



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN



INHIBICION DE ULCERAS POR ESTRES
EN UN MODELO EXPERIMENTAL
FALLA DE ORIGEN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :

MIGUEL ANGEL VARGAS HERNANDEZ

A S E S O R E S :
Q.F.B. MARICELA NOE MARTINEZ
DR. en C. CRUZ REYES VAZQUEZ
DR. en C. ELIA NARANJO RODRIGUEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

1995



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

FALLA DE ORIGEN



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de
Exámenes Profesionales

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el trabajo de tesis : Inhibición de úlceras por estrés en un modelo experimental.

que presenta el pasante: Miguel Angel Vargas Hernández
con número de cuenta: 8511424 - 3 para obtener el TITULO de:
Químico Farmacéutico Biólogo .

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuatitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 8 de abril de 1995

PRESIDENTE M.V.Z. Jorge Torres Martínez.

VOCAL Q.F.B. Maricela Noé Martínez.

SECRETARIO M.en C. Luisa Martínez Aguilar.

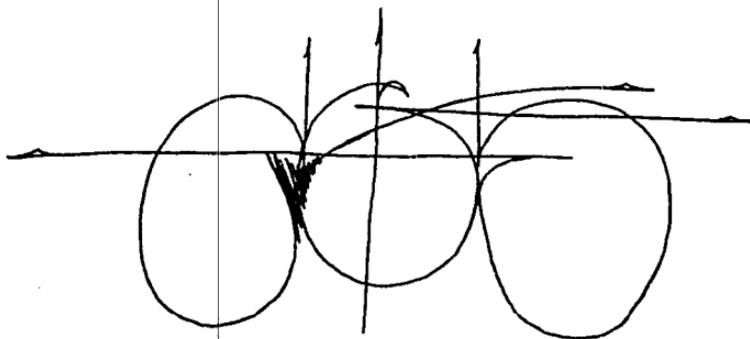
1er. SUPLENTE Q.F.B. María Esther Revuelta: Miranda.

2do. SUPLENTE M.en C. Francisco López Mejía.

Gracias es poco para expresar con palabras lo mucho que tengo que agradecerles, por las mil cosas que me han enseñado, por las tantas cosas y actitudes que me han demostrado. Con todo cariño y respeto dedico -- este trabajo a todos ustedes que forman -- parte de mi vida.

La vida es un camino que puede ser muy -
largo o corto, y esto depende de la acti-
tud que se tenga para enfrentarla.
Si se afronta a ésta de prisa y sin sen-
tido, solo se hace más corta y tediosa ,
lo mejor y más importante es ir paso a -
paso, disfrutar cada momento que ésta --
nos brinda, con sus alegrías y penas, --
con sus logros y fracasos, y solo así se
tiene la satisfacción de llegar al final
y con orgullo decir " YO DISFRUTE LA --
VIDA ".

MIGUEL A. VARGAS HERNANDEZ.



Mí más sincero agradecimiento, por permitirme participar en el importante trabajo que realizan, por brindarme su apoyo, tiempo, confianza y dedicación.

Con mucho cariño y admiración dedico éste trabajo a una de las personas más sencillas que conosco al Dr. CRUZ REYES VAZQUEZ, por el entusiasmo que muestra al transmitir sus conocimientos. Gracias, por que sin su amistad sincera y por su ayuda incondicional no se hubieran logrado los objetivos de éste su trabajo. Gracias por brindarme su amistad y sobre todo -- por considerarme su amigo.

Con cariño y respeto para la Dra. ELIA BROSLA NARANJO RODRIGUEZ, por enseñarme con sus actitudes ese interés por el conocimiento, que siempre ha mostrado.

A mí jurado, mil gracias:

M.V.Z. JORGE TORRES M.

Q.F.B. MARICELA NOE M.

M en C. LUISA MARTINEZ A.

Q.F.B. MARIA ESTHER REVUELTAS M.

M. en C. FRANCISCO LOPEZ M.

Gracias por el tiempo que dedicaron para el buen fin de éste trabajo, por el apoyo brindado, y -- por la ayuda que mostraron.

Gracias por permitirme aprender de ustedes un poco más.

Dedico éste trabajo a las dos personas más importantes en mi vida, a las que me dieron la oportunidad de vivir y compartir parte de su tiempo siempre juntos.

GABRIEL VARGAS MARTINEZ
GUADALUPE HERNANDEZ HUERTA

Gracias por regalarme lo mejor que tengo: la vida y una hermosa familia, por enseñarme un modo de respeto y amor, porque así son ustedes -- dos para mí.

Gracias por el apoyo y confianza que siempre nos han brindado.

Los quiero y admiro mucho.

Con inmenso cariño y admiración le doy gracias por enseñarme a gozar la vida y a demostrarme que con un poco de esfuerzo y trabajo se pueden lograr los objetivos que se quieran. Gracias PAPA.

Gracias por brindarme libertad, apoyo y confianza, que despertaron en mí el deseo de seguir adelante. Hoy y siempre gracias, por haberme dado con parte de su vida lo mejor que tengo, la existencia y a ustedes, mi FAMILIA.

Gracias por enseñarme a vivir y por mostrarme -- que los sueños se pueden lograr con intensa dedicación. Gracias por todo el cariño y ayuda que me has dado, eternamente gracias MAMA.

A las dos personas que desde siempre me han servido de -
gufa, además de que han puesto en mí un poquito
de su vida, y por darme un ejemplo a seguir. Gra-
cias a mis hermanos por su confianza y apoyo:

GABRIEL VARGAS HERNANDEZ
ALMA DELIA VARGAS HERNANDEZ

Gracias a los dos, por su alegría y optimismo --
por vivir plenamente.

Gracias porque sin ustedes nada hubiera sido ---
igual, y por haber estado con migo.

Gracias GABRIEL, por inculcarme en todo momento la cos--
tumbre de conocer y buscar un poco más en todas
las cosas. Gracias por tú apoyo y comprensión. -
Gracias por ser como eres, por los muchos conse-
jos que me has dado, y por inspirarme siempre --
confianza, porque en mí vida tú has sido un ejem-
plo de esfuerzo y lucha.

Con todo respeto y cariño para alguien que ha sido algo
más que una hermana. Gracias ALMA DELIA por -
tu ayuda, compañía, y por mostrarme las ganas --
que tienes de vivir.

Gracias por regalarme parte de tú tiempo, por --
darme ideas y apoyo incondicional. Por tu amor -
invaluable gracias.

Gracias a ustedes dos por ser como son, por su amor in--
menso, por todo eso, por lo que falta y mucho --
más, mil gracias.

Gracias.

A mis abuelitos:

ALBERTO HERNANDEZ (†)

RAFAELA HUERTA (†)

CARMEN MARTINEZ (†)

MARCELINO VARGAS

Gracias.

A mis TIOS, PRIMOS y SOBRINOS.

Para todos ustedes que han sido inspiración de mis acciones y motivo por los cuales he luchado para alcanzar algunas metas. Para ustedes que a pesar - de lo bueno y malo que hemos pasado, siempre hemos estado unidos.

Gracias por dejarme ser lo que soy, por que sin ustedes esto no hubiera sido posible, ya que ustedes --- siempre han estado presentes en mí, porque son - lo más grande que tengo, MI FAMILIA.

De manera muy especial, ya que así son de especiales para mí, por que jugaron un papel muy importante en -- esta etapa de mi vida, a:

VICTOR MENDOZA FERNANDEZ
MARIBEL LUCILA HERRERA RUIZ

Gracias por su amistad sincera que nos ha permiti-
do mantenernos unidos.

Gracias por otorgarme su amistad y por considerarme un --
amigo.

Gracias por demostrarme el verdadero valor de la
palabra AMISTAD.

A los " A L F A S ":

RAFAEL MAQUEDA C.	ISAURO MURILLO T.
ANTONIO GUZMAN S.	RAUL MARTINEZ C.
SANCHEZ GUZMAN M.	MARIO GUERRERO R.
ALFREDO CASTILLO O.	ALEJANDRO CASTILLO P.
AGUSTIN TORRES M.	JOSE LOPEZ N.
ANDRES COLOMBRES V.	MAURICIO MONTOYA.

Gracias a quienes me han demostrado que la amistad es al-
go muy grande y bello, por todo gracias a :

EVA ELOINA HERNANDEZ AVITIA
ALICIA HERNANDEZ BLANCAS

A las "ALMAS": ALMA NUÑEZ, ROCIO, NORMA, GISELA, etc.

A: MONICA MENDEZ DIAZ, ROGER ALFREDO Y RAMSES HE-
RRERA, ELVIRA HERNANDEZ T., DANIEL B., JUAN LARA
M., VICKY SOLANO, LOLITA, TERE R., ETC.

Gracias a los 17^{avos} de Q.F.B. por la alegría de haberlos conocido, en especial al equipo de FUTBOL por aquellos partidos y campeonatos inolvidables gracias.

TABLA DE ABREVIATURAS

ACTH	Hormona adrenocorticotrópica, ó adrenocorticotropina.
CTRL	Control.
DE	Desviación estándar.
ES	Error estándar.
FIG	Figura.
FPx	Falsa pinealectomía.
GABA	Gamma-aminobutírico, ácido.
GSCS	Gánglios simpáticos cervicales superiores.
GP	Glándula pineal.
H	Hembras.
HIOMT	Hidroxindol-O-metil transferasa.
Ip., Ip.	Intra peritoneal, vía.
M	Machos.
MEL	Melatonina o N-acetil-5-metoxitriptamina.
5-MTF	5-Metoxitriptofol.
NA	Noradrenalina.
NT	Neurotransmisores.
PEG	Polietilénglicol.
Px	Pinealectomía.
SGA	Síndrome general de adaptación, o Síndrome de estrés biológico.
SNC	Sistema nervioso central.
UI	Unidades internacionales.
*	Significativo ($p < 0.05$).
**	Muy significativo ($p < 0.01$).

RESUMEN

La participación de la glándula pineal sobre los procesos de ansiedad y estrés en los organismos es objeto aún de múltiples controversias. Algunos estudios muestran que tanto estructural como funcionalmente, la glándula pineal responde a situaciones como el estrés crónico y la ansiedad duradera. Por otro lado, la administración de los compuesto provenientes de esta estructura, modifican en forma importante las respuestas conductuales de diversos organismos hacia los estímulos productores del estrés. Algunos autores consideran a esta glándula como un órgano tranquilizante, porque según ellos, la Melatonina, principal hormona de esta glándula, revierte todos aquellos efectos provocados por la administración de estímulos estresantes. Sin embargo, en un contexto fisiológico, la participación de esta estructura, aún no ha sido completamente demostrada. En este estudio se analizó el efecto de la administración de la Melatonina sobre la formación de úlceras gástricas en ratas, provocadas por el sometimiento de los animales a dos estímulos estresantes, la inmovilización y el frío. A Ratas de la cepa Wistar, se les administró una dosis de 0.5, 2.5 ó 5.0 mg/kg de Melatonina; o una aplicación de la solución vehículo en los animales controles, 30 minutos antes de introducirlos, durante 4 hrs, en un inmovilizador localizado dentro de un refrigerador a 5.0 ± 0.5 °C. Grupos de sujetos, con una pinealectomía previa realizada 11 ó 22 días antes de esta sesión experimental y un grupo control, con falsa pinealectomía, también fueron sometido al mismo diseño experimental. El modelo experimental utilizado provocó la formación de úlceras gástricas en el 100% de los sujetos controles, con un promedio de 5.058 ± 3.71 úlceras por animal; con una longitud de 11.823 ± 11.272 mm en promedio. La administración de la dosis de 5.0 mg/Kg de Melatonina causaron una reducción significativa sobre la inducción de úlceras gástricas, tanto en el número como en la longitud de las mismas. Si embargo, la pinealectomía no provocó efecto alguno, ni sobre el número o la longitud de úlceras experimentadas por los sujetos. Estos resultados indican que desde un punto de vista farmacológico, la Melatonina posee la capacidad de prevenir o revertir los efectos deletéreos del estrés sobre algunos de sus manifestaciones orgánicas, pero no sustentan una participación fisiológica de esta glándula sobre un mecanismo antiestrés endógeno.

PROLOGO

La Glándula Pineal (GP) de los mamíferos es una estructura que interviene en la sincronización de todos los ritmos biológicos con los parámetros ambientales (luz, temperatura, ferohormonas, etc.) o internos (estímulos psicogénicos, autoantígenos, células cancerígenas, etc.). La principal hormona de ésta glándula, Melatonina (MEL), es un potente agente inmunoregulador la cual antagoniza los efectos inmunosupresores de la ansiedad aguda y el estrés (13,14,84, 85).

La liberación de esta MEL por la GP, se realiza también a través de ritmos circunuales, circadianos y ultradianos, los cuales se describieron en todas las especies hasta ahora estudiadas, incluyendo al hombre. Los ciclos de secreción de MEL son dependientes de la altitud geográfica y de cuestiones topográficas de los sitios en que habitan las diversas especies.

El papel de la MEL como un modulador del comportamiento biológico de todas las especies (67), se encuentra relacionado con la cantidad de luz ambiental. El fotoperíodo (cantidad de luz en un día) es quizá el parámetro ambiental que se modifica de manera más regular; por lo que los seres vivos han desarrollado mecanismos para sincronizar sus ritmos, con base a la cantidad de luz ambiental.

