINTAS	671 (24,9%)	1160 (21,6%)	1176 (15,3%)
ESFERAS	9 (0,33%)	11 (0,20%)	14 (0,18%)
F. TRIANG.	9 (0,33%)	4 (0,07%)	0
VERANO	519 (21,2%)	1095 (20,4%)	1063 (13,8%)
CINTAS	493 (18,3%)	1074 (20,03%)	1050 (13,6%)
ESFERAS	11 (0,40%)	13 (0,24%)	10 (0,13%)
F. TRIANG.	15 (0,55%)	8 (0,10%)	3 (0,03%)
OTOÑO	685 (25,5%)	1413 (26,3%)	3686 (48,06 %)
CINTAS	662 (24,6%)	1394 (26,0%)	3670 (47,8%)
ESFERAS	7 (0,26%)	14 (0,26%)	12 (0,15%)
F. TRIANG.	16 (0,59%)	8 (0,1%)	4 (0,05%)
INVIERNO	792 (29,4%)	1774 (33,0%)	1729 (22,5%)
CINTAS	733 (27,2%)	1754 (32,7%)	1697 (22,1%)
ESFERAS	46 (1,75%)	14 (0,26%)	23 (0,29%)
F. TRIANG.	13 (0,48%)	5 (0,09%)	9 (0,11%)

Tabla 2.- Porcentaje y distribución del número de cuerpos "sinápticos" por estaciones en cada una de las tres partes pineales

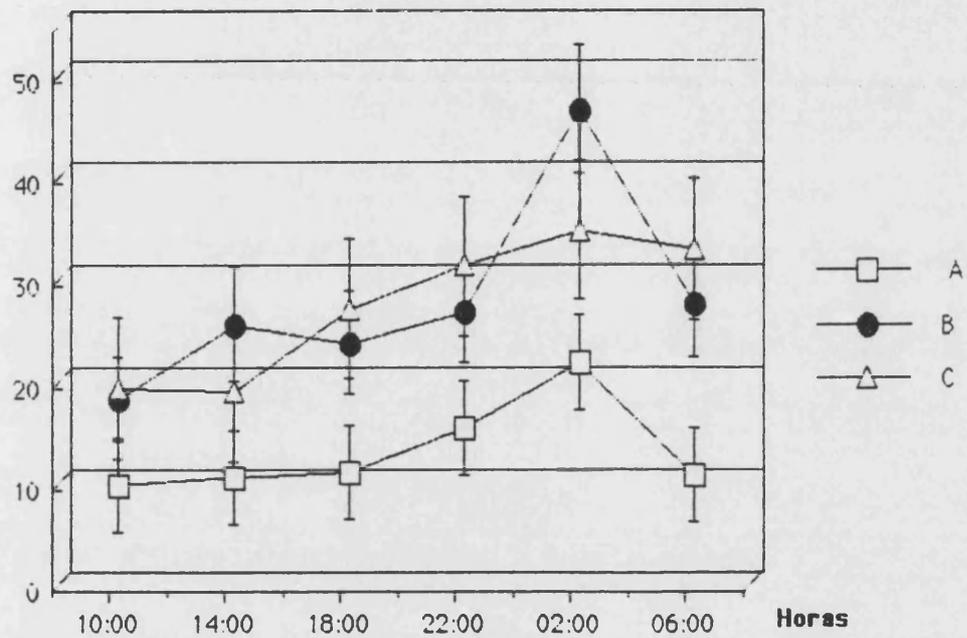


Gráfica 1.- Evolución circadiana durante la Primavera



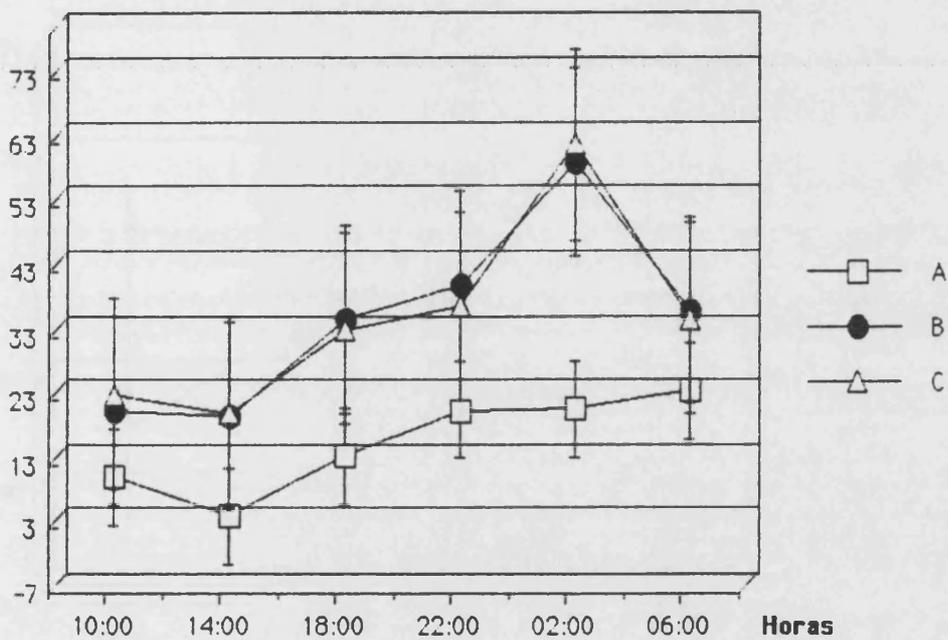
Gráfica 2.- Evolución circadiana durante el verano

x 20 000 μm^2

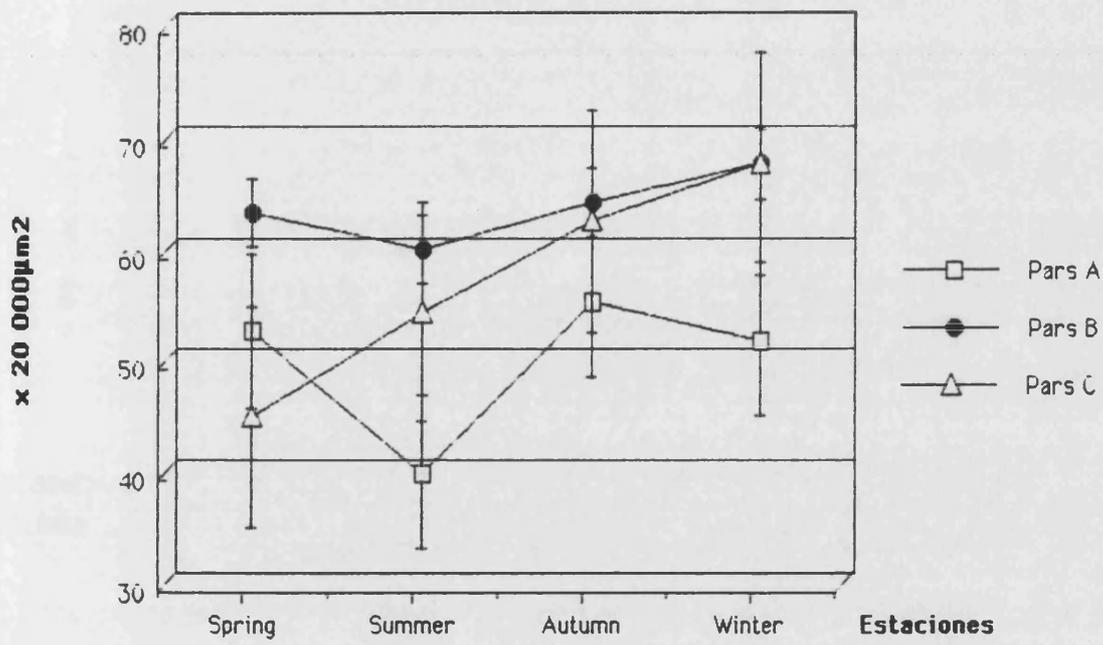


Gráfica 3.- Evolución circadiana durante el Otoño

x 20 000 μm^2



Gráfica 4.- Evolución circadiana durante el Invierno



Grafica 5.- Evolución estacional

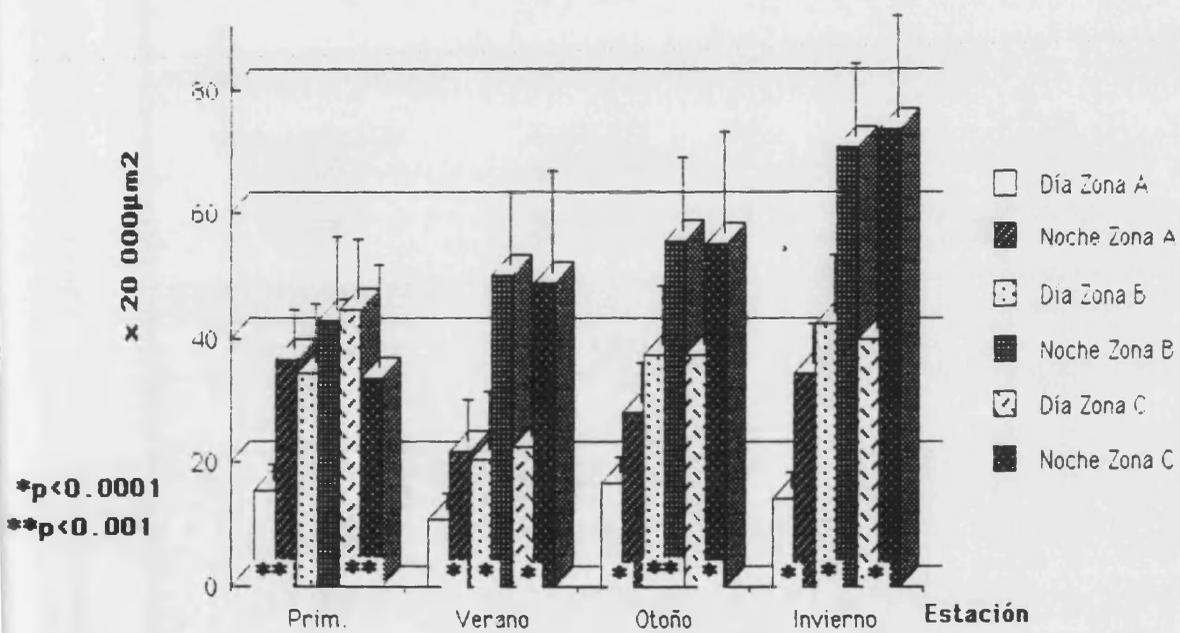


Diagrama 1.- Variación fotofásica estacional de las cintas en las porciones A,B y C

**SR
BY PTIME
SEASON
PART**

SOURCE OF VARIATION	SUM OF SQUARES	DF	MEAN SQUARE	F	SIGNIF OF F
MAIN EFFECTS	31.477.687	10	3.147.769	52.891	.000
PTIME	11.769.806	5	2.353.961	39.553	.000
SEASON	4.282	3	1.427.528	23.986	.000
PART	15.456.900	2	7.728.450	129.859	.000
2-WAY INTERACTIONS	9.042.110	31	291.681	4.901	.000
PTIME SEASON	5.211.985	15	347.466	5.838	.000
PTIME PART	2.539.883	10	253.988	4.268	.000
SEASON PART	1.383.236	6	230.539	3.874	.001
3-WAY INTERACTIONS	5.706.594	30	190.220	3.196	.000
PTIME SEASON PART	5.706.594	30	190.220	3.196	.000
EXPLAINED	46.226.391	71	651.076	10.940	.000
RESIDUAL	17080	287	59.514		
TOTAL	63306	358	176.835		1

Tabla 3.- Análisis de la varianza de las Cintas Sinápticas. Factores de Influencia: Puntos horarios (Ptime) , Estaciones (Season) , Porcion Pineal (Part).

ESFERAS SINAPTICAS .

La evolución de las esferas presenta características diferentes a las cintas tanto en su evolución circadiana como circannual .

Durante la Primavera , (Gráfica 6) se aprecia que las porciones B y C tienen una evolución casi paralela con valores mínimos a las 14:00 horas y máximos entre las 22:00 y 02:00 horas . En la Parte A las esferas evolucionan de manera totalmente diferente , describiendo una meseta en las horas de máxima luminosidad (10:00.14:00 y 18:00) y disminuyendo en las horas nocturnas .

En el Verano (Gráfica 7) , las porciones B y C siguen evolucionando de manera muy parecida entre ellas mismas , aunque en ésta estación los valores mínimos se dan a las 10:00 horas y los máximos a las 18:00 y 22:00 horas . La porción A sigue mostrando una evolución diferente a la de las otras dos ; su valor máximo se da a las 10:00 horas y los mínimos a las 22:00 y los 02:00 persistiendo valores en meseta entre las 14:00 y las 18:00 horas .

En la Gráfica 8 se puede observar la evolución de las esferas durante el Otoño . En este caso , las tres porciones tienen valores similares a las 06:00 horas , iniciando una evolución muy similar , especialmente las porciones A y C , entre las 10:00 y las 18:00 horas , dispersándose los valores entre las 22:00 y las 02:00 , de tal manera que mientras en las porciones B y C los valores ascienden y tienden a unificarse , en la porción A, se alcanzan cotas mínimas .

Durante el Invierno (Gráfica 9) las similitudes evolutivas entre las porciones B y C y sus diferencias con la A son claramente observables .

Curiosamente , las esferas son mucho mas numerosas en la parte A que en las otras dos y describen una curva evolutiva casi en espejo , con las de las porciones B y C en las que los valores mínimos se dan a las 14:00 horas la misma hora en la que se alcanzan los máximos en la porción A .

La evolución circannual o estacional de las esferas tiene un comportamiento similar en las tres partes pineales en la Primavera , Verano y Otoño , es el Invierno la estación diferenciadora en la que la porción A presenta valores mas altos y la B los mas bajos . (Gráfica 10) .

Las diferencias fotofásicas se pueden seguir en el Diagrama 2 . En él podemos observar que solo se dan diferencias significativas entre los valores diurnos y nocturnos en la Primavera , los valores diurnos son mayores que los nocturnos en la zona A y al revés en la B . Durante el Otoño , al igual que en la Primavera , los valores diurnos de la zona A son significativamente mayores que los nocturnos .

La aplicación del análisis de la Varianza (tabla IV) demuestra que las variaciones observadas son significativas ($p < 0.0001$) entre los diferentes periodos horarios , las estaciones y las tres porciones pineales entre sí.

