

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"CUAUTITLAN"

ANALISIS DE LAS ACCIONES ANSIOLITICAS
DE LA MELATONINA Y EL 5-HIDROXITRIPTOFOL
EN LA RATA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A:
EVA ELOINA HERNANDEZ AVITIA

ASESOR INTERNO:
O.F.B. LIDIA RANGEL TRUJANO
F.E.S. CUAUTITLAN

UNAM

ASESORES EXTERNOS:
DRA. EN C. ELIA B. NARANJO RDZ.
FAC. DE QUIMICA UNAM
FAC. DE MEDICINA UNAM
DR. EN C. CRUZ REYES-VAZQUEZ

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

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

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FEG-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 la TESIS TITULADA:

"Análisis de las acciones ansiolíticas de la Melatonina y el 5-Hidroxitriptofol en la rata"

que presenta la pasante: Eva Floina Hernández Avitia
con número de cuenta: 8857303-B para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida 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"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 13 de diciembre de 1995

PRESIDENTE	<u>M.V.Z. Jorge Torres Martínez</u>	
VOCAL	<u>M. en C. Luisa Martínez Aguilar</u>	
SECRETARIO	<u>Q.F.B. Lidia Rangel Trujano</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>Q.F.B. Ma. Eugenia R. Posada Galarza</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>M. en C. Francisco López Mejía</u>	

Gracias a todos los profesores de mi facultad y en especial a los maestros
que integran el jurado:

M.V.Z. Jorge Torres Martínez

M. en C. Luisa Martínez Aguilar

Q.F.B. Lidia Rangel Trujano

Q.F.B. Ma. Eugenia R. Posada Galarza

M. en C. Francisco López Mejía

Estas líneas son un breve agradecimiento escrito, a Dios, por darme vida hasta ahora al lado de las personas que quiero; a mis padres que han dedicado todo su cariño y esfuerzo a nosotros, sus hijos. Les doy las gracias por representar para mí un ejemplo de amor y deseos de superación en todos los sentidos.

Mamá te agradezco la forma positiva en la que me transmites apreciar la vida, de manera que consigues hacer de mis problemas experiencias útiles para continuar.

Papá sé que tus consejos y tu concepto del mundo, han sembrado en mí firmes convicciones, que hacen de mi vida un pasaje lleno de enseñanzas.

A mis hermanos Kocko, Beny y Vicko les agradezco ser mis más grandes e incondicionales amigos. Dios quiera que siempre seamos una.

Miguel Angel tus oportunas palabras de aliento y los momentos felices que compartimos determinan parte muy importante de este proyecto. Gracias.

Por su paciencia, apoyo y confianza en este lagra, mi gratitud.

Gracias a quienes son también parte de mi familia, Alex Valenzuela y Daniel Segovia por compartir con nosotros su tiempo.

A toda mi familia y especialmente a: Elizabeth, Eunice y Homero Hernández Aguirre, Doña Ma, Eva, Rosa Elia, Othón y Hector Avitia Frías también les agradezco muy sinceramente participar en mi formación y el poder contar siempre con ustedes.

Un gracias muy grande para el Doctor Cruz y la Doctora Elia puesto que con su ayuda éste propósito fué una experiencia que me dejó

muchísimo mas que solo conceptos teóricos.

Mis amigos, Mónica, Vicky, Miguelito, Laura, Guille, Iliana muchas gracias pues de todos he aprendido cosas positivas.

Pienso que todos los gracias del mundo escritos no valen nada si no se respaldan de acciones que los sustenten, pretendo no defraudar nunca a las personas que confían en mí, esa me parece una sencilla manera de corresponder al cariño que de todos he recibido.

CONTENIDO

PROLOGO.....	1
I. GENERALIDADES.	
a. Glándula Pineal: Consideraciones anatómicas y fisiológicas.....	3
b. Melatonina y 5-Hidroxitriptofol	8
II. ANSIEDAD.....	16
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	19
a. Objetivos.....	20
b. Hipótesis.....	20
IV. MATERIAL Y MÉTODOS.....	21
V. RESULTADOS.....	29
VI. DISCUSIÓN.....	38
VII. CONCLUSIONES.....	44
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

PROLOGO

El equilibrio psicológico humano es un aspecto fundamental para el desarrollo de la actividad propia de esta especie; por lo tanto, las alteraciones de este equilibrio constituyen un importante punto de estudio de las ciencias; a fin de controlar y evitar que tales alteraciones trastornen la evolución del hombre en general.

Entre las alteraciones psicológicas, la ansiedad es uno de los padecimientos más comunes de la conducta humana, se trata de un suceso común a todos los individuos y constituye un mecanismo útil de adaptación fisiológica ante los problemas de la vida cotidiana de un ser humano (5, 23, 24).

Desde un punto de vista biológico la ansiedad se vincula a tres principales sistemas neurales: el sistema activador reticular, el sistema límbico y el hipotálamo. Todos estos sistemas constituyen porciones del sistema nervioso central, implicadas en la vida de relación y se les atribuye conductas emocionales (19, 54, 60).

La ansiedad es una sensación percibida de acuerdo a la idiosincrasia de cada sujeto y cuya magnitud se manifiesta en relación con la experiencia de cada individuo (5, 19, 23, 24).

Actualmente, existe una gran variedad de sustancias que atenúan los signos y síntomas característicos de la ansiedad; dentro de ellos, los más utilizados son las benzodiazepinas; éstas son compuestos químicos que poseen varias actividades: ansiolítica, sedante, hipnótica y anticonvulsiva. Desgraciadamente también poseen importantes efectos adversos (5, 23, 24); lo que ha propiciado la búsqueda de sustancias ansiolíticas que carezcan de los efectos indeseables de las benzodiazepinas. Dentro de este contexto se describió que la Melatonina (Mel), un indol sintetizado y secretado por la glándula pineal, provoca efectos similares a las benzodiazepinas. Este indol, también modifica diferentes parámetros cerebrales y conductuales, así

como la reproducción, el embarazo y el parto en roedores (19, 26, 52, 60).

La Glándula Pineal (GP) ó "epifisis cerebri" también produce otros 5-Metoxindoles, como son los indoles asociados al ácido acético y los triptofoles. Dentro de estos últimos, se encuentra el 5-Hidroxitriptofol (5-OHTL), el cual muestra algunos efectos similares a los de la Mel.

La administración de Mel o de algunos de sus indoles relacionados, inducen sueño y sedación; además, en animales epilépticos y en dosis mayores producen un estado anticonvulsivo (2, 16, 32, 39, 43, 47, 52, 66). Estos efectos sugieren que estas hormonas pueden provocar además, otras acciones características de las benzodiazepinas tales como la ansiólisis. Este trabajo, pretende analizar el papel ansiolítico de la Mel y de el 5-OHTL, en una situación de ansiedad, para ello utilizaremos el modelo de conflicto de Vogel, el cual es utilizado para el cernimiento y caracterización de los diferentes fármacos empleados en el tratamiento de la ansiedad.

1. GENERALIDADES

a. Glándula Pineal.

Consideraciones anatómicas y fisiológicas.

La GP fue descrita desde la antigüedad, a través de los estudios de Herófilo y Torcuato quienes detallaron su anatomía y localización. A pesar de ello, su función fue un completo misterio durante siglos. Autores como Descartes, la consideraron como "el asiento del alma", mientras que Aristóteles la concibió como una válvula que regula el flujo de los pensamientos. En la cultura hindú se le consideró como el órgano de la clarividencia y la meditación, sugiriéndose que la GP funcionaba como un tercer ojo, a través del cual podían observarse los estados psíquicos del individuo y el aura humana (11, 26, 33).

Embriológicamente el origen de la GP es ectodérmico, semejante al de los ojos y es el resultado de una invaginación diencefálica (26, 50, 64). Esta glándula es anatómica y funcionalmente distinta en las diferentes escalas zoológicas. Así en animales inferiores, se deriva de una estructura fotorreceptora similar estructuralmente a los ojos laterales; mientras que en animales superiores, se transformó en una estructura meramente glandular. Además, en animales inferiores como los reptiles, más que hablar de una glándula única, debemos referirnos a un complejo pineal, formado por el órgano parapineal y la paráfisis, estructura ésta última conformada sólo por fibras nerviosas (11, 23, 26, 48).

En la rata, la GP es una estructura epitalámica cubierta por la pia madre y adosada al techo del tercer ventrículo. Posee un tallo el cual en el extremo posterior del cuerpo calloso se une a las comisuras posterior y habenuar. Además de ser de tipo sacular con sus paredes en contacto continuo con el líquido cefalorraquídeo (LCR). Debido a

que carece de barrera hemaloencefálica es considerada como un órgano circunventricular (FIGURA 1) (11, 22, 48, 50, 60). El parénquima de la pineal puede adoptar una configuración oval, esferoide o piriforme, su peso en la rata es de aproximadamente 1 mg, con un diámetro de 2 mm; mientras que en los humanos su peso varía entre 50 y 150 mg con un diámetro que puede llegar hasta los 5 mm (5, 9, 23).

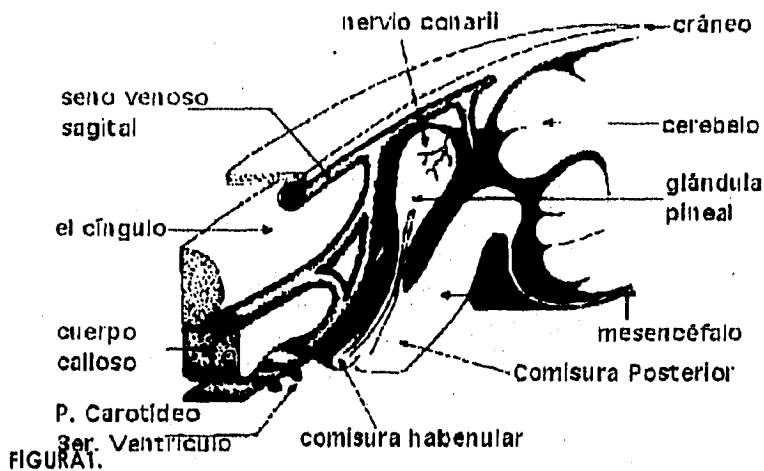


FIGURA 1.

1. Representación esquemática de un corte longitudinal de la GP de la ratona donde se muestran sus relaciones anatómicas con el resto de las estructuras epitalámicas.

La GP es el órgano cerebral más irrigado en relación a su peso. La unidad funcional de esta glándula es el pinealocito, los cuales constituyen el 85% del total de la masa pineal; mientras que el 15% restante lo conforman las células de sostén y las terminales nerviosas. La principal aferencia nerviosa de la pineal, en los mamíferos la

conforman las fibras simpáticas originadas en los ganglios cervicales superiores, cuyo neurotransmisor es la norepinefrina (NE) (11, 42, 50, 66).

Experimentalmente se mostró que la GP responde a estímulos de muy variada modalidad, entre ellos, al sonido, la temperatura, los campos electromagnéticos, la luz y a los estímulos neurales simpáticos, habenuares y parasimpáticos. Esta glándula también responde a varias hormonas, principalmente a las tiroideas y esteroidales (14,19). En el hombre, su actividad secretora es mayor en la adolescencia que en la madurez; presentando un estado paulatino de calcificaciones, las cuales consisten en sales de carbonato y fosfato de calcio y magnesio. Este fenómeno hace posible detectarla en las placas radiográficas, como pequeñas opacidades conocidas como "arena pineal". Aunque la calcificación de la GP reduce su función secretora, ya que la producción de MEL en los seres humanos; se reduce conforme avanza la edad, ésta nunca desaparece (63, 65).