Esta es la razón por la cual los sistemas neurales detectores de la luz ambiental se han desarrollado importantemente en todas las especies. También aquellas estructuras integradoras de ésta información, han mostrado un desarrollo importante. Una de ellas es la GP. La relación entre la pineal y las vías y estructuras nerviosas involucradas en la transmisión de la información fótica, se manifiesta en la capacidad de la GP para sintetizar MEL; lo cual ocurre en una forma rítmica asociada a la cantidad de luz. Tal tipo de secreción, le permiten mediar los cambios inducidos por el fotoperíodo.

La GP fué descrita desde la antigüedad, sin embargo, su investigación sistematizada se inició apenas a principios de éste siglo. El punto de partida lo constituyeron estudios morfológicos comparativos

realizados en anfibios, reptiles y mamíferos. Estos estudios muestran que la GP evolucionó desde ser un órgano fotorreceptor en especies inferiores, hasta un órgano glandular con funciones secretoras en los mamíferos. A principios de este siglo, el aislamiento y caracterización de la MEL, mostró que la GP posee acciones antigonadotrópicas en una gran variedad de especies, sobre todo en aquellas que poseen una reproducción estacional. Aunque en muchas otras especies la GP ejerce una gran cantidad de funciones no reproductoras, pero todas ellas relacionadas con el fotoperiodo (47,106).

Desde una perspectiva global, la GP, se encuentra involucrada en aquellos aspectos adaptativos, los cuales son necesarios para mantener un medio interno estable y acorde con los cambios ambientales extremos. Dentro de la gama de acciones descritas para la pineal, existen efectos antiestrés e incluso ansiolíticos (50) descritos en algunos modelos animales experimentales.

La alteración de este medio interno provoca una reacción definida como el "síndrome producido por diversos agentes nocivos" y que posteriormente fue conocida con el nombre de "síndrome general de adaptación" (SGA) o "síndrome de estrés biológico" (2,50,51,90,93). Entendiendo al estrés como "la respuesta no específica del organismo a toda demanda que se le haga". Esta definición, propuesta por Selye, es muy amplia y significa que cualquier demanda, sea la que sea, física, psicológica o emocional, buena o mala, provocará una respuesta biológica del organismo, idéntica y estereotipada. Esta respuesta es medible y se corresponde con secreciones hormonales, las cuales son responsables de las reacciones somáticas, funcionales y orgánicas, al estrés (93).

La mayoría de las veces, las respuestas de los organismos ante el estrés se hacen en armonía, con la mayor naturalidad y sin consecuencias, ya que están adaptadas a las normas fisiológicas del sujeto. Mientras que otras veces, las respuestas exigidas por una intensa y prolongada demanda, son excesivas y superan las capacidades de resistencia y de adaptación del organismo. En ese caso, tal situación desemboca en la ansiedad y angustia (93). Existen datos experimentales indicadores de que en algunos estados de estrés la GP participa en los procesos de defensa contra factores agresivos del medio ambiente.

El mecanismo por el cual la MEL provoca efectos antiestrés no son claros, aunque esto implica efectos sobre varios mecanismos neurofisiológicos responsables de generar las modificaciones fisiológicas que se presentan durante este proceso. Si la MEL actúa dentro de un procedimiento antiestrés, y como consecuencia ansiolítico; entonces esta hormona no sólo es un posible agente terapéutico, sino también una herramienta útil y natural de el entendimiento de la función cerebral de estas alteraciones (4).

El presente trabajo pretende analizar la relación que existe entre la GP (MEL endógena y exógena) y la respuesta fisiológica en situación de estrés provocado experimentalmente, el cual implica la formación de úlceras gástricas como respuesta a una seria alteración ambiental.

CONTENIDO	PAGINA
RESUMEN	
PROLOGO	
CAPITULO I.- INTRODUCCION	
A).- HISTORIA	2
B).- FILOGENIA	4
C).- ANATOMIA	7
D).- FISILOGIA	9
CAPITULO II.- SINTESIS	
A).- SINTESIS DE MELATONINA	13
B).- MELATONINA, ESTRES Y ULCERAS GASTRICAS	15
CAPITULO III.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21
CAPITULO IV.- OBJETIVOS	
A).- OBJETIVO GENERAL	24
B).- OBJETIVO PARTICULAR	24
C).- HIPOTESIS	24
CAPITULO V.- MATERIAL	
A).- MATERIAL BIOLOGICO	28
B).- SUSTANCIAS	28
C).- EQUIPO ELECTRICO	28
D).- EQUIPO QUIRURGICO	28
E).- MATERIAL DE VIDRIO	27
F).- EQUIPO FIJO	27
G).- VARIOS	27
CAPITULO VI.- METODOS	
A).- METODOS	29
B).- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	32
CAPITULO VII.- RESULTADOS	36
CAPITULO VIII.- DISCUSION	44
CAPITULO IX.- CONCLUSIONES	51
CAPITULO XI.- BIBLIOGRAFIA	53

INTRODUCCION

1.1 HISTORIA

La Glándula Pineal (GP), ha sido desde la antigüedad el objeto de múltiples estudios, los cuales le han atribuido una gran cantidad de funciones. La primera descripción de esta estructura la realizó Herófilo de Alejandría (325-280 A.C.), quien asignó una función glandular. Mas tarde, Galeno de Pergamon (130-200 D.C.), dió el nombre de Pineal a la glándula (llamada así por su forma de cono) y de Konarium a la parte del ganglio cervical superior que inerva a ésta glándula. Este nervio aún conserva el nombre de nervio conario (47,106).

Diversos autores han especulado sobre el significado funcional de la Pineal; así, Aristóteles la consideró una válvula que regulaba el flujo de los humores (pensamientos) (47,106). Mientras que para Descartes la Pineal constituía el asiento del alma (11,45,89). Para éste autor, los sentidos percibirían el mundo circundante generando una información que alcanzaría la GP a través de hilos (nervios) cerebrales.

Para los filósofos hindúes la pineal se consideraba como el órgano de la clarividencia; mientras que para los griegos ésta representaba un esfínter el cual controlaba el flujo de la sustancia vital (47).

En épocas más recientes, autores como Marburg sugirió una función neuroendócrina y la relacionó con la actividad de los órganos sexuales. Esta postulación se realizó a principios de éste siglo, cuando ya para entonces la existencia de los órganos endócrinos fue una realidad. También a principios de éste siglo se identificó a la MEL como el producto de secreción de la pineal y autores como Kappers determinaron los principios anatómicos de su inervación (16,46,47). El descubrimiento de la MEL se realizó en 1917 cuando McCord y Allen (58,68) describieron que los extractos de glándulas pineales de bovinos, contienen una sustancia que causa un aclaramiento de la piel en anfibios y reptiles. Posteriormente Lerner y Case lograron el aislamiento e identificación química de esta hormona, la cual químicamente es un indol (5-metoxi-N-acetilriptamina)

INTRODUCCION

(58,59,60). Gracias a este descubrimiento se inició la etapa del análisis experimental de las funciones de la pineal. Lo que a su vez permitió investigar la influencia que la MEL ejerce sobre varios órganos y sistemas.

1.2 FILOGENIA

La MEL se encuentra en los líquidos corporales de todos los animales hasta ahora estudiados; aunque no todos los animales poseen una GP. Así, animales como el elefante, y el cocodrilo carecen de ella, pero no por ello su sistema nervioso central es ajeno a la influencia de la MEL (49). Al igual que las funciones de otros órganos, la función de la GP se ha desarrollado como consecuencia de cambios adaptativos.

Filogenéticamente la GP deriva de una estructura fotorreceptora y su transformación hacia un órgano glandular, ocurrió como respuesta a cambios ambientales (47,54). Además, la función de esta glándula en aves y mamíferos es fundamentalmente secretora, pero tal actividad es intensamente influida por la luz ambiental.

El proceso de adaptación implica la manifestación de una conducta propicia ante cualquier variación del medio ambiente. El fotoperíodo ambiental, constituye el parámetro ambiental que utiliza la mayoría de los seres vivos para determinar las diferentes épocas del año, etapas del mes y hora del día; con esta información ajustan su conducta al entorno ambiental. Tal situación provoca que todas las funciones de los organismos vivos, muestran un patrón cíclico que se relaciona directa o indirectamente con el fotoperíodo. En otras palabras, funciones como, la termorregulación, los patrones de sueño-vigilia, la actividad intelectual, la presión arterial, la ventilación etc, muestran cambios cíclicos a lo largo de los días, meses y años, los cuales se relacionan con la cantidad de luz ambiental (16,79).

Dentro de las estructuras que funcionan como intermediario entre la luz y el Sistema Nervioso Central (SNC) se encuentra la GP. Por esta razón, también todas las funciones que realiza esta glándula se encuentran asociadas al fotoperíodo. Así, la MEL ejerce acciones sobre la pigmentación de la piel y la operación motora en los anfibios, actividades que muestran una oscilación circadiana. Por otro lado, en algunos roedores su papel es básicamente el fungir como un regulador de la actividad sexual, la que definitivamente es cíclica en estos animales.

INTRODUCCION

También desde un punto de vista filogenético, en animales inferiores como los reptiles la GP constituye todo un sistema pineal con diferentes estructuras. Este sistema se desarrolla en fase temprana y alcanza su máxima expresión al momento del nacimiento. En estos animales, la pineal es básicamente fotoreceptora y el sistema pineal se localiza en el techo del cráneo y debajo de un adelgazamiento óseo. Una parte de este sistema lo constituye el órgano parapineal, el cual se denomina tercer ojo en las lagartijas (32,75). Tal estructura muestra una alta homología con los ojos frontales y posee muchos elementos fotosensibles, los cuales han persistido en la evolución de la mayoría de los reptiles.

En los sujetos juveniles, el tamaño de la glándula es mayor que durante la etapa adulta (27). Además, en algunas especies como los equinos y los humanos, la GP se calcifica a medida que avanza la edad, por lo que es posible observarla en los estudios radiológicos. Estas calcificaciones son depósitos de sales de fosfatos, calcio, magnesio y carbonato (Arena Pineal) (31,86,103). Durante mucho tiempo se consideró que estas concreciones calcáreas son indicios de un desarrollo regresivo de tipo degenerativo; sin embargo, cada vez hay mas evidencias en el sentido de que se trata de un proceso funcional (52,105).

Morfológicamente la GP puede adoptar diversas características estructurales. Así, en los mamíferos existen diferencias interespecíficas: las hay de tipo alargado, cónicas, piriformes, redondas, en forma de hueso, etc. Además de existir vertebrados en los cuales la pineal es rudimentaria o ha desaparecido. En el caso de las aves, se han descrito tres tipos de GP, de acuerdo a su apariencia morfológica macroscópica.

Desde un punto de vista filogenético y ontogénico, los pinealocitos (las células propias de la GP), derivan de fotorreceptores típicos de los ojos laterales. En los vertebrados inferiores estas células son aún sensibles en forma directa a la luz; mientras que en los vertebrados superiores, los pinealocitos ya perdieron esta capacidad, pero siguen siendo influenciados por la iluminación ambiental. En este caso esta información fótica la reciben a través de la inervación simpática gracias al nervio conario (32,47).

INTRODUCCION

En términos generales, todos los mamíferos poseen dos tipos de pinealocitos, los cuales difieren en estructura, signos morfológicos de función secretora y tal vez, en su posición.

1.3 ANATOMIA

En los mamíferos la GP, también denominada *epífisis cerebral*, se localiza por encima de la porción superior diencefálica, cerca del borde superior del tercer ventrículo y por debajo del extremo posterior del cuerpo calloso (11,27,44,92,98,104,106). La GP se relaciona con el resto del Sistema Nervioso Central (SNC), a través de un pequeño tallo que se une a la comisura habenular y al órgano subcomisular (107). Otra comunicación se establece gracias a los nervios conarii (46), los cuales son nervios simpáticos provenientes de los ganglios simpáticos cervicales superiores (GSCS) y que ejercen un tono simpático sobre los pinealocitos de ésta glándula.

En la rata, la GP es una estructura impar epitalámica y esteroide, con un diámetro no mayor a 2 mm, que se localiza en la parte más posterior del cerebro, en la línea media inmediatamente por debajo de la confluencia del seno venoso longitudinal con los laterales. Ventralmente se localiza por arriba de los colículos superiores y su pared dorsal se opone a la tienda del cerebelo (46,78) (Fig.1).

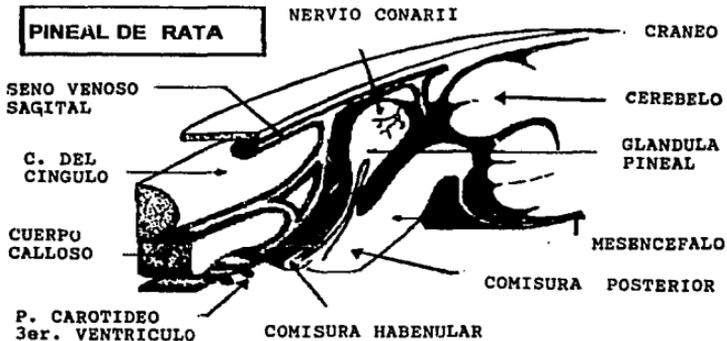


FIGURA 1. Representación esquemática de la Glándula Pineal de la rata donde se observan las relaciones anatómicas que ésta glándula guarda con el resto de las estructuras epitalámicas (22).

