EFECTOS DE LOS DEFICITS OLFATORIOS, SOBRE LAS ACCIONES ANTIGONADOTROFICAS DE LA GLANDULA PINEAL

Mª DOLORES MEDIAVILLA AGUADO

- TESIS REMITIDA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGIA POR LA UNIVERSIDAD DE SANTANDER
- Director: Dr. E. J. Sánchez Barceló
- Cátedra de Fisiologia Humana. Facultad de Medicina. Universidad de Santander.

Febrero 1984

A Emilio, Maria y

Emilio.

AGRADECIMIENTOS:

- Al Dr. E.J. Sánchez Barceló, director de la Tesis. Sus enseñanzas y su ayuda constante han sido básicas en el desarrollo de éste trabajo.

- Al Dr. J.E. Sánchez Criado, que durante su estancia en nuestro Dptº de Fisiología, participó decisivamente en los primeros diseños experimentales.

- Al Dr. M. Lafarga Coscojuela y a la Dra. M.T. Berciano, a quienes debo mi aprendizaje de técnicas histológicas.

- Al Dr. J. Jordá Catalá y a I. Silos Santiago, por su ayuda confeccionando los programas de ordenador empleados en los diseños gráficos.

- A la Drª M.D. Gutierrez-Cortines, por su ayuda en la realización de los R.I.A. de testosterona.

- A S. Cos Corral, que compartió conmigo algunas de las labores experimentales más penosas.

- Al resto de mis compañeros del Dptº de Fisiologia: Pablo, Charo, Mª José y Luis por su constante apoyo y estímulo.

- No quiero tampoco olvidar al Dr. A. Gallego por sus valiosos consejos sobre la elección de las técnicas histológicas utilizadas en nuestro trabajo.

EMILIO J. SANCHEZ BARCELO, Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Santander. Prof. Adjunto de Fisiologia Humana de la Facultad de Medicina de Santander.

CERTIFICO: Que la memoria presentada por Dña. Mª DOLORES MEDIAVILLA AGUADO, con el título de "EFECTOS DE LOS DEFICITS OLFATORIOS SOBRE LAS ACCIONES ANTIGONADOTROFICAS DE LA GLANDULA PINEAL", ha sido realizada bajo mi dirección y la encuentro conforme para ser presentada y aspirar al Grado de DOCTOR en Medicina y Cirugía por ésta Universidad.

Santander, a 14 de febrero de 1984.

I. INTRODUCCION

I.1. Anatomía funcional de la glándula pineal..... 2

I.2. La pineal como transductor neuroendocrino..... 5

I.2.1. Vías de acceso de la información luminosa..... 5

I.2.2. Síntesis de hormonas pineales; su control por la luz..... 7

I.2.3. Acciones de la pineal sobre la reproducción..... 8

I.2.4. Acciones de la melatonina sobre el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas..... 12