La pineal es un órgano que provee información sobre las condiciones fóticas ambientales al sistema nervioso central, a través de una vía de transmisión neuroendócrina. Esta información es utilizada para modular la actividad del eje hipotálamo-hipofisario, del cual derivan una gran variedad de hormonas. Es por esta función que la GP se le considera como un órgano fotoneuroendócrino o transductor neuroendócrino, ya que capta estímulos lumínicos y los transforma en una respuesta hormonal (11, 18, 19, 21, 26, 36).

La transmisión de la información fótica hacia la pineal puede realizarse al menos por dos mecanismos. Así, en el caso de los vertebrados inferiores, el estímulo fótico alcanza a la glándula de manera directa, debido a que la pineal se encuentra exactamente debajo de un adelgazamiento óseo el cual permite la transmisión lumínica (15, 19, 36).

Por otro lado en los vertebrados superiores la luz es captada en la retina de los ojos laterales por los fotorreceptores correspondientes los cuales transducen esta señal e inician la generación de potenciales de

acción, para ser transmitidos a través de un circuito neural específico. En particular, la vía nerviosa que alcanza esta glándula involucra varios centros hipotalámicos, a las hastas laterales de la médula espinal, al ganglio cervical superior, al nervio conarlo y por último a la GP (15, 19, 36) (FIGURA 2). La información fóptica a través de esta vía modula la síntesis de hormonas indólicas, las cuales ejercen múltiples actividades biológicas.

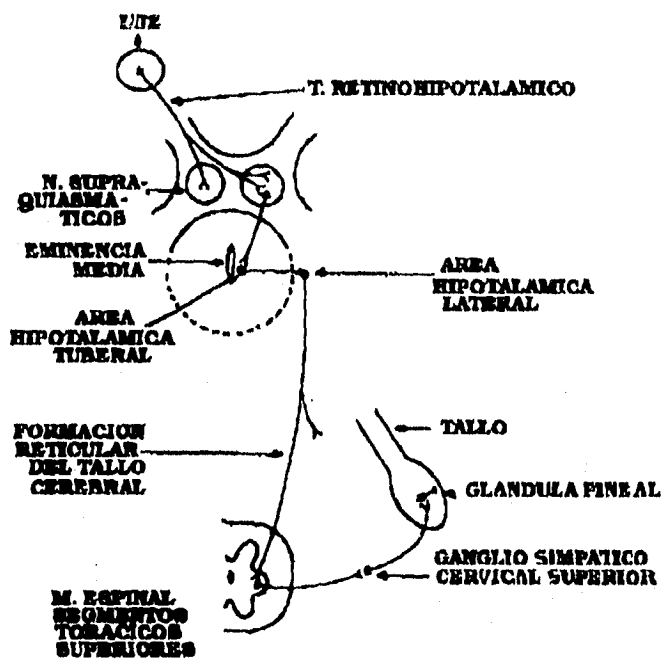


FIGURA 2. Representación esquemática de las vías y núcleos neurales de la rata implicados en la transmisión de la información fóptica que alcanza la GP.

La relación entre la luz y la secreción de hormonas de la pineal

implica una liberación cíclica de estos indoles en un lapso de 24 horas; es decir, conforma un ritmo circadiano. Este par de particularidades le confieren a la pineal la posibilidad de mediar los cambios fisiológicos necesarios para adaptarse al fotoperiodo ambiental (6, 28, 36, 60).

Estudios realizados en roedores y otros mamíferos como cabras, ovejas y carneros, a los que se les manipulan los ciclos de luz-obscuridad, creando con ello un fotoperiodo artificial, muestran una alteración significativa en su reproducción. Esta modificación se relaciona básicamente con la relación temporal del apareamiento y como consecuencia del alumbramiento, lo cual se asocia con una reducción muy importante en el número de descendientes. Estos hallazgos muestran que tan importante es la función pineal para que se lleve a cabo la sincronización de la actividad neuroendócrina reproductora con la estación de año (4, 6, 11, 12, 18, 19, 55).

La GP también ejerce efectos importantes sobre el sistema nervioso central tales como sedación, hipnosis, actividad anticonvulsiva y posiblemente ansiólisis (1, 2, 22, 30, 32, 35, 39, 41, 43, 47, 52).

Actualmente se han descrito una gran cantidad de efectos en muchas funciones neurales y no neurales, provocados por las sustancias activas que la GP sintetiza y libera, por lo cual se dificulta definir su campo de acción.

b. Melatonina (Mel) y 5-Hidroxitriptofol (5-OHTL)

La hormona de mayor producción en la GP es la Mel, esta sustancia es a su vez la más estudiada, y a la que se le atribuyen la mayoría de las funciones de la GP. Su estructura química se caracterizó por Lerner y Cols. en 1958, y su nombre surgió por la semejanza funcional que ésta hormona posee, con la melanina. Su administración en renacuajos provoca un aclaramiento de la piel, resultado de una agregación de gránulos de melanina alrededor de los melanóforos (19, 37, 38, 56).

La síntesis de la Mel no es exclusiva de la GP, se produce también en la retina, la glándula Harderiana y el intestino (57). Esta síntesis es el resultado de una larga serie de etapas enzimáticas que se inician con la captura del triptófano, aminoácido precursor de la misma, por los pinealocitos. Inicialmente se produce una hidroxilación la cual es catalizada por la enzima hidroxilasa del triptófano, enzima limitante de esta síntesis. El resultado de esta reacción es la obtención del 5-Hidroxitriptófano. Una subsecuente descarboxilación llevada a cabo por la descarboxilasa de aminoácidos L-aromáticos da origen a la 5-Hidroxitriptamina (5-HT) o serotonina, la cual es un importante neurotransmisor en muchas regiones del sistema nervioso, además de que existe en considerables cantidades en el intestino y el útero. La siguiente etapa es una acetilación realizada por la enzima N-acetiltransferasa (NAT), la cual responde a la influencia adrenérgica, la acción de esta enzima da como resultado la N-acetilserotonina; compuesto que puede ser nuevamente hidroxilado ó bien metilado para originar ya sea 5-Hidroxitriptofol, ó Melatonina, respectivamente. En esta etapa de la vía metabólica que sintetiza a los 5-Metoxindoles interviene la enzima hidroxindol - O - metiltransferasa (HIOMT), cuya presencia es indicativa de la existencia Mel (FIGURA3) (19, 56).

Las hormonas indólicas producidas por la GP se clasifican en tres grandes subgrupos: los 5-Metoxindoles, los 5-Triptofoles y los derivados indólicos del ácido acético (19).

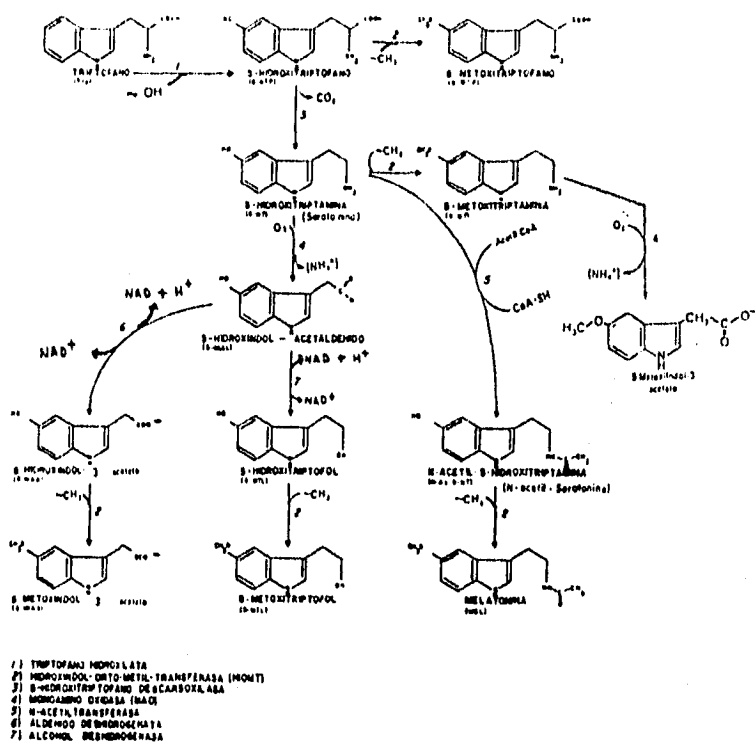


FIGURA 3. Vías metabólicas de la síntesis de indoles pineales (19).

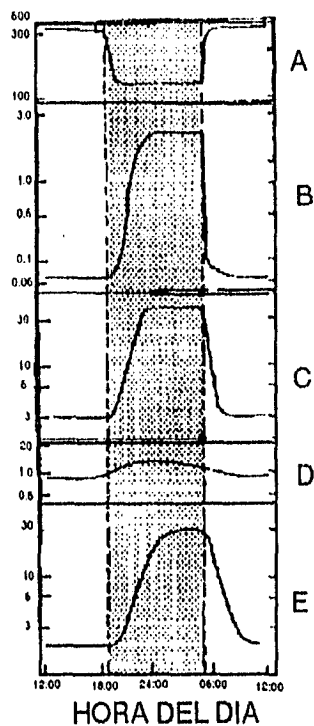


FIGURA 4. Representación de la variación en la concentración de los metabolitos y las enzimas involucradas en la síntesis de la Mel en la GP. Puede observarse que los niveles diurnos de Mel, son aproximadamente diez veces menores a los observados en la fase nocturna. A, C y E corresponden a la concentración ($\mu\text{M}/\text{mg}$) de serotonina, N-acetilserotonina y melatonina, respectivamente. Mientras que B y D representan la actividad ($\text{nM}/\text{mg}/\text{hr}$), de las enzimas N-acetiltransferasa e Hidroxil-indol-orto-metil-transferasa, también respectivamente.

La concentración de los productos indólicos de la GP alcanzan su máximo nivel durante el período de oscuridad o escotofase, mientras que la cantidad de estas sustancias son indetectables en los períodos más iluminados del día, es decir, durante la fotofase (FIGURA 4). En particular las concentraciones más elevadas de Mel en la GP de la rata varían entre 2.5 y 30.0 pmoles/mg los niveles más elevados se alcanzan aproximadamente a las 4:00 hrs, mientras que la cantidad mínima de éstos, se detecta al iniciar el período iluminado aproximadamente a las 14:00 hrs (19, 24, 51).

La relación entre el fotoperíodo y los niveles de melatonina implica la existencia de un ritmo estacional y anual en la secreción de este indol. Es decir en aquellos meses del año en los cuales la fotofase se reduce, como ocurre en las estaciones de otoño e invierno, los niveles de melatonina se incrementan con respecto a aquellas estaciones con mayor fotofase, es decir primavera y verano.

Los productos pineales son secretados hacia el torrente sanguíneo mediante difusión simple. La vida media de la Mel en el suero de la rata es de 18 a 24 min. y su degradación metabólica se lleva a cabo principalmente por el hígado, a través de la conversión en 6-hidroximelatonina para ser conjugada posteriormente con el ácido glucurónico. Finalmente estos metabolitos son excretados por la orina y las heces (3).