En el humano, la pineal también es un órgano impar, situado en la línea media pero localizado sobre el tercer ventrículo. Su forma puede variar, desde oval, hasta piriforme e incluso, esférica. Su longitud es de 5 a 10 mm y su grosor de 4 a 7 mm; mientras que su peso es de 100 a 250 mg. La pineal está cubierta por la pía madre, y sólo en el centro se adhiere a la comisura habenuar. (FIG. 2).

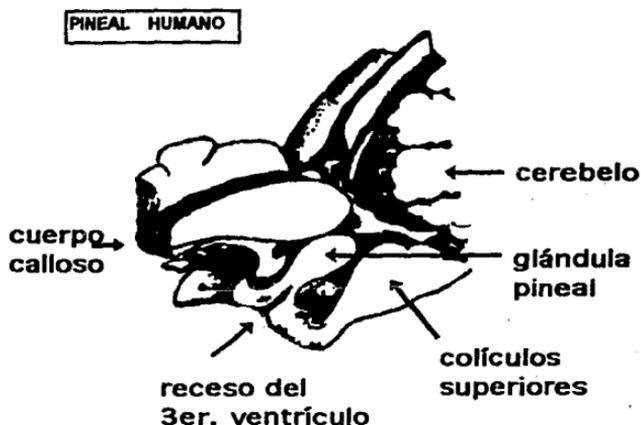


FIGURA 2. Representación esquemática de la glándula pineal de los humanos. Se observan las relaciones anatómicas con el resto de estructuras diencefálicas; así, como su vecindad con el sistema ventricular cerebral (43).

La GP posee vías nerviosas que la conectan con la comisura posterior y los núcleos habenuares; aunque su principal inervación la constituyen las fibras simpáticas conarias. El neurotransmisor de estas fibras es la noradrenalina (NA), cuya liberación obedece a un ritmo circadiano regulado

por el núcleo supraquiasmático del hipotálamo. Este núcleo posee una actividad sincronizada al fotoperiodo (46,47,64,70,71,97,102,103). La GP pertenece a la categoría de alargamientos e invaginaciones del sistema ventricular cerebral que han sido denominados "Organos Circunventriculares" y los cuales carecen de barrera hematoencefálica.

1.4 FISILOGIA

Muchas de las funciones que ejerce la GP son dependientes de la especie y de la época del año y hora del día que se trate; así, en los anfibios, la GP tiene una acción blanqueadora en la piel (43). Mientras que en los roedores su acción es básicamente antigonadotrópica (17). En el hombre, además de sus efectos neuroendócrinos la GP provoca acciones conductuales importantes (28,52).

Diversos estudios muestran que la GP participa en varias funciones tales como la regulación del metabolismo general (99), la regulación de la temperatura (8), la composición de los líquidos corporales (3), la actividad locomotriz (25) y la pigmentación cutánea (74), entre otras. Estas funciones son mediadas por las hormonas que son sintetizadas y secretadas en la GP.

En los mamíferos la GP participa en la regulación de la fisiología endócrina y cerebral. Su función consiste en ser un transductor neuroendócrino, ya que posee una entrada de información fótica sensorial, misma que se transduce en una salida de tipo humoral (Neurotransmisores (NT), Hormonas) (47,55,69,70,82,83,106). Sin embargo, a pesar de la gran cantidad de información que se posee sobre esta glándula, muchas de los efectos fisiológicos que ejerce, sobre todo en el hombre, sigue siendo un enigma y objeto de la especulación (43).

Quizá la característica que hace única a la GP es su propiedad para sintetizar y liberar hormonas de acuerdo al patrón fotoperiódico ambiental. Así, los niveles plasmáticos de hormonas pineales son máximas durante la escotofase y se reducen al mínimo durante la fotofase (15,26,30,52) (FIG 3).

RITMO DE SECRECION DE MELATONINA

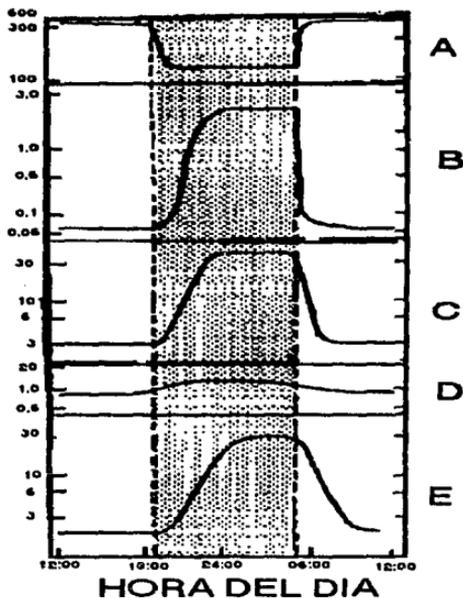


FIGURA 3. Representación gráfica del patrón de la concentración de: la serotonina (A), la enzima N-acetiltransferasa (B), N-acetilserotonina (C), la enzima hidroxindol-orto-metil-transferasa (D), y la melatonina (E), en la glándula pineal de la rata. Se observa que las concentraciones de todos estos compuestos varían de acuerdo al patrón fotoperiódico. La MEL alcanza su máxima concentración durante la escotofase (90,93).

INTRODUCCION

Debido a que la GP no tiene elementos fotosensibles propios (21,22,23), la información fótica alcanza a la GP a través de un circuito que se origina en la retina, tracto retinohipotalámico, y de ahí se dirige al núcleo supraquiasmático (35). De esta estructura, las fibras se dirigen al hipotálamo lateral para descender por la columna intermediolateral de la médula espinal. Sitio de origen de las células preganglionares que conformarán la vía aferente del ganglio cervical superior.

CAPITULO II

2.1 SINTESIS DE MELATONINA

La Melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) (MEL), es la hormona indólica más estudiada de la GP, su nombre deriva de el efecto blanqueador sobre la piel de los renacuajos y ranas. Esta acción resulta de promover la agregación de los gránulos de la melanina, alrededor de los nucleos celulares, en los melanóforos tisulares (27,43,78). Los efectos neuroendócrinos que la MEL ejerce en los roedores se traducen en una inhibición de la síntesis y liberación de varias neurohormonas hipotalámicas; aunque se desconoce el mecanismo de acción celular utilizado para provocar tales efectos. Esta monoamina puede ser acetilada por la enzima N-acetil transferasa, para convertirse en N-acetil serotonina o bien ser oxidada para formar el 5-hidroxiíndol-3-ácido acético por la enzima aldehído deshidrogenasa; o finalmente ser metabolizada hacia 5-hidroxitriptofol. Los compuestos 5-hidroxitriptofano, 5-hidroxitriptamina, 5-hidroxiíndol-3-ácido acético, 5-hidroxitriptofol y N-acetil serotonina pueden ser metilados por la enzima Hidroxiíndol-O-metil transferasa (HIOMT) (5,80), para formar diferentes compuestos. De tal manera, que se obtienen compuestos 5-metoxilados; de los cuales, la MEL y el 5-metoxitriptofol (5-MTF) son las sustancias más importantes que ejercen mayores efectos neuroendócrinos (7,8,26,62,105,108) (FIG. 4).

SINTESIS DE MELATONINA

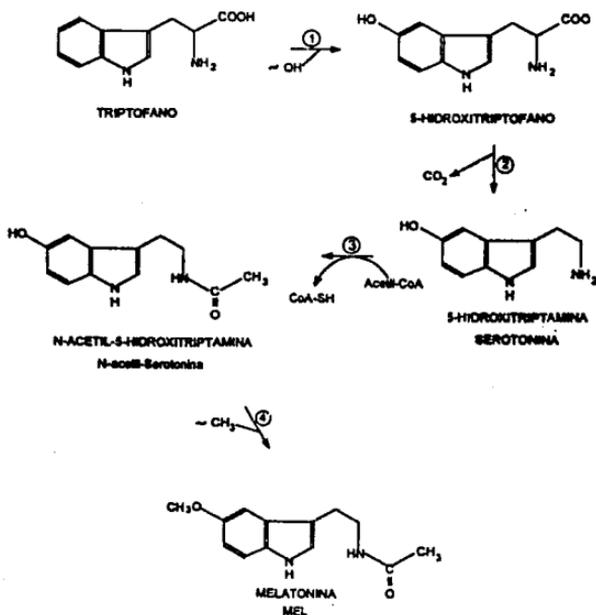


FIGURA 4. La síntesis de MEL a partir del triptófano, requiere de la participación de 4 enzimas. La primera es la hidroxilasa del triptófano (1), enzima limitante de esta reacción. La segunda es la descarboxilasa del 5-hidroxitriptófano (2), después la N-acetiltransferasa (3) y finalmente la Hidroxindol-O-metiltransferasa (4) (90,93).

2.2 MELATONINA, ESTRES Y ULCERAS GASTRICAS

Debido a su inervación simpática el control de la función de las hormonas de la pineal se realiza principalmente por la concentración de Noradrenalina (NA) (6,96). Cualquier circunstancia que produzca un incremento en la concentración de NA, tal como el estrés, se acompañará además de un incremento en las concentraciones de las hormonas de la pineal (24,87). El papel de este incremento de MEL durante las situaciones de estrés es aún desconocido.

Debido a que la administración de MEL exógena produce una reducción de muchos parámetros fisiológicos que se incrementan con el estrés, tal como la presión arterial, la temperatura, la actividad locomotriz, los niveles de glucosa (65), etc. Es probable que la pineal pueda revertir todas las alteraciones fisiológicas causadas por el estrés, lo que haría de la MEL una hormona "tranquilizadora" (89). La confirmación de ésta aseveración implicaría además el discutir un mecanismo fisiológico "antiestrés" del cual la GP formaría parte (53,84,85).

Este sistema antiestrés, implicaría además la participación de otras varias estructuras debido a las manifestaciones multifacéticas que éste cuadro presenta. Ya que independientemente del agente causante del estrés, cualquiera que sea su acción inicial y su punto de partida en el cuerpo, éste provocará finalmente unas reacciones generalizadas. Las cuales se traducirán en un conjunto de modificaciones biológicas responsables de las distintas manifestaciones sintomáticas funcionales y orgánicas características del estrés.

No hay que olvidar que entre otros mecanismos de defensa, el estrés es una respuesta de defensa que permite a nuestros diversos órganos, principalmente las glándulas endócrinas y el sistema nervioso, el adaptarse a las modificaciones que se producen en el interior y en el exterior de nuestro cuerpo. Las manifestaciones propias del estrés se producen en tres etapas diferentes; una reacción de alarma, una etapa de resistencia y una fase de agotamiento; aunque, no necesariamente se muestran en forma muy clara. Sólo el estrés grave desemboca en

el agotamiento y en la muerte (19,61,93).

La respuesta del organismo al estrés implica la participación de dos sistemas de defensa cerebrales: el sistema nervioso y el sistema endócrino u hormonal, los cuales desempeñan un papel importante en los procesos de adaptación y en la resistencia a las agresiones (2,90,93). (Ver FIG. 5) Con lo cual se mantiene la homeostasis del organismo, es decir, el equilibrio biológico y la estabilidad fisiológica del medio interior, a pesar de los diferentes cambios provocados por el estrés.

Durante el estrés, los sistemas de mayor actividad son el sistema nervioso simpático (el cual produce catecolaminas como NT y los libera por sinapsis) y la médula-suprarrenal (la cual produce catecolaminas como hormonas, dentro de las cuales adrenalina es la más importante; noradrenalina y dopamina son menos) (66,95).

La participación de las glándulas suprarrenales, consiste en producir hormonas llamadas corticoides, de entre las cuales la principal es la cortisona o cortisol. Estas hormonas se denominan también hormonas del estrés u hormonas de la adaptación (84,85). Como el estrés puede ser medido por la intensidad de sus manifestaciones. Entonces la actividad de la corteza suprarrenal es diferente durante cada una de las tres fases del estrés. Así, la secreción de los corticoides en la sangre se incrementa rápidamente durante la reacción de alarma, lo que provoca una hipersecreción de las cortezas suprarrenales. Posteriormente, esta secreción desciende hasta el límite de lo normal durante la fase de resistencia; para volver a subir, generalmente muchas veces por encima del nivel máximo, durante la fase de agotamiento (93).

El estrés pernicioso se presenta cuando el sujeto se encuentra sometido a una dosis de estrés que acumulada supera el umbral óptimo de adaptación y el organismo empieza a manifestar señales de agotamiento. El lapso de aparición de esta fatiga es variable, y depende tanto del perfil psicológico del individuo como de la suma y de la frecuencia de las adaptaciones previamente experimentadas. Cada vez que se presenta el estrés, se provoca una secreción de hormonas "adaptativas", como ACTH (corticotropina) y hormonas suprarrenales, sobretodo adrenalina de

médula. Esta secreción es de mayor magnitud en relación a lo violento de la emoción desencadenada, a la duración de la misma y a la posibilidad de que se repita (41).