I.2.4.1. Lugar de vertido de la melatonina..... 12

I.2.4.2. Sitios de acción de la melatonina..... 12

I.2.4.3. Acciones de la melatonina..... 14

I.3. Anatomía funcional de los sistemas olfatorios..... 17

I.3.1. Sistema olfatorio principal..... 17

I.3.1.1. Receptor sensorial y vías aferentes..... 17

I.3.1.2. Primera sinapsis. B.O.P..... 18

I.3.1.3. Proyecciones centrípetas de los B.O.P..... 21

I.3.1.4. Proyecciones centrífugas hacia los B.O.P.... 21

I.3.2. Sistema olfatorio accesorio o vómeronasal..... 22

I.3.2.1. Receptor y vías aferentes..... 22

I.3.2.2. Primera sinapsis. B.O.A..... 22

I.3.2.3. Proyecciones centrípetas del B.O.A..... 24

I.2.3.4. Proyecciones centrífugas del B.O.A..... 24

I.3.3. Significado funcional de las proyecciones olfatorias..... 25

I.3.4. Otros sistemas olfatorios..... 25

I.3.4.1. Sistema trigeminal..... 25

I.3.4.2. Sistema de los nervus terminalis..... 26

I.3.4.3. Sistema del órgano de Masera..... 26

I.4. Bioquímica de los sistemas olfatorios..... 27

I.5. Fisiología de los sistemas olfatorios..... 31

I.5.1. Fenómenos que ocurren a nivel de la mucosa olfatoria..... 31

I.5.2. Procesamiento de la información en el bulbo olfatorio..... 33

I.6. Déficits olfatorios experimentales..... 36

I.6.1. Bulbectomía olfatoria..... 36

I.6.2. Irrigación nasal con sulfato de zinc..... 37

I.6.3. Otras técnicas clásicas para la obtención de déficits olfatorios..... 38

I.6.3.1. Lesión del T.O.L. 38

I.6.3.2. Destrucción de estructuras centrales de la vía olfatoria..... 38

I.6.3.3. Destrucción de los nérvios olfatorios..... 38

I.6.3.4. Legrado del neuroepitelio..... 39
I.6.3.5. Anestesia de la mucosa nasal..... 39
I.6.3.6. Oclusión nasal unilateral + hemibulbectomía ipsilateral..... 39
I.7. ¿Por qué anosmia y bulbectomía no son conceptos equivalentes?..... 40
I.8. La bulbectomía, como potenciador de las acciones pineales..... 43
I.9. Otros factores potenciadores de la actividad pineal..... 44
I.10. La pineal como integrador de estímulos ambientales que influyen sobre la reproducción..... 46
II. JUSTIFICACION 48
III. OBJETIVOS..... 50
IV. SERIES EXPERIMENTALES 53
V. MATERIAL Y METODOS..... 57
V.I. Animales de experimentación..... 57
V.2. Condiciones experimentales..... 57
V.3. Técnicas quirúrgicas..... 58
V.4. Pautas de administración de melatonina..... 65
V.5. Recogida de datos..... 68
V.6. Técnicas histológicas..... 69
V.7. Radioinmunoensayo de testosterona..... 73
V.8. Análisis estadístico y diseño gráfico..... 73
VI. RESULTADOS 80
VI.1. Resultados de la serie I 80
VI.2. Resultados de la serie II 113
VI.3. Resultados de la serie III 135
VI.4. Resultados de la serie IV 159
VI.5. Resultados de la serie V 190
VII. DISCUSION 218
VII.1. Discusión de los modelos experimentales..... 218
VII.1.1. Anosmia periférica experimental..... 218
VII.1.2. Bloqueo selectivo del sistema vómeronasal..... 220
VII.1.3. Valoración de cambios en la sensibilidad a la Melatonina en animales bulbectomizados o desaferentados..... 222
VII.1.4. Demostración de la mediación pineal de los efectos de la asociación de ceguera + anosmia periférica..... 223
VII.1.5. Estudio del paperl de la ingesta, en los efectos de la asociación de anosmia + ceguera..... 223
VII.2. Discusión de los resultados..... 224
VII.2.1. ¿Actúa la anosmia periférica como un factor potenciador de los efectos derivados de la actividad pineal..... 224

VII.2.1.1. Ingesta de alimentos..... 224
VII.2.1.2. Peso corporal..... 226
VII.2.1.3. Adenohipófisis..... 228
VII.2.1.4. Adrenales..... 230
VII.2.1.5. Sistema reproductor..... 231
VII.2.2. Respuesta a la melatonina en animales bulbectomizados o desaferentados..... 232
VII.2.3. Lugar de convergencia entre la actividad pineal y la olfatoria..... 235
VII.2.4. Participación del sistema vómeronasal, en la potenciación por anosmia, de los efectos de la actividad pineal..... 236
VII.2.5. Papel de la reducción de la ingesta, en los efectos antigonadotróficos de la asociación de ceguera + anosmia 238
VIII CONCLUSIONES 242
IX. BIBLIOGRAFIA 246

I. INTRODUCCION.

I.- INTRODUCCION

A lo largo de este trabajo, vamos a tratar de demostrar, como la información sensorial olfatoria es uno de los parámentros que, junto con las variaciones de iluminación ambiental , temperatura o disponibilidad de alimentos, constituyen, de alguna forma, la "entrada" de ese transductor neuroendocrino llamado glándula pineal, cuya "salida" está integrada por varios compuestos con actividad hormonal, entre los cuales, la melatonina parece capitalizar las acciones sobre el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, modulando el desarrollo del sistema reproductor, y las variaciones cíclicas de su actividad, en los animales con reproducción estacional.