Entre los efectos que la Mel provoca en el SNC, su acción sedante fue la primera en demostrarse. Esta acción resulta muy importante en los sujetos que padecen de convulsiones ya que la administración de Mel en ratas, ratones, gatos y seres humanos disminuye significativamente, tanto la intensidad como la frecuencia de las crisis convulsivas con una tendencia hacia la normalización de los patrones electroencefalográficos (1, 2, 32, 39, 47).

Por otra parte la acción hipnagógica de la Mel se manifiesta ya sea después de implantarla directamente en el cerebro en gatos, o bien por su aplicación sistémica en pollos y ratas. Usualmente se

obtienen registros electroencefalográficos muy similares a los registrados durante la fase de sueño de onda lenta (22, 30). La acción hipnogénica de la Mel también se observa en humanos con una dosis única de 50 mg de Mel. En estos sujetos la hormona produjo una potente inducción de sueño, sin alterar el patrón o la frecuencia de las fases del mismo, lo que implica que la Mel produce un sueño muy similar al fisiológico (2, 21)

También en los humanos la Mel induce efectos conductuales. Así la administración de dosis únicas de 20-50 mg en adultos sanos produce sedación, tranquilidad y sensación de bienestar (21). Aunque algunos estudios muestran que su administración repetida puede inducir una fatiga crónica (2)

La alteración en el ritmo circadiano y estacional con el que se sintetiza y libera la Mel, sugiere su asociación con ciertas patologías mentales; como la depresión con melancolía, en la cual los patrones de Mel se encuentran fuera de fase con respecto a las personas sanas. Apenas hace una década que se involucró a esta hormona en el padecimiento clínico de reciente caracterización denominado depresión afectiva estacional. Las manifestaciones de este padecimiento se presentan en los meses de invierno y otoño y desaparece en verano y primavera. Se trata de una depresión caracterizada por síntomas como fatiga, exceso de sueño, hiperfagia y obesidad; la fototerapia disminuye hasta en un 80% los síntomas de esta depresión por lo que se implica la secreción de Mel como el factor desencadenante de este desorden. Además los experimentos realizados en este tipo de padecimientos concluyen que los efectos de la fototerapia sobre la síntesis de Mel son resultado de una acción de la intensidad de la luz y no del tiempo de exposición al estímulo lumínico. (58, 64)

Posiblemente sea en la esfera de la reproducción donde se han estudiado con mayor profundidad el efecto de las sustancias derivadas de la GP. el estudio de la relación entre la pineal y la reproducción se

inició en 1898 cuando se relacionó la presencia de un pinealoma con los síntomas de pubertad precoz (6).

Varios estudios han mostrado que el fotoperíodo y el patrón de síntesis y liberación de Mel regulan los cambios gonadales que se suceden en las especies de mamíferos que muestran una reproducción estacional. El mejor ejemplo de esta aseveración son los estudios de Reiter realizados en hamsters. Este autor observó que en las estaciones con fotoperíodos cortos, otoño e invierno, se presentan cambios atróficos gonadales provocados por un incremento sérico de los factores antigonadotrópicos pineales particularmente la Mel, lo cual da como resultado la inactividad de las gónadas. Contrariamente durante la primavera y el verano, estaciones con fotoperíodos largos la cantidad de los factores antigonadotrópicos se reduce considerablemente y en consecuencia el aparato reproductor de este tipo de animales se encuentra en condiciones fisiológicas óptimas (4, 49).

La ablación de los ojos frontales y el mantener a los animales en oscuridad continua induce observaciones similares, lo cual indica que la integridad del sistema pineal es indispensable para la función de los órganos reproductores. De esto se infiere que el fotoperíodo mantiene las condiciones requeridas para la reproducción estacional (6, 18, 49)

La participación de la GP en la reproducción, se manifiesta también en los efectos que la pinealectomía causa en diferentes especies animales; por ejemplo cuando ésta se realiza en roedores se presenta una apertura vaginal precoz, con ovulación temprana y aumento en la secreción de prolactina, LH, FSH en la hembra y de testosterona en el macho. En el caso de animales preñados la liberación de LH, prolactina, progesterona y estradiol se incrementan. Por el contrario los desórdenes que el incremento de la actividad de la GP causa a nivel hormonal lleva al retardo de la actividad sexual en el animal (4, 6, 19).

En el caso del 5-OHTL, varios indicios experimentales muestran que

este indol ejerce efectos sobre el sistema nervioso central, modificando la conducta, la actividad electroencefalográfica y algunos aspectos del metabolismo cerebral; además de sus efectos sobre aparato reproductor de roedores (16, 19, 55, 56).

El 5-OHTL se identificó en 1962, inicialmente se sugirió que se trataba de un mediador de algunos de los efectos sedantes de la GP, ya que es capaz de inducir sueño en ratas y ratones (48, 55). Además durante algunas enfermedades depresivas con alteraciones en las patrones de sueño se encuentran cantidades sumamente reducidas de 5- Hidroxiptotol , lo cual sugiere la participación de éste indol como causa etiológica de éste padecimiento.

La relación entre la pineal y el estrés ha sido resultado de varias situaciones experimentales; así, cuando se expone a las ratas a situaciones de estrés agudo (como son el frío, la hipoglucemia o la Inmovilización) se observa un incremento en la producción y secreción de Mel. Tomando en cuenta los efectos sedantes e hipnóticos de esta hormona, se sugiere entonces que este indol se sintetiza en respuesta a situaciones estresantes como un mecanismo que revierte los efectos característicos de las catecolaminas, (noradrenalina y adrenalina) neurotransmisores que median los efectos del estrés. De esta manera resulta que la Mel ejerce efectos "tranquilizantes" (2, 26, 35, 43, 52).

Dentro de los circuitos neurales implicados en el fenómeno de la ansiedad y de la ansiolisis; los sistemas neurales que utilizan al GABA y la serotonina como neurotransmisores, revisten una importancia fundamental. Estos sistemas se encuentran distribuidos a todo lo largo del sistema nervioso central, principalmente en las regiones del sistema límbico, es decir, en aquellas porciones involucradas en la conducta afectiva de los individuos. El papel significativo que los sistemas GABAérgicos y serotoninérgicos ejercen en el fenómeno de la ansiedad se pone de manifiesto cuando se muestra que todos los fármacos ansiolíticos empleados en la actualidad; actúan para modificar de alguna manera a las neuronas que contienen a estos neurotransmisores.

Hasta ahora el mecanismo de acción que utiliza la Mel y el resto de los derivados Indólicos en el sistema nervioso central es desconocido. Sin embargo la semejanza de sus efectos con aquellos provocados por los fármacos que actúan vía GABA o serotonina, del tipo de las benzodiazepinas o la buspirona como son sedación, hipnósis, anticonvulsión, entre otros sugiere una conexión entre los indoles y los sistemas mediados por GABA o serotonina (5, 10, 24, 54). Estos efectos pueden ser resultado de una modulación de la actividad del receptor GABAérgico o serotoninérgico por parte de estos indoles, lo cual incrementa la acción de sustancias ansiolíticas, anticonvulsivas y sedantes-hipnóticos y relajantes musculares.

Sin embargo aunque existen indicios bioquímicos que asocian a varios indoles de la pineal con los receptores GABAérgicos ó serotoninérgicos (6), desde un punto de vista conductual tal asociación no ha sido descrita.

II. Ansiedad.

La alteración psicológica más frecuente en "el mundo moderno" es la ansiedad, ésta se concibe como un estado de inquietud psiconeural con numerosas repercusiones fisiológicas. La ansiedad es una combinación de sensaciones subjetivas y actitudes características; en esta alteración se presentan un aumento de la tensión emocional, expectación aprensiva, temor, preocupación, dificultad para dilucidar una solución alterna o para concentrarse. Estas sensaciones subjetivas frecuentemente producen signos clínicos, tales como, temblores, estremecimiento, aumento en la tensión muscular, hiperactividad autonómica, y de los aparatos respiratorio, cardiovascular, urinario y gastrointestinal. Además se observa un estado de hipervigilancia y actitud de alerta, estas condiciones podemos concebirlas como reacciones apropiadas y en algunos casos beneficiosas en circunstancias amenazadoras (5, 10, 23, 63).

El fenómeno de la ansiedad se clasifica de distintas maneras, por un lado la ansiedad puede considerarse como un fenómeno secundario, surgido en estados patológicos orgánicos (infarto al miocardio, angina de pecho, accidentes, intervenciones quirúrgicas, etc.) ó bien presentarse por circunstancias únicas ó reiterativas, denominándose esta última como ansiedad de momento (21). Otra clasificación las separa en dos subgrupos: pánico, en el cual el individuo, percibe sensaciones terroríficas, que lo obligan a la adopción de una personalidad aparentemente desvalida, y la ansiedad anticipatoria la cual se caracteriza por un temor menos pronunciado, y la cual es resultado de la evaluación de una determinada situación que le provocaría pánico al individuo (61).

La ansiedad es un trastorno característico en los estados psiconeuróticos, en grado leve, puede concebirse como una reacción estimulante para el hombre y solo se requiere atención médica cuando

ésta rebasa un punto crítico y se torna psicológicamente paralizante (24, 61).

La atención médica que un individuo debe recibir cuando sufre de constantes ataques de ansiedad o bien cuando permanece en un estado continuo de ansiedad, está encaminada a suministrar un tratamiento ansiolítico.

El verdadero tratamiento consistiría en eliminar aquellos factores del ambiente psicosocial del individuo que están provocando tales alteraciones. Sin embargo debido a la complejidad etiológica del padecimiento, el enfoque farmacológico, que está encaminado a administrar sustancias que atenúen o nulifiquen la reacción emocional producida por la ansiedad, el más empleado.

La búsqueda de sustancias con capacidad de disminuir las manifestaciones del estrés y la ansiedad, ha conducido al desarrollo de fármacos con características sedantes y con poca especificidad sobre los fenómenos mencionados; tal es el caso del alcohol etílico y de los barbituratos. Sin embargo, en 1957 se lanzaron a la venta las primeras benzodiazepinas (23), sustancias que mostraron por primera vez, efectos más específicos sobre la ansiedad, que los compuestos que hasta ese tiempo se habían utilizado (20, 23, 40, 61).

Este tipo de compuestos muestran su acción farmacológica ansiolítica sobre diferentes modelos que utilizan animales de laboratorio, los cuales emplean como factor básico de ansiedad una situación de conflicto (23, 44).

Las benzodiazepinas ejercen acciones hipnóticas y anticonvulsivas, por lo que poseen una implicación terapéutica importante en la epilepsia (40, 44). Sin embargo, los efectos clínicos que éstas sustancias poseen, solo son superados por los abundantes efectos adversos indeseables de las mismas. Estos constituyen toda una gama que involucra a varios órganos y sistemas de la economía. De entre los muchos efectos indeseables se pueden mencionar: ataxia, cefalea, fiebre, somnolencia, náuseas, vómitos, diarrea, flacidez muscular,

palpitaciones y sequedad bucal. Se han reportado además importantes efectos teratogénicos, así como alteraciones en los períodos menstruales. En cuanto a los efectos psicológicos indeseables se encuentra la disminución en la capacidad cognoscitiva y la dificultad para concentrarse (24, 27, 54).

Tal cantidad de efectos colaterales indeseados de los medicamentos ansiolíticos más comunes, obliga a la búsqueda de fármacos con igual o superior especificidad para tratar a la ansiedad, al estrés y la tensión pero que carezcan de la enorme cantidad de efectos colaterales que las benzodiazepinas poseen.

En este sentido por las acciones fisiológicas descritas para la Mel y otros indoles afines, se sugiere la posibilidad de que tales hormonas pineales puedan considerarse como parte de estos compuestos.