Existe una predisposición genética de los individuos al estrés, la cual es reforzada por el medio ambiente en que se desarrollan. En las sociedades modernas, los factores estresantes se han multiplicado exponencialmente, lo que ha hecho del estrés y como consecuencia de la ansiedad, los padecimientos más comunes en nuestros días (84,85,93) (Fig. 5).

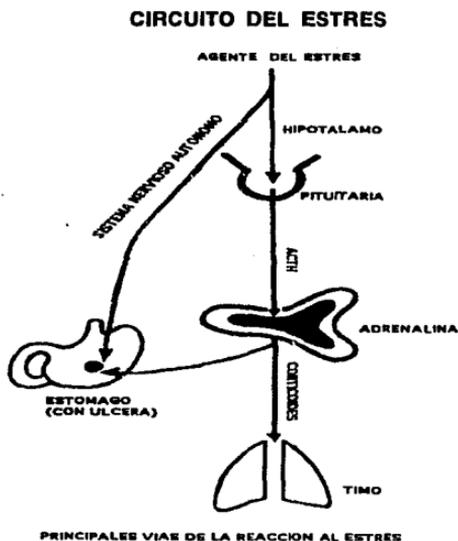


FIGURA 5. Esquema representativo de los cambios endocrinos que ocurren durante la situación del estrés. El factor primordial es una descarga excesiva y constante de catecolaminas, las cuales afectan todas las esferas de la conducta humana (90,93).

Desde el punto de vista fisiológico, el estrés es el estado pernicioso anterior a la ansiedad. Este último concepto se define como un síntoma vinculado a la idiosincrasia de cada individuo, se trata de una emoción humana universal, estrechamente relacionada con el temor, y que a menudo sirve para propósitos de adaptación psicobiológica. La ansiedad en general esta asociada con trastornos psiconeuróticos, los cuales no pueden ser explicados con facilidad en términos biológicos o psicológicos.

En este padecimiento se encuentra una hiperactividad de los sistemas adrenérgicos en el SNC, la cual virtualmente afecta a todos los sistemas orgánicos (29). Debido al incremento en la descarga del sistema beta adrenérgico, las manifestaciones fisiológicas son: pulso acelerado, aumento de flujo sanguíneo, sudoración excesiva y disminución de la salivación (39,40).

Quizá a manifestación más reproducible en las situaciones de estrés es la formación de úlceras pépticas. Estas son zonas de la mucosa gástrica que se erosionan por la acción digestiva del jugo gástrico, resultado de la hiperactividad del sistema simpático. La acción de la norepinefrina en la mucosa gástrica es dual, por un lado estimula la producción de ácido y por el otro provoca una vasoconstricción de los vasos de la mucosa gástrica. La producción de ácido, se ve incrementada además por los niveles excesivos de cortisol, los cuales acompañan a los estados de estrés, y el incremento en la función del jugo gástrico, rico en enzimas digestivas. Por otro lado la vasoconstricción en la mucosa gástrica reduce su capacidad para secretar una capa de moco, la cual la protege de la actividad proteolítica de las enzimas gástricas y del ácido clorhídrico. La causa ordinaria de la ulceración péptica es el desequilibrio entre la secreción de jugo gástrico y el grado de protección producido por la mucosa gastroduodenal y la neutralización del ácido gástrico por los jugos duodenales (31,48).

La localización más frecuente de las úlceras gástricas de estrés es la porción gastroduodenal que rodea al píloro, esfínter que controla el tránsito entre el estómago y el duodeno. Además, son frecuentes las úlceras pépticas a lo largo de la curvatura menor del extremo antral del

MELATONINA

estómago, y son raras en el extremo inferior del esófago, donde se produce reflujo de jugo gástrico (31).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dentro del esquema fisiológico del estrés. La MEL es capaz de revertir muchos de los cambios inducidos por el estrés. Así, la MEL, provoca una reducción sostenida sobre la liberación de la ACTH y como consecuencia del cortisol (34).

Además hormonas tales como la hormona estimulante de la tiroides (73), la noradrenalina y parámetros como la presión arterial (1), la ventilación (100) e incluso la motilidad intestinal (72), se ven reducidas por la administración de MEL. Adicionalmente, la aplicación de MEL exógena provoca sedación y es capaz de inducir sueño sin modificar el patrón electrofisiológico del mismo (69).

El papel de la MEL consiste en revertir todos aquellos cambios inducidos por una descarga de catecolaminas y cortisol provocadas a un individuo sometido a condiciones estresantes o adversas, lo cual le confiere un papel de sustancia anti-ansiedad o tranquilizante (89).

La MEL también ejerce efectos antiestrés en sistemas diferentes al nervioso y endocrino, particularmente en el sistema inmune. Así, la MEL ejerce efectos inmunopotenciadores, los cuales son utilizados para potenciar la inmunización primaria (vacunación) contra antígenos de la más variada naturaleza. Además la administración de MEL exógena incrementa una gran cantidad de parámetros inmunológicos ya sea a nivel humoral o tisular (94), situación utilizada en el tratamiento de algunos tumores cancerosos (18)

Esta información, sugiere la existencia de un circuito neuronal "anti-estrés", el cual podría estar ejerciendo un efecto tónico sobre la conducta. Una alteración de este sistema "anti-estrés" podría ser la causa de aparición de cuadros patológicos conductuales consecuencia del mismo; tal como la ansiedad y las neurosis.

El presente trabajo, pretende analizar la participación de la MEL, ya sea endógena y exógena en un modelo experimental único de estrés. Se

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

trata de una combinación de Inmovilidad y frío, el cual ha mostrado excelentes resultados con fármacos del tipo de las benzodiazepinas (89).

Muchas de las controversias sobre la participación de la MEL sobre el proceso de estrés y ansiedad, es resultado del tipo de modelo experimental que se ha utilizado. Usualmente los modelos utilizados no cumplen ciertas características ideales, como son la de reproducir fácilmente este tipo de conductas, y muchas veces las respuestas que se analizan no son fácilmente medibles, lo que no permite comprender el fundamento de ellas (20,36,42).

El modelo de estrés por baja temperatura y el modelo de estrés por inmovilización, son utilizados en forma individual muy frecuentemente. Estos modelos inducen un estado de estrés observable en las respuestas emocionales y adaptativas que provocan, aunque la variabilidad que presentan en forma individual, se reduce considerablemente cuando se utilizan en conjunto (10,12,110). Tal situación constituye una oportunidad inmejorable para analizar el efecto de la MEL o cualquier otro posible fármaco antiestrés, sobre la respuesta a este padecimiento.

La valoración del efecto antiestrés se realizará a través de la cuantificación de las úlceras gástricas provocadas, así como de la longitud de las mismas. Este experimento se realizará en ratas control con administración intraperitoneal de MEL y en ratas pinealectomizadas, en las cuales los niveles de MEL endógena han sido reducidos a un mínimo.

OBJETIVOS

Con base en estos antecedentes, este estudio tiene como principal objetivo el describir y caracterizar una posible acción antiestrés de la GP de la rata. Para ello, se plantean los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL

Utilizando un modelo de estrés experimental, describiremos el efecto que ejerce la MEL sobre la prevención y las manifestaciones fisiológicas del estrés.

OBJETIVOS PARTICULARES

- A).- Describir el efecto que ejerce la Melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) sobre la formación de úlceras gástricas inducidas por una combinación de estrés por inmovilización y estrés térmico, en ratas.
- B).- Determinar el efecto antiestrés de la MEL endógena, a través de la comparación de los resultados experimentales obtenidos de ratas pinealectomizadas, con falsa pinealectomía, e íntegras.

HIPOTESIS

Si la MEL forma parte de un sistema antiestrés endógeno, entonces su administración reducirá la cantidad e intensidad de úlceras gástricas de estrés en un modelo experimental en la rata. Mientras que la pinealectomía tendrá el efecto opuesto.

5.1 MATERIAL BIOLÓGICO

- 1).- 128 Ratas de la cepa Wistar, con una edad de 3 meses \pm 1 semana con un peso de 180 a 220g.
- 2).- Alimento (Purina Rat Chow o Nutricubos Purina).

5.2 SUSTANCIAS

- 1).- ANESTESAL (Pentobarbital sódico), a una dosis de 40 mg/kg. ip. Lab. Smith, Kline & French.
- 2).- Penicilina G. Sódica (200,000 UI/kg). Lab. LAKESIDE.
- 3).- Melatonina (SIGMA CHEMICALS, Company, St. Louis. Mo 63178 USA)
- 4).- PEG (Polyetilén Glycol SIGMA CHEMICALS, Company, St. Louis. Mo 63178 USA).
- 5).- Agua destilada (para lavar los estómagos)
- 6).- Dextran
- 7).- Formól.

5.3 EQUIPO ELECTRICO

- 1).- Taladro
- 2).- Rasuradora electrica. Small model TS Wahl. 0.32 AMP. 110-125v.
- 3).- Lampara con foco de 40 w.
- 4).- Cojín eléctrico. Hesting Pad. Neca. 819. Three heat. 5w.

5.4 EQUIPO QUIRURGICO

- 1).- Pinzas para disección curvas
- 2).- Pinzas para disección rectas
- 3).- Pinzas bulldog
- 4).- Tijeras cortas
- 5).- Tijeras largas
- 6).- Mango de bisturí con aguja
- 7).- Espátula
- 8).- Porta agujas
- 9).- Jeringas (insulina, y de 5 ml)

- 10).- Aguja No. 22 y 27.
- 11).- Aguja de sutura G 312/15 ACUFIRM
- 12).- Sutura quirúrgica trenzada calibre 3/0
- 13).- Gasas 7.5 x 5.0 cm PROTEC
- 14).- Bone Wax sterile W-31 ETHICON
- 15).- Esponja estéril GELFOAM.

5.5 MATERIAL DE VIDRIO

- 1).- Caja de Petri (de 10 cm de diametro, PYREX)
- 2).- Vaso de precipitados 25 ml PYREX
- 3).- Termómetro (TAYLOR de -20 °C a 110 °C).

5.6 EQUIPO FIJO

- 1).- Estereotáxico
- 2).- Refrigerador GENERAL & ELECTRIC
- 3).- Bebederos con agua
- 4).- Balanza analítica (FISHER SCIENTIFIC MODEL S-110).

5.7 VARIOS

- 1).- Caja de plástico transparente con tapa de acero inoxidable
- 2).- Inmovilizadores con tapa
- 3).- Aserrín o Viruta
- 4).- Tablilla de cera
- 5).- Alfileres
- 6).- Regla para medir úlceras o Vernier.
- 7).- PARAFILM "M" (Laboratory Film, American, Can Company, Greenwich, Ct. 06830).

6.1 MÉTODOS

Para la realización de este trabajo experimental se utilizaron 128 ratas (25 ratas hembras y 103 ratas macho) de la cepa Wistar, con una edad de 3 meses \pm 1 semana, lo cual corresponde a un peso corporal entre 180 a 220g. Las ratas fueron proporcionadas por el Bioterio de la Facultad de Medicina de Ciudad Universitaria, las cuales carecían de experiencia experimental previa a este estudio. Estos animales se mantuvieron en condiciones ambientales del laboratorio por un periodo no menor a 15 días; antes de iniciar la fase experimental.

Todos los sujetos experimentales, se almacenaron en cajas de acrílico transparente con tapas de reja de acero inoxidable, con cama de viruta a razón de dos ratas por caja. Los sujetos tenían acceso libre al alimento y agua; la cual era administrada a través de un bebedero de vidrio. Se procuró que los bebederos y comederos, siempre estuvieran llenos con la cantidad suficiente de alimento y agua, para el grupo de animales que cada caja contenía. Durante los 15 días de adaptación a las condiciones de laboratorio, el ciclo de luz-obscuridad se mantuvo constante, con 14 hrs de iluminación por 10 hrs de obscuridad, el periodo de luz se iniciaba a las 6:00 AM y finalizaba a las 8:00 PM. Un día antes de iniciada la fase experimental se privaba a los animales de alimento durante 24 Hrs, manteniéndose el acceso libre al depósito de agua.

El total de sujetos utilizados fue dividido en nueve grupos experimentales distribuidos de la siguiente manera:

GRUPO I: Conformado por 17 ratas macho, sin tratamiento quirúrgico o farmacológico alguno. Estos animales fueron sometidos exclusivamente al proceso estresante del modelo. Nuestro interés con éste grupo consistió en determinar la efectividad del modelo experimental para provocar las úlceras gástricas.

GRUPO II.: Constituido por 25 ratas hembras. Sin tratamiento quirúrgico o farmacológico. Al igual que el grupo anterior estos sujetos fueron sometidos a la situación estresante del modelo. Nuestro objetivo al

utilizar este grupo, consistió en analizar las diferencias en la respuesta al estrés dependientes del sexo.

GRUPO III.: En un total de 10 ratas, sometidas al estado estresante y la aplicación de la solución vehículo, en el cual se analizó el efecto del PEG al 25% (solución vehículo del fármaco aplicado). Sobre la aparición de las úlceras gástricas.

Los grupos IV, V, y VI recibieron una dosis de MEL (0.5, 2.5 y 5.0 mg/kg de peso, respectivamente) 15 minutos antes de ser sometidos a los estímulos estresantes. El número de estos tres grupos fueron 14, 19 y 12 ratas, respectivamente.