Como vamos a centrarnos en las relaciones olfación-pineal- eje hipófisogonadal, revisaremos inicialmente el estado de los conocimientos en torno a la anatomía y fisiología pineales, así como los datos referentes a las acciones antigonadotróficas de la melatonina. Seguiremos con la revisión de la morfología y fisiología de los sistemas olfatorios y, finalmente, sintetizaremos las informaciones de ambos bloques, que nos sirvieron para la elaboración de la hipótesis experimental.

I.1. ANATOMIA FUNCIONAL DE LA GLANDULA PINEAL .-

La glándula pineal de los vertebrados, incluido el hombre, deriva de células ependimarias modificadas, de la región epitalámica del tercer ventrículo, formando parte de los llamados órganos circunventriculares, estructuras neurosecretoras como el órgano subcomisural, el área postrema, el órgano subfornical, la eminencia media y la neurohipófisis (WEINDL,1973). Se trata de un órgano macizo que en la rata, animal que emplearemos en nuestros experimentos, se encuentra situado en la línea media del encéfalo, inmediatamente debajo de la confluencia de los senos venosos longitudinal y transversos, entre los colículos superiores. En la mayoría de los mamíferos, sin embargo, se sitúa por debajo del cuerpo calloso. (Fig. I.1 A y B).

En los animales inferiores (anfibios, reptiles y algunos peces), la pineal está integrada por células (pinealocitos) con propiedades fotorreceptoras, comportándose como un auténtico "tercer ojo", pero a medida que ascendemos en la escala filogenética,

Fig. I.1 (A). Situación y relaciones de la Pineal en la rata (Modificado de BARDASANO (1980). (E) Epífisis o Pineal superficial; (SCO) Organo Subcomisural; (Cp) Comisura Posterior; (III V) Tercer ventrículo; (V) Vena magna; (Ch) Comisura de la Habénula; (C) Cráneo; (NC) Nervios Conarios; (HC) Hemisferio cerebral; (FH) Fibras Comisuro-Habenulares; (M) Mesencéfalo; (RP) Recesus pineal; (TC) Tienda del Cerebelo; (GC) Circunvolución del Cíngulo; (F) Fibras Comisuro-posteriores; (PC) Plexos Coroideos; (CB) Cerebelo; (CC) Cuerpo Calloso; (FX) Fórnix.

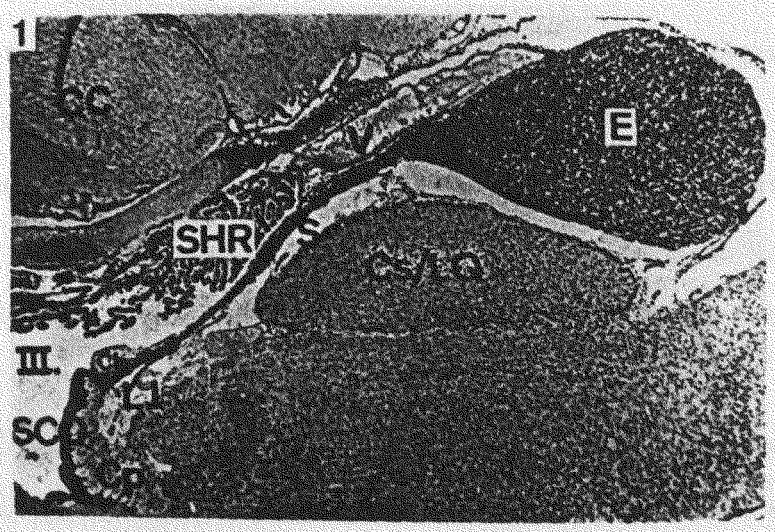


Fig. I.1 (B). Complejo pineal en la rata (x62). Tomado de BOECKMAN,(1980). (E) Epífisis; (S) Tallo; (LI) Lámina intercalaris, pineal profunda; (SCO) O. subcomisural; (Cp) Comisura posterior; (Ch) Comisura habenular.

los pinealocitos van perdiendo sus propiedades fotorreceptoras, transformándose en elementos neurosecretores en los mamíferos. En éstos la glándula está integrada por tejido conjuntivo, vasos, terminaciones nerviosas y células parenquimatosas, los pinealocitos, cuyas características morfológicas más interesantes son: la presencia de gránulos de secreción, en concentraciones que varían siguiendo ritmos circadianos (KACHI, 1979); y las prolongaciones citoplasmáticas que terminan en los espacios perivasculares (ARSTILLA, 1967)

Otras características morfológicas interesantes por su trascendencia funcional son:

- El tamaño de la glándula, que en los roedores guarda una estrecha relación con la latitud geográfica del hábitat de la especie considerada (QUAY, 1980), siendo mayor cuanto más al norte.