III. Planteamiento del problema

Si las situaciones de estrés crónico inducen una hiperfunción de la glándula pineal; con un incremento en las concentraciones séricas de Mel, la cual a su vez revierte los efectos fisiológicos del estrés; es posible sugerir la existencia de un sistema ansiolítico endógeno.

En este sistema es probable que la glándula pineal adopte un papel destacado; por ser una de las primeras estructuras neuroendócrinas que responden a tal situación. De ser éste el caso, la remoción de la glándula pineal provocará una reducción significativa en la actividad de este sistema ansiolítico. Por el contrario, la administración exógena de las hormonas secretadas por ésta glándula, incrementará el estado ansiolítico mediado por este sistema.

En estas circunstancias es posible detectar la existencia de este sistema ansiolítico endógeno empleando un modelo experimental de ansiedad, en el cual se manipule la producción de hormonas de la pineal, principalmente Mel y 5-OHTL, de dos maneras, una de ellas reduciendo su concentración a través de una pinealectomía y la otra incrementando ésta, mediante la aplicación de indoles exógenos.

OBJETIVO GENERAL:

Determinar la presencia de un sistema ansiolítico endógeno, en el que participe la glándula pineal; describiendo los posibles factores que incrementan o decrementan la actividad del mismo.

OBJETIVOS PARTICULARES:

a) Describir los efectos ansiolíticos que la Melatonina y el 5-Hidroxitriptofol administrados en forma exógena, producen en ratas sometidas a un modelo de conflicto experimental.

b) Determinar el efecto ansiolítico que la Mel y el 5-OHTL endógenos ejercen en este modelo experimental. Para ello se realizará una pinealectomía con el objetivo de disminuir significativamente la producción y liberación de estos Indoles.

HIPOTESIS:

Si los individuos poseen un sistema ansiolítico endógeno en el cual participa la glándula pineal, entonces la hiperactividad de las secreciones de la glándula, inducida por la administración de Melatonina y de 5-Hidroxitriptofol exógenos, o la hipoactividad de la misma, inducida por la pinealectomía, provocarán un decremento ó incremento de este sistema ansiolítico, respectivamente. Estos estados se manifestarán por una mayor o menor ansiólisis en un modelo experimental de ansiedad.

IV. MATERIAL Y METODOS

MATERIAL BIOLÓGICO

Ratas macho, cepa Wistar de 180 - 230 g de peso corporal.

SUSTANCIAS

Pentobarbital sódico (Anestesia)
Solución Salina Isotónica (0.9 %). Abbott
Alcohol. Merck
Polietilenglicol. Sigma
Melatonina. Sigma
5-Hidroxitriptofol. Sigma

MATERIAL ELÉCTRICO

Taladro dental
Rasuradora eléctrica
Lámpara para lectura
Colchon térmico eléctrico para rata
Balanza analítica

EQUIPO QUIRÚRGICO Y MATERIAL DE CURACIÓN

Pinzas para disección.
Pinzas bulldog
Tijeras
Mango de bisturí con hoja # 4
Espátula
Porta agujas
Aguja del No. 22 y 27
Aguja de sutura
Sutura quirúrgica
Gasas de 7.5 X 5 cm
Esponja estéril GELFOAM
Cera estéril para sellar hueso

MATERIAL DE VIDRIO

Cajas de Petri 10 cm diámetro

Vasos de precipitado de 50 y 25 ml

Jeringas de 5 ml desechables

Jeringas hipodérmicas para tuberculina

Equipo de prueba - Situación de Conflicto -

Caja de acrílico transparente de 38 X 25 X 30 cms con piso de rejillas metálicas de acero inoxidable de 0.5 cm de diámetro, separados entre sí un cm de distancia una de otra. Esta caja contiene una botella de plástico con bebedero metálico, el cual se inserta al interior de la caja (Figura 6).

Fuente de poder eléctrica que genera electrochoques cuyo número es señalado por un contador digital. Estas porciones están conectadas a las partes de metal que tiene el cubo de prueba . El circuito eléctrico que activa el contador se forma entre el bebedero metálico y las barras del piso de la cámara, cuando el animal esta parado sobre las barras y lame el bebedero.

METODOLOGIA.

Se utilizaron 210 ratas macho, de la Cepa Wistar cuyo peso osciló entre 180 y 230g.

Las ratas procedían del bioterio de la facultad de Química y no tenían algún tipo de experiencia previa. Estos animales se mantuvieron en condiciones ambientales de laboratorio por al menos 15 días antes de iniciar la fase experimental. Durante este tiempo los animales tuvieron acceso directo y libre al agua y al alimento (Purina Rat Chow); con ciclos de luz / oscuridad constantes (14 hrs de luz/10 hrs de oscuridad).

Con el total de animales empleados se obtuvieron tres diferentes grupos experimentales, un grupo conformado por 90 ratas a las que no se les sometió a intervención quirúrgica (ratas íntegras), otro grupo de 100 ratas a las que se les realizó una pinealectomía (Px), ratas operadas y finalmente otro grupo conformado por 20 ratas a las que se les sometió a una falsa pinealectomía (FPx).

La pinealectomía es una intervención quirúrgica que consiste en la extracción total (cuerpo y tallo) de la GP. Para realizarla se anestesiaron a las ratas con pentobarbital sódico (Anestosal) a una dosis de 45 mg/Kg de peso corporal por vía intraperitoneal (IP). Una vez en fase quirúrgica se les rasuró el cuero cabelludo del cráneo y se inmovilizaron en un aparato estereotáxico. Se les realizó la asepsia con una solución de benzal diluida (1 : 10) para posteriormente proceder a efectuar una insición de aproximadamente 2 cm de longitud, en la línea media del cráneo, se levantó el perióstio para así localizar el punto lambda, inmediatamente sobre éste se realizó un trépano con una fresa de centro fijo (4.5 mm de diámetro X 5.0 mm de profundidad para desprender un disco de hueso de igual diámetro (FIGURA 7). Justo bajo el trépano, se localizó el seno venoso; y enseguida con la ayuda de pinzas para microcirugía rectas se extrajo la GP .

Una vez realizada la pinealectomía, el orificio se obturaba con cera de hueso estéril y la piel se suturaba.

Todos los animales sometidos a la intervención quirúrgica recibieron una aplicación de 5 ml de solución glucosada vía IP inmediatamente después de la intervención. Posteriormente las ratas se colocaron en un colchón térmico eléctrico para proveer de calor y así favorecer la recuperación postoperatoria.

La extracción de la pineal se realizó en aproximadamente 1 minuto como máximo siguiendo la técnica de Hoffman y Relfer (31) .

En el caso de los animales con falsa pinealectomía (FPx), se realizaba exactamente el mismo procedimiento quirúrgico con la única diferencia de que no se extraía la Glándula pineal. Por su parte las ratas íntegras se mantuvieron en las mismas condiciones ambientales que los grupos anteriores y no fueron sometidas a intervención quirúrgica alguna.

Para llevar a cabo la fase experimental los grupos de ratas operadas e íntegras se dividieron en 5 subgrupos, cada uno de acuerdo al tratamiento al que se sometieron. El subgrupo 1 recibió solución vehículo (0.01 ml / 10 g de peso); mientras que los subgrupos 2 y 3 se trataron con Mel con 1 y 2 mg/Kg de peso y a su vez los grupos 4 y 5 recibieron 5-OHTL a las dosis de 1 y 2 mg/Kg de peso.

En cuanto a los subgrupos de las ratas íntegras, estuvieron conformados por 20 ratas cada uno, excepto en el caso del grupo control el cual constó de 10 animales, es decir un total de 90 ratas. El resto de los subgrupos manejados estuvo conformado por 10 individuos, lo que hace un total de 120 ratas para cada sesión de prueba.

Tanto la Mel como el 5-OHTL se prepararon inmediatamente antes de su aplicación, pesando 2 mg de cada producto, utilizando una balanza analítica y esta se disolvía en una solución de polietilenglicol al 30% y etanol al 1% disuelto en agua destilada. La dosis siempre se ajustó a un volumen de aplicación de 0.01 ml por cada 10 g de peso

corporal.

Los sujetos del subgrupo 1 recibieron la aplicación de solución vehículo. La administración en todos los sujetos se realizó siempre 20 minutos antes de iniciar la prueba experimental.

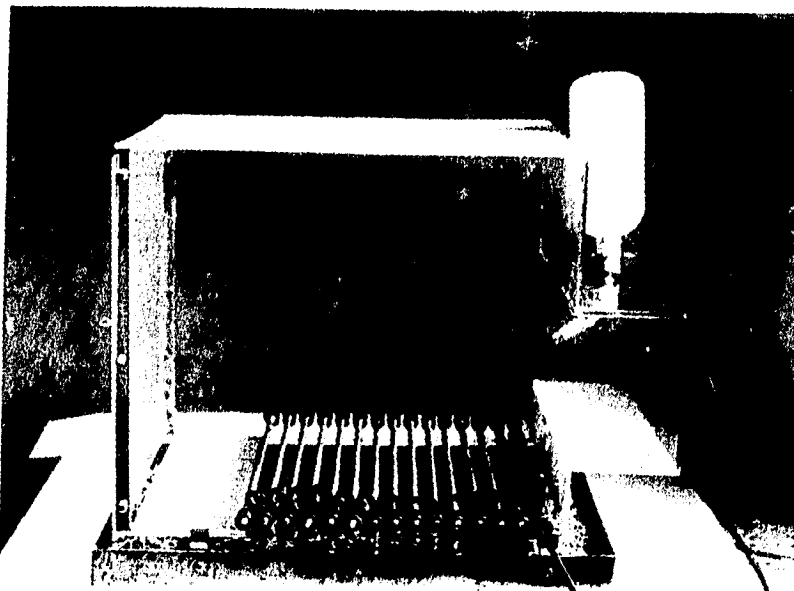


FIGURA 6: Cámara de prueba y dispositivo de conteo electrónico utilizado en el modelo de Vogel para provocar una situación de conflicto.

Para realizar la prueba de ansiedad, se utilizó el modelo de Vogel (62) éste maneja una situación de conflicto como fuente de ansiedad, en este modelo se pretende crear dos fuerzas antagónicas en el individuo, el cual finalmente debe optar por una de ellos para terminar con la génesis de la ansiedad .

corporal.

Los sujetos del subgrupo I recibieron la aplicación de solución vehículo. La administración en todos los sujetos se realizó siempre 20 minutos antes de iniciar la prueba experimental.

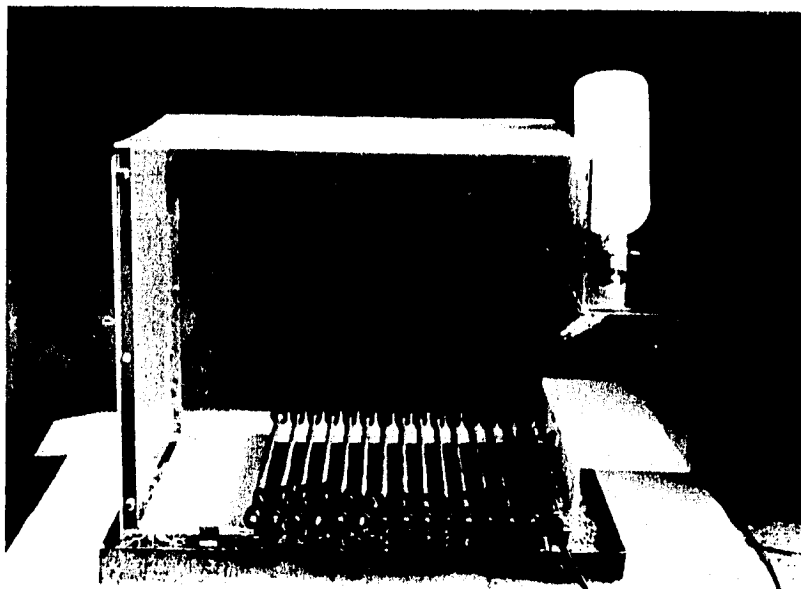


FIGURA 6: Cámara de prueba y dispositivo de conteo electrónico utilizado en el modelo de Vogel para provocar una situación de conflicto.