El **GRUPO VII** estuvo constituido por 6 ratas, las cuales fueron sometidas a una falsa pinealectomía (FPx); en la cual los sujetos sufrieron la misma intervención quirúrgica que los animales pinealectomizados, pero a diferencia de ellos, su pineal estaba íntegra. Posteriormente a los once días recibieron los estímulos estresantes.

Los grupos experimentales VIII y IX, constituidos por 14 y 11 ratas, respectivamente; fueron animales pinealectomizados (PX), en los cuales se redujo la concentración de MEL endógena. La diferencia entre ambos grupos la constituye el tiempo que transcurrió entre la pinealectomía y la aplicación de los estímulos estresantes. En el grupo VIII este tiempo fue de 11 días; mientras que en el grupo IX éste fue de 22 días.

La pinealectomía (Px) es una intervención quirúrgica que consiste en la extracción total (cuerpo y tallo) de la Glandula Pineal (GP). Esta cirugía es sumamente delicada debido al riesgo que implica el lesionar el cráneo, las meninges, el seno venoso sagital y los colículos superiores. La extracción de ésta glándula debe realizarse en aproximadamente 5 minutos. Para ello utilizamos la técnica descrita por Hoffman y Reiter (37).

Para efectuar tal intervención quirúrgica, las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (50 mg/kg) (IP) y posteriormente

MÉTODOS

colocadas en un aparato de cirugía estereotáxica. Entonces, se rasuraba y cortaba la piel del cráneo limpiando todos los tejidos superficiales, por medio de una trepanación de aproximadamente 5mm de diámetro alrededor de la sutura lambda, se localizaba la confluencia de los senos, como referencia para encontrar a la GP.

Se seccionó la vena cerebral medial para exponer la GP, la cual se extraía con ayuda de unas pinzas de disección. Posteriormente, se reconstruyeron los planos colocando los fragmentos del hueso correspondientes y cubriéndolos con cera para hueso, antes de suturar la piel del cráneo (33). Como medida profiláctica se aplicó una dosis de 400 000 UI de penicilina G sódica cristalina para prevenir una posible infección. Usualmente el animal se recuperaba del procedimiento quirúrgico en un lapso no mayor a 3 días.

6.2 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

Después de 24 hrs de ayuno, los sujetos se pesaron y se administró el tratamiento referido, dependiendo del grupo a que pertenecieran. En el caso de la administración de fármacos o solución vehículo, la aplicación se hizo por vía intraperitoneal (IP), en el cuadrante izquierdo inferior abdominal. Para ello, se utilizó una jeringa de tuberculina con una aguja del número 27 corta. Las diferentes dosis se ajustaron de tal manera que el volumen de aplicación siempre fuese de 100 microlitros por cada 100g de peso corporal, aplicados en un lapso de 15 seg. Todas las soluciones fueron preparadas inmediatamente antes de su aplicación. En el caso de la MEL, primero se pesó la cantidad de MEL correspondiente al peso de la rata, en una balanza analítica, posteriormente se disolvía en una solución de Polletilenglicol (PEG) al 25%, en agua destilada. El pH de esta solución fué de aproximadamente 6.5 - 6.9.

Una vez administrado el fármaco, los animales se introducían en un inmovilizador de acrílico transparente (plano y liso de la parte de abajo, de forma cilíndrica a los lados y arriba), de 20 cm de largo y de 5.0 cm de diámetro. Los inmovilizadores estaban provistos de orificios de 1.0 cm de diámetro (separados a su vez por intervalos de 1.0 cm) en toda la superficie. El objetivo de estos orificios es la libre ventilación, para mantener una temperatura constante a lo largo de todo el cuerpo de la rata. (Fig. 6) El introducir a los animales en este depósito, restringía los movimientos laterales y anteroposteriores de las ratas.

Quince minutos después de colocados en el inmovilizador, los sujetos se introducían en un refrigerador por un periodo de 4 hrs, el cual mantenía una temperatura constante de $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante la experimentación. La temperatura se verificó con un termómetro, el bulbo colocado en el interior del refrigerador; inmediatamente antes de que se introducían a los sujetos e inmediatamente después de retirar a los mismos. Las 4 horas de permanencia en esta situación se realizaron en oscuridad continua.

Una vez transcurridas estas 4 horas de estrés por inmovilización y

MÉTODOS

frío, los animales se retiraban primero del refrigerador y después del inmovilizador. Inmediatamente posterior a ello se sacrificaron por desnucamiento con una barra metálica, lo cual les provocaba una muerte instantánea. Con la certeza que el animal estaba muerto se procedía a la inmediata extirpación del estómago y del tercio proximal del duodeno. Este procedimiento usualmente consumía aproximadamente 3 minutos. El estómago extraído se lavaba con solución salina y se abría con unas tijeras a lo largo de la curvatura menor. Para posteriormente extenderlo y fijarlo con alfileres, sobre una superficie de cera dentro de una caja de *petri* de 10 cm de diámetro.

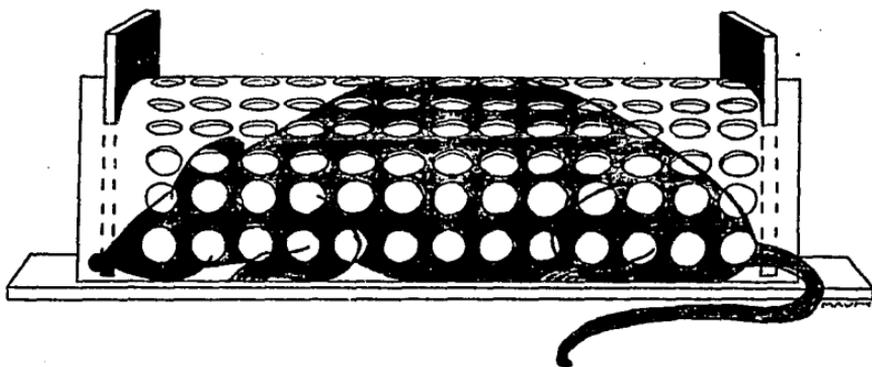


FIGURA 7. Esquema de una rata dentro de un inmovilizador como los utilizados en el presente trabajo. El animal permaneció durante 4:00 Hrs (previo a ello permanecieron de 15-30 min. adaptándose al inmovilizador).

MÉTODOS

En estas condiciones, se procedió a contar el número de úlceras presentes y a medir la longitud del eje mayor de cada una de ellas, así como su localización dentro del estómago. Los animales se sacrificaron con la finalidad de cuantificar los cambios morfológicos, consecuencia del proceso degenerativo provocado por la situación de estrés, presentadas por el tratamiento del modelo experimental.

En los animales con pinealectomía y falsa pinealectomía además de extraer el estómago, también se extrajo el cerebro y se fijó en una solución de formaldehído al 10%, con la finalidad de confirmar el éxito de la manobra quirúrgica. Los datos reportados en este estudio provienen exclusivamente de animales en los cuales la intervención quirúrgica logró los resultados esperados (el parámetro para precisar el que una rata manifestaba la alteración estomacal característica de su lote, era el indicador de que se tenían resultados adecuados).

Para el análisis estadístico de los datos, se calcularon el promedio del número y de la longitud de úlceras para cada uno de los grupos; así como la desviación estándar, para fines estadísticos y el error estándar para fines gráficos. Se utilizó una prueba de U de Mann Whitney para realizar comparaciones entre los diferentes grupos. Para considerar una diferencia como significativa era necesario que la hipótesis alterna se rechazara con un valor de $p \leq 0.05$.

Fórmula de la prueba de U de Mann Withney:

$$\text{Cálculo del valor de U: } U = n_1 n_2 + \frac{n_1 \phi_2 (n_1 \phi_2 + 1)}{2} - R$$

donde: R es el rango de la muestra y
n es el número de ratas experimentales

$$\text{Cálculo del valor de z: } z = \frac{U - (n_1 n_2 / 2)}{\sqrt{[(n_1)(n_2)(n_1 + n_2 + 1)] / 12}}$$

RESULTADOS

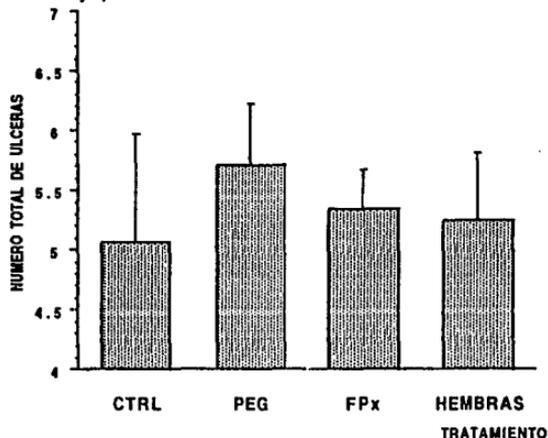
La conducta de los animales durante los 15 días de ambientación, a las condiciones del laboratorio, fué pacífica, los animales dormían casi todo el día y su actividad motora fué prácticamente nocturna. La ingesta de comida y agua fué siempre satisfactoria, como se reflejó en la curva ponderal. El peso corporal de todos los sujetos osciló entre 180 a 220g, después de los 15 días de habituación a las condiciones del laboratorio. Cuando se privó de alimento a los animales, éstos se ponían inquietos, y en ocasiones ingerían aserrín.

En relación a los animales sometidos a la intervención quirúrgica, durante los 2 primeros días posteriores a la cirugía, no ingerían alimento y reducían ligeramente (5-12 %) su peso corporal. Durante éste tiempo se mostraban muy pasivos y con muy poca actividad locomotriz. Sin embargo, a partir del tercer día reiniciaban su actividad y para el quinto día su conducta y peso corporal era indiferenciable del resto de los sujetos. No se presentó infección alguna de los animales intervenidos quirúrgicamente durante todo el tiempo de sobrevida a los mismos.

La utilización de los inmovilizadores provocó en los animales una actitud de mayor inquietud. Las ratas trataban de escapar, y al encontrarse en un estado de limitación de sus movimientos intentaban de girar dentro del inmovilizador, buscando una salida y en algunos casos chillaban y mordían la superficie del mismo. Sin embargo, después de 10 min en promedio, se tranquilizaban y sólo mostraban un estado de alerta, sin presentar movimiento alguno.

Una vez terminada la permanencia de los sujetos en el refrigerador, los animales se resistían a abandonar el inmovilizador y emitían vocalizaciones, por eso en ocasiones era necesario jalarlos de la cola. Una vez fuera de del inmovilizador su actividad locomotriz era mínima y su temperatura era fría. Entonces se procedió al sacrificio por desnucamiento.

Al diseccionar el estómago se observó en forma directa el contenido del mismo. En todos los casos se extrajo un líquido amarillento, viscoso que en ocasiones contenía restos de viruta. El lavado gástrico eliminaba todo el contenido y permitía una visualización adecuada de la mucosa gástrica.



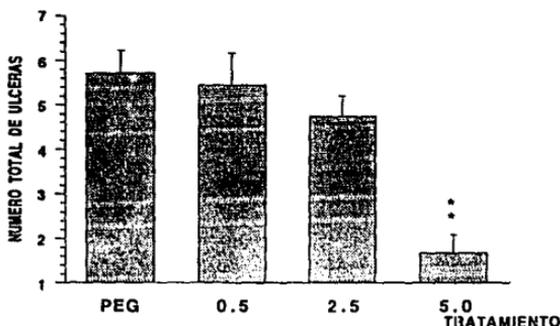
GRAFICA 1. Se muestra la relación entre el promedio del número total de úlceras (Media \pm ES) y el tratamiento recibido. Los animales experimentales recibieron MEL (0.5, 2.5 ó 5.0 mg/Kg); mientras que los otros grupos, recibieron la administración de solución vehículo (polietilenglicol al 10%); o bien grupos controles de ratas hembras (H) o ratas macho (M). La administración de MEL provocó una marcada reducción, dependiente de la dosis, en la longitud total de úlceras.

Las úlceras gástricas aparecieron como una mancha negra sobre la superficie rosada de la mucosa gástrica. En esta úlcera los bordes de la misma tendían a ser rojizos y su centro muy oscuro, se observaba a simple vista un edema en los bordes de la úlcera y un hundimiento en el centro de la misma. Frecuentemente se observaron coágulos que se desprendían con el lavado del estómago. La forma de las úlceras fué siempre alargada con un eje longitudinal variable pero con eje transversal

RESULTADOS

muy constante de aproximadamente 2 mm. La localización más frecuente de las úlceras, siempre correspondió a la curvatura mayor del estómago en las proximidades del píloro sin invasión hacia el duodeno.

En ningún animal se observó perforación gástrica o alteraciones macroscópicas de la serosa del estómago como consecuencia de las úlceras.



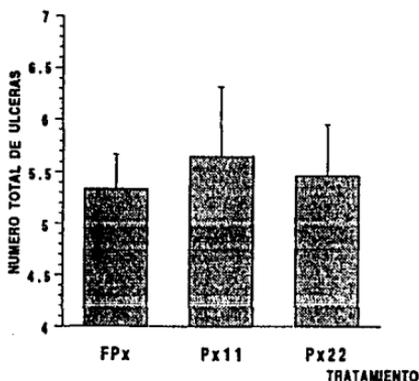
GRAFICA 2. Se muestra la relación entre el promedio del número de úlceras (Media \pm ES), para los mismos grupos de animales. En este caso, la administración de MEL también provocó una marcada disminución en el número de úlceras.