- Carece de barrera hemato-encefálica (MOLLER, DEURS, WESTERGAARD, 1978).

- Posee una extraordinaria vascularización, siendo su flujo sanguíneo mayor durante la noche (ROLLAG, O'CALLAGHAN; NISWENDER, 1978).

- Existe una estrecha relación entre la glándula y el tercer ventrículo, sobre todo a través del recesus pinealis, prolongación de la glándula que penetra entre los intersticios de la capa ependimaria, y donde se aprecian pinealocitos en contacto directo con el LCR (HEWING, 1980; BOECKMAN, 1980).

- En prácticamente todas las especies se ha descrito la presencia de concreciones calcáreas intraglandulares (acérvuli o córpora arenacea), integradas básicamente por calcio, fósforo y trazos de estroncio (KRSTIC, GOLAZ, 1977). Estos acérvuli, contrariamente a las ideas clásicas, parecen estar en relación con niveles elevados de actividad sintética de la glándula (REITER, WELSH, VAUGHAN, 1976).

- La inervación de la glándula depende básicamente de las fibras postganglionares del Ganglio Cervical Superior (GCS), tal como describió CAJAL* (1972). Estas fibras, desde el GCS, acompañan a los vasos sanguíneos (plexo de la carótida interna), atraviesan la tienda del cerebelo y forman uno o dos troncos, los nervios conarios, que

---

* Fecha de reimpresión.

entran en la glándula, se ramifican entre los pinealocitos y terminan en los espacios pericapilares (MATSUSHIMA, REITER, 1977). En las terminaciones de estas fibras hay vesículas conteniendo noradrenalina y serotonina, en número que varía siguiendo ritmos circadianos (MUKAY, MATSUSHIMA, 1980). También existe una inervación colinérgica, demostrada por ROMIJN (1975) y TAYLOR, ALBUQUERQUE, BURT, 1980).

Aparte de esta doble inervación periférica,simpática y parasimpática, hay evidencias, derivadas de estudios electrofisiológicos (SEMM, VOLLRATH, 1978),e inmunohistoquímicos (BUIJS, PEVET, 1980; KORF, WAGNER, 1980; DAFNEY, 1980), que demuestran conexiones con el SNC, fundamentalmente con la habénula y núcleo paraventricular hipotalámico.

I.2. LA PINEAL COMO TRANSDUCTOR NEUROENDOCRINO .-

La glándula pineal está actualmente considerada como un transductor de informaciones sensoriales y endocrinas, recibidas por vías neurohumorales, en señales de carácter hormonal. En base a esta concepción, realizaremos el estudio de la fisiología pineal en tres apartados básicos: entradas al sistema, mecanismos internos de la glándula (síntesis de indolaminas), y características de la salida del sistema (hormonas pineales y sus acciones).

I.2.1. Vias de acceso de la información luminosa.-

Como describíamos al referirnos a la morfología pineal, a medida que ascendemos en la escala filogenética, los pinealocitos van perdiendo sus propiedades fotorreceptoras, al mismo tiempo que su situación más profunda en el encéfalo y la mayor consistencia de la cubierta ósea, dificultaría también el acceso directo de la luz. En las especies superiores, los receptores del "input" lumínico son los conos y bastones retinianos exclusivamente, y el espectro luminoso capaz de inhibir la actividad enzimática de la pineal, es superponible al espectro de absorción de la rodopsina de los bastones (WURTMAN, 1975), por lo que éstos pueden ser considerados como los recep-