Para realizar la prueba de ansiedad, se utilizó el modelo de Vogel (62) éste maneja una situación de conflicto como fuente de ansiedad, en este modelo se pretende crear dos fuerzas antagónicas en el individuo, el cual finalmente debe optar por una de ellas para terminar con la génesis de la ansiedad .

En este modelo uno de los estímulos antagónicos es un choque eléctrico que recibe el animal cada vez que lame el bebedero metálico, y el otro es el impulso que lo obliga a beber después de haber permanecido privado de agua por 48 hrs. La situación de conflicto se resuelve cuando el individuo resta importancia al choque eléctrico e ingiere agua a pesar de recibir varias descargas eléctricas. Para realizarse este modelo requiere de una caja de acrílico transparente (38 X 25 X 30 cm) en cuya pared posterior y a través de un orificio se introduce un bebedero metálico conectado a una botella de plástico con capacidad de 250 ml. Este bebedero se localiza a 6 cm de distancia del piso de la caja.

Un circuito de corriente directa que utiliza una fuente de poder de 6 V, se conecta entre las varillas que componen la rejilla del piso de la caja y el bebedero. El circuito se cierra cuando la rata simultáneamente toca la rejilla del piso y lame el bebedero, en ese momento se genera un pulso eléctrico de 600 mV, que alimenta un dispositivo digital (67) con dos contadores que determinan el número de lengüetazos que da el sujeto (pulsos) y el número de eventos (choques) que recibe la rata.

Para la sesión experimental se utilizaron ratas privadas exclusivamente de agua durante 48 hrs \pm 0.25 hrs, sin modificar el acceso al alimento, ni los ciclos de luz - oscuridad. La sesión experimental se iniciaba al pesar a los animales y calcular el volumen de solución con el fármaco para aplicarlo.

Tanto la dosis recibida como el número de rata que correspondía a cada uno de los grupos fué seleccionado en forma aleatoria. Todos los fármacos así como la solución vehículo, fueron administrados 20 minutos antes del procedimiento experimental. La prueba de ansiólisis se inició al colocar al individuo dentro de la caja, siempre en el mismo lugar y de frente al bebedero. La duración de la prueba siempre fue de tres minutos exactos y siempre se realizó en un ambiente tranquilo medianamente iluminado, sin interrupciones, ni ruidos.



Figura 7. Para extraer la GP los animales se colocaban en un aparato estereotáxico y se les realizaba una trepanación. Tal como se muestra en esta fotografía.

Todos los animales fueron expuestos por una única ocasión al paradigma experimental. Una vez finalizada la prueba los animales se sacrificaron con una sobredosis de éter. En el caso de las ratas pinealectomizadas 50 de ellas fueron sometidas a la intervención quirúrgica 7 días antes de la prueba y las 50 restantes lo fueron 11 días previos. De igual forma los grupos de falsa pinealectomía fueron también sometidos a la intervención 7 y 11 días previos a la sesión de prueba. El resto del procedimiento experimental fue estrictamente el mismo que para los demás grupos. Al final de la sesión de prueba los sujetos con falsa pinealectomía fueron perfundidos a través del corazón con una solución de formaldehído al 4 % para verificar la realización de

la pinealectomía o de la falsa pinealectomía. En cada grupo sólo se incluyeron los sujetos en los cuales el proceso quirúrgico tuvo éxito.

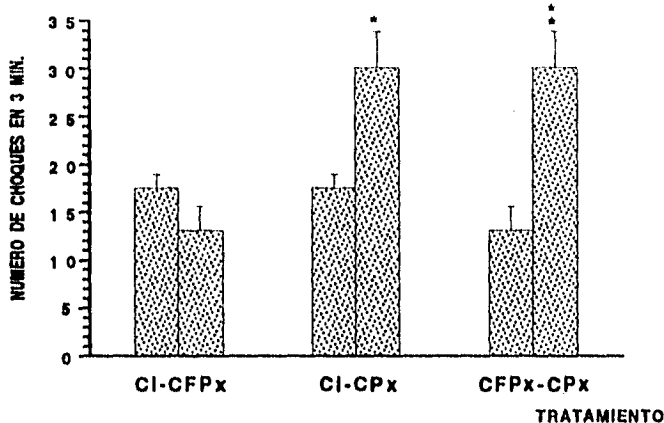
Desde el punto de vista estadístico se utilizó la prueba de ANOVA, previa validación de los datos con la prueba de Tukey, para comparar cualquier diferencia estadística significativa en el número de choques que los sujetos recibían. El nivel de significancia menor elegido fue de $p < 0.05$.

RESULTADOS

Una vez que los animales fueron colocados dentro de la cámara de prueba, su conducta inicial fue de exploración. Husmeaban y se movían alrededor de toda la caja. Sin embargo, cuando se ~~aleaban~~ ^{alejaban} del bebedero, cosa que le tomo en promedio 20 seg, aproximadamente, inmediatamente intentaban ingerir agua. Al recibir los primeros choques eléctricos se retiraban precipitadamente del bebedero, frecuentemente se iban al otro extremo de la caja y algunas de ellas emitían un pequeño chillido, después de recibir los choques los animales se mantenían estáticos, con muy pocos desplazamientos. Ni los animales pinealectomizados ni los falsamente pinealectomizados mostraron alguna diferencia conductual con los sujetos íntegros.

En la GRAFICA 1 se muestra el número de choques que recibieron los animales que conforman los tres grupos controles empleados. Para el análisis de los efectos a los 7 días posteriores a la pinealectomía el grupo de ratas controles íntegras (CI), el grupo de ratas controles pinealectomizadas (CPx) y probadas 7 días después de la intervención quirúrgica y el grupo control con falsa pinealectomía (CFPx) también probadas después de 7 días de realizada la falsa pinealectomía.

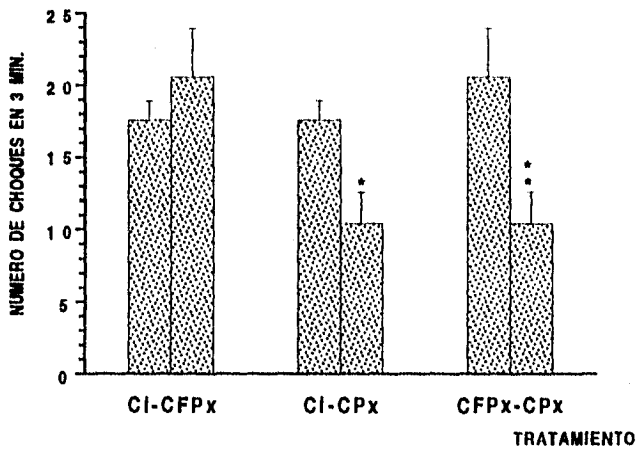
En otra situación se observó que los animales controles íntegros recibieron en promedio 17.3 ± 1.39 choques durante los 3 minutos que permanecieron en la caja de prueba, mientras que los animales falsamente pinealectomizados y los pinealectomizados recibieron 13.1 ± 2.54 y 30.1 ± 3.77 respectivamente (GRAFICA 1). En el análisis estadístico se encontró que hay diferencias al comparar la ejecución de los sujetos pinealectomizados con la observada en los sujetos controles íntegros ($P < 0.05$) y la de los sujetos con falsa pinealectomía ($P < 0.01$), aunque los animales con falsa pinealectomía recibieron una menor cantidad de choques eléctricos que los sujetos controles íntegros, ésta diferencia no fue estadísticamente significativa.



Grafica 1. Histograma de frecuencias que muestra la ejecución de los grupos controles íntegros (CI) y controles pinealectomizados (CPx) y falsamente pinealectomizados (CFPx), 7 días previos a someterlos a la prueba de conflicto.

Este mismo análisis se realizó para los grupos de control íntegro, pinealectomizados y falsamente pinealectomizados, pero ahora probados a los 11 días después de realizar la respectiva intervención quirúrgica. Las ratas íntegras mostraron valores de 17.6 ± 1.39 choques durante 3 minutos; durante el mismo tiempo el grupo con falsa pinealectomía recibió en promedio 20.6 ± 3.37 choques, valor no diferente estadísticamente del control. Sin embargo, al comparar los valores obtenidos por el grupo de ratas controles íntegras y con falsa pinealectomía con aquellos observados en las ratas pinealectomizadas, el cual fue de 10.4 ± 2.20 choques se encontraron

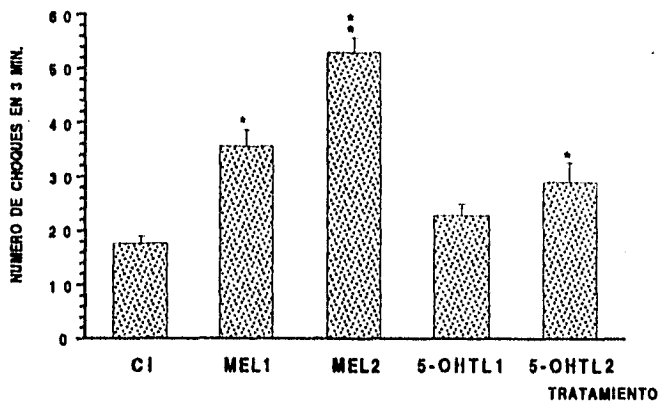
diferencias estadísticas con valores de probabilidad diferentes (GRAFICA 2).



Grafica 2. Se representa la ejecución de los grupos controles similares a los de la gráfica anterior, pero ahora probados 11 días después de la plnealectomía.