Los cuadros I y II muestran los promedios \pm DS, obtenidos en los diferentes grupos de animales, en los que se determinó el número y la longitud de las úlceras gástricas, provenientes de las 128 ratas utilizadas. La última columna comprende al valor de p, resultado de la comparación estadística, utilizando la prueba U de Man Whitney, en los diferentes grupos.

Como se observa, no existe diferencia significativa alguna en estos dos parámetros, entre los grupos control y el que recibió una

RESULTADOS

administración de PEG (Solución vehículo de la melatonina). Por lo que utilizamos éste último grupo para hacer la comparación respectiva con los grupos tratados con MEL. La comparación entre los grupos de ratas macho (I) y de ratas hembra (II) no arrojó diferencia significativa alguna. Lo que sugiere que éste modelo experimental de estrés es igual de eficaz en ambos sexos.



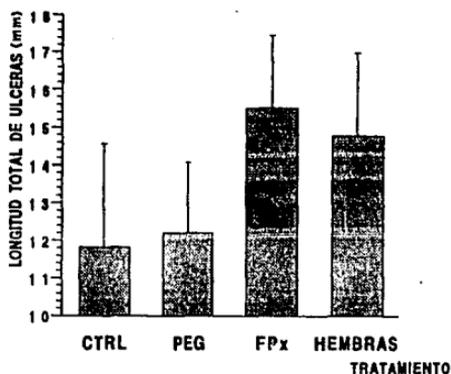
GRAFICA 3. Como se observa en esta figura, ni la pinealectomía o la falsa pinealectomía provocó efecto alguno sobre el número de úlceras gástricas.

Por otro lado la comparación entre los grupos tratados con MEL y los sujetos que recibieron PEG, mostró que la dosis de 0.5 mg/kg de MEL, no produjo algún cambio significativo ni en el número de úlceras ($X = 5.428 \pm 2.708$), ni en su longitud ($X = 11.571 \pm 7.415$), al compararlos con los valores correspondientes al grupo tratado con PEG (número de úlceras $X = 5.700 \pm 1.634$; longitud de las úlceras $X = 12.200 \pm 5.862$). Sin embargo, los grupos tratados con 2.5 y 5.0 mg/kg de MEL; mostraron una reducción

RESULTADOS

significativa, dependiente de la dosis, en el número de úlceras ($p < 0.092$, $p < 0.0001$) y en la longitud de las mismas ($p < 0.044$, $p < 0.0003$; respectivamente) (GRAFICA I Y II).

Por otra parte, al comparar utilizando la misma prueba estadística, al grupo control con aquel que se sometió a una falsa pinealectomía (FPx), se observó que no existieron diferencias estadísticas significativas alguna, ni en el número ($p < 0.218$), ni en la longitud de las úlceras ($p < 0.085$).



GRAFICA 4. A pesar de que se observaron diferencias en cuanto a la longitud de úlceras entre los diferentes grupos controles, estas diferencias no son estadísticamente significativas.

RESULTADOS**CUADRO No. I**

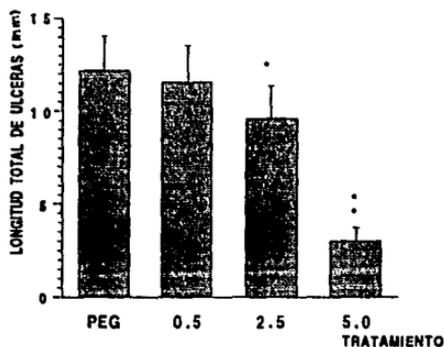
Resultados obtenidos para los grupos de datos donde se muestra la LONGITUD TOTAL DE ULCERAS.

GRUPOS	n	X(mm)	± DS	p
CONTROL	17	11.823	11.272	
P.E.G.	10	12.200	5.862	0.196
MEL 0.5	14	11.571	7.415	0.4071
MEL 2.5	19	9.578	7.697	0.044
MEL 5.0	12	3.000	2.556	0.0003
HEMBRAS	25	14.760	11.155	0.137
FPx	6	15.500	4.764	0.085
Px 11 DIAS	14	15.071	8.126	0.324
Px 22 DIAS	11	15.363	7.734	0.343

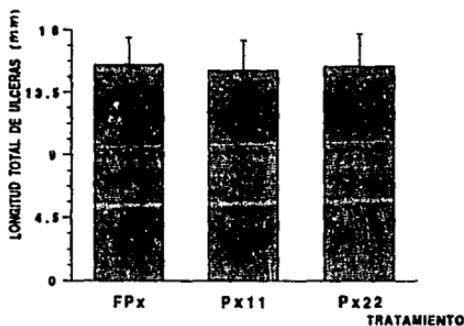
CUADRO No. II

Resultados obtenidos para los grupos de datos donde se muestra el NUMERO TOTAL DE ULCERAS.

GRUPOS	n	X	± DS	p
CONTROL	17	5.058	3.731	
P.E.G.	10	5.700	1.634	0.195
MEL 0.5	14	5.428	2.708	0.257
MEL 2.5	19	4.736	1.992	0.092
MEL 5.0	12	1.666	1.434	0.0001
HEMBRAS	25	5.240	2.785	0.321
FPx	6	5.333	0.815	0.218
Px 11 DIAS	14	5.642	2.499	0.466
Px 22 DIAS	11	5.454	1.631	0.438



GRAFICA 5. La administración de Melatonina, provocó una reducción estadísticamente significativa en relación a la longitud de las úlceras de estrés.



GRAFICA 6. La extirpación quirúrgica de la glándula pineal, realizada a los 11 o 22 días, no provocó algún cambio importante sobre la longitud de las úlceras de estrés.

DISCUSION

Los objetivos del presente trabajo experimental consistieron en analizar la relación o influencia que existe entre el estrés y la MEL (principal hormona de la glándula pineal), a través de un modelo experimental, caracterizado para evaluar compuestos o sustancias con efectos anti-estrés. Estudios previos muestran que la MEL posee un efecto protector y estabilizador bajo condiciones de estrés inducido (37).

El modelo experimental utilizado en el presente estudio, plantea dos situaciones estresantes conjuntas, la inmovilización y las bajas temperaturas. Estas dos situaciones, ya habían sido utilizadas por separado, como estresores, por otros autores (50,51).

La eficacia de este modelo experimental utilizado se puso de manifiesto en los grupos controles. En promedio estos animales mostraron aproximadamente 5.4 úlceras, con una longitud cercana a los 13.5 mm. Aunque estos valores son menores a los reportados en otros trabajos (91).

Inicialmente, intentamos dilucidar la existencia de alguna diferencia dependiente del sexo sobre la respuesta al estrés; por esta razón manejamos un grupo de ratas macho y otro grupo de ratas hembra. Tal sugerencia se basó en que algunos autores (51) manejaron ratas hembra en situaciones de estrés por inmovilización; mientras que otros, (50,58) sólo utilizaron ratas macho. En ambos estudios se sometieron a estos animales a condiciones estresantes (inmovilización y bajas temperaturas). Aunque el objetivo fundamental de cada uno de estos estudios no fue el hecho de comparar las diferencias en cuanto a sexo, los valores obtenidos en ambos estudios en situaciones control, fueron diferentes.

Estos datos sugerirían diferencias dependientes del sexo; además, las condiciones experimentales en estas dos investigaciones fueron similares a nuestro modelo; por ejemplo, ciclo de luz, tipo de estresores, el tiempo de inmovilización, y el tipo de parámetros determinados. Por tal razón, decidimos analizar la posible existencia de una diferencia significativa en cuanto a sexo. Los resultados de nuestro

DISCUSION

trabajo, obtenidos bajo las mismas condiciones experimentales, concluyen que no existen diferencias dependientes del sexo. No encontramos alguna diferencia significativa entre el número de úlceras ($X=5.058 \pm 3.731$), y su longitud ($X=11.823 \pm 11.272$) en machos, al compararlos con los valores correspondientes al grupo de ratas hembras (longitud de úlceras $X=14.760 \pm 11.155$; número de las úlceras $X=5.240 \pm 2.785$). Por tal razón decidimos continuar el experimento, utilizando sólo ratas macho, las cuales en nuestra experiencia se pueden manipular con más facilidad que las ratas hembra.

También decidimos realizar comparaciones estadísticas entre los grupos controles integro, control vehículo y falsa pinealectomía; para determinar posibles aportaciones de algún factor, diferente a la aplicación de MEL, que pudiese estar modificando la respuesta bajo análisis. El resultado de tal comparación estadístico mostró que ninguna de éstas maniobras experimentales produjo algun cambio significativo ni en el número, ni en la longitud de éstas úlceras. Por lo tanto, decidimos considerar al grupo que recibió el vehículo (PEG, grupo III) como control para compararlo con el grupo de ratas a las cuales se les administró MEL a las dosis correspondientes. En nuestro trabajo la MEL se disolvió en una solución de PEG al 25%, en agua destilada (con pH de 6.5-6.9).

El otro grupo que utilizamos como control fué el de ratas con FPx; éste sirvió de comparación entre los grupos de ratas a las cuales se les realizaron pinealectomías y se sometieron al paradigma experimental a los 11 y 22 días posteriores a la intervención quirúrgica.

Los resultados de este estudio muestran que la administración de MEL, antes de una exposición al estrés agudo es capaz de reducir los efectos deletéreos del mismo, esto analizado a través de la formación de úlceras de estrés. Estos resultados hacen sugerir que toda la gama de alteraciones fisiológicas provocadas por el estrés, y las cuales dependen de un tono adrenérgico aumentado (56), son reducidos por la MEL.

Los resultados, obtenidos con la administración de MEL tanto en dosis de 2.5, como de 5.0 mg/kg, muestran un efecto antiestrés importante; principalmente sobre las respuestas de longitud de úlceras.

DISCUSION

El mecanismo de acción utilizado por la MEL para reducir las úlceras gástricas, puede ser múltiple. Así, esta hormona podría actuar como un modulador de la acción de la serotonina en el estómago (51); la similitud estructural entre ambos compuestos apoya tal sugerencia. Su efecto podría ser además consecuencia de un efecto inhibitorio directo sobre la producción de ácido clorhídrico, como ha sido recientemente descrito. Además un efecto mediado a través de la inhibición de las hormonas de la corteza suprarrenal, parece ser también posible. Futuros experimentos, podrían ahora dar un mecanismo de acción de la MEL, y posiblemente refleje la función fisiológica de la MEL endógena (50).

La administración de MEL produjo cambios estadísticamente significativos en los parámetros analizado al compararlos con las ratas del grupo control (PEG) a las dosis de 2.5 y 5.0 mg/kg de peso de MEL ($X=9.578$, $p < 0.044$; y $X=3.000$, $p < 0.0003$, respectivamente).

Varios estudios muestran que la producción de la MEL se incrementa ante la presencia de estímulos estresantes tales como el frío, la inmovilización y la hipoglucemia inducida por insulina. Lo que frecuentemente sugiere que la GP responde al estrés por incrementar su producción de MEL (50). Tal situación a su vez puede ser resultado del tono adrenérgico aumentado presente en el estrés. La GP posee también una entrada nerviosa adrenérgica, además que es posible una influencia de las catecolaminas por vía sanguínea (88). La GP de la rata posee dos tipos de receptores adrenérgicos alfa y beta; la respuesta adrenérgica que produce, desde un punto de vista electrofisiológico son diferentes (87).

Esta conceptualización del estrés modifica muchas de las ideas relacionadas con los mecanismos cerebrales que intervienen en el estrés y la ansiedad. Primero, así como tenemos todo un sistema central que provoca una respuesta de alerta ante situaciones que hacen peligrar la existencia, también poseemos un sistema que revierte estos efectos; en otras palabras, tenemos un sistema cerebral de estrés y otro de antiestrés, o bien de ansiedad y otro de ansiólisis.

Ambos sistemas deben poseer muchos nexos y partes de interacción; uno de estos sistemas puede ser la pineal, ya que recibe la descarga adrenérgica típica del estrés y secreta las hormonas que

DISCUSION

revertirán tales efectos. De existir tal sistema anti-estrés, cabe entonces preguntarse: ¿las alteraciones del estrés y ansiedad, resultan por un incremento de la actividad del sistema estresorérgico o por una reducción en los sistemas antiestresorérgicos?.

Aunque aún desconocemos una respuesta definitiva a esta pregunta, tanto las manipulaciones experimentales quirúrgicas y farmacológicas de la GP, hacen suponer que las alteraciones propias del estrés no son consecuencia de una sobre actividad del sistema de respuesta al estrés, sino de una reducción importante del sistema antiestrés (91). Por ejemplo, en animales sometidos a estrés en forma crónica, la glándula pineal y algunos órganos circunventriculares, se hipertrofian y aumentan tanto la producción como el recambio de neurohormonas en varias sitios cerebrales (81). Las alteraciones propias del estrés se inician, cuando la hipertrofia glandular, es insuficiente para revertir las cada vez mayores demandas provocadas por este estrés crónico.