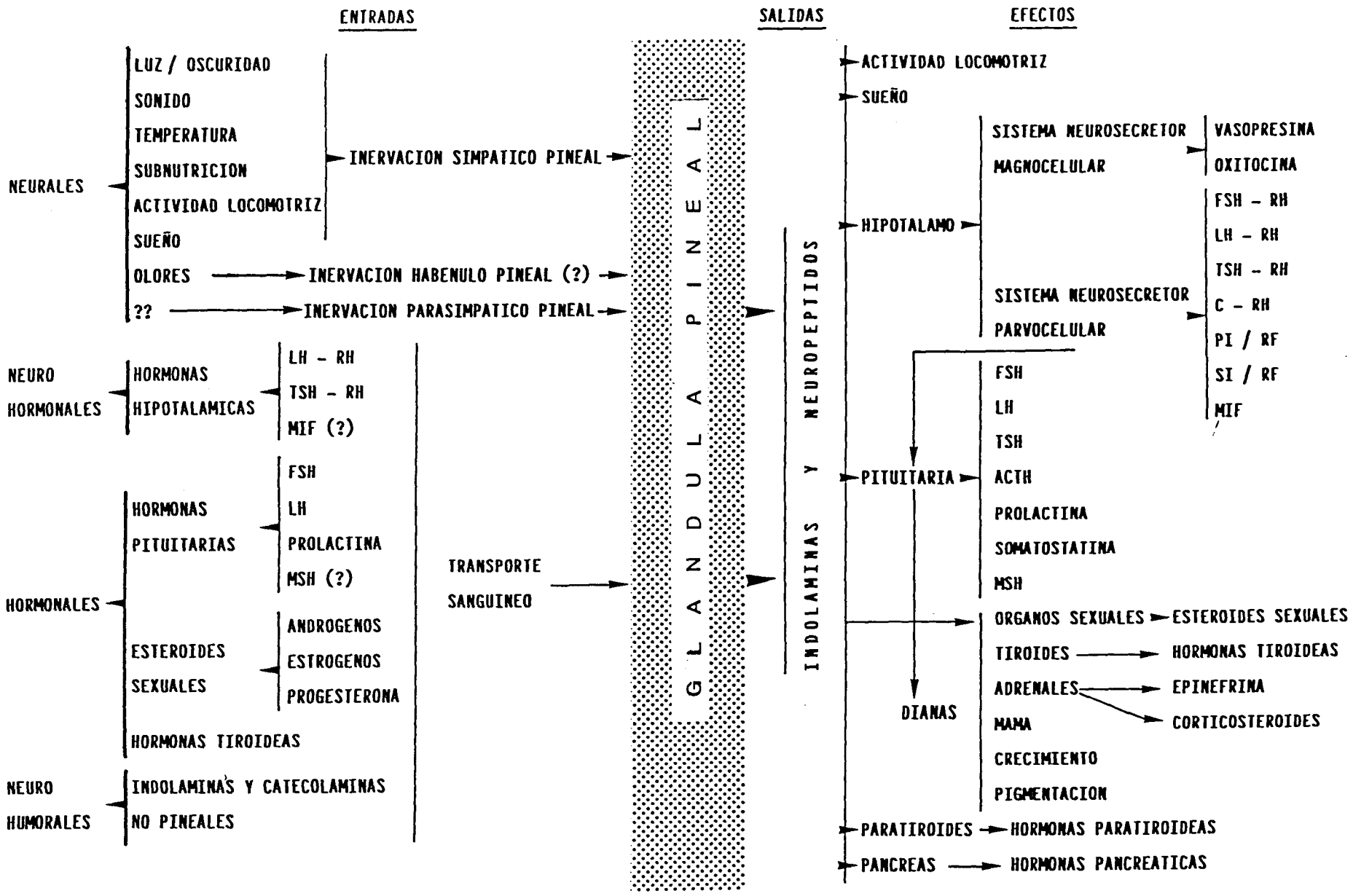


Fig. I-2. La Glándula Pineal como Transductor Neuroendocrino. (Modificado de KAPPERS, 1978).

tores de la información luminosa destinada a la pineal. De acuerdo con MOORE (1979) , los axones de las células ganglionares retinianas terminan en los núcleos supraquiasmáticos (NSQ) y desde ellos parten axones hacia el área tuberal medial del hipotàlamo; neuronas de esta área poseen axones que pasan al hipotálamo lateral, donde hacen sinapsis con células cuyos axones descienden a través del tronco cerebral, terminando en neuronas preganglionares simpáticas de la columna intermedio lateral de los segmentos torácicos superiores. Los axones de las neuronas preganglionares alcanzan el ganglio cervical superior (GCS). Las fibras postganglionares penetran en la pineal (nervios conarios), donde la mayor parte de ellos terminan.