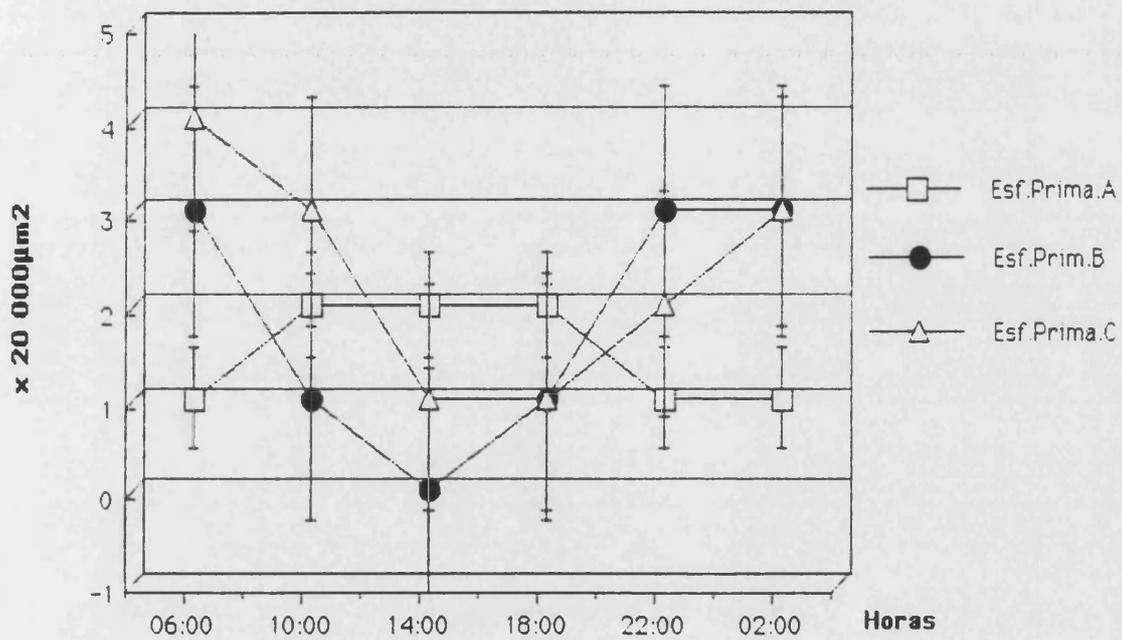
FORMAS INTERMEDIAS.

CUERPOS TRIANGULARES.

Son las estructuras menos numerosas de las estudiadas. Solo un 0,6%, aunque sus oscilaciones numéricas siguen un ritmo circadiano y estacional. (Gráficos 11,12,13,14,15) aunque no aparece diferencias significativas fotofásicas en ninguna de las tres porciones pineales a excepción de la Parte A en la estación de máxima luminosidad (Diagrama 3), donde el aumento de los valores nocturnos máximos sí son significativos.

Estacionalmente , las porciones B y C tienen una evolución casi paralela, cosa que no se da en la porción A , donde además el número de cuerpos triangulares es mayor.

La aplicación del análisis de la varianza (tabla 5), pone de manifiesto, que aunque débilmente ($p < 0.01$), la diferencia de los valores de la interacción entre puntos horarios , estaciones y partes pineales , es significativa.



Grafica 6.- Evolución circadiana de las esferas durante la Primavera

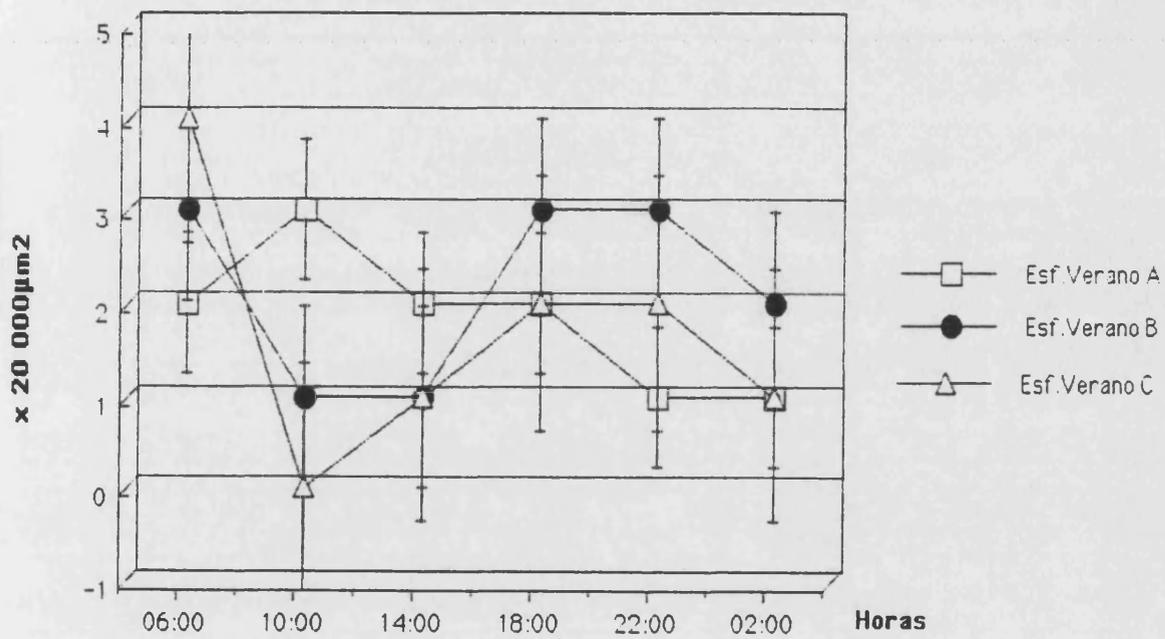


Figura 7.- Evolución circadiana de las esferas durante el Verano

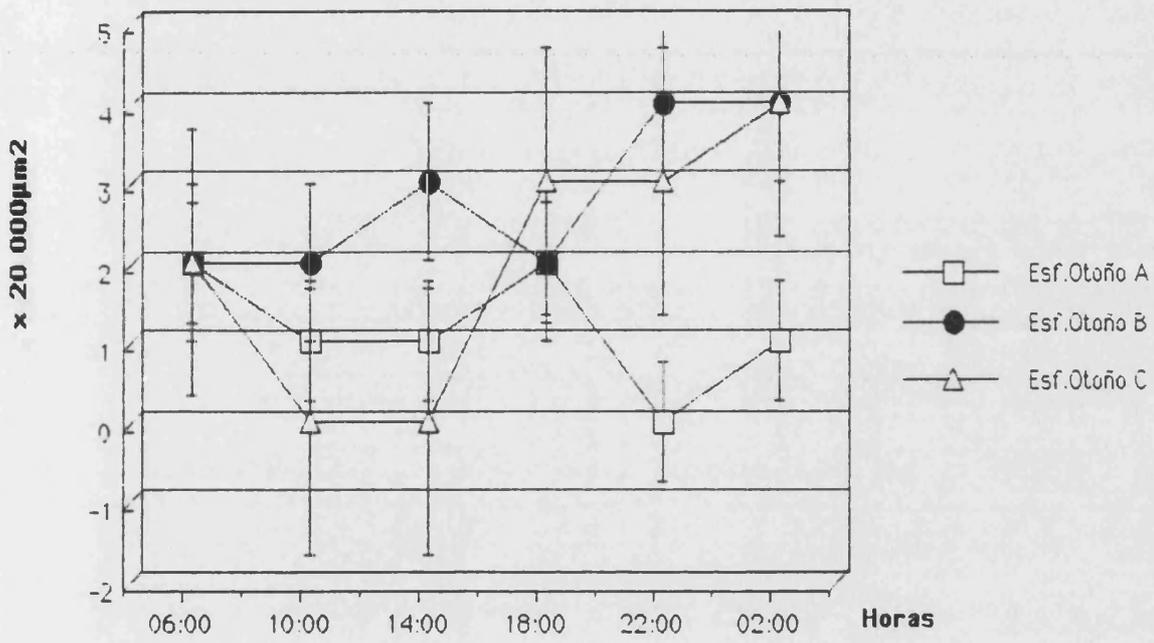


Figura 8.- Evolución circadiana de las esferas durante el Otoño

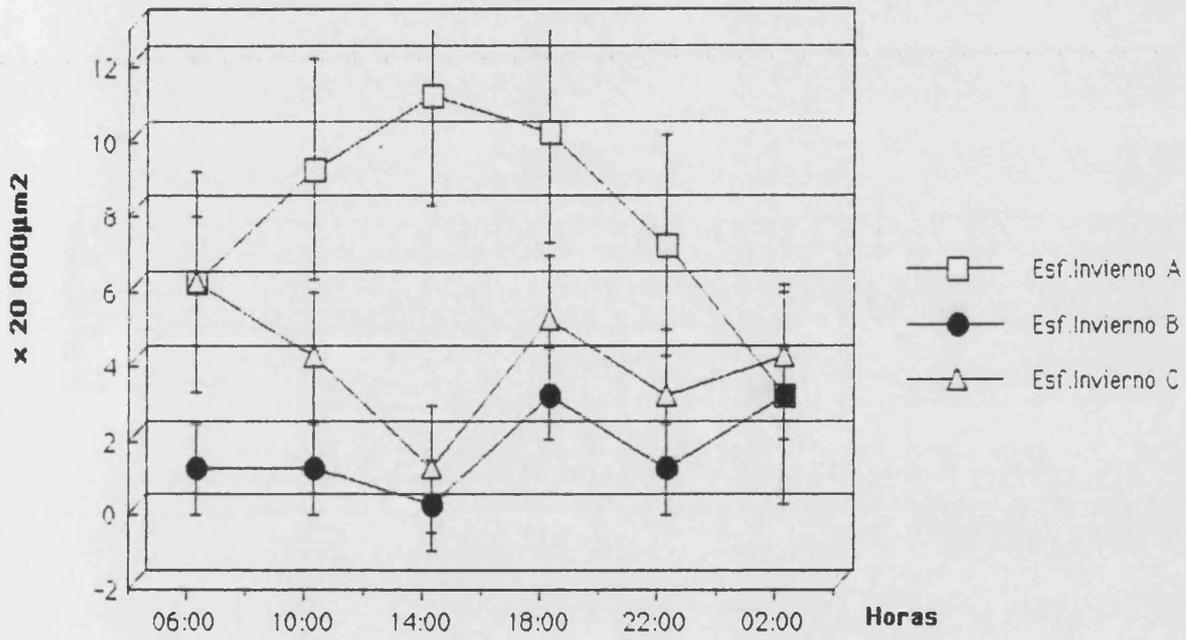
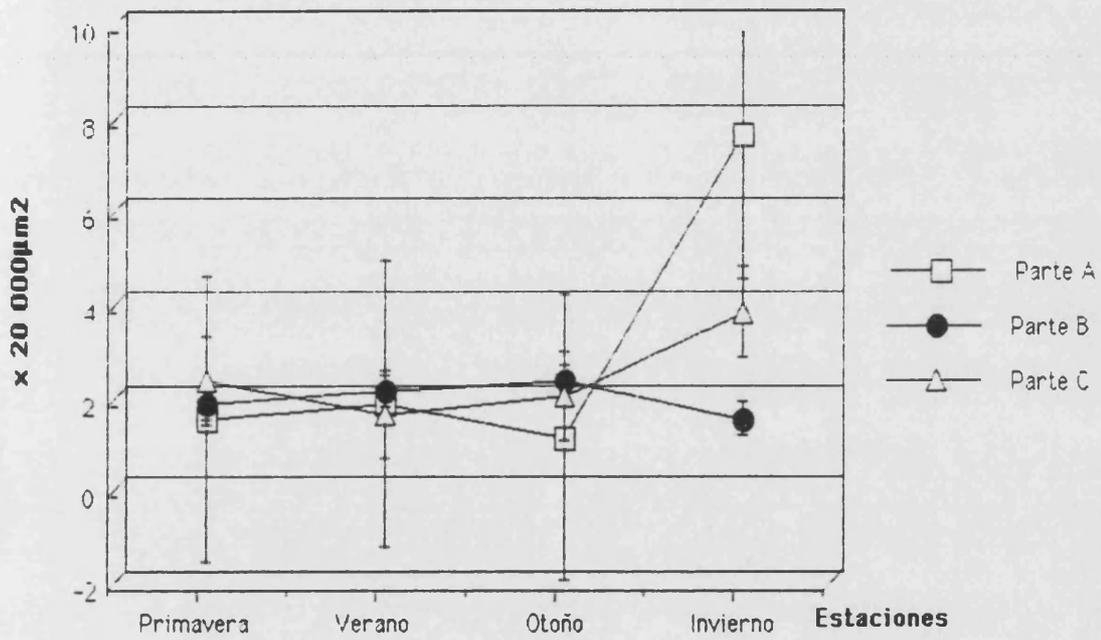