Los efectos de la aplicación de melatonina en esta situación de conflicto se muestran en la GRAFICA 3. Por otro lado los dos grupos de ratas que recibieron una aplicación previa de melatonina en dosis de 1 ó 2 mg/Kg mostraron incrementos importantes y significativos con respecto a los animales controles. Así, el grupo que recibió 1 mg/Kg de melatonina aumentó su nivel de respuesta hasta 52.5 ± 2.72 choques en 3 minutos lo cual contrastó con el nivel de 13.1 ± 2.54 mostrado por los sujetos controles. Este contraste estadísticamente arroja una probabilidad de $P < 0.001$. En el caso de los sujetos tratados con 2 mg/Kg de melatonina el nivel que alcanzaron fue de 76.7 ± 2.1 choques en 3

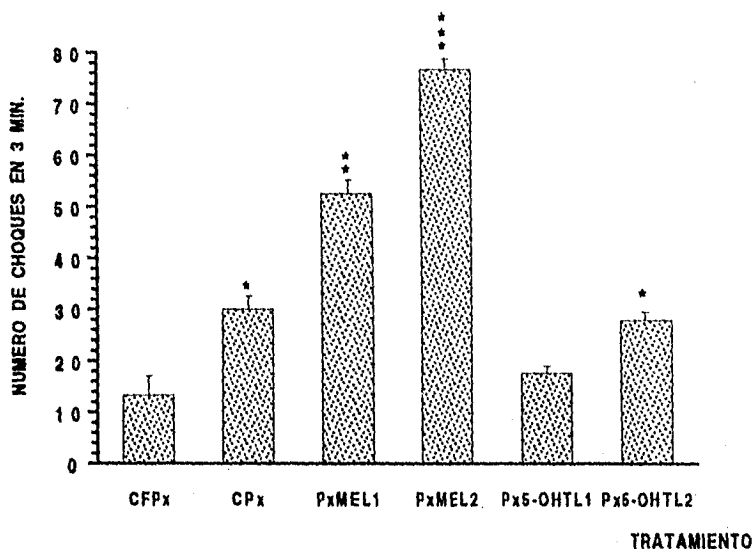
minutos con una probabilidad de $P < 0.001$ (Gráfica 3). En lo relacionado al pretratamiento con el 5-OHTL, los valores encontrados fueron mucho menores que los observados con la melatonina. Se encontró que los sujetos con 1 y 2 mg/Kg mostraron un valor de 17.6 ± 1.43 y de 27.9 ± 1.50 respectivamente. Solo este último valor fue diferente estadísticamente ($P < 0.05$) cuando se comparó con el valor de los sujetos controles.



Gráfica 3. La aplicación de melatonina y 5-hidroxitriptofol, se asoció con un incremento significativo en el número de choques que recibieron los animales, tal y como lo muestra esta gráfica.

Una situación similar se observó cuando los sujetos pinealectomizados se probaron a los 11 días después de la intervención (GRAFICA 4). En este caso todos los grupos tratados; es decir el grupo con falsa pinealectomía, los grupos que recibieron melatonina y los grupos con 5-OHTL fueron estadísticamente diferentes en su desempeño

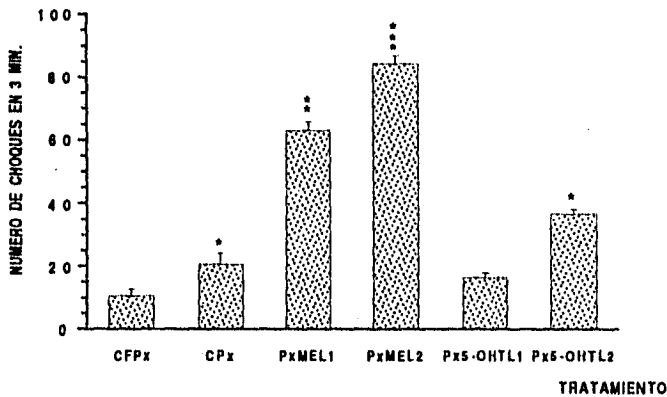
con respecto a los controles. Las diferencias más importantes se encontraron con los grupos con 1 y 2 mg/Kg de melatonina, las cuales alcanzaron 62.9 ± 2.62 y 84.0 ± 2.62 choques, respectivamente. En este caso el nivel de significancia fue de $P < 0.001$ para ambos grupos. Por su parte los grupos con 1 y 2 mg/Kg de 5-OHTL mostraron 16.3 ± 1.51 y 36.7 ± 1.50 respectivamente. En ellas las diferencias encontradas con respecto al control se ubicaron sus valores de significancia de $P < 0.05$ y de $P < 0.005$, también respectivamente. No se observaron diferencias estadísticas significativas, con respecto al grupo control aunque el grupo de 1 mg/Kg mostró una disminución importante (GRAFICA 4).



Gráfica 4. También en los animales pinealectomizados y probados 7 días después, los indoles de la pineal incrementaron el número de choques recibidos durante la prueba de conflicto.

Por su parte la GRAFICA 5 muestra lo que ocurre a los 11 días

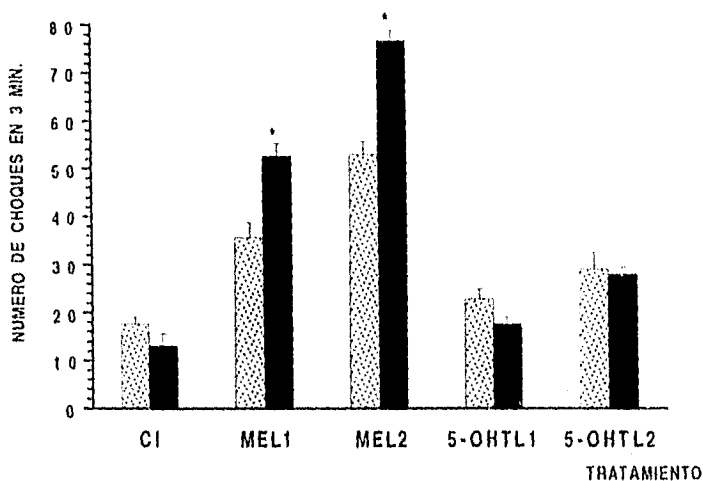
posteriores a la pinealectomía. Los efectos de la aplicación son aún mayores en estos animales con importantes diferencias estadísticas para ambas dosis. Así, la dosis de 2 mg/Kg el número de choques hasta 84.0 ± 2.62 choques en 3 minutos lo cual es significativamente diferente a lo encontrado en el grupo control ($P < 0.001$). La única dosis de 5-OHTL que provocó algún efecto ($P < 0.05$) fue la de 2 mg/Kg (GRAFICA 5). Con la finalidad de analizar el efecto de la pinealectomía sobre la acción ansiolítica mostrada por la melatonina.



Gráfica 5. Cuando los Indoles de la pineal se aplicaron a los 11 días posteriores a la pinealectomía, los efectos fueron aún mas significativos.

Se compararon los efectos de este Indol observados en animales íntegros con aquellos encontrados en los animales pinealectomizados y probados a los 7 días después. Esta comparación la cual se muestra en la GRAFICA 6, señala que los grupos pinealectomizados mostraron un mayor ($P < 0.05$) índice de ansiólisis que los sujetos íntegros. Esta situación

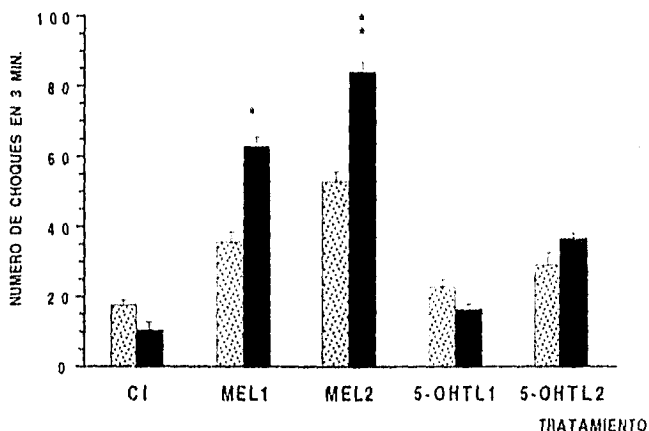
no se observa con la aplicación sistémica de 5-OHTL. En este caso los pocos efectos provocados por este indol son independientes de la integridad de la pineal (GRAFICA 6).



Gráfica 6. Al comparar los efectos provocados por la melatonina entre los animales íntegros (Barras claras) con aquellos encontrados en animales pinealectomizados (Barras oscuras), Se mostró que estos últimos, mostraron un mayor número de choques eléctricos durante la prueba de conflicto.

Se realizó un análisis similar con los resultados obtenidos de los animales pinealectomizados y probados 11 días después de la intervención (GRAFICA 7). En estas circunstancias los efectos de la melatonina fueron aún más importantes, lo cual se manifiesta porque el valor de significancia obtenido al comparar a los grupos que recibieron 2 mg/Kg de melatonina fue de $P < 0.01$, lo cual contrasta con la de $P < 0.05$ observada al compararlo con los animales pinealectomizados y

probados a los 7 días posteriores a la pinealectomía.

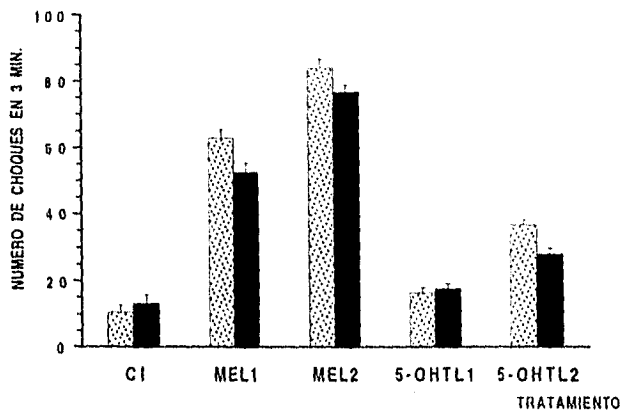


Gráfica 7. También la aplicación de melatonina a los 11 días provocó un incremento significativo en el número de choques que recibieron los sujetos.

En este caso tampoco se observaron diferencias significativas con la comparación de los grupos tratados con 5-OHTL. Finalmente la GRAFICA 8 muestra el análisis comparativo que se realizó entre los sujetos pinealectomizados y probados a los 7 y 11 días. En esta se muestra que aunque el número de choques que recibieron los sujetos probados 11 días después de la pinealectomía es mayor que la mostrada por los sujetos con 7 días posteriores a la intervención, esta diferencia no es estadísticamente significativa (GRAFICA 8).

También es posible observar un pequeño incremento en el número de choques por parte de los sujetos tratados con 5-OHTL en dosis de 2

mg/Kg, a los 11 días; aunque tampoco es estadísticamente diferente (Gráfica 7).



Gráfica 8. Cuando se compararon los sujetos pinealectomizados 7 (barras claras) días antes de la prueba con los pinealectomizados a los 11 días, (barras oscuras), se mostró que éstos últimos tuvieron un desempeño mayor. Aunque estos valores no fueron estadísticamente diferentes.

Finalmente, al comparar los resultados obtenidos en los dos grupos de animales pinealectomizados, observamos que los individuos pinealectomizados 11 días antes de la prueba de conflicto, siempre mostraron un nivel mayor de choques eléctricos, aunque esta diferencia no fué estadísticamente significativa, tal como lo muestra la gráfica número 8.

DISCUSION

La participación de los sistemas pineales en situaciones estresantes ha sido documentada desde hace más de una década. Así, por ejemplo el mantener en situaciones de estrés crónico a varios grupos de animales provoca una hipertrofia de la pineal con un incremento en la secreción de las hormonas (18, 19, 35, 41). Por otra parte el estrés agudo siempre se acompaña de un incremento en la secreción de melatonina (18, 19, 41, 56). Si además consideramos que la melatonina provoca efectos antagónicos a los provocados por la aplicación de catecolaminas; se sugiere entonces que este indol revierte los efectos fisiológicos desencadenados por el estrés a través de la secreción de catecolaminas (34, 35).

Estas sugerencias han llevado a postular a la pineal como una glándula tranquilizadora (2, 43, 52). Los efectos antiestrés de la melatonina se manifiestan también sobre muchos parámetros endocrinológicos e inmunológicos, de tal suerte que la resistencia a las infecciones y a procesos degenerativos del tipo del cáncer se reducen considerablemente en animales que reciben melatonina en forma crónica (19, 21, 55).