A través de esta complicada vía neural, la alternancia luz/oscuridad ejerce su modulación sobre la actividad sintética y secretora de la pineal. (Fig. I-4)

I.2.2. Síntesis de hormonas pineales; su control por la luz.-

En la glándula pineal se han descrito numerosos componentes, tales como indolaminas, catecolaminas, alfa MSH , renina y neuropéptidos como TRH, LHRH, AVT y AVP, pero únicamente en el caso de las indolaminas existen pruebas suficientes de su síntesis en la propia glándula. La melatonina (N-Acetil-5-Metoxi-Triptamina) es la indolamina responsable de la actividad endocrina pineal.

La melatonina se sintetiza a partir del triptófano en dos etapas (REPPERT, KLEIN, 1980); en la primera se sintetiza serotonina, actuando como catalizadores la triptófano hidroxilasa y la aa. aromático decarboxilasa. En la segunda, la serotonina se convierte en N-Acetil-Serotonina, por la acción de la N-Acetil-transferasa (NAT), y posteriormente en melatonina, a través de la Hidroxi-indol-O-metil-transferasa (HIOMT).

En un principio se pensó que la HIOMT era una enzima exclusiva de la pineal, pero posteriormente se describió también su presencia en la retina (CARDINALI, ROSNER, 1971), órgano de Harder (VLAHAKES, WURTMAN, 1972) y tracto gastrointestinal de la rata (QUAY, MA, 1976). En todos estos órganos se ha podido demostrar la síntesis de melatonina (BALEMANS y Cols. 1980; HOLLOWAY, GROTTA, BROWN,

(1980).

La actividad de las enzimas esenciales en la síntesis de melatonina, fluctúa en respuesta a los cambios que experimentan los niveles de radiación luminosa captados por la retina (AXELROD, WURTMAN, SNYDER, 1965; KLEIN, WELLER, 1970), y consecuentemente varía de manera asociada, la concentración de indolaminas pineales.

La luz actúa como un potente inhibidor de la actividad de la HIOMT y la NAT (KLEIN, 1979 revisión). La figura I-4, modificada de KLEIN y MOORE (1979), esquematiza las vías y mecanismos a través de los cuales, la luz llega a la pineal y bloquéa la síntesis de melatonina.

En el medio natural, la información luminosa presenta variaciones circadianas y circanuales y lo mismo ocurre con la melatonina. A lo largo de un ciclo de 24 h. los niveles de melatonina presentan un pico durante la fase de oscuridad, y se mantienen muy bajos durante la fase de iluminación (Fig.I-3)(OZAKI, LYNCH, WURTMAN, 1976). En cuanto a los ritmos circanuales, BRAINARD y Cols.(1982), demostraron en el hamster, en condiciones naturales o en laboratorio con simulación de las mismas, mayor síntesis de melatonina durante los meses de invierno (días cortos) que durante los de verano (días largos). Estudios recientes de otro grupo (BALEMANS y Cols. 1983), también sobre el hamster, confirman la existencia de ritmos circanuales para las indolaminas, tanto a nivel pineal, como en retina y órgano Harderiano, aunque el sentido de las variaciones es opuesto al descrito por el grupo de Brainard.

I.2.3. Acciones de la pineal sobre la reproducción .-

De todos los órganos del sistema endocrino, los asociados al control de la reproducción, son los más influenciados por la pineal. Estas influencias han sido estudiadas en tres tipos básicos de diseños experimentales: pinealectomía, exposición a fotoperíodos largos o luz continua, y exposición a fotoperíodos cortos o ceguera. Las conclusiones más aceptadas son las siguientes:

- La exposición a "días cortos", origina en los machos, una involución de las gónadas y glándulas sexuales accesorias, más o menos intensa según la especie animal