Figura 9.- Evolución circadiana de las esferas durante el Invierno



Grafica 10.- Evolución estacional de las esferas

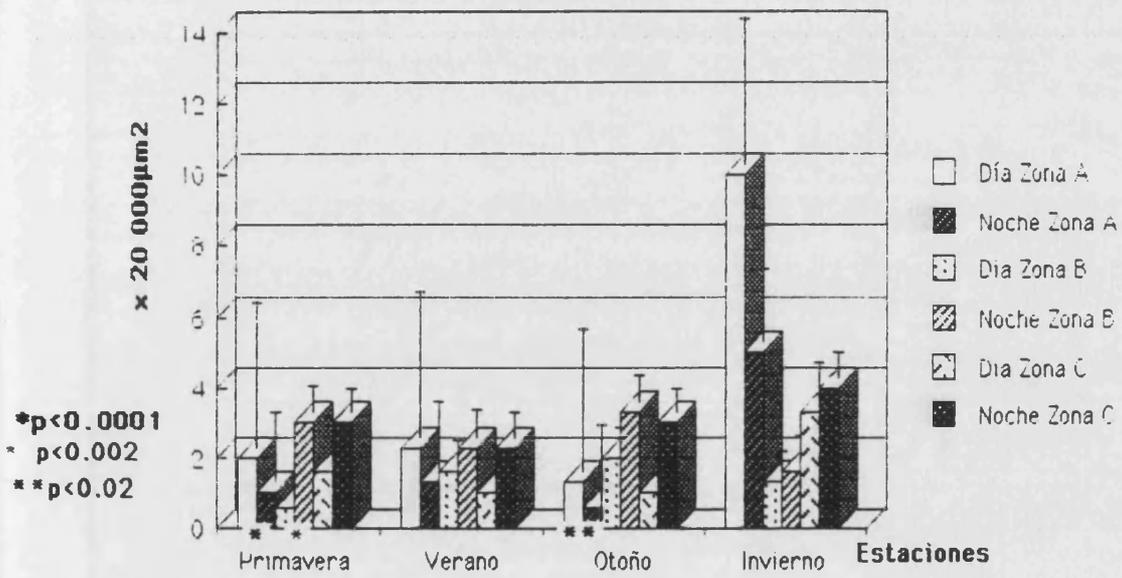
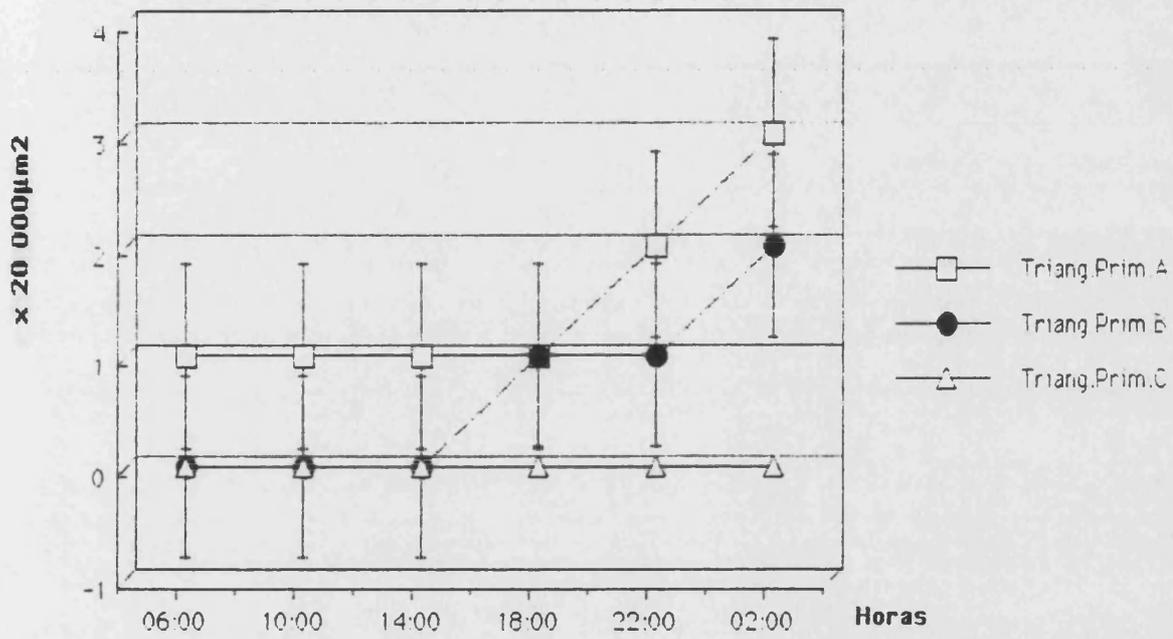


Diagrama 2.- Variación fotofásica estacional de las esferas en las porciones A,B y C

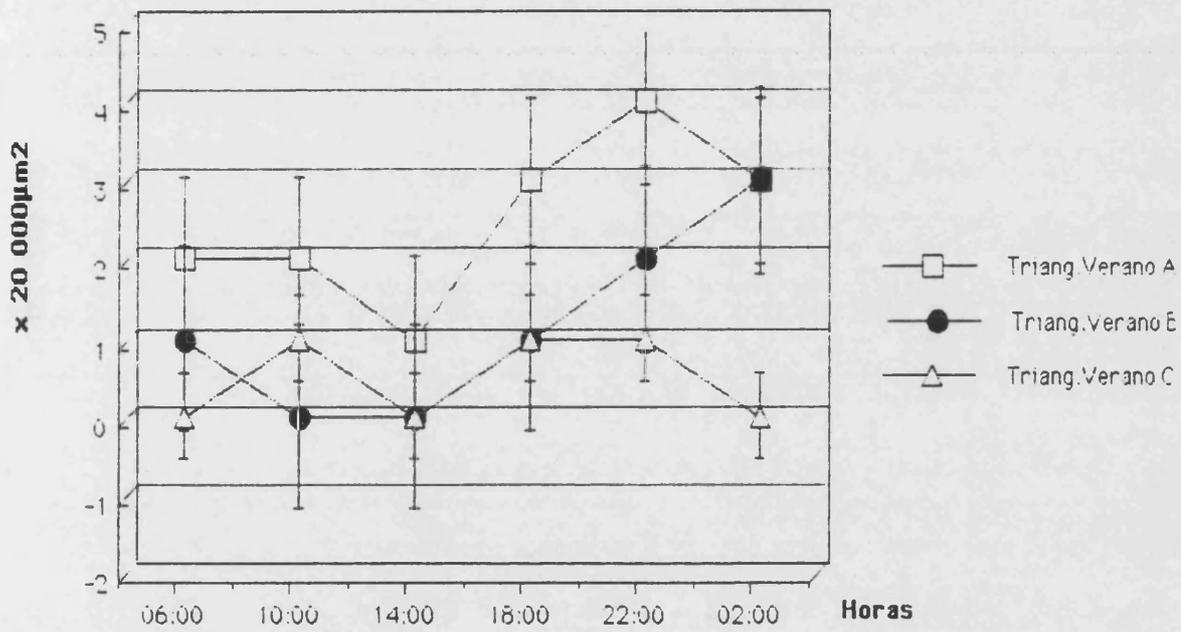
**ESF
BY PTIME
SEASON
PART**

SOURCE OF VARIATION	SUM OF SQUARES	DF	MEAN SQUARE	F	SIGNIF OF F
MAIN EFFECTS	493.094	10	49.309	32.873	.000
PTIME	51.700	5	10.340	6.893	.000
SEASON	387.878	3	129.293	86.195	.000
PART	53.517	2	26.758	17.839	.000
2-WAY INTERACTIONS	963.111	31	31.068	20.712	.000
PTIME SEASON	122.189	15	8.146	5.431	.000
PTIME PART	239.483	10	23.948	15.966	.000
SEASON PART	601.439	6	100.240	66.827	.000
3-WAY INTERACTIONS	196.894	30	6.563	4.375	.000
PTIME SEASON PART	196.894	30	6.563	4.375	.000
EXPLAINED	1.653.100	71	23.283	15.522	.000
RESIDUAL	432000	288	1.500		
TOTAL	2085100	359	5.808		

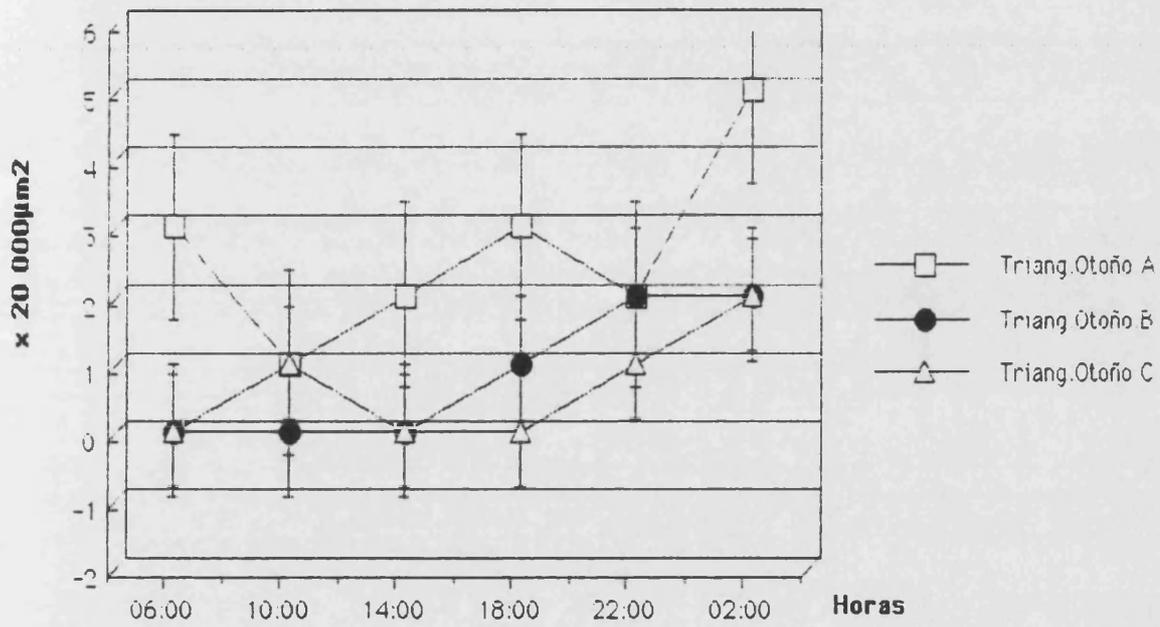
Tabla 4.- Análisis de la Varianza de las Esferas Sinápticas. Factores de Influencia : Puntos horarios (Ptime) , Estaciones (Season) , Porcion Pineal (Part).



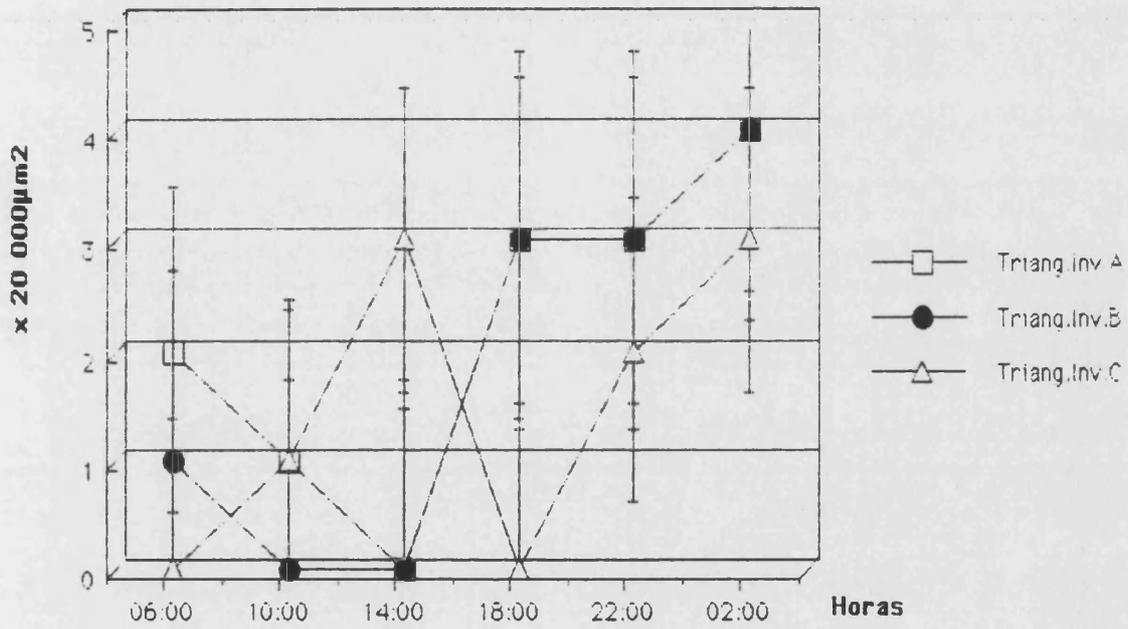
Gráfica 11.- Evolución circadiana de las formas triangulares durante la Primavera



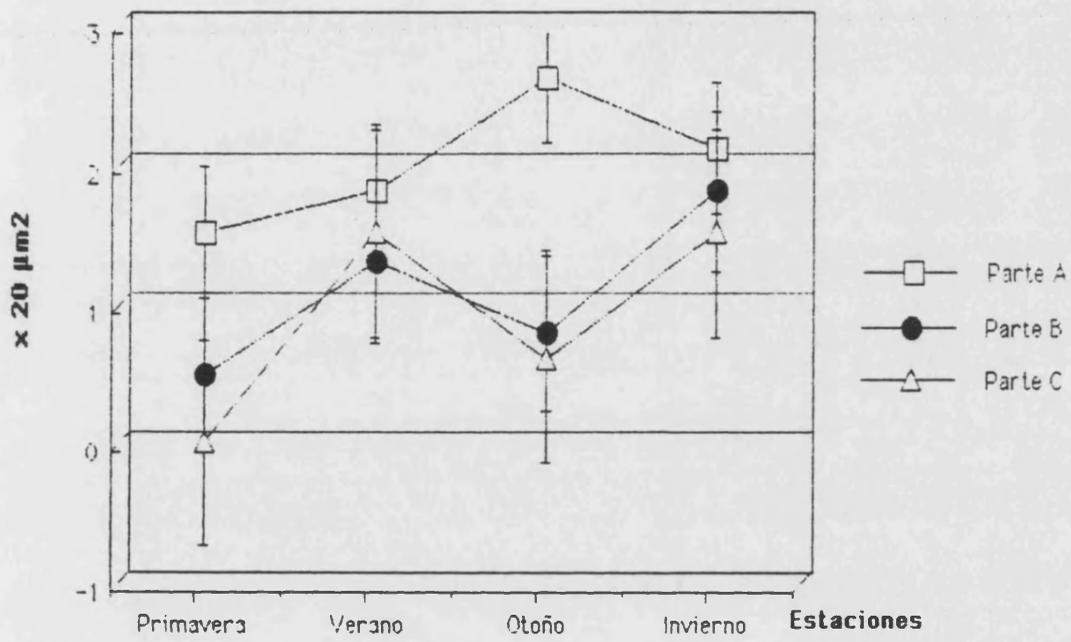
Gráfica 12.- Evolución circadiana de las formas triangulares durante el Verano



Gráfica 13.- Evolución circadiana de las formas triangulares durante el Otoño



Gráfica 14.- Evolución circadiana de las formas triangulares durante el Invierno



Gráfica 15.- Evolución estacional de los cuerpos triangulares

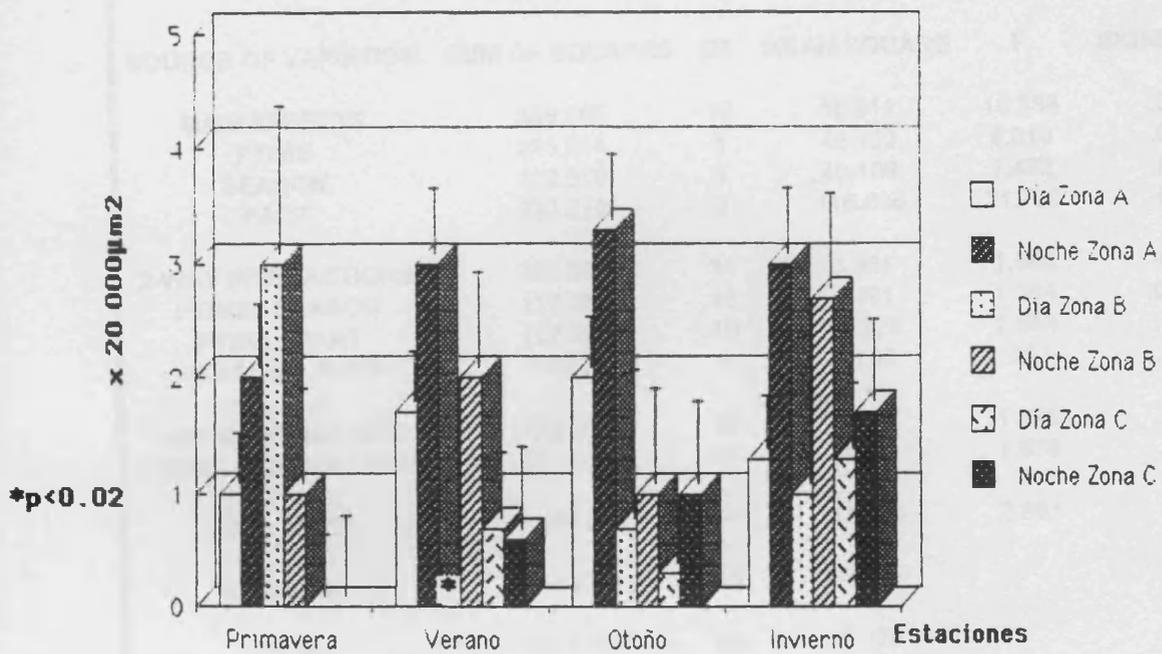


Diagrama 3.- Variación fotofásica estacional de las formas triangulares en las porciones A,B y C

**TRN
BY PTIME
SEASON
PART**

SOURCE OF VARIATION	SUM OF SQUARES	DF	MEAN SQUARE	F	SIGNIF OF F
MAIN EFFECTS	569.106	10	56.911	10.588	.000
PTIME	215.514	5	43.103	8.019	.000
SEASON	120.319	3	40.106	7.462	.000
PART	233.272	2	116.636	21.700	.000
2-WAY INTERACTIONS	259.897	31	8.384	1.560	.033
PTIME SEASON	112.364	15	7.491	1.394	.0149
PTIME PART	137.294	10	13.729	2.554	.006
SEASON PART	10.239	6	1.706	.317	.928
WAY INTERACTIONS	270.528	30	9.018	1.678	.017
PTIME SEASON PART	270.528	30	9.018	1.678	.017
EXPLAINED	1.099.531	71	15.486	2.881	.000
RESIDUAL	1548000	288	5.375		
TOTAL	2647531	359	7.375		

Tabla 5.- Análisis de la Varianza de Formas Triangulares. Factores de Influencia : Puntos horarios (Ptime) , Estaciones (Season) , Porcion Pineal (Part).