La diferenciación entre el sistema que provoca la respuesta al estrés y aquel que la revierte, reviste también una enorme importancia, desde un punto de vista terapéutico. En otras palabras es posible lograr un estado de antiestrés o de ansiólisis con fármacos que bloquean la respuesta al estrés o con fármacos que incrementan la actividad de antiestrés y ansiólisis. Aunque en la actualidad los fármacos utilizados como antiestrés y ansiolíticos proveen un espectro de efectos tal que afectan ambos sistemas, además de muchos otros, como el de atención, coordinación motora, etc. De hecho es indispensable el realizar una descripción lo más completa de ambos sistemas, con la finalidad de encontrar fármacos mucho más específicos, que solo actúen sobre algún componente para provocar un estado de ansiólisis, que no afecte el resto de actividades cerebrales.

Es posible que la MEL, no sea la única hormona de la pineal con propiedades antiestrés. Esta glándula secreta más de 20 diferentes tipos de indoles, además de otros péptidos y de un grupo de compuestos conocidos como beta-carbolinas, estos últimos compuestos son particularmente interesantes. Existen autores que sugieren que estas beta-carbolinas constituyen el ligando endógeno para los receptores a las benzodiazepinas (57). Además su administración provoca efectos

ansiolíticos muy similares a los provocados por fármacos del tipo de las benzodiazepinas y clordiazepóxido (63). En estudios de binding, tanto la MEL como las beta-carbolinas incrementan la unión estereoespecífica de GABA y bloquean la asociación de benzodiazepinas con su receptor (109).

Por otro lado, estudios realizados en ratas pinealectomizadas, muestran que esta maniobra experimental es efectiva para reducir al máximo la concentración de MEL en el organismo (38). En el caso de los animales pinealectomizados, sólo observamos una disminución en el promedio de la longitud de las úlceras con respecto al grupo control, sin embargo este efecto no fue significativo. Además, en lo relacionado al número de úlceras, ocurrió lo contrario; es decir, existió un ligero aumento, aunque también este no fue estadísticamente significativo. La carencia de un efecto importante en estos grupos puede ser consecuencia del tiempo transcurrido entre la intervención y la realización del paradigma experimental. Probablemente ni 11, ni 22 días sean suficientes para provocar un cambio significativo. Algunos autores proponen que los efectos de la pinealectomía, cuando menos en la esfera reproductora; requiere de varias semanas para manifestarse completamente (38) mientras otros autores afirman que sus efectos pueden observarse en forma inmediata (77). Tal discrepancia puede deberse al tipo de conducta que se analiza y a los mecanismos de regulación de MEL que posean los individuos. En este caso en particular es probable que de encontrar algún efecto, éste se manifestaría después de los 22 días de haber realizado la pinealectomía.

Otro de los factores que parecen importantes para que ocurra la acción de la MEL, es la fase del fotoperíodo en que se realiza el experimento. Algunos estudios muestran que la facilidad e intensidad para provocar úlceras de estrés, es mayor durante la fotofase, en este período los niveles de MEL están muy reducidos (101), así como también la sensibilidad de los tejidos para con la hormona (9). La discriminación del fotoperíodo por parte del animal debe reducirse marcadamente en las ratas pinealectomizadas, puesto que éstas pierden la glándula que les prové de tal información. Por tal razón al utilizar animales pinealectomizados se corre el riesgo de emplear animales con muchos de sus ritmos biológicos desfasados con respecto al fotoperíodo (76). Esto implica que cuando se realiza el experimento a diferentes

DISCUSION

horas del día, es posible analizar esta respuesta en base al fotoperiodo. En el presente trabajo todos los experimentos fueron realizados alrededor de las 8:00 a 12:00 horas, lo que puede explicar la carencia del efecto que observamos.

Como continuación de este trabajo es necesario repetir este experimento en al menos cuatro horarios diferentes.

CONCLUSIONES

En su conjunto los resultados del presente estudio permiten concluir que:

- 1.- El modelo experimental utilizado, el cual combina dos procedimientos, uno de inmovilización y el otro de exposición a una temperatura de $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 4 horas, provoca un estado sumamente estresante que se caracteriza por la formación de un número significativo de úlceras gástricas, de longitud importante.
- 2.- Los efectos provocados por estos dos estímulos estresantes, se manifiestan de igual manera tanto en ratas macho como en ratas hembra; lo que hace concluir que no existen diferencias dependientes del sexo.
- 3.- Ni la administración de polietilenglicol, ni la falsa pinealectomía provocan diferencias significativas en la formación de úlceras por estrés.
- 4.- La pinealectomía tampoco provocó un cambio significativo en estos parámetros, cuando se analiza esta respuesta a los 11 y 22 días posteriores a su realización.
- 5.- La administración de MEL en dosis de 2.5 y 5.0 mg/kg provoca una importante reducción tanto en el número como en la longitud de estas úlceras.
- 6.- Es probable que este efecto sea de origen cerebral, es decir en las estructuras neuronales que modulan la respuesta al estrés, aunque no es posible descartar efectos periféricos sobre la acción de otras hormonas, como el cortisol, o incluso de efectos directos a nivel de la musculatura gástrica y de la misma secreción de jugo gástrico.
- 7.- La MEL en particular y la GP en general forman parte de un circuito neuronal que media las respuestas antiestrés en los organismos.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Alvarez, A. L., Delorenzi, A., Santajullana, D., Finkelman, S., Nahmod, V. E. and Pirola, C. J. (1992): Central bradykinergic system in normotensive and hypertensive rats, *Clin. Sci.*, 82: 513 - 519.
- 2 Alvarez del real, M.E. (1991) : Elimine el estrés en su vida diaria. Capítulos: I. El organismo y el estrés, II. Tensión, ansiedad, y realidad, III. Conozca su cuerpo. Editorial Americana, S.A. pp: 1 - 35.
- 3 Antón-Tay, F., A. Escobar y S. M. Antón (1962) : Estudios sobre la glándula pineal. II. Inhibición de la hipertrofia suprarrenal compensadora por la administración del extracto pineal. *Bol Inst. Estud. Biol.*, México 20: 281 - 285.
- 4 Antón-Tay, F. (1971): On the effect of melatonin upon human brain. Its possible therapeutic implications. *Life Sciences Vol. 10, part. I*, pp: 841 - 350.
- 5 Antón-Tay, F., Wurtman, R.J. (1969): Regional uptake of 3H- Melatonin from blood or cerebrospinal fluid by rat brain. *Nature* 221: 476 - 475.
- 6 Araki, M., Tokunagua F. (1990): Norepinephrine suppresses both photoreceptor an neuron-like properties expressed by cultured rat pineal gland. *Cell Differ. Deu* 31: 129 - 135.
- 7 Axelrod, J. y H. Weissbach (1951): Purification and properties of Hidroxyindol-O-metil-transferase. *J. Biol. Chem.* pp: 230: 211 - 213.
- 8 Balemans, M. G. M. (1979): Indole Metabolismo in the Pineal of the Rat; Some Regulatory Aspects. *Prog. Brain. Res.* 52: 221 - 229.
- 9 Barrell, G.K., Lapwood, K.R. and Elgar, H.J. (1985): FSH secretion in pinealectomized rams subjected to artificial photoperiods, *J. Endocrinol.*, 106: 167 - 171.
- 10 Bautista-Peña, S. y Pérez-Vargas, E. (1990): Inventario de respuestas y efecto del aprendizaje en ratas sometidas a nado forzado (Resumen). Tercer coloquio de investigación en psicología experimental.
- 11 Bone, F.J. *Anatomy and Physiology*. 2a ed. Edit. Reston Publishing Company. Virginia. 1982.
- 12 Borsini, F., y Mell, A. (1988): Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity?. *Psychopharmacology*. 94: 147 - 160.
- 13 Brooks, C.McC., T. Ishikawa, and K. Koizuma (1975): Autonomic system control of the pineal gland and the role of this complex in the integration of body function. *Brain Res.* 87: 181 - 190.
- 14 Brownstein, M.J. (1975): The pineal gland. *Life Sciences* 6.: 1363 - 1374.
- 15 Burnstock, G. (1979): Autonomic innervation and transmission. *British Medical Bulletin* 35 No.3: 255 - 262.
- 16 Cardinali D.P. (1981): Melatonin. A mammalian pineal hormone. *Endocrine Rev.*,

BIBLIOGRAFIA

- 2: 327 - 346.
- 17 Chan, M. Y., Pag, S. F., Tang and Brown, G. M. (1984) : Studies on the kinetics Melatonin and N-acetylserotonin in the rat at Mid-light and mid-dark. *Journal of Pineal Res.* 1: 227 - 236.
- 18 Chang, N., Spaulding, T.S. and Tseng, M.T. (1985): Inhibitory effects of superior cervical ganglionectomy on dimethylbenz(a) anthracene-induced mammary tumors in the rat, *J. Pineal. Res.*, 2: 331 - 340.
- 19 Clark, Brater J. *Farmacología Médica* Goth. Treceava edición. 1993. Editorial Mosby. Sección sexta: Anestésicos Capítulos: 38 - 37, pp: 375 - 405.
- 20 Cohen, M., Roselle, D., Chabner, B., Schmidt, T.J. y Lippman, M. (1978): Evidence for a cytoplasmic melatonin receptor. *Nature*, pp: 274: 894 - 895.
- 21 Dafny, N. (1977): Electrophysiological evidence of photic, acoustic and central input to the pineal body and hypothalamic. *Exp.Neurol.* 55: 449 - 457.
- 22 Dafny, N. (1980): Two photic pathway contribute to pineal evoked responses. *Life Sci.* 26: 737 - 742.
- 23 Datta, P.C. y M.G. King (1980): Effects on brain and behavior. *Neur. Biobh. Rev.* 4: 451 - 458.
- 24 Dropp, J. J. (1979) : Mast cell in the human brain, *Acta Anat.* 105: 505 - 513.
- 25 Ellis, G.B. y F.W. Turck (1979): Changes in locomotor activity associated with the photoperiodic response of the testes in male golden hamsters. *J. Comp. Physiol.*, 132: 227 - 284.
- 26 Foley, P.B., Calmcross, K.D. and Foldes, A. (1986): Pineal Indoles: Significance and measurement. *Neurosc. Biobehav. Rev.* 10: 273 - 293
- 27 Ganong, F. W. *Manual de Fisiología Médica. Capítulos: 25-26*, pp: 403-437. Sexta edición. Edit. El Manual Moderno. México, D.F. 1986.
- 28 Goldman, B.D. (1983): The physiology of melatonin in mammals. *Pineal Research Rev.* Vol.1, Ed. R.J. Reiter., Alan, R. Inc. New York. pp: 145 - 182.
- 29 Goodman, Gilman A., Goodman S. Louis, Rall, T.W., Nies. A.S. y P. Taylor (1991): *Las bases farmacológicas de la terapéutica.* Octava edición. Cap. 18. Argente, H., Beloso, W., y Davaro, R. (eds): *Los fármacos y el tratamiento de enfermedades psiquiátricas.* Editorial Panamericana México D.F. pp:345-383, 381-432, 420-426.
- 30 Goth, A. y Vessell, E., *Farmacología médica principios y conceptos.* 11a. ed. Edit. DOYMA. Barcelona. 1984.
- 31 Guyton, C. Arthur. *Tratado de Fisiología Médica. Unidad No. XII : Fisiología gastrointestinal. Capítulos:62-66.* pp:719-777. Octava edición. México, D.F. Editorial Interamericana. McGraw-Hill. México, D.F. 1991.
- 32 Hansen, J.T. y Karasek, M. (1982): Neuron or endocrine cell?, The pinealocyte as a paraneuron. In: *the pineal its hormones.* Ed: R.J. Reiter; pp: 1 - 9.