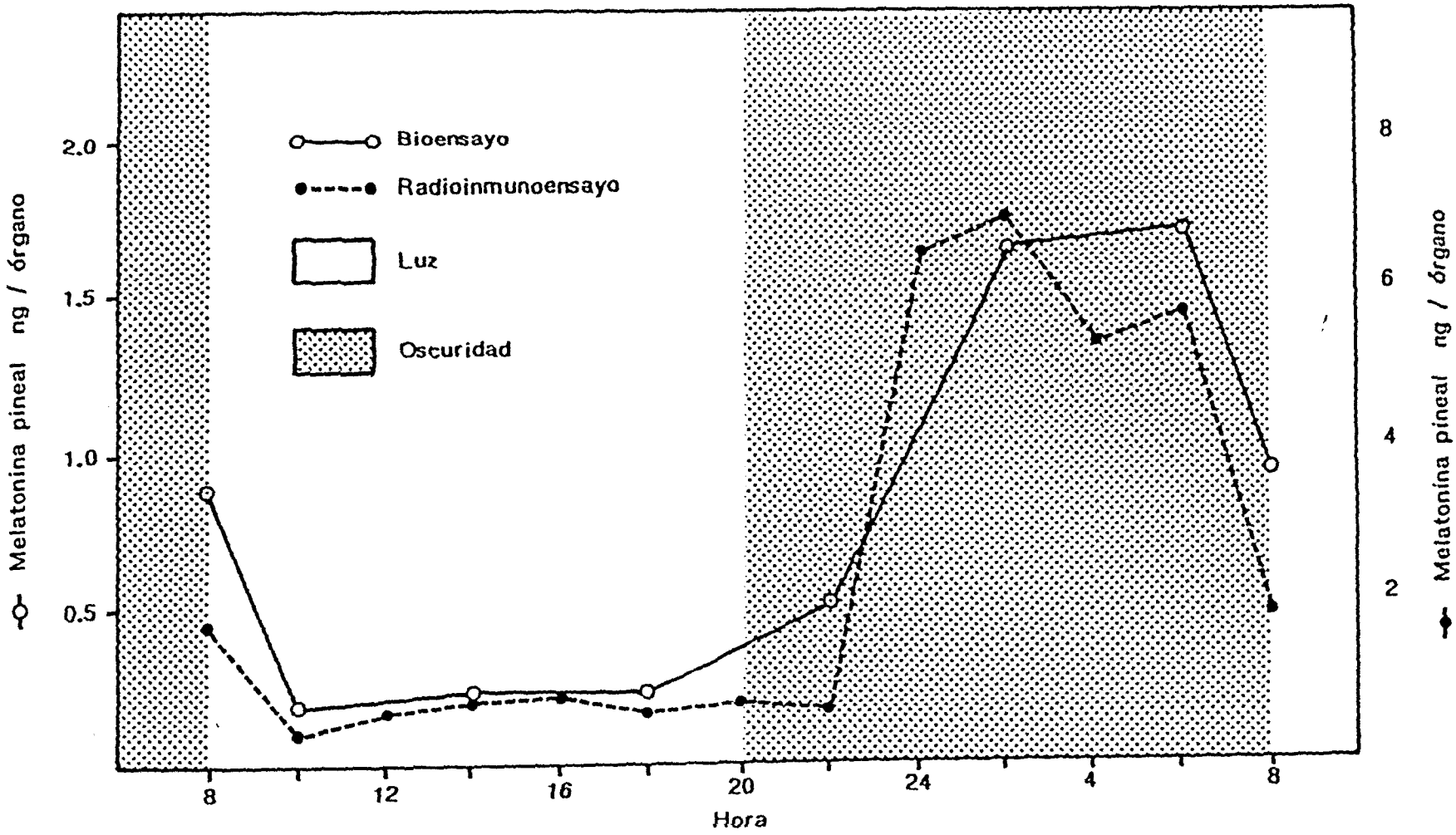


Fig. I-3. Variaciones circadianas de la concentración de Melatonina en la Glándula Pineal.