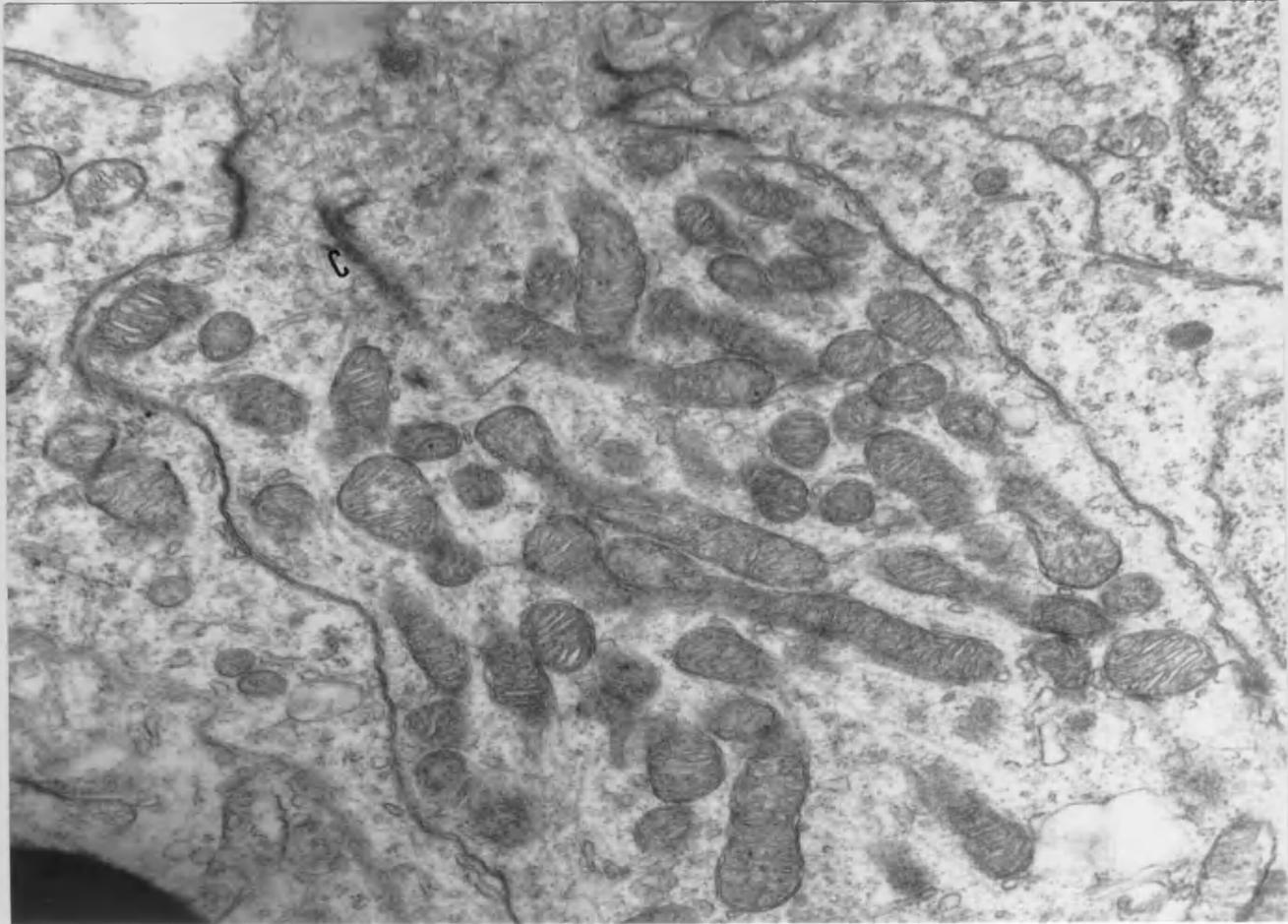


Fig. 1.- (36.000x) Prolongación citoplásmica del Pinealocito con Mitocondrias y centriolo (c).

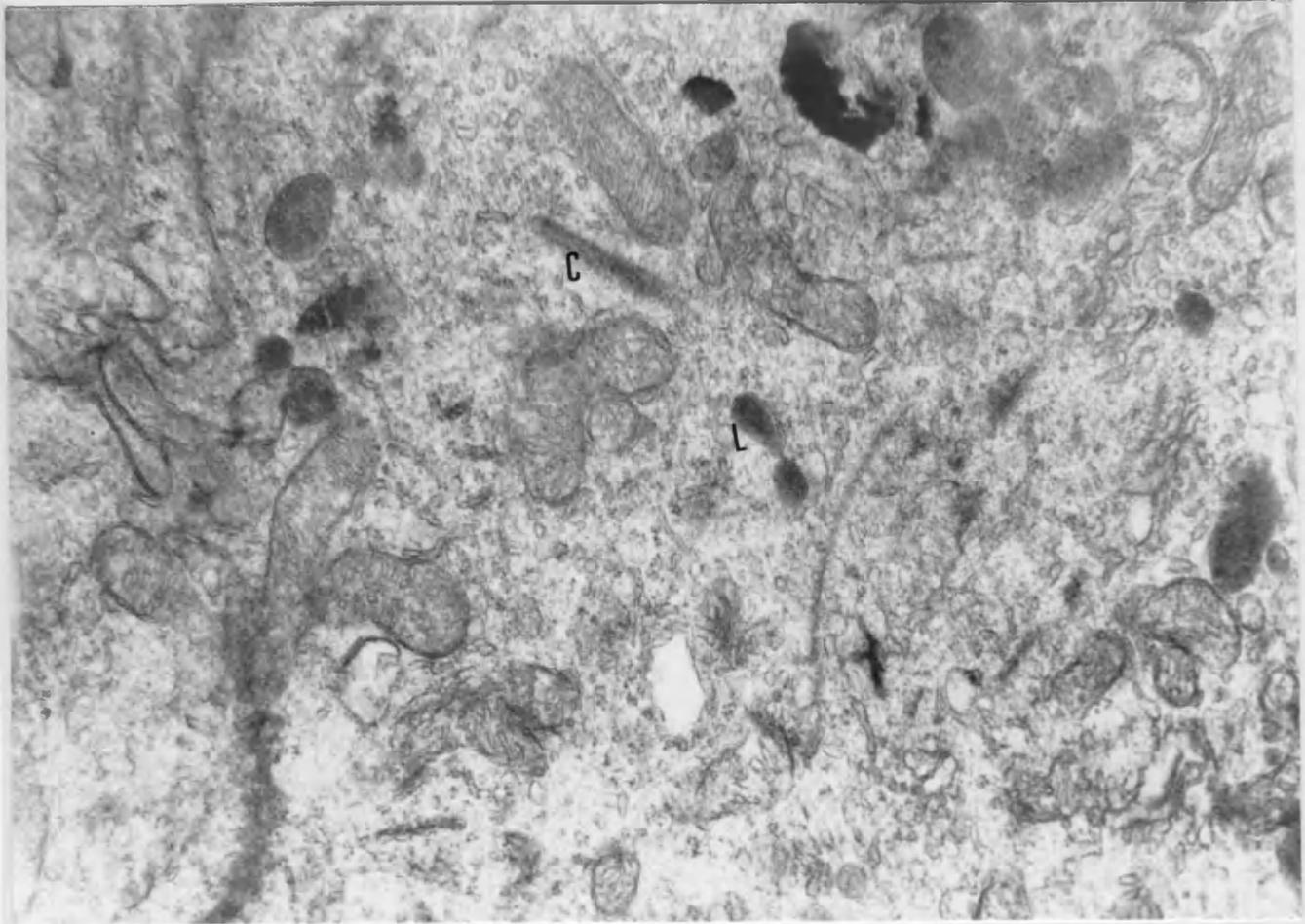


Fig. 2.- (36.000x) Prolongación citoplasmática de Pinealocitos con mitocondrias , lisosomas (L) y centriolo .

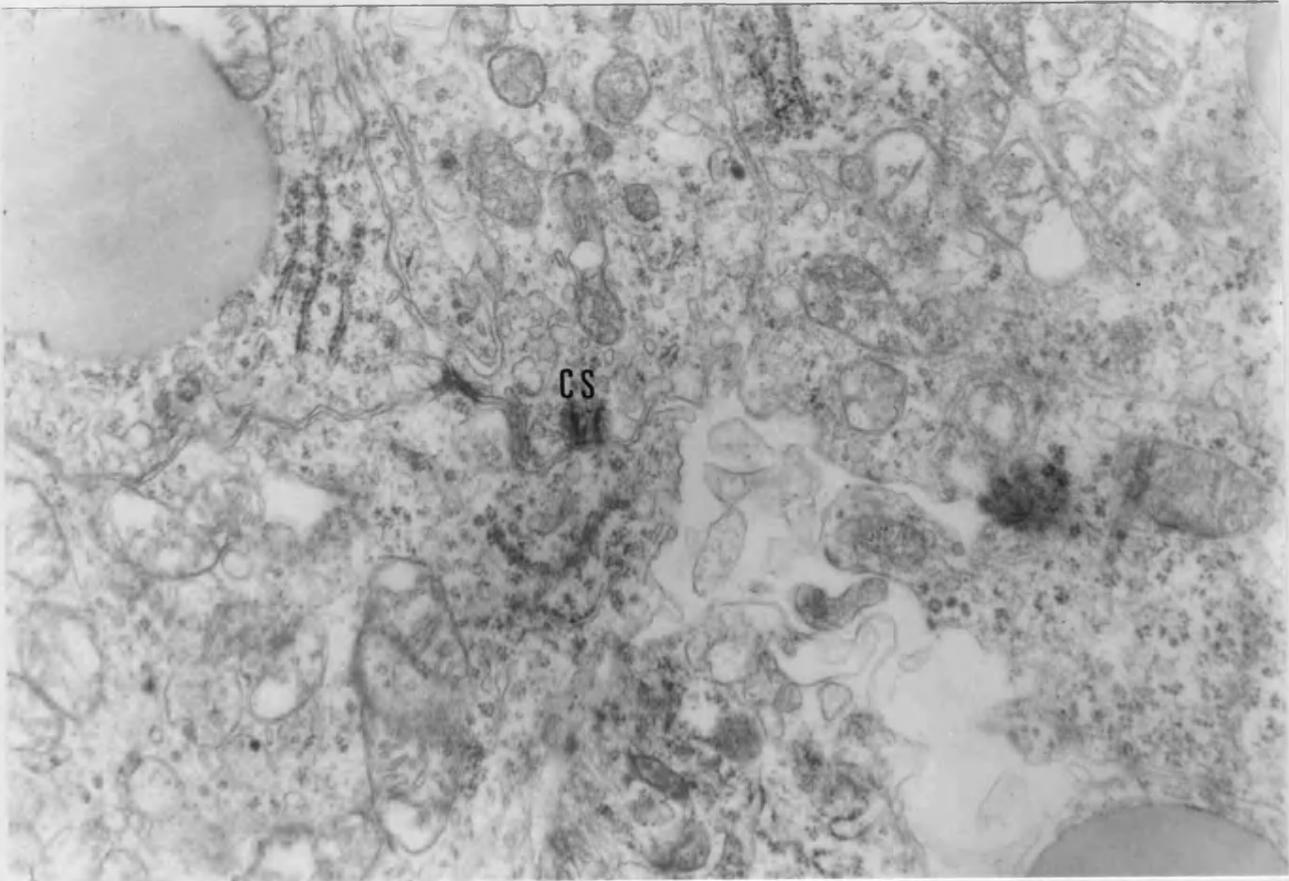


Fig. 3.- (18.000x) Pareja de cintas sinápticas adosadas a membrana (c.s.)