BIBLIOGRAFIA

- 33 Harlow, H.J., Damell, D.K. y J.A. Phillips (1982): Pinealectomy in ground squirrels: Effect on behavioral and physiological responses to heat stress. *Physiol. Behav.* 28(3): 501 - 504.
- 34 Heiman, M.L. and Porter, J.R. (1980): Inhibitory effects of a pineal extract on adrenal cortex. Lack of competition with ACTH, *Horm. Res.*, 12: 104 - 112.
- 35 Hendrickson, A.E., Wagoner, N. and Cowan, W.M. (1972): An autoradiographic and electron microscopic study of retino-hypothalamic connections. In the: *Z. Zellforsch.* 135: 1 - 26.
- 36 Hetta, J. (1990): Evaluation of drugs used in anxiety disorders. In the review *Psychopharmacol.*, 100: 563 - 571.
- 37 Hoffman, R.A. y Reiter, Russel J. (1965): Rapid pinealectomy in hamsters and other small rodents. *Anat. res.*, 153: 19 - 21.
- 38 Hoffman, R.A. y Reiter, Russel J. (1966): Responses of some endocrine organs of female hamsters to pinealectomy and light, *Life. Sci.*, 5: 1147 - 1151.
- 39 Hollister, L. E (1978): Clinical pharmacology of psychoterapeutic drugs. Ch 2: Antianxiety Drugs. Churchil Livingstone. New York pp: 12 - 49.
- 40 Hollister, L.E. (1984): Antianxiety agents. Ch 8: Clinical aspects of antianxiety agents. Burrow/Norman/Davies (eds). Elsevier Sci. Publishers. B.V. pp:107-125.
- 41 Illnerova, H. The effect of immobilisation on the activity of serotonin N-acetyl transferase in the rat epiphysis. pp: 129-36. In : E., et. al., ed. catecholamines and stress. Oxford. Pergamona. press. 1975c: 1976.
- 42 Jarvik, M.E. (1977): *Psychopharmacology in the practice of medicine.* Appleton Century Crofts Press. New York.
- 43 Jensen, D (1979): The principles of physiology. En: *Fisiología.* Alvarez, K.L., Espinosa, Z.R., Garst, A. y cols., (Eds). Primera edición. Interamericana (Ed). México D.F. pp: 1090 - 1122.
- 44 Jiménez, F.W. y Maraculla, Ma. J. *Fisiología.* Edit. Interam. México, D.F. 1971.
- 45 Kappers, J.A.: Short History of Pineal Discovery and Research *Prog. Brain Res.* 52: 3 - 22.
- 46 Kappers, J.A. (1960): The development topographical relations and innervation of the epiphysis cerebri in the albino rat. *Z. Zellforsch.* 52: 163 - 215.
- 47 Kappers, J.A. (1983): A survey of advances in pineal research in the pineal gland Vol. I (anatomy and biochemistry) Edited by Reiter R.J. CRC Press Boca Raton, Florida.
- 48 Katzung, G.B. *Farmacología básica y clínica.* Capítulo 21: Sedantes hipnóticos. Trevor, J. A., Way, W. L. Cuarta edición. Editorial El Manual Moderno, 1991. pp: 268 - 281.
- 49 Kenny, G.C., Scheellings, F.T. (1979): Observations of the pineal region of non-eutherian mammals. *Cell Tissue Res.* 198: 309 - 324.

BIBLIOGRAFIA

- 50 Khan, R., Burton, S., Morley, S. Daya, S, y Potgieter, B. (1990) : The effect of melatonin on the formation of gastric stress lesions in rats. *Experien.* 48:88-89.
- 51 Khan, R., Daya, S, y Potgieter, B. (1990): Evidence for a modulation of the stress response by the pineal gland. *Experientia* 46:860-862.
- 52 Klein, D. C., Reichlin, S., Baldessarini, R. J. and Martin, J. B. (1978) : The Pineal Gland: A model of neuroendocrine regulation. In: *The Hypothalamus.* edit. Raven Press. New York. pp:303-325.
- 53 Kopin, I.J., Pare, C.M.B., Axelrod, J., Weissbach H. (1961): The fate of melatonin in animals. *J. Biological Chemistry.* 236(11):3073-3075.
- 54 Korf, H.W., Moller M, Grey I., Zigler J.S., Klein D.C. (1985): Immunocytochemical demonstration of retinal s-antigen in the pineal organ of mammalian species. *Cell Tissue Res.*, 239:81-85.
- 55 Kuchel, G.A., Hellendall, R. and Blum, M. (1992): Transynaptic regulation of low-affinity p75 nerve growth factor receptor mRNA precedes and accompanies lesion-induced collateral neuronal sprouting. *Exp. Neurol.*, 118:73-84.
- 56 Kvetnansky, R., Kopin, I. J., and Klein, D. C., (1979) : Stress increases pineal epinephrine, *Commun. Psychopharmacol.*, 3:69-72.
- 57 Langer, S. Z., Lee, C.R., Segonzac, A., Tateishi, T., Esnaud, H., Schoemaker, H. and Winblad, B. (1984): Possible endocrine role of the pineal gland for 6-methoxytetrahydro- beta-carboline, a putative endogenous neuromodulator of the (3H) imipramine recognition site, *Eur. J. Pharmacol.*, 102:379-380.
- 58 Lea, N.P.P. (1990): Estrés por frío durante escotofase (Noche) provocó respuestas diferenciales en pineal de codorniz, retina y niveles de melatonina sérica. *Acta Endocrinologica (Copenh)*, 122(4):535-539.
- 59 Lerner, A.B. y Case, J.D. (1960): Melatonin. *Fed. Proc.*, 19:590-593.
- 60 Lerner, A.B. , Case, J.D., Takahashi, X., Lee, T.H. y W. Morri. (1958): Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *J. Am. Chem. Soc.*, 80:2587.
- 61 Litter, M. Compendio de farmacología. Cap. 11: Tranquilizantes mayores y menores. Cuarta edición. Editorial: El Ateneo, Argentina. 1988. pp:115-133.
- 62 Lovenberg, W., Jequier, E. y A. Sjoerdsma (1967): Tryptophan Hidroxilación. Measurement in pineal gland, brainstem carcinoid tumor. *Science* 155:217-219.
- 63 Lowenstein, P. R. and Cardinali, D. P., (1983) : Characterization of flunitrazepam and beta-carboline high affinity binding in bovine pineal gland. In the review *Neuroendocrinology*, 37:150-154.
- 64 Luchelli-Fortis, M.A., F.J.E.E. Stefano and C.J. Perez (1982): Degeneration activity of pineal gland after sympathetic denervation. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 321:298-301.
- 65 Mai, J. K., Semm, P. (1990): Pattern of brain glucose utilization following

BIBLIOGRAFIA

- magnetic stimulation. *J. Hirnforsch.* 31:331-336.
- 66 Martin, C., Melsli, H. (1992) : Effects of dopaminergic and noradrenergic mechanisms on the neural activity of the isolated pineal organ of the trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Neural Transm. Gen. sect.* 88:37-51.
- 67 Maurizl, C.P. (1984): Desordenes de la glanula pineal asociados con depresión, úlceras pépticas, y disfunciones sexuales. *Southern Medical Journal*, 77(12): December.
- 68 McCord, C.P. y Allen, F.P. (1917): Evidences associating pineal gland function with alterations in pigmentation. *J. Exp. Zool.*, 23:217-224.
- 69 Moore, R.Y. (1978): Neural control of pineal function in mammals and birds. *J. of Neural Transmission Suppl.* 13:47- 58
- 70 Moore, R.Y. (1979): The innervation of the mammalian pineal gland. *Prog. Reprod. Biol. Vol.4*; pp:1-29.
- 71 Minors, D.S. and Waterhouse, J.M. (1986): Circadian rhythms and their mechanisms, *Experientia.*, 42:1-13.
- 72 Naranjo-Rodríguez, E. and Reyes-Vázquez, C. melatonin exert a direct relaxing action on smooth muscle. *In press.*
- 73 Negoescu, I., Constantinescu, A., Zamfir Grigorescu, D. and Simescu, M. (1977): The inhibitory action of the pineal extract on TRH, *Endocrinologie.*, 15:35-40.
- 74 Nordlun, J.J. y A.B. Lemer. (1977): The effects of oral melatonin on skin color and on the release of pituitary hormones. *Journal Clin. Endocrinol. Metab.*, 45(4):768-774.
- 75 Oksche, A. (1965): Survey of the development and comparative morphology of the pineal organ. *prog. in brain res. Vol X*, pp:3-29.
- 76 Petterborg, L.J., Philo, R.C. and Reiter, R.J. (1980): The pineal body and pinealectomy in the cotton rat, *Sigmodon hipidus*, *Acta Anat. (Basel).*, 107:108-113.
- 77 Philo, R., Reiter, R.J. and McGill, J.R. (1979): Changes in brain dopamine, norepinephrine and serotonin associated with convulsions induced by pinealectomy in the gerbil, *J. Neural. Transm.*, 46:239-252.
- 78 Pineal Gland. *Edit. reikn R. Els. Sci. Publis. U.S.A.*
- 79 Quay, W. B. (1965): Histological structure and cytology of the pineal organ in birds and mammals. *Prog. Brain Res.* 10:49-86
- 80 Quay, W.B. (1965): Retinal and pineal Hydroxyindole-O-methyl transferase. *Life Sciences* 4:983-991.
- 81 Ralph, C.L. (1978): Cytology of the pineal gland: changes produced by various treatments, *J. Neural. Transm. Suppl.*, pp:25-45.
- 82 Ralph, C.L., B.T. Firth, A. Gem and D.W. Owens (1979): The pineal complex and thermoregulation. *Biol. Rev.*, 54:41-72.

BIBLIOGRAFIA

- 83 Reiter, R.J. (1981): The mammalian pineal: Structure and function. *Amer. J. Anat.* 162:287-313.
- 84 Reiter, R.J. The pineal gland. Vol I. Anatomy and biochemistry. CRC Press, Inc.
- 85 Reikín, Richard. The pineal gland. Ed. Elsevier Biomedical. 1983.
- 86 Reuven, Sandyk, Gavin I. Awerbuch, Stanley R. Kay. (1990): Pineal gland calcification and tardive dyskinesia. *The Lancet.* June 23, pp:1528.
- 87 Reyes Vázquez, C., afny N. (1985): Interaction of norepinephrine and superior cervical ganglion input the rat pineal body. *Exp. Neurol.* 90:522-528.
- 88 Reyes Vázquez, C., Prieto Gomez, B., Aldes, L.D. and Dafny, N. (1986): Rat pineal exhibits two electrophysiological patterns of response to microiontophoretic norepinephrine application, *J. Pineal. Res.*, 3:213-222.
- 89 Romijn, H.J. (1978): The pineal, a tranquillizing organ?. *Life Sci.*, 23:2257-2273.
- 90 Selye, Hans (1984): *The stress of life.* Ed. McGraw-Hill. Segunda edición.
- 91 Sigh, P.M., Mazumdar, S., Prasad, G.C. and Udupa, K.N. (1979): Brain and pineal biogenic amines in response to acute psychic stress, *Indian J. Exp. Biol.*, 17:1071-1073.
- 92 Smith, Cedric M., Reynard, Alan M. *Farmacología.* Editorial Médica Panamericana. 1993. III: *Farmacos que actúan sobre los sistemas sensorial y nervioso central.* Capítulos:15-27, pp:179-390.
- 93 Soly Bensabat. *Stress. Grandes especialistas.* Segunda edición. Editorial MENSAJERO, 1987.
- 94 Sullivan, D.A. and Allansmith, M.R. (1987): Hormonal influence on the secretory immune system of the eye: endocrine interactions in the control of IgA and secretory component levels in tears of rats, *Immunology.*, 60:337-343.
- 95 Susan R. Burchfield, *Psychosomatic Medicine* Vol 41, No. 8 (December) (1979): The stress Response: A new perspective 661-672
- 96 Tang, P.L. y S.F. Pang (1988): Changes in melatonin levels in the pineal, serum, and brain in male rats follows the removal of the retina and retina plus harderian gland. *Neurosc. Lett.*, 10(suppl.):473.
- 97 Ueck, M. (1979): Inervation of the pineal. In: J.A. Kapperd and P. Pevet (eds). *The pineal gland of vertebrates Including man (Progr. In Brain Res., Vol. 52)* Elsevier, Amsterdam, pp:45-88.
- 98 Ueck, M. y Pevet, P. (1979): Inervation of the pineal In: *Inervation Vertebrate Pineal. Prog. Brain. Res.* 52:45-88.
- 99 Underwood, H. (1989): The pineal and melatonin. Regulators of circadian function in lower vertebrates. *Experientia* 45(10):914-922.
- 100 Walker, R.F., McMahon, K.M. and Pivorun, E.B. (1978): Pineal gland structure and respiration as affected by age hypocaloric diet, *Exp. Gerontol.*, 13:91-99.
- 101 Wallen, E.P., DeRosch, M.A., Thebert, A., Losee Olson, S. and Turek, F.W. (1987):

BIBLIOGRAFIA

- Photoperiodic response in the male laboratory rat, *Biol. Reprod.*, 37:22-27.
- 102 Wilson, A.J. *Principles of Animal Physiology*, 2a. ed. Edit. MacMillan Publishing Co.Inc. New York, 1979.
- 103 Winkler, Peter and Helmke, Knut (1987): Age-related incidence of Pineal Gland calcification in children: A roentgenological study of 1,044 skull films and a review of the literature. *Journal of Pineal Research*, 4(3):247 - 252.
- 104 Wise, D., Berger, B.D. y L. Stein (1972): Benzodiazepines: anxiety-reducing activity by reduction of serotonin turn over in the brain. *Science* 177:180-183.
- 105 Wurtman, R.J. y F. Antón-Tay (1969): The mammalian pineal as a neuroendocrine transducer. *Rec. Prog. Hormone. Res.*, 25:493-514.
- 107 Wurtman, R.J., Axelrod, J. y Kelly, D.F. (1968): *The pineal anatomy*. Ed: Academic Press New York. London.
- 108 Wurtman, R.J. (1975): The effect of light on man and other mammals. *Ann. Rev. physiol.*, 37:467-483.
- 109 Wurtman, R.J., Axelrod, J. (1963): Melatonin synthesis in the pineal gland: control by light. *Science*, 142(22):1071-1073.
- 110 Yang, H. Y. and Neff, N. H. (1976) : N - acetyltransferase of brain : some properties of the enzyme and the identification of beta-carboline inhibitor compounds, *Mol. Pharmacol.*, 12:69-72.
- 111 Zamorano-Velazco, E.J., Naranjo-Rodríguez, E.B. y C. Reyes- Vázquez (1992): Prototipo de un contador-estimulador electrónico para el análisis de efectos ansiolíticos farmacológicos. XXV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Xalapa Ver.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**