A pesar de todas estas evidencias el papel fisiológico de la melatonina dentro de los procesos de estrés y ansiedad (la consecuencia psicológica del estrés) es aún desconocida. Todos los efectos antiestrés descritos para cualquier indol de la pineal solo pueden manifestarse cuando la dosis administrada es suprafisiológica es decir se encuentra en el rango de los miligramos cuando la dosis fisiológica es del orden de los nanogramos (19, 56). Esta discrepancia ha generado una amplia controversia sobre tales acciones .

Si la melatonina u otros indoles de la pineal están involucrados en acciones antiestrés en condiciones fisiológicas, esto implicaría la existencia de un sistema endógeno antiestrés o anti ansiedad

(ansiolítico) el cual modifica la actividad de los sistemas de catecolaminas que participan en este proceso. Obviamente dentro de este sistema endógeno de ansiólisis la glándula pineal y quizá alguna otra estructura o grupo de estructuras estarían involucradas.

La relación entre Indoles de la pineal y catecolaminas ha sido mostrada por varios autores. Así, tanto el cuerpo estriado como en la retina la melatonina es capaz de reducir la liberación de dopamina por un mecanismo a nivel de membrana celular y dependiente de calcio (34). También a nivel de hipotálamo anterior la melatonina produce efectos antigonadotrópicos por bloquear las acciones de las catecolaminas sobre las neuronas productoras de gonadotrofinas (4, 36, 49).

El demostrar la existencia de un sistema ansiolítico endógeno, modifica en forma significativa las estrategias terapéuticas del padecimiento. No hay que olvidar, que los fármacos denominados ansiolíticos son los de mayor prescripción en todo el mundo (5, 9, 27, 54, 61). Sin embargo, estos fármacos actúan sobre las manifestaciones fisiológicas del estrés, más que sobre los mecanismos neurofisiológicos que se alteran en este proceso.

La existencia de este sistema endógeno brindaría otro sistema "blanco" para la acción de fármacos ansiolíticos.

En el presente trabajo mostramos que tanto la administración de melatonina como la pinealectomía modifican la respuesta de los individuos a una situación estresante en un modelo clásico de ansiedad.

La validez del modelo experimental ha sido ampliamente documentada (46, 62). En él la administración de los fármacos utilizados en el tratamiento de la ansiedad provocan un incremento significativo en el número de choques que reciben los individuos; mientras que esto no se observa con la aplicación de fármacos antidepressivos o sedantes (25). La utilidad y especificidad del modelo es tal, que se emplea como una prueba rutinaria en el cernimiento de

fármacos ansiolíticos (25, 46).

La pinealectomía, maniobra que reduce hasta en un 98% las concentraciones de melatonina en hámsters (31), provocó efectos diferentes dependiendo del tiempo transcurrido entre su relajación y la prueba de ansiedad. Así cuando los animales fueron probados a los 7 días después de realizada la intervención quirúrgica el efecto observado fue un incremento en el número de choques, lo que puede considerarse como un efecto ansiolítico.

Sin embargo, cuando transcurrieron 11 días entre su realización y la prueba de conflicto su efecto fue una reducción en el número de choques con respecto a los grupos controles, lo cual sugieren un incremento en el estado de ansiedad. Es pertinente mencionar que los animales con falsa pinealectomía mostraron diferencias menores que no fueron estadísticamente significativas cuando se compararon con los valores mostrados por los sujetos controles íntegros. Por el contrario la comparación con el número de choques mostrados por los animales pinealectomizados siempre mostraron diferencias estadísticas cuando se compararon ya sea con los sujetos controles íntegros o bien con los sujetos con falsa pinealectomía tanto a los 7 como a los 11 días.

Los efectos ansiolíticos observados a los 7 días de realizada la pinealectomía inducirían una sobreactividad del sistema ansiolítico endógeno, mientras que los resultados observados a los 11 días sugieren una hipoactividad del mismo. Ambos efectos reflejan estados compensadores de la carencia de un elemento del sistema de ansiolisis. Tales oscilaciones son características de los sistemas de control neurofisiológico.

Así, en este caso la sobreactividad reflejaría un incremento en la sensibilidad del sistema quizá a la propia melatonina endógena proveniente de otros sitios o, a otras sustancias neurotransmisoras que normalmente se liberan durante las situaciones estresantes, como a la que es sometida el animal durante la prueba de ansiedad, por su parte la hipoactividad, observada en el día 11 podría reflejar la finalización

de tal estado de compensación.

En este momento el sistema de ansiólisis endógeno se encontraría afuncional y una situación estresante como la que se produce durante el modelo de Vogel, provocaría un grado máximo de ansiedad, como el que se encontró en el presente estudio.

Esta explicación se sustentaría con mayor firmeza si se realizaran experimentos similares en animales pinealectomizados entre los 7 y los 11 días previos a la prueba de conflicto. Es de esperarse que en uno de estos días ocurriría la transición entre la hiper e hipoactividad del sistema referido.

La acción ansiolítica de la Melatonina se observó claramente después de la administración en animales íntegros y previamente pinealectomizados (Gráficas 3, 4 y 5). Este efecto siempre fué dependiente de la dosis y estadísticamente significativo en todos los sujetos analizados. En los animales íntegros el número de choques que recibieron se incrementó hasta tres veces con la dosis mayor de la melatonina. De acuerdo al modelo de Vogel este incremento representa un estado de ansiólisis tal que refleja una reducción del 80 % de la ansiedad (62).

En estudios previos se ha mostrado que es equivalente al efecto observado después de la administración de una dosis de 2 mg/Kg de diazepam o de 10 mg/Kg de clordiazepóxido (29). Dosis que son capaces de desencadenar importantes efectos colaterales (9, 27, 61).

Por otra parte los efectos ansiolíticos mostrados por el 5-OHTL fueron muy pobres. Únicamente la dosis más elevada (2mg/Kg) mostró una acción estadísticamente significativa menor. Esta dosis es equimolarmente muy similar a la dosis de la melatonina lo que sugiere que la melatonina es mucho más eficiente para realizar tal acción ansiolítica. Evidentemente se requiere del empleo de varias dosis más de 5-OHTL para determinar sus verdaderas propiedades ansiolíticas así como el comparar sus acciones con otros indoles estructuralmente similares para determinar el grupo funcional responsable de tal

actividad. La principal diferencia estructural entre este compuesto y la melatonina es el propio metoxi en el carbono 5 del anillo indólico que posee la melatonina el cual es sustituido por un grupo hidroxilo en la molécula del 5-OHTL. Es probable que tal grupo funcional sea el responsable de la eficacia de la acción ansiolítica.

Las Gráficas 6 y 7 muestran que los animales pinealectomizados responden con mayor intensidad a la aplicación de la melatonina endógena que los individuos controles. Estadísticamente estas diferencias son mayores cuando los sujetos se pinealectomizaron 11 días antes de someterlos a la prueba de conflicto, lo cual podría sugerir una mayor sensibilidad de las sustancias endógenas a la aplicación de la melatonina exógena. Este proceso de hipersensibilidad es una respuesta común a la disminución ya sea quirúrgica o farmacológica, de un neurotransmisor (5, 24).

Se trata de un proceso denominado " up or down regulation " (9, 23, 24) el cual depende de un balance pre-establecido entre el número y la eficacia de los receptores y de la cantidad de neurotransmisores involucrados en la hendidura sináptica (6, 44). Si este balance se interrumpe se establece con varios mecanismos que intentan retornarlo a su conducción inicial. Así, una disminución en la concentración del neurotransmisor provocará un incremento ya sea en el número o en la eficacia de los receptores, mientras que el decremento sostenido de este neurotransmisor provocará el efecto opuesto en el receptor (9, 24, 25, 61).

En el presente estudio es de esperarse que la pinealectomía provoque una reducción muy significativa en las concentraciones séricas y el líquido extracelular de melatonina; tal reducción podría acompañarse de un incremento en la eficacia y quizá en el número de receptores para esta hormona; por lo tanto la administración de esta hormona en dosis elevadas incrementaría un sistema hipersensible, por la carencia de hormona endógena, y provocaría un incremento significativo en sus efectos.

Conforme transcurre el tiempo posterior a la pinealectomía los efectos serían aún mayores porque el grado de sensibilización sería mayor. Situación que se observó en el presente estudio, ya que los sujetos con 11 días de pinealectomía mostraron un mayor grado de ansiólisis que los pinealectomizados a los 7 días (Gráfica 8). Probablemente al analizar el efecto de la melatonina en animales pinealectomizados a lo largo de varios días, iniciando después de tres días, con el objeto de eliminar los efectos del anestésico y continuando quizá hasta los 20 días, sería posible estimar la dinámica de este efecto regulador de la actividad de este sistema.

En resumen los resultados del presente estudio sugieren la existencia de un sistema ansiolítico endógeno en el cual participa la glándula pineal a través de sus hormonas, particularmente la melatonina. Sin embargo, aún es necesario definir la participación de otras estructuras y neurotransmisores en el mismo, así como determinar la participación de este sistema en el efecto desencadenado por los fármacos actualmente empleados

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio permiten concluir que:

- a) La Melatonina y el 5-Hidroxitriptofol producen un efecto ansiolítico en ratas, empleando el modelo de conflicto de Vogel.
- b) Este efecto de la Melatonina es considerablemente mayor que el del 5-Hidroxitriptofol.
- c) La acción ansiolítica es dependiente de la dosis y muestra una dinámica propia.
- d) La pinealectomía provoca una modificación importante en la función ansiolítica de los individuos.
- e) La acción ansiolítica de la Melatonina es mayor en animales pinealectomizados que en animales íntegros.
- f) Los efectos de ambos indoles provocados en ratas pinealectomizadas aumenta con respecto al número de días que transcurren entre la pinealectomía y la prueba de conflicto.
- g) Estos datos sugieren la existencia de un sistema endógeno antiansiedad, en el cual participan la glándula pineal y la melatonina.
- h) En este sentido tanto la pineal como la melatonina pueden considerarse como "blanco" en la terapia de este padecimiento.

BIBLIOGRAFIA

- 1 ALBERTSON, T. E. ; PETERSON, S. L.; STARK, L. G.; LAKIN Y M. L.; WINTERS W.D. (1981): The anticonvulsant properties of melatonin on kindled seizures in rats . *Neuroph.* 20:61-66.
- 2 ANTON-TAY, F.; J.L. DIAZ Y A. FERNANDEZ-GUARDIOLA (1971). On the effect of melatonin upon human brain, its possible therapeutic applications. *Life Sci.*, 10: 841-850.
- 3 BALEMANS. M.G.M. (1979): Indole metabolism in the pineal of the rat; Some regulatory aspects. *Prog. Brain Res* 52: 221 - 229
- 4 BLASK, D.E. ; VAUGHAN, M. K. Y R. J. Relfen pineal peptide and reproduction: In: the pineal gland Edit. Relkin Elsevier Sci. Pub. USA. (1983).
- 5 BORSINI, F. , Y MELI, A. (1988): Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology*. 94:147-160.
- 5 BOWMAN, W. C., RAND, M. J. *Farmacología. Bases bioquímicas y patológicas. Aplicaciones clínicas.* 2a edición. Editorial Interamericana. México D.F., 1985. 12.18-12.19.
- 6 CARDINALI, D.P., LOWENSTEIN, P.R., ROSENSTEIN, R.E. Functional links between benzodiazepine and GABA receptors and pineal activity. *GABA and endocrine function*. Raven Press. New York (1986) p.155-164.
- 7 CARDINALI, D.P. Y VACA, M. (1984). Pineal gland photoperiodic responses, and puberty. *J. Endocrinol. Invest.*, 7:157-165.