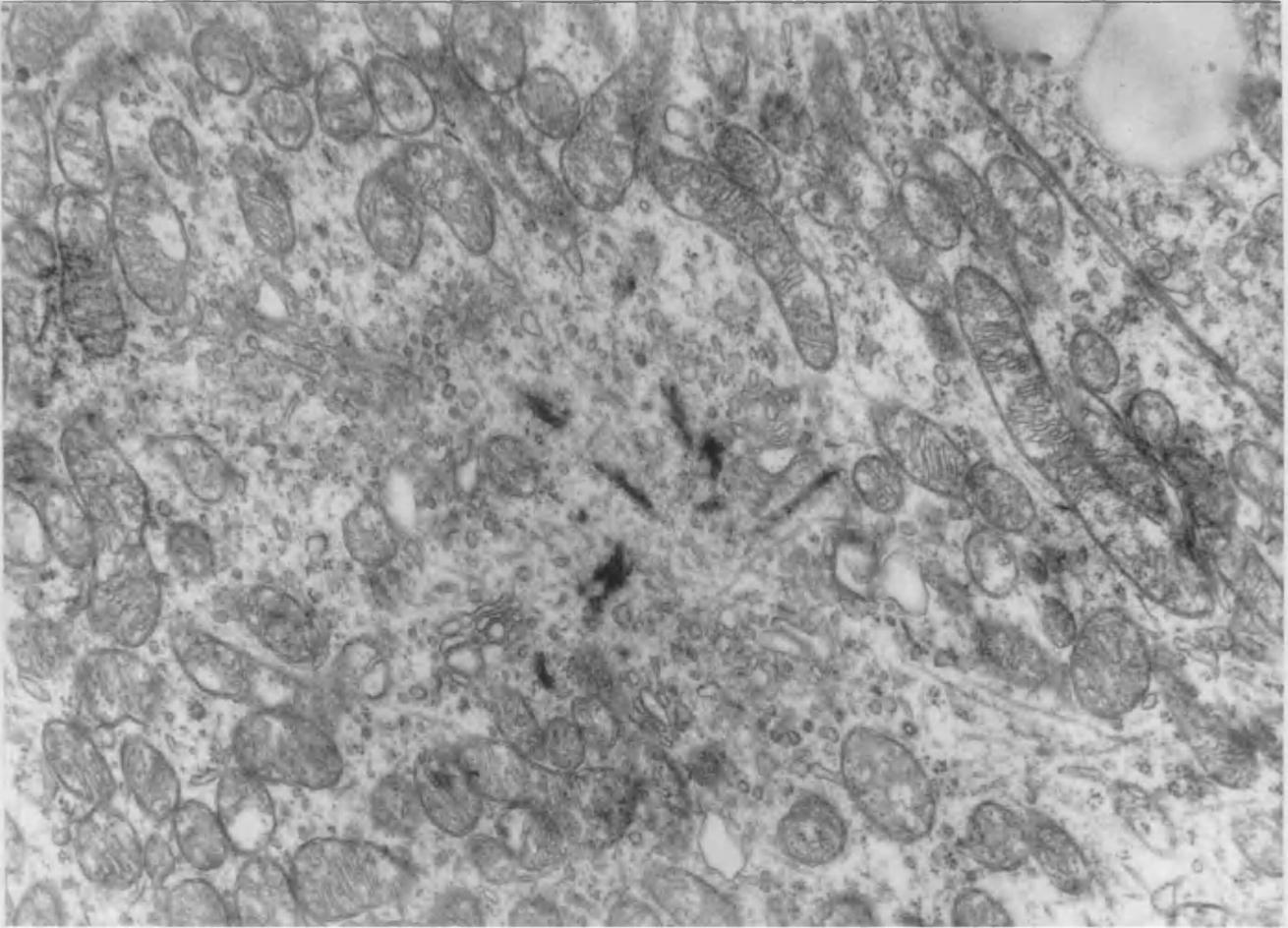


Fig. 4.- (36.000x) Campo de cintas sinápticas.

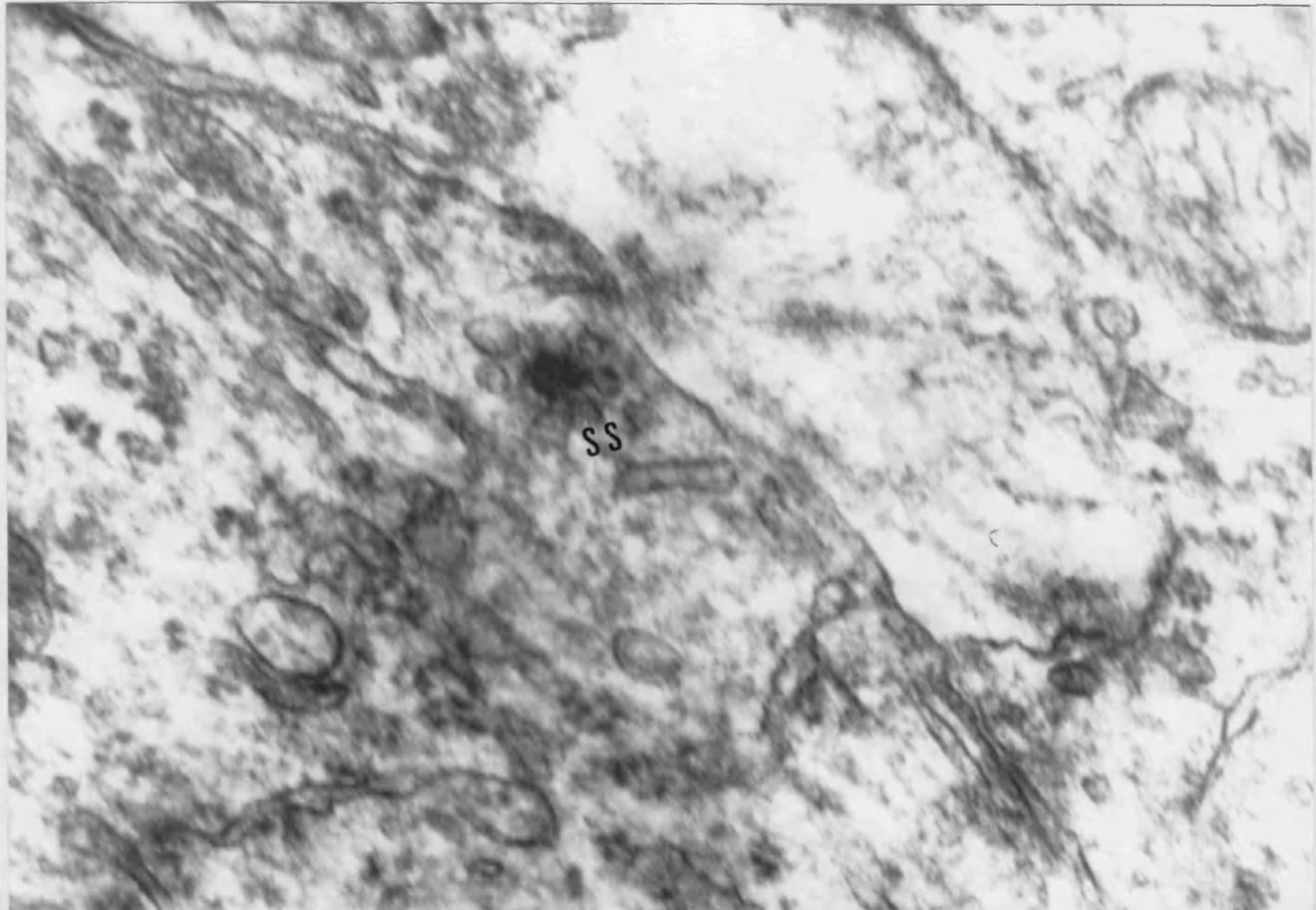


Fig. 5.- (36.000x) Esfera sináptica próxima a la membrana (s.s.)

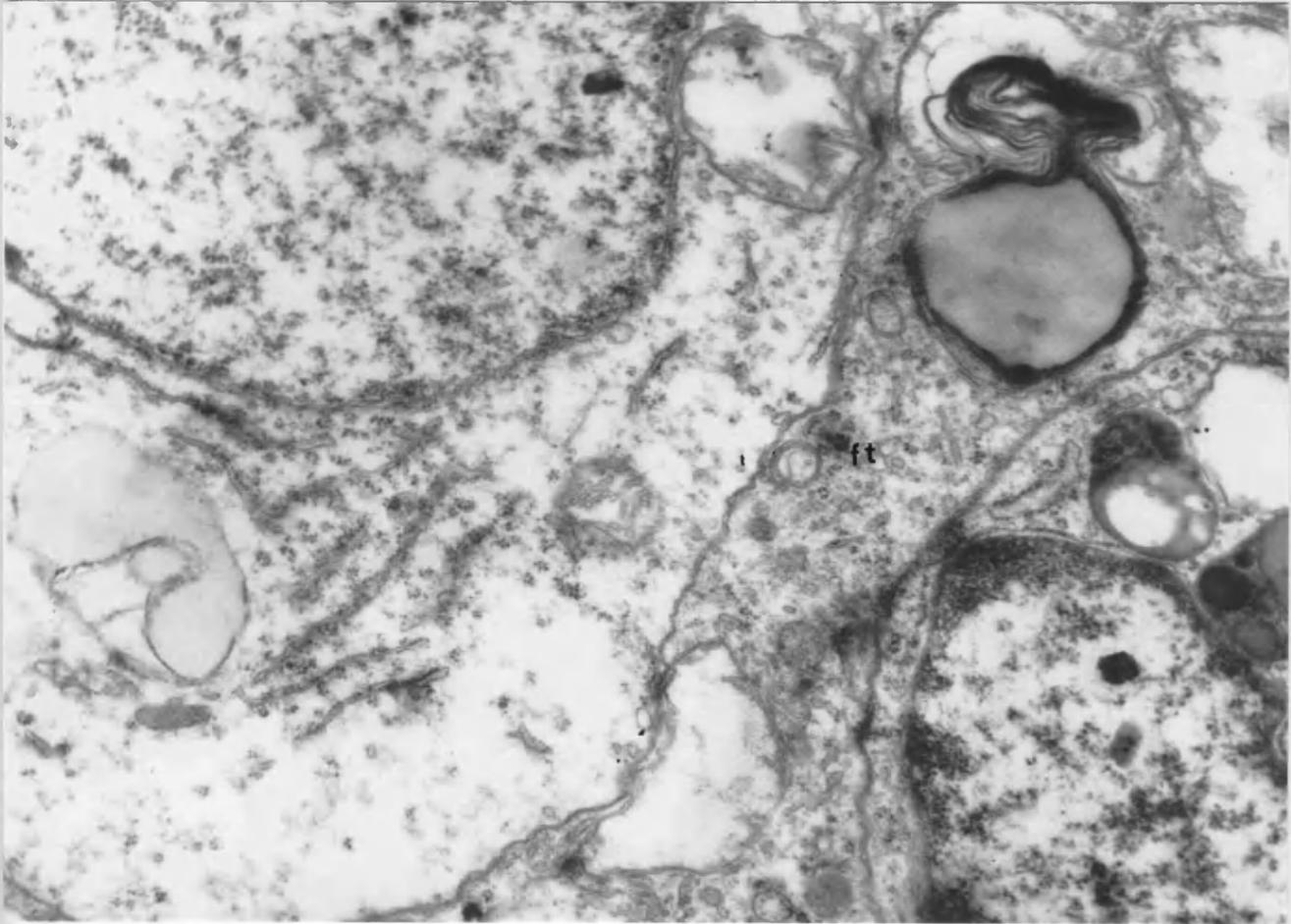


Fig. 6.- (36.000x) Forma triangular (f.t.)

DISCUSIÓN.

De los resultados puramente descriptivos , cabe destacar el hallazgo de estructuras centriolares . Estos hallazgos no son originales , aunque tampoco son frecuentes . Han sido referidos en la rata (Wolf ,1965; LIN , 1970) y en el hámster (SHERIDAN ,1968; BUCANAN ,1974) y en ellos se hace referencia a la aparente transformación de los mismos en organelas microtubulares , aunque no se da una explicación satisfactoria sobre su función , se sugiere que la transformación centriolar en microtubulos no es signo de degeneración del centriolo sino de diferenciación del pinealocito. Ningún autor describe la topografía de sus hallazgos ; nosotros queremos destacar aquí que hemos observado estas estructuras solamente en las porciones proximal e intermedia de la glándula .

El resto de los resultados obtenidos en el desarrollo de este trabajo, indican la existencia de una población heterogénea de cuerpos sinápticos en la pineal de la rata , aunque con una absoluta mayoría (98,2%) de cintas sinápticas sobre el resto de las otras poblaciones (1,7%). Esta diversidad y relación proporcional la hemos encontrado en las tres partes pineales .

Las cintas son mas numerosas en la porción C y menos en la A, mientras que las esferas y las formas triangulares lo son mas en la A que en la C. Estas diferencias son estadísticamente significativas , por lo que se puede deducir que respecto al número de cuerpos sinápticos , las tres porciones pineales son diferentes .

Por otro lado tambien llama la atención que , dentro del escaso número de esferas y de formas triangulares , éstas sean mas numerosas proporcionalmente , en la parte proximal que en la distal , mientras que en el caso de las cintas la mayor proporcionalidad se dé en sentido contrario, es decir mas en la porción distal y menos en la proximal . Esto podría ser tambien un dato diferenciador , que puede ser explicado por la inervación de la glándula . En efecto ; es conocido (VOLLRATH ,1981) que las cintas SINAPTICAS dependen en su formación de la inervación adrenérgica , inervación que se sabe llega a la glándula a través del nervio Conario , el cual , en la rata , se distribuye mayoritariamente por la superficie dorso-lateral de la zona distal de la glándula , (KAPPERS ,1960; KENNY ,1965) prologándose algunas fibras en menor número por la superficie inferior o acompañando a los vasos piales , (HARTMANN ,1957; ROMIJN ,1973) o incluso a través del tallo pineal (BJÖRKLUND ,1972) hasta las zonas intermedia , proximal y lámina intercalaris . Esta distribución progresivamente menor, de distal a proximal sería la explicación de la disminución del número de cintas a lo largo de la glándula .

En adición a estos hechos hay que añadir que la pineal posee una inervación de origen central que accede a la glándula a través de los comisuras habenular y caudal , aunque su origen aún no está claramente establecido . Estas fibras de procedencia central finalizan mayoritariamente en la porción proximal y al parecer no son muy numerosas (GUÉRILLOT , 1982; REUSS ,1986; STANLEY ,1987). No sería descabellado suponer que pudieran estar relacionadas con la formación de las esferas y las formas intermedias, cuya mayor incidencia , en la rata se da en las zonas pineales mas proximales .

Otro de los aspectos a considerar es la circadianidad y circanualidad de los cuerpos sinápticos .

Las cintas exhiben una evolución circadiana homogénea durante las estaciones de Verano , Otoño e Invierno , con valores máximos durante las horas nocturnas y mínimos durante las diurnas , en cada una de las tres porciones estudiadas . Solamente durante la primavera esta homogeneidad evolutiva entre las tres porciones se distorsiona con una inversión de los valores evolutivos entre las porciones B y C , e incluso con valores diurnos superiores a los nocturnos en esta última porción . Sin embargo la homogeneidad se mantiene en la parte mas proximal . Todo ello sería un dato mas que añadir como factor diferenciador de estas tres porciones : la res-puesta fotofásica y circadiana en la Primavera es diferente en las porciones intermedia y distal que en la proximal .

Durante la evolución estacional la homogeneidad evolutiva circadiana se rompe de alguna forma . En efecto , entre las porciones B y C se establece una divergencia durante las estaciones de máxima luminosidad, Primavera y Verano , pero especialmente en la Primavera , volviendo a unificarse los valores en las estaciones de menor luminosidad . Llama poderosamente la atención la evolución de las cintas en la porción proximal, con claras oscilaciones de sus valores a lo largo de las estaciones .

Estos datos puramente evolutivos , parecen indicativos de que los factores estacionales marcan diferencias de evolución de las cintas sinápticas entre las diferentes porciones pineales pero especial y marca-damente entre la porción A y las otras dos . Los datos estadísticos tambien apoyan estos rasgos diferenciales de comportamiento evolutivo de las cintas , a lo largo del año y entre las tres porciones pineales .

En la actualidad existe una gran controversia en cuanto a la posible significación funcional de los cuerpos sinápticos .

Las cintas han sido sin duda , dentro de los cuerpos sinápticos , las estructuras mas estudiadas , habiendo sido relacionadas en los mamíferos , como ya se ha comentado , con la inervación adrenergica y con los cambios de luminosidad , ya que como se ha observado de una manera sistemática , el número de cintas es siempre mayoritario durante las horas nocturnas (cuando el número de Beta-receptores es mayor) y menor durante las diurnas (cuando el número de Beta-receptores es menor) .

Algunos trabajos (ROMIJN ,1975,76) revelan , por un lado , que después de la ganglionectomía cervical superior el número de barras aumenta , y por otro (KING ,1982) que la administración de isoproterenol (agonista adrenergico) en ratas simpatectomizadas provoca la disminución del número de cintas . KARASEK (1983) demuestra , una correlación inversa entre el número de cintas sinápticas y la condensación de terminaciones adrenergicas por tejido pineal en diferentes especies de mamíferos .

Ante estos resultados se ha llegado a postular que los cambios observados en el número de cintas no son nada mas que un mecanismo compensatorio determinado por la variación del número de beta-receptores en la membrana del pinealocito .

Sin embargo trabajos publicados hace pocos años (SEIDEL ,1990) han puesto de manifiesto que tanto in vivo como in vitro la administración de agonistas o antagonistas adrenergicos modifica las fluctuaciones cíclicas de la MELATONINA y su enzima formador , la N-acetiltransferasa , pero no modifica el número de cintas sinápticas . Ahora bien , si estas acciones se realizan en presencia de AMP-cíclico , entonces las cintas sí se modifican. De lo que se deduce que la formación de las cintas no es totalmente dependiente del sistema adrenergico sino que en su formación podrían estar implicadas otras sustancias que pueden modificar los niveles de AMP-cíclico . En este sentido LOLLEY (1992) y SUGDEN (1993) sugieren que la interacción entre los alfa y beta receptores pueden constituir tambien un mecanismo de regulación de la formación de cintas sinápticas . Aunque tambien se debe tener en cuenta de acuerdo con STHELE (1993) que el represor de la transcripción proteica que induce la formación del AMP-cíclico , pertenece a la fracción genética nuclear responsable de la producción genérica del AMP-cíclico , el cual posee un ritmo alternativo fotofásico y es regulado directamente por el sistema adrenergico central y puede tener un papel importante en los mecanismos reguladores de la formación de cintas..

El significado funcional de las esferas es mucho menos claro , aunque sí que parece establecido de una manera evidente que su naturaleza es totalmente diferente a la de las cintas . Aumentan el doble de veces que las

cintas durante la preñez en el cobaya (LUES ,1971), y tras la simpatectomía en el conejo (ROMIJN ,1975), y su evolución circadiana es inversa a la de las cintas en el conejo (MARTÍNEZ SORIANO ,1984,1996) y en el cobaya (KHALEDPOUR ,1987), por lo que no parecen estructuras fotofásicas-dependientes. Se ha sugerido que si responde a un sincronizador semejante a la de las cintas (la luz) , éste , tendría una fase de acoplamiento diferente , dando pie a la teoría postulada por PITTENDRIGH (1976), de que la pineal podría estar constituida por un sistema de osciladores dobles o múltiples con fase de acoplamiento diferentes .

Finalmente , las formas intermedias, de muy escasa presencia en la rata , son muy poco conocidas y estudiadas . Fueron descritas por primera vez en el hámster (MATSUSHIMA 1983) , y sólo MARTÍNEZ SORIANO (1984,1996) y KHALEDPOUR (1987) han estudiado su evolución cíclica en el conejo y cobaya respectivamente . STRUWE (1990) describe su presencia en grandes mamíferos (vacas, cabras, y cerdos) en mucha mayor proporción que las cintas y esferas .

En la rata , y a tenor de nuestros resultados , la presencia de estas estructuras es muy escasa , siendo ésta la primera vez que se describe su evolución circadiana y estacional en este tipo de roedor y en las diferentes porciones pineales . Su ritmicidad es evidente , y en términos generales coincide con lo descrito en el conejo , con valores mayores nocturnos y menores diurnos . Su interpretación es difícil de establecer , parece que su mayor número y tamaño se da en grandes mamíferos , sugiriéndose que sus características morfológicas y numéricas estarían en dependencia de la latitud y de la intensidad y composición de la luminosidad (STRUWE , 1990) .

También se ha especulado sobre si su presencia estaría en relación con estímulos externos o internos de tipo mas o menos específico (luminosos, hormonales , geomagnéticos) o si simplemente son imágenes artefactuales resultado de la sección en diferentes planos de las organelas mas habituales (cintas y esferas) o productos de degradación de las mismas . En cualquier caso habrá que esperar a estudiarlas de una manera mas profunda para poder llegar a conocer su exacto significado .

CONCLUSIONES.

Tras los resultados expuestos y las consideraciones formuladas llegamos a las siguientes conclusiones de nuestro trabajo :

- 1- Existe una población heterogénea de cuerpos sinápticos en la pineal de la rata albina con un predominio mayoritario en todas sus porciones de las cintas sinápticas sobre las esferas y formas triangulares .
- 2- El número de cintas es porcentualmente mayor en la porción distal que en la proximal. Por el contrario el porcentaje de esferas y de formas triangulares es mayor en la porción proximal que en la distal .
- 3- Se observa una oscilación circadiana y estacional diferente en cada una de las tres poblaciones estudiadas y en las tres porciones pineales analizadas , diferencias que son mucho mas evidentes en la porción proximal .
- 4- De las conclusiones anteriores se deduce, que al menos las cintas y las esferas son organelas de origen y comportamiento diferente y que la porción proximal es claramente diferenciable funcionalmente a la distal, y mas dudosamente a la intermedia.

BIBLIOGRAFÍA.

- **ACHUCARRO, N.** (1913): “La estructura secretora de la glándula pineal humana “.Bol. de la Soc. Esp. de Biol.;83-88.
- **ACHUCARRO, N.; SACRISTAN, J. M.** (1912): “Investigaciones histológicas e histopatológicas sobre la glándula pineal humana”. Trab. Del lab de Inv. Biol., X, 185-208.
- **ALLEVA, J.J.** (1989): “How hámsters keep time : 6 PM to 6 AM lighth sensitive period. Journal of Pineal Research. 7 : 265-280.
- **ARIETI, A.** (1954): “ The pineal gland in old age”. J. Neuropath. Exp.Neurol., 13; 482-491.
- **ARSTILA, A.V.**(1967); “Electron microscopic studies on the structure and histochemistry of the pineal gland of the rat” .Neuroendocrinology 2. Sup
- **ARSTILA, A. V.; HOPUSU, V.K.** (1964): “Studies in the rat pineal gland. Y. Ultraestructure” .Am.Acad.Sci. fenn., A II, 113,3-21.
- **AXELROD, J. ;WEISSBACH,H.** (1960): “Enzymatic O-methylation of N-acetyl-serotonin to melatonin.Science,138: 1312.
- **AXELROD, J.; WEISSBACH, H.** (1961): “ Purification and properties of hydroxi-indole-O-methyl tranferase. J.Biol. Chem., 236.: 211-213.
- **BARGMANN, W.** (1943): “ Die Epiphysis cerebri” . In: Hdb. Mikrosk.Anat. Mensch. Bd.VI, 4 ,309-502 .Hrsg . W. V. Mollendorff. Berlin : Springer.
- **BJÖRKLUND, A. ; OWMAN, CH.; WEST, K.A.** (1972) : “ Peripheral sympathetic innervation and serotonin cells in the Habenular region of the rat brain” Z. Zellforsch, 127; 570-579
- **BOECKAMNN, D.** (1980): “ Morphological investigation of the deep pineal of the rat “. Cell . Tiss. Res., 210; 283-294.
- **BOSTELMANN, W .** (1968): “ Das Ultrastrukturelle und enzym-histochemische Verhalten der Rattenzirbel drusse nach Funktionsphasenwechsel durch Danerbelengtung und standige Dunkelheit “. .Endokrinologie.53; 365-384.

- **BRAINARD GEORGE, C.; LEWY ALFRED, J.; MENAKER MICHAEL ; FREDRICKSON RICHARD, H . ; MILLER STEPHEN,L.;WELEBER RICHARD , G .;CASSONE VICENT and HUDSON DAVID.** (1988): “ Dose-response relationship between light irradiance and the supression of plasma melatonin in human volunteers “. Brain Res. 454.(½): 213-218 (Jefferson Med. Coll., 1025 Walnut S T ., Philadelphi, Pa. 19107).

- BRAINARD GEORGE, C.; POLODIN PATRICIA, L .; LEIVY SANDER, W.; ROLLAG MARK, D .; COLE CURTIS and BARKER FELIX, M.** (1986): “ Near-UV radiation supresses pineal melatonin content “. Endocrinology. 119 (5): 2201-2205. (Departament of Neurology, Room 510 c. Jefferson Alumni Hall , 1025. Walunt Street, Philadelphia, Pensylvania 19107).

- **BRONSTEIN DAVID , M.; GERALD H. JACOBS; HAAK A KATHERINE ; JAY NEITZ and LOY D . LYTLE .**(1987): “Action spectrum of the retinal mechanism mediating nocturnal light-induced supression of rat pineal gland N- acetyltranferase”. Brain Res. 406 (½): 352-356. (Dep. Psychology , Univ . Calif. Santa Barbara, CA 93106, USA).

- **BUCANA, C.D. ; NADAKAVUCAREN,M.J. ; FREHN, J.L.** (1974): “Novel features of hámster pinealocyte ultrastructure”. Tissue Cell.6, 85-93.

- **BUNT, A.M.:** “Enzymatic digestion of synaptic ribbons in amphibian retinal photorreceptors. Brain Res. 25, 571-572.

- **CIMAS GARCIA, C.; MARTÍNEZ SORIANO, F. And RUIZ TORNER, A.** (1987): “ Circadian and photoperiodic correlation between the number of pineal gland synaptic ribbons and serum melatonin levels in the rat”. Acta Anat. 130 (3): 228-231 (Fac. Med., Avenida Blasco Ibañez, 17, E-46010 Valencia,Spain).

- **CIMAS, C.; MARTÍNEZ SORIANO, F.; RUIZ A. :** “ Circadian and seasonal cortico-medullary variations in pinealocyte nuclear size.A comparative statistical analysis” Histol. Histopatol.7,659-667.

- **COLLIN, J.P.** (1969) “Contribution a l’etude de l’organe pineal. De l’epiphyse sensoriel a la glande pinéale : modalités de transformation et implications fonctionelles”. Ann. Stat. Biol. Besse. Chandesse, Suppl.; 1 : 1-357 .

- **CUELLO, A. C. ; TREMEZZANI, J. H. (1969):** “ The epiphyse cerebri of the wendell seal , its remarkable size and glándula pattern. Gen. Comp. End., 12; 154-164.
- **DAFNY, H. ; Mc CLUNG , R. (1975):** “ Pineal body : Neural recording. Experientia (Basel), 31: 321-322.
- **DAVID, G.F.X.; HERBERT, J. (1973):** “Experimental evidence for a synaptic connection between Habenular and pineal ganglion in the ferret”. Brain. Res. , 64: 327-343.
- **DEL RIO HORTEGA, P . (1923 9:** “ Constitución histologique de la glande pineale . Y . Cellules parenchymateuses “. Trab. Biol. ___ Cajal.21; 95-151.
- **DESCARTES , R . (1709) :** Description du corps Humain et passions de l’Ame. En Oeuvres, Vol. XI. Ch. Y P. Tamery. (Eds.). Paris.
- **DODT, F . (1963):** “Photosensyitivity of the pineal organ in the te-leost.Saleno iridens (Gibbons). Experientia. (Basel), 19: 642-643.
- **DOI OSAMU ; YASUYUKI KANMAN ; SEISHIRO KATO and SUNAO KANDA (1985):** “ Histological and histochemical studies on the pineal gland of embrionic chickens exposed to continuons light and continuons darkeness”. JPN J. Zootech Sci.,56(7) 588-597. (In Jpn. With Jpn .and Engl. Summ. J. Graduate Sch. Sci. Technology, Kope Univ., kobe-shi, 657).
- **DONALD, H . (1989):** “ The influence of multiple photoperiods and pinealectomy on gonads, pelage and body weight in male meadow voles, *Microtus Pennsylvanicus*. Comp. Biochem. Physiol., 2: 445-49.
- **ELLIOT, J. A. . ; STETSON , M. H. And HENAKER , M. (1972):**“ Regulation of tesis Function in golden hamsters : A circadian clock easures photoperiodic time : Science, 178; 771-773.
- **ERÄNKO, O.; RECHAROT, L. ERÄNKO, L.; CUNNINGHAM, A. (1970/a).** “Light and electron microscopic histochemical observations on cholinesterase-containing sympathetic nerve fibres in the pineal body of the rat” Histochem. J. 2, 479-489.

- **ERÄNKO, O.; RECHAROT, L.; ERÄNKO, L.; CUNINGHAM, A. (1970/b)**): “ Liht and electron microscopic histochemical observations on acetylcholinesterase (ACHE) activity in the sympathetic nerve fibres of the pineal body (PB) of the cat”. Scand. J. Clin Lab Invest. **25**, (suppl.113) 82.
- **FASSBENDER, E . (1962)**: “ Topographie und mikroskopisch-anatomischer Feinbau der Epiphysis cerebri des Pferds“. Gegenbaurs morph. Jb., **103**: 457-483.
- **GALENO**. Citado por KAPPERS, J. A. (1979).
- **GONZALEZ, G.; ALVAREZ-URIA , M . (1971)**: “ The processes and terminal bulbs in the pineal gland of mammals “. Trab. Inst. Cajal Inv. Biol., **63**: 47-56.
- **GONZALEZ , G.; ALVAREZ-URIA, M. ;FERNANDEZ RUIZ, B.(1969/a)**: “ Ultraestructura de la glándula pineal de los mamíferos;I. Imágenes sinápticas en los pineocitos:. Trab. Inst. Cajal. Inv. Biol.,**61** 41-62. .
- **GONZALEZ, G .; ALVAREZ-URIA, M.; PEYDRO, A.; RODRIGO, J . (1969 / b)**: “ Modificaciones de la ultraestructura de la glándula pineal resultante de la oftalmonucleación”. Bol. R. Soc.Esp. Hist. Nat. (Biol.), **67**: 193-197.
- **GONZALEZ, G.; ALVAREZ URIA, M. (1970)**: “Ultraestructura de la glándula pineal de los mamíferos. II. Célula Intersticial”. Traba. Inst.Cajal Inv. Biol. ;62;29-37 .
- **GRAY, E.G.; PEARSE,H.L. : (1971)** “ On understanding the organization of the retinal receptor synapsis” Brain Res. **35**, 1-15
- **GREGOREK, J.C.; SEIBEL, H. R. ; REITER, R . J. (1977)**: “The pineal complex and its relationship to other epithalamic structures”. Acta Anat. . (Basel) **99**: 425-434. .
- **GUERILLOT,CH.; PFIJTER,A .; MULLER, J.; DALAGE, C. (1982).**:” Determination by feed-back transport of horseradich peroxidase of the origin of extraorthosympathetic nerve fibres innerrating the rat pineal gland “. Reproduction,Nutrition, Development, **22(2)**: 371-378.