- 8 COFER, E.N. y APPELEY, M.H.: Motivallon: theory and research. En Psicología de la motivación. Teoría e Investigación. PATON, L.T. (eds.) Trillas 8a edición Méx. 1987
- 9 COOPER, R. JACK ; BLOOM, E. FLOYD. Las bases bioquímicas de la neurofarmacología. 2a. edición. Editorial El Manual Moderno 1984, pp. 161,185-187. *Physiol.*, 35:302-328.
- 10 CLARK, G.W.; BRATRER, D.G.; JHONSON, R.A.; (1991) *Farmacologia*
- 11 *Farmacología Clínica* 12a edición. Editorial Médica Panamericana, México, D.F. pp.215-217.
- 12 CHAN, M. Y. TANG AND BROWN, G.M. (1984). Studies on the kinetics Melatonin and N-Acetylserotonin in the rat at mid-light and mid-dark. *J. Pineal. Res.*, (1) 227-293.
- 13 CHARLES, L.R.; BRUCE, T.F. WILLIAM, A. G. DAVID, W.O. (1979) The Pineal complex thermoregulation. *Biol. Rev.*, 72: 41 - 54.
- 14 DAFNY, N. (1977): Electrophysiological evidence of photic acoustic and central input to the pineal body and hipotalamic. *Exp. Neurol.* 55: 449 - 457
- 15 DAFNY, N. (1980). Two photic pathway contribute to Pineal evoked responses. *Life Sci.*, 26: 737- 742.
- 16 DATTA. P.C. y M.G. KING (1980): Efects on brain and behavior. *Neur. Bloch. Rev.*, 4:451 - 458
- 17 ELLIS, O, 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: 277-284.

- 18 FALCON, J. Y COLLIN, J. Pineal: functional aspects. *Experientia* 45 (10) 909 - 913.
- 19 FOLEY, B. P.; CAIRNCROSS, D. KEITH AND FOLDES, A. (1986). Pineal Indoles: significance and measurement. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, Vol. 10: 275 - 293.
- 20 FREEDMAN, A. M. (1980).: Psychopharmacology in pschoterapy in the treatment of anxiety. *Pharmacopsychiat. Neuropsychopharmacol*; 13: 277- 289.
- 21 GOLDMAN , B.D. (1983): The phistology of Melatonin In mammals. *Pineal research Rev. Vol 1 Ed. R.J. Reiter.,Ala. R. Inc. New York.* pp:145 - 182
- 22 GOLDSTEIN, R. Y A. PAVEL (1981).: REM- Sleep suppresion In cats by melatonln . *Brain Res. Bull.*, 7:723-724.
- 23 GOODMAN, A.G., RALL, T.W., NIES, A.S. y TAYLOR, P. GOODMAN AND GILMAN'S. The pharmacological basis of the therapeutic: Las bases farmacológicas de la terapeútlca. Ed. Panamericana. a edición. México D.F., 1991 345-360
- 24 GOTH, A. y VESELL, E., *Farmacología Médica Principlos y Conceptos*. 11a ed. Ed.Doyma Barcelona 1984
- 25 GYERTYAN. Animals models of anxiety: a crittical review. 1992. *Acta Physiologica Hung.*, 79 (4) 369 - 379.

- 26 HASTING, M. H. VANCE, G. AND MAYWOOD, Experientia.. Phylogeny and function of the Pineal. (1989). 45 (10) 903 - 1008.
- 27 HENDLER, N., CIMINI, C.LANG, T. Y LONG, D. (1980): A comparasion of cognlive impairment due to benzodiazepines and narcotics. Am. J. Psychiat., 137:828-830
- 28 HENDRICKSON, A.E., WAGONER, N. and COWAN, W.M. (1972): An autoradiographic and electron microscopic study of retino-hipotalamic connections. In the: Zellforsch.
- 29 HETTA, J.(1990). Evaluallon of drugs used in anxiety disorders. Psychophar 100: 563-571.
- 30 HISHIKAWA, Y. , CRANER, H. Y W KUHLO. (1969). Natural and induced sleep in young chickens a behavioral and electrographic study Exp. Brain. Res. , 7:84-94.
- 31 HOFFMAN, R. A. Y R. J. Reiter (1965). Rapid pinealectomy in hamsters and other small rodents . Anat. Res. , 53:19-22.
- 32 HOLMES, S. W. Y D. SUDGEN. (1982). Effects of melatonin on sleep and neurochemistry in the rat. B. J. Pharmacol. 76: 95-101.
- 33 KAPPERS, J.A. Short History of Pineal Discovery and Research. (1979) Prog. Brain Res., 52: 3-22
- 34 KAPPERS, J.A. (1983): Asurvey of advances in the pineal research in the pineal gland Vol 1 (anatomy and biochemistry) Edited by Reiter R.J. CRC Press Roca Raton, Florida
- 35 KHAN, R., DAYA, S. y PORGIETER, B. (1990). Evidence for a

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

modulation of the stress response by the pineal gland.
Experientia.46:860-862.

- 36 KLEIN, D.C., REICHLIN, S., BALDESARINNI, R.J. and MARTIN, J.B. (1978): The Pineal Gland: A model of neuroendocrine regulation. In: The Hypothalamus. edit.Reven Press. New York. pp:303 - -325
- 37 LERNER, A. B. ; Case, J. D. Takahashi, y. , Lee, T. H. y W. Morri. (1958) : Insolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. J. Am. Chem. soc. , 80:2387.
- 38 LERNER. A. B. y Case, J. D. (1960). : Melatonin. Fed. Prog. 19:590-593.
- 39 MARCZYNSKY, T. J.; YAMAGUCHI, N.;LING, G. L. AND GRODZINSKA. (1964). Sleep induced by the administration of Melatonin (5-methoxy-N-Acetyltryptamine) the hypothalamus in unrestrained cats. Experientia 20: 435 - 436.
- 40 MARKS, J.: The benzodiazepines: use, overuse, misuse, abuse. Univ. Cambridge Press. Lancaster 1978.
- 41 MARTIN, C., MEISSI, H. (1992) Effects of dopaminergic and noradrenergic mechanisms on the neural activity of the insolated pineal organ of the trout, *Oncorhynchus mykiss*. J. Neural transm. Gen. sect. 88: 37-51
- 41 MILINE. R. (1980).The role of the pineal gland in stress. J. Neural. Transm. 47: 191-220.
- 42 MOORE, R.Y. (1979) The innervation of the mammalian pineal gland. Prog. Reprod. Biol. Vol 4: pp:1 - 29.

- 43 NARANJO RODRIGUEZ, E. B. Y REYES VAZQUEZ, C. (1988). Anxiolytic-like action of melatonin on a conflict procedure. Soc. Neurosci., Abstr. 14 (2):1175.
- 44 NESTOROS, J.N. (1984) Gabaergic mechanism and anxiety: an overview and a new neurophysiological model. J. Psychiatry 29:520-528
- 45 OKSCHE, A. (1965): Survey of the development and comparative morphology of the pineal organ Prog. in the Brain Res. Vol X, pp:3 - 29
- 46 PHILIPPE, CHOPIN AND BRILEY. (1987). Tips Reviews. Animals models of anxiety: the effect of compounds that modify 5 - Ht. Neurotransms., 8: 383 - 388.
- 47 RAO, M.L.; GROSS, G. STREBEL, B.; BRAUNING, P. HUBER, G.; KLOSTER. (1990). Serum amino acid, central monoamines, and hormones in drug-free, and neuroleptic - treated schizophrenic patients and healthy subjects. Psychiatry Res., 1990., 34: 243-257
- 48 REITER, R. J. (1981) Anatomy of the pineal gland of the mammals. En The pineal. Vol. 6. Reiter, R.J. (ed) . Eden Press. p.14-40.
- 49 REITER, R.J. (1980) The Pineal gland and its hormones in the control of reproduction in mammals. Endocr. Rev., 1:109-131
- 50 REITER, R.J. (1981): The mammalian pineal: Structure and Function. Amer. J. Anat. 162:287 - 313.
- 51 RELKIN, R.M.D. The Pineal gland. Elsevier Biomedical Press., USA, (1983) p.1-311.

- 52 ROMIJN, H.J. (1978): The Pineal, a tranquillizing organ?, *Life Sci.*, 23: 2257-2274.
- 53 SERNA, L. CASTILLA , Y CRAVIOTO J. *Estadística* . Ed. Trillas México , D. F. (1991).
- 54 SMITH, CEDRIC, M., REYNARD, ALAN, M. *Farmacología*. editorial Médica Panamericana. 1993. III Fármacos que actúan sobre los sistemas sensorial y nervioso central. Capítulos:15 - 27, pp:179 - 390.
- 55 SUDGEN, D. (1981). Psychopharmacological effects of melatonin in mouse and rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther*; 227:587-591.
- 56 SUDGEN, O. (1989) Melatonin biosynthesis in the mammalian pineal gland. *Experientia* 45: (10)922-932.
- 57 TANG, P. L. Y S. F. PANG, (1988): Changes in melatonin levels in the pineal serum, and brain in male rats following the removal of the retina and retina plus Harderian gland. *Neurosc. Lett.* 10. (Suppl.)
- 58 THOMPSON, C. , STINSON, D. Y SMITH, A.(1990). Seasonal affective disorder and season- dependent abnormalities of melatonin suppression by light. *The Lancet* , Vol . 36 : 703-706
- 59 UECK, M. (1979): Inervation of the Pineal. In : J.A. Kapperd and Pevet (eds). *The Pineal gland of Vertebrates including man* (Prog. Brain Res., Vol 52) Elsevier, Amsterdam, pp:45 - 88
- 60 UNDERWOOD, H. (1989): The pineal and melatonin regulators of the circadian function in lower vertebrates *Experientia*. 45: (10) 914-

922.

- 61 URIARTE, V. (1985). Psicofarmacología. 2a edición. Editorial Trillas.México, D.F. p.143-157.
- 62 VOGEL, J. R. BEER, B., and CLODY, D. E. (1971): A simple and reliable conflict procedure for testing anti-anxiety agents. Psychopharmacol., 21:1-7
- 63 WELSH, M.G. Pineal calcification: structural and functional aspects. Pineal Res. Rev.,(1985) 3:41-68
- 64 WETTERBERG , L. (1991). Light therapy of depression ; basal and clinical aspects Karolinska Institute, Department of psychiatry at St. Gorans hospital, S-11281 Estocolmo Suecia. 96-106.
- 65 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 the Pineal Research 4(3):247 - 252
- 66 WURTMAN, R.J.AXELROD, J. y KELLY, D.F. (1968):The Pineal Anatomy.Ed: Academic Press New York London
- 67 ZAMORANO- VELASCO, E. J; NARANJO RODRIGUEZ, E. B. Y C. REYES - VELAZQUEZ. Prototipo de un contador - Estimulador electrónico para el análisis de efectos ansiolíticos farmacológicos. XXV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Jalapa, Ver. 1992.

ABREVIATURAS

CI	Control Integro
CFPx	Control Falsamente Pinealectomizado
CPx	Control Pinealectomizado
FPx	Falsa Pinealectomía
FSH	Hormona Folículo Estimulante
GP	Glándula Pineal
HIOMT	Hidroxiindol-O-Metil Transferasa
5-HT	Serotonina
LH	Hormona Lutelnizante
Mel	Melatonina
NAT	N-Acetil Transferasa
NE	Norepinefrina
5-OHTL	5-Hidroxitriptofol
Px	Pinealectomía