- **GUSEK, W.; BUSS, H.; WARTENBERG, H.** (1965): "Witere Untersuchungen zur Feinstruktur der Epiphysis cerebri normaler und worbehandeller Ratten". Progr. Brain. Res., 10; 317-331.
- **GUTZEIT, R.** (1986): Ein Teratom der Zilberdruse . Konigsberg.
- **HALLARIS, A .; MATUSSEK, N.** (1969): " Efect of continous illumination of the rat pineal body." Experientia (Basel) 25: 486-487.
- **HARTMANN, F.** (1957), " Über die innervation der epiphysis cerebri einiger säugetien". Z. Zellforsch. 46, 416-429.
- **HAYASAKA, KAZUMASA** (1988): " Electron-microscopic observations on pinealocytes in varions regions of the pineal gland of young adult mice". Hokkaido J. Med. Sci. 63 (1) ; 115-129. (Dep. Radiology, Asahikawa Med . Coll., Asahikawa).
- **HEROFILO.** Citado por KAPPERS, J . A (1979).
- **HEUBNER, O.** (1988): "Tumor der glándula Pinealis". Dtsch. Wschr., 24; 214 .
- **HOFFMANN, K.** (1979): "Photoperiod, pineal, melatonin and reproduction in hamsters". Prog. Brain. Res., 52, 397-415.
- **HIGLEY, H.R. y cols** (1984): "Glial fibrillar y acidic protein and 5-110 proteinin pineal sपोर्टive cells : An electron microscopic study" Brain Res. 304;117-120.
- **HOFFMANN, R. A. And LUCINDA, B. JOHNSON** (1985): "Effects of photic history andi illuminance levels on male golden hamsters". J. Pineal Res., 2 (3); 209-216 (Dep. Of Biol., Colgate Univ., Hamiltonm, NY 13346).
- **HOFFMANN, R.A. and MELVIN, H.** (1974): "Gonadal responses of hamsters to interrumped dark periods". Biol. Reprod., 10;19-23.
- **HOLMGREN, V.** (1959): "On the pineal area an adjacent structures of the brain of the dipnoan fish, protopterus annectens". Brev. Mus.Comp. Zool., 109;1-7.

- **HUSELMANN, M.** (1967) "Vergleichende histologische Untersuchungen über das Vorkommen von Gliafasern in der Epiphysis cerebri von Säugetieren". Acta Anat. (Basel),66; 249-278.
- **HUSELMANN, M.** (1971): "Development of the innervation in the human pineal organ. Light and electron microscopic investigations". Z. Zellforsch. 115; 396-415.
- **JUNG, D.; VOLLRAHT, L.** (1982): "Structural dissimilarities in different regions of the pineal gland of albino guinea-pig". J. Neural. Transm., 54; 117-128.
- **KACHI, T. Y cols** (1971): "Diurnal changes in glycogen content in the pineal cells of the mouse. A quantitative histochemical study". Z. Zellforsch. 118; 214-220 y 310-314.
- **KAPPERS, J.A.** (1960): "Innervation of the epiphysis cerebri in the albino rat". Anat. Rec., 137: 220-221.
- **KAPPERS, J.A.** (1965): "Survey of the innervation of the epiphysis cerebri and the accessory pineal organs of vertebrates". Prog. Brain Res.,10; 87-153.
- **KAPPERS, J.A.;** (1971): "The pineal organ : an introduction in the pineal gland" (G.E.W. Wolstenholme and J. Knight eds) pp 3-34. Edinbourg-London. Churchill-Livingstone.
- **KARASEK, M.** (1976): "Quantitative changes in number of "synaptic" ribbons in rat pinealocytes after orchidectomy and in organ culture". J. Neural Transm., 38; 149-157.
- **KARASEK, M. Y cols.,** (1983): "Inverse correlation between synaptic ribbons number and the density of adrenergic nerve ending in the pineal gland of various mammals". Anat. Rec. , 205 (1) : 93-99
- **KARASEK, M.; LEWINSKI, A. And VOLLRAHT, L.** (1988): "Precise annual changes in the numbers of synaptic ribbons and spherules in the rat pineal gland". J. Biol. Rhythms., 3 (1); 41-48. Lab. Electron Microscopy, Dep. Pathol. Anatomy, Inst. Pathol., Sch. Med., Sterlinga 5 Łódź, Poland).

- **KARASEK, M.; MATTHEWS, S.A. ;KING, S.; TOMAS and RUSSEL. J.; REITER** (1986): "Effects of long and short photoperiod on the ultrastructure of pinealocytes of the cotton rat (*Sig. Modon hispidus*)". J. Pineal Res., 3 (4);323-330. Dep. Cellular Strucutral Biol.,Univ. Texas Healt Sci. Center at San Antonio,7703 Floyd Curl Drive, San Antonio,Tx 78284).
- **KENNY, C.G.T.** (1961): "The nervus conarii of the monkey. (An experimental styudy)". J. Neuropath. Exp. Neurol., 20; 563-570.
- **KENNY, C.G.T.** (1965): "The innervation of the mammalian pineal body (A comparative study)". Proc. Ansst. Assoc. Neurol., 3;133-140.
- KHALEDPOUR, C. ;VOLLRATH, .L.** (1987): " Evidence for the presence of two 24-h rhythms 180° out phase in teh pineal gland of male Pirbright-white guinea pigs as monitored by counting "synaptic" ribbons and spherules". Exp. Brain Res. 66; 185-190.
- **KING, T.S. ; DOUGHERTY, W.J.** (1982): " Effect of denervation on synaptic ribbons population in the rat pineal gland". J. Neurocytol. , 11 : 19-28 .
- **KOPSCH, F.** (1953): "Lehrbuch und Atlas der Anatomie des Menschen.Bd. III. Nerveeuwsystem-Sinneorgane, 18. Angl. Leipzig. Gerorg. Thienne.
- **KRSTIC, R.** (1973) : "Influence du froid sur la morphodynamique de la glande pineále du rat". Acta Anat. (Basel), 86; 320-321.
- **KRSTIC, R.** (1974) : "Ultrastructure of rat pineal gland after preparation by freeze-etching technique". Cell Tiss. Res., 148; 371-379.
- **KRSTIC, R.** (1976): "A combined Scanning and transmission electron microscopic study and electron probe micro analysis of human pineal acervulli". Cell. Tiss Res., 174; 129-137.
- **KTSTIC, R.** (1975). " Scaning electron microscope observations in the canaliculi in the rat pineal gland" Experientia (Basel), 31; 1072-1073.

- **KURUMADO, K. Y MORI, W. (1977):** “ A morphological study of the circadian cycle of the pineal gland of the rat. Cell. Tiss. Res.,182; 565-568.
- **LEGAIT, H.; ROUX, M. ; SIRJEAN, D. ; CONTET-AUDONNEAU, J.L. ; BURLET, C. (1973):** “ Etude volumetric de l’hypothalamus , de l’épiphyse et de l’organe subformical chez divers rongeurs”. C. R. Soc. Bid. (Paris) 167, 1436-1439.
- **LEGAIT, H.; BUCHOT, R.; CONTET-AUDONNEAU, J.L. (1976B)** “Stude des corrélations liant les volumes des lobes hypothysaries et de l’épiphyse an poids somatique et an poids encéphalique chez les Chiroptères. Bull. Ass. Anat. (Nancy),60; 175-188.
- **LEGAIT, H.; BUCHOT,R.; STEPHAN, H.; CONTENT-AUDONNEAU, J.L. (1976/a) :** “Stude des corrélations liant le volume de lépiphyse aux poids somatique et encéphalique chez les rongeurs, les insectivores, les chiroptères, les prosimiens et les simiens Mammalia”. Bull.Ass. Anat. (Nancy), 40; 327-337.
- **LEGAIT, H.; LEGAIT, E. (1977):** “Contribution á l’étude de la glande pinéale humaine. Etude faite á l’aide de 747 glandes”. Bull. Ass. Anat.(Nancy), 61; 107-121.
- **LEONARDT, H. (1967):** “ Über axonähuliche fortsätze , sekretbildung und extrusion der hellen pinealocyten der kanidiens” Z. Zellforsch. 82, 307-320.
- **LERNER, A.B. y cols (1958):** “Isolation of melatonin,the pineal gland factor that lightens melanocytes”. J. Am. Chem. Soc.,80;2587
- **LERNER, A.B. ; CASE, J.D.; TAKAHASHI, Y. LEE, T.H.; MORI, W. (1958):** “Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes”. J. Am. Chem. Soc.,80;2578.
- **LEWINSKI, A. y cols., (1983):** “Dark-exponne inervases the number of pineal concretions in male gerbils (Meriones unguiculatus)”. IRSC.Med. Sci. Biochem., 11 (11): 977-978.
- **LIN, H.S. (1970).** “The fine structure and transformation of carrioles in the rat pinealocyte” Citobios 2, 128-151.

- **LIN, H.S. y cols., (1973):** "Effects of blinding an superior cervical ganglionectomy on fine structure of the hámster pineal gland and adenohypophysis". Anat. Rec., 175; 508-509.
- **LINCOLN, G.A. (1976):** "Seasonal changes in the pineal gland related to the reproductive cycle in the male hare lepus europeans". J. Reprod. Fert., 46; 489-491.
- **LOLLEY, R.N. ; CRAFT, C.M. ; LEE, R.H. (1992):** " Photoreceptors of the retina and pinealocytes of the pineal gland share common components of signal transduction". Neurochemical Research ,17; N° 1, pp 81-89.
- **LOWENTHAL, A. y cols (1982) .** "Glial cells identified by antialbumin (anti-GFA) in human pineal gland" . J. Neurochem, 38; 863-865.
- **LUES, G. (1971)** "Die Fenstruktur der Zirbeldruse normaler , trachtiger und experimentell beinfub ter Meerschweinchen" . Z. Zell Forsch., 114; 338-60.
- **LUO, Z. y cols (1984).** "Ultrastructural characterization of glial cells in the rat pineal gland with special reference to the pineal stalk" The Anatomical Record, 210;633-674.
- **MARTÍNEZ SORIANO, F.; SANCHEZ DEL CAMPO, F.; SMITH, AGREDA, V.(1979).** " Aportaciones al conocimiento de la ultraestructura de las fibras y células pineales" Med. Esp, 78;37-45.
- **MARTÍNEZ SORIANO, F. (1987):** "Glándula Pineal. Estructura y Función. (Consideraciones Fisiopatológicas)". Ed.. Gregori. Valencia.,170.
- **MARTÍNEZ SORIANO, F.; SMITH-AGREDA, V.; FERRES TORRES, E.; CIMAS, C.; MONTESINOS, M.; RENOVELL, A. (1984):** "Variaciones morfológicas del parénquima pineal tras estimulación con luz laser". Investigación y Clínica Laser,1 (4);21-24.
- **MARTÍNEZ SORIANO, F.; WUELKER, H.A. y VOLLRAHT, L. (1984):** "Correlation of the number of pineal "synaptic" ribbons and spherules with the level of serum melatonin over a 24-hour period in male rabbits". Cell Tissue Res., 236; 555-560.

- MARTÍNEZ SORIANO,; F. FERNANDO PONS ,A. ; LOPEZ, L.; BIGORRA,M. HERNANDEZ GIL, T. VOLLRATH:** “ A descriptive and stadistical evolutive study of the “Sinaptic Bodies “ in the pineal gland of the rabbit over a 24 hour period and in four different seasons.En prensa.
- **MATSUSHIMA, S. y cols (1983):**“Circadians variations in pinea-locytes of the chinese hámster, *Critetulus griseus*. A cuantitative electron microscopic study”. Cell. Tissue Res. ,228; 231-244.
- **MILLINE, R. (1957/A) :** “La part de l’epiphyse dans le syndrome d’adaptation”. *Congres Nat. Editions de l’Academie de les Scien-cies Medicales. Bucarest.,5-11 Mai.*
- **MILLINE, R. (1957/B):** “La part de l’eeephyse dans le syndrome d’adaptation”. Bull. Sci. Cons. Acad. RPF. Yougsl.,3; 113.
- **MILINE, R.; KRSTIC, R.; DEVERSKI, V. (1968).** “Sur le com-portament de la glande pineale dans des conditions de stress”. *Acta Anat.* 71;352-402.
- **MILLINE, R. y cols (1969):** “Le róle de la glande pineal dans l’acclimation au froid”. Int. J. Biometeor. ,Suppl. 13; 6 .
- **MILLINE, R. y cols (1970):** “Pineal gland behaviour as affec-ted by cold”. Hormones (London), 1; 321-331.
- **MOLLER, M. (1974):** “The ultrastucture of the human fetal pineal gland” Cell. Tiss. Res., 152; 13-20.
- **MOLLER, W. (1978):** “Circmventrikulare organe in der Gewebe-kultur”. Advanc. Anat. Embryol. Cell. Biol., 54; 1-95.
- **MOSKOWITZ, A.M.;WURTMANN, M.D. (1982):** “New appro-aches to the study of the human pineal organ”. *Endocrine Pathology General and Surgical. J.M.B. Bloodwworth, J.R. Md. De. Williams & Wilkins,1982. Baltimore. USA,* 133-135.
- **NIR, I. y cols (1975):** “The effects of heat on rat pineal hidroxi-in-dole-O-methyltransferase activity”. Experientia (Basel), 31; 867-868.

- **NIR, I.; HIRCHMANN, N.** (1978): "Pineal N-acetyltransferase d
- **NIELSEN, S.L.; WILSON, C.B.** (1975): "Ultrastructure of a Pinealocyte". J. Neuropath. Exp. Neurol., 34; 148-158.
- **OSBORNE, H.P.; THORNHILL, R.A.** (1972): "The effect of monoamine depleting drugs upon the synaptic bar in the inner ear of the bullfrog (*Rana Catebrina*). Z. Zellforsch. 127, 347-355.
- **PAVEL, S. y cols** (1978): "Biosynthesis by cultural pineal gland from adult male rats" J. Endocrin. , 77: 147-153.
- **PEVET, P.; SABOUREAU, M.** (1973) : " L'épiphyse du Hérisson (*Erinaceus europaeus* L.) male. Les pinealocytes et leur variations ultrastructurelles considérés au cours du cycle sexuel". Z. Zellforsch. ,143:367-385.
- **PEVET, P.** (1974): "The pineal gland of the mole (*Talpa europaea* L.) The fine structure of the pinealocytes". Cell. Tiss. Res., 153; 277-292.
- **PEVET, P.; COLLIN, J.P.** (1976): " Les Pinealocytes des mammifères Diversité homologues, Origine. Etude chez la étape adulte (*Talpa Europea*). J. Of Ultrastr. Res., 57; 22-31.
- **PEVET, P.** (1977): "On the presence of different population of pinealocytes in the mammalian pineal gland". J. Neurol. Transm. ,40 284-304 ..
- **PFLUGELDER, O.** (1965): " Physiologie der epiphyse". Zool. Anz., suppl., 20:53-75.
- **PITTENDRIGH, C.S.; DAAN, S.** (1976): "A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. V. Pacemaker structure: A clock for all seasons". J. Comp. Physiol. 106. 333-355.
- **QUAY, W.B.** (1957/A) : "Cytochemistry of pineal lipids in rat and man". J. Histochem. Cytochem. ,5 ; 145-153 .
- **QUAY, W.B.** (1957/B): "Cytochemistry of pineal lipids in rat and man and their changes with age". Anat. Rec. , 127-351.
- **QUAY, W.B.** (1961): " Reduction of mammalian pineal weight and lipid during continuous light". Gen. Comp. Endocr.,1; 211-217 .

- **QUAY, W.B.** (1963): "Cytologic and metabolic parameters of pineal inhibition by continuous light in the rat. (*Ratus norvegicus*)". Z. Zellforsch., 60; 479-490.
- **QUAY, W.B.** (1965): "Histological structure and cytology of the pineal organ in birds and mammals". Progr. Brain Res., 10; 49-86.
- **QUAY, W.B.** (1972): "Twenty-four hours rhythmicity of pineal canaliculi and evidence for their intrinsic humoral regulation" Physiologist. 16: 427.
- **REITER, R.T. ; KLEIN, D.C.** (1966): "Regulation of endocrine function of black rats light and the pineal gland". Amer. Zool., 6:313.
- **REITER, R.J.** (1984): "The pineal gland. Series Comprehensive Endocrinology. Raven Press.
- **REUSS, S. ; OLCESE, J.** (1986): "Magnetic fields effects on the rat pineal gland : role of retinal activation by light". Nuerosci. Lett. 64;97-101
- **ROBERTSON GEORGE, N. And HOWARD DICKSON, D.** (1987): "Day-night differences in the number and structure of synaptic ribbons in chick pineal". J. Pineal Res., 4 (2); 135-146 (Dep. Anatomy, Dalhousie Univ., Halifax, Nova Scotia, Can. B 3H4H7).
- **RODIN, A.E.; OVERALL, J.** (1967): "Statistical relationships of weight of the human pineal to age and malignancy". Cancer (Philad.) 20; 1.202-1214
- **ROMIJN, H.J.** (1973/a): "Structure and innervation of the pineal gland the rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.). A light microscopic investigation". Z. Zellforsch 141; 545-560.
- **ROMIJN, H.J.** (1973/b): "Structure and innervation of the pineal gland of the rabbit *Oryctolagus cuniculus* (L.). H. An electron microscopic investigation of the pinalocytes". Z. Zellforsch., 141; 545-560.
- **ROMIJN, H.J.** (1975): "The ultrastructure of the rabbit pineal gland after sympatectomy, parasympatectomy, continuous illumination and continuous darkness". J. Neural. Transm., 36; 183-194.

- **ROMIJN, H.J.** (1976): "The influence of some sympatholytic, parasympholytic and serotonin-synthesis-inhibiting agents on the ultrastructure of the rabbit pineal organ". Cell. Tiss. Res., 167: 167-177.
- **ROUSSY, G. MOSSINGER, M.** (1938). "Le complexe epithalamo-epiphysaire . Les correlations avec le complexe hypothalamo-hipophysaire . Le systeme neuroendocrinien du diencephale" Revue Neurol . 69: 459-470.
- **ROUVET, D.M.** (1982) : "Ultrastructure of the pineal gland of the mink (mustela vison)". Am. J. Vet. Res. , 43; 1492-1496 .
- **RUDEEN, P.K. ; REITER, R.J. ; VAUGHAN, M.K.** (1975): " Pineal Serotonin N-Acetyltransferase activity in four mammalian species". Neurosci. Letters., 1: 225-229 .
- **SAPER, C.G.; LOEWY, A.D.; SWANSON, L.W. ;COWAN, W.M.** (1976) "Direct hypothalamo-autonomic connetions". Brain Res.; 117; 305-312.
- **SEMM, P.; DEMAINE,C.; VOLLRAHT,L.** (1981): "Electrical response of pineal cells to thyrohormone and parathormone". Neuroendocrinology , 33 (4); 199-286.
- **SEMM, P .; SCHNEIDER, T.; VOLLRATH,L.** (1981). " Morfological and Electrophysiological evidence for Habenular influence on the guinea-pig pineal gland." . Neurophysiological laboratory , departament of Anatomy University of Mainz , Federal Republic of Germany .
- **SHARENBERG, K.; LISS, L.** (1965): "The histologic structure of the human pineal body" Progr. Brain Res., 10; 193-217.
- **SHERIDAN, M.N.; REITER, R.J.** (1968): "The fine structure of the hamster pineal gland". Amer. J. Anat., 122; 357-376.
- **SHIOTANI; YAHE; HEE JUNG CHO, SADA O SHIOSAKA; KEIICHI TASAKA; AKIRA MIYAKE and TOSHIHIRO AONO** (1985): "Changes in the pineal gland, LHRH neuron system and pituitary-gonadal axis in golden hamsters under artificial winter connditions". Biomed. Res., 6 (5); 297-306 (Dep. Neuroanatomy. Inst. Higher Nervons Activity, Osaka Univ Med. Sch., Taegn, Korea).

- **SIEDEL, A. ; SOUSA, J.A. ; KLAUKE, N. ; HUESGEN, A. ; MANZ, B. ; VOLLRATH, L. (1990).** “ Effects of adrenergic agonists and antagonists on the numbers of synaptic ribbons in the rat pinal gland”. European Journal of Cell Biology, 52: 163-168.
- **SMITH, A.R.; JONGKIND, J.F.; KAPPERS, J.A. (1972) :** “Distribution and quantification of serotonin containing and autofluorescence cells in the rabbit pineal organ”. Gen. Comp. Endocr. ,18: 364-371 .
- **STANLEY, L.C. ; HORIKAWA, K. ; POWELL, E.W. (1987):** “ Innervation of the superfital pineal of the rat ussing retrograde tracing methods” Department of anatomy; University of Arkansas fo medical Sciences; Little Roch. Arkansas. 72205 (LCS; EWP).Departament of Neurosurgery University of the Tynkyus Okinawa. Japon (K.H.).
- **STHEELE, J.H. ; FOULKES, N.S. ; MOLINA, C.A. ; SIMMONEAUX, V. ; PEVET, P. And SASSONE-CORSI, P. (1993).** “Adrenergic signals direct rhythnic expression of transcriptional represor CREM in the pineal gland.” Nature, 365. 314-320.
- **STRUWE, M.C.W. ; VOLLRATH, L. (1990):** “ “Sinaptic” bodies in the pineal gland of the cow,sheep and pig). Acta Anat. 139; 335-340.
- **SUGDEN, D. (1993).** “ The importance of a-1-adrenergic mechanism in regulating nocturnal pineal melatonin syntesis. In MELATONINA and pineal gland”. De by Y. TOUTON , J ADRENT and PEVET, P. Pp 39 International congress rewies 1017. Excepta medica. Amsterdam.
- **SWANSON, L.W.; COWAN, W.M. (1975)** “The efferent connections of the suprachiasnatic nucleus of the hypothalamus”. J. Comp. Neurol., 160;1-12.
- **TAPP, E.; HUXLEY, M. (1972):** “The histological opperance of the human pineal gland from puberty to old age”. J. Path Bact. 108; 137-144.
- **TAPP, E.; BLUMFIELD, M. (1970):** “The parenchymal cells of the rat pineal gland”. Acta Morph. Neerl. Scand., 8; 119., J.

- **THERON J. ; BIAGIO, R.; MEYER, A.C. ; BOEKKOI, S.** (1979) : “Microfilaments the smooth endoplasmic reticulum and synaptic ribbons fields in the pinealocytes on the baboon (papio ursinus)”. Amet. J.Anat. , 154: 151-162 .
- **URRY, R.L. y cols.** (1976): “Factors other than light affecting. The pineal gland : Hypophysectomy. Testosterone, dihydrotestosterone estradiol, cryptochism and stress”. Amer. Zool., 16; 79-91.
- **VESALIUS, A.** (1555): “ De humani corporis frabria”. Libri Septem., 2 De., Basiliae.
- **VITALE. P.M.; DARROW, M.J. ; DUNCAN, C.A.; SHUS-TAK and GOLDMAN, B.D.** (1985): “Effects of photoperiod, pinealectomy and castration on body weight and daily torpor in Djungarian hamsters. (Phodopus Sungorus)”. J. Endocrinol., 106 (3); 367-376 (Worcester Found.Exp. Biol., 222 Mapel Avd.,Shrewsbury, Mass. 01545,USA).
- **VOLLRATH, L.** (1973). “ Synaptic ribbons of a mammalian pineal gland. Circadian changes “. Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 145: 171-183 .
- **VOLLRATH, L.; HUSS, H.** (1973): “The synaptic ribbons of the guinea-pigs pineal gland under normal and experimental conditions. Z. Zellforsch 139; 417-429.
- **VOLLRATH, L.** (1975): “Die Struktur der Meerchweinchenzirvel-druse unter dem einflub von licht un Kunkelheit”. Verth. Anat. Ges (Jena),69; 447-451.
- **VOLLRATH, L.; HOWE, C.** (1976) : “Ligth and drug induced changes of epiphyseal synaptic ribbons”. Cell. Tissue Res. , 165 (3) : 383-390 .
- **VOLLRATH, L.** (1981): “ The pineal organ” Handbb. Der mikrosk. Anat.Des Menschen VI/7. Berlin- Heidelberg.New York-Springer-Verlag.
- **VOLLRATH, L.** (1981) : “ Survey of basic structural components in the pineal organ”. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp :65.

- **VOLLRATH, L.** (1982): "Circadian and infradian activity rhythm on the mammalian pineal body. In: Vertebrate circadian systems. Aschoff, J., Dean, S.; Gross, G. Springer-Verlag-Berlin-Heidelberg. pp 141-146.
- **VOLLRATH, L. Y cols** (1985): "Influence of melatonin and serotonin on the number of rat pineal synaptic ribbons and spherules in vitro. Cell. Tiss. Res., 242 (3); 607-611.
- **VOLLRATH, L.** (1986): "Inverse behaviour of synaptic ribbons and spherules number in the pineal gland of male guinea-pigs exposed to continuous illumination". Anat. Embryol. (Berl.) (Germany West), 173 (3); 349-355. (Department of Anatomy Johannes Gutenberg-University, Mainz, Federal Republic of Germany.
- **VON EYL, O.; GUSEK, W.** (1975): "Zur Frage von Alterveränderungen der Zirbeldrüse beim Menschen". Vert. Ctsch. Ges. Path., 59; 400-401.
- **WALLACE, R.B.; ALTMAN, J.; DAS, G.D.** (1969): "An autoradiographic and morphological investigation of the postnatal development of the pineal body". Amer. J. Anat., 126; 175-1
- **WARTENBERG, H. ; GUSEK, W.** (1965). "Licht- und elektronenmikroskopische Beobachtungen über die Struktur der Epiphyse cerebri des Kaninchens". Prog. Brain Res. 10, 296-316.
- **WARTENBERG, H.** (1968) "The mammalian pineal organ: Electron microscopic studies on the fine structure of pinealocytes, glial cells and on the perivascular compartment". Z Zellforsch., 86; 74-97.
- **WELSH, M.G.; REITER, R.J.** (1978): "The pineal gland of the Gerbil *Meriones unguiculatus*. I. An ultrastructural study". Cell Tissue Res., 193 (2) 323-336.
- **WERSÄLL, J.; BAGGER-SJÖBÄCK, D.** (1974) : "Morphology of the vestibular sense organ" In : H.H. Kornhuber de., Handbook of sensory physiology, Vol. VI, 1 pp 123-170. Berlin-Heidelberg-New York: Springer.
- **WOLFE, D.E. y cols** (1962): "Localizing tritiated norepinephrine in sympathetic axons by electron microscopic autoradiography". Science., 133; 440-442.

- **WOLFE, D.E.** (1965): "The epiphyseal cell: and electron-microscopic study of its intercellular relationships and intracellular morphology in the pineal body of the albino rat". Progr. Brain. Res., 10: 332-386.
- **WURTMAN, R.J.; AXELROD, J.; CHU, E.W.** (1963): "Melatonin a pineal substance: effect on the rat ovary". Science, 141; 277-278.
- **WURTMAN, R.J.; AXELROD, J.; PHILLIPS, L.** (1963): "Melatonin Synthesis in the pineal gland: Control by light". Science, 142; 1071-1073.
- **WURTMAN, R.J.; AXELROD, J.** (1965): "The pineal gland". Sci. Am. 213; 50-60.
- **WURTMAN, R.J. y cols** (1965): "Changes of the enzymatic synthesis of melatonin in the pineal during the estrous cycle". Endocrinology, 76; 798-800.
- **WURTMAN, R.J.; AXELROD, J.; KELLY, D.E.** (1968): "The Pineal". New York-London. Academic Press.
- **WURTMAN, R.J.; AXELROD, J.; BARCHAS, J.D.** (1964): "Age and enzyme activity in the human pineal". J. Clin. Endocr., 24; 299-301.
- **YOCHIM. J.M.; WALLEN, E.P.** (1974). "HIOMT activity in the pineal gland on the females rat: effects of light". Biol. Reprod., 10; 467-473.
- **ZACH, B.** (1960): "Topographie und mikroskopisch-anatomischer Feinbau der Epiphysis cerebri von Hund und Katze". Zbl. Vet. Med. 7; 273-303.