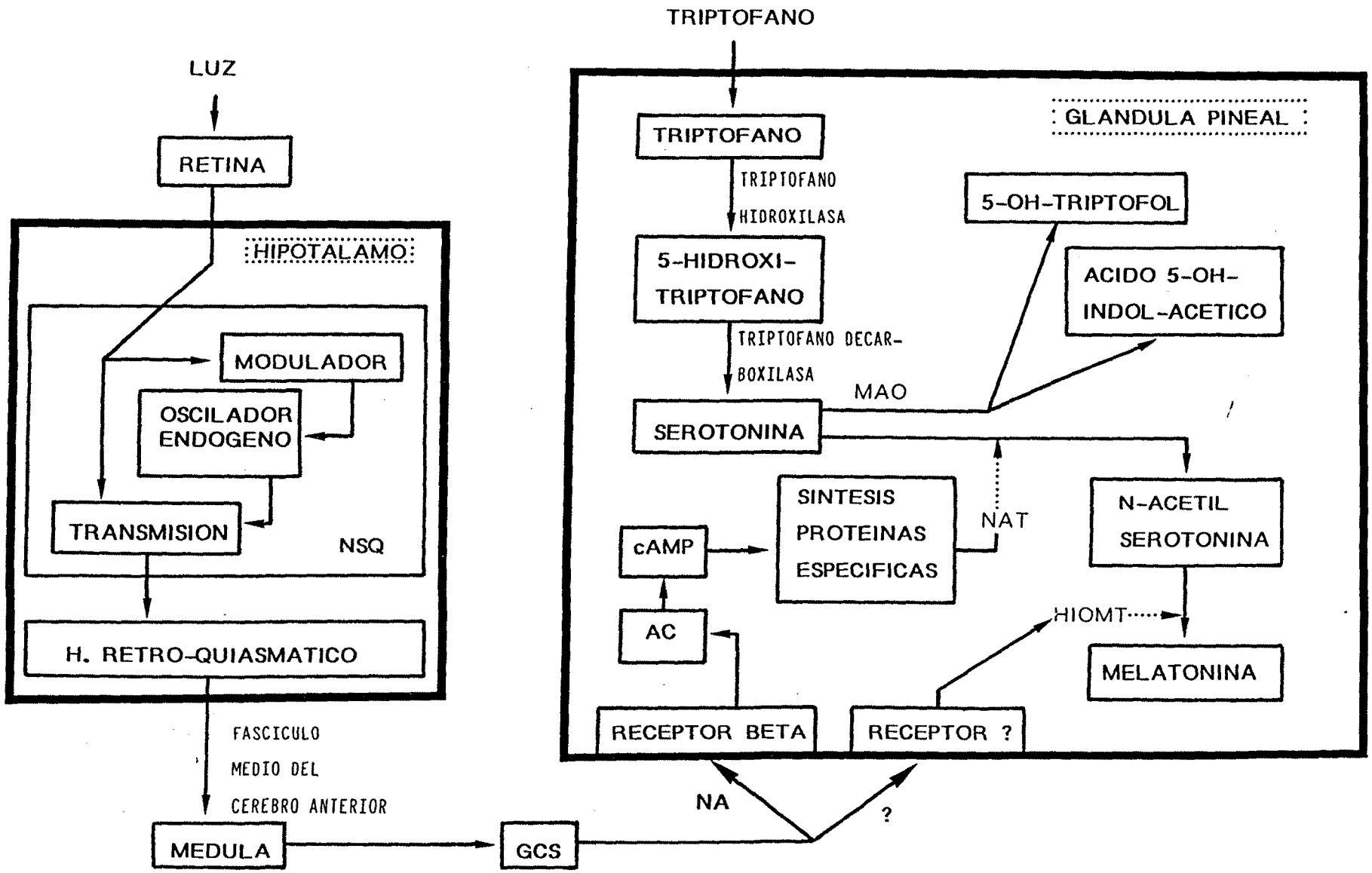


Fig. I-4. Regulación, por la luz, de la síntesis de Melatonina (Modificado de KLEIN y MOORE, 1979).

considerada. En el hamster llega a producirse un cese total de la actividad espermatogénica de las gónadas (HOFFMAN y REITER, 1965). En las hembras se interrumpe el ciclo estral, la ovulación cesa y el útero se torna infantil (SORRENTINO, REITER, 1970); los ovarios suelen mostrar una marcada proliferación del tejido intersticial (REITER, JOHNSON, 1974). En todos los casos, la pinealectomía previene los efectos de la reducción de las horas de luz (PETTERBORG, REITER, BRAINARD, 1981; REITER, 1982, revisión), y la ablación del GCS o el trasplante de la glándula fuera del ámbito de su inervación habitual, tiene efectos semejantes a los de la pinealectomía (REITER, 1967; REITER, 1982 revisión).

- La exposición a luz continua interrumpe los ciclos vaginales en la rata, induciéndo cuadros de estro continuo (EVERETT, 1961). Sin embargo, estos cambios no son debidos sólo a la inhibición de la actividad pineal, sino también a la influencia de la luz, a través de la vía retino-hipotalámica, sobre el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas (REITER, 1976).

- En el hamster macho, la exposición a fotoperíodos cortos, provoca variaciones inconstantes en los niveles de FSH y LH, que contrastan con la claridad y constancia de los efectos medidos sobre las gónadas y glándulas accesorias (REITER, 1982). Los niveles séricos de testosterona caen hasta un 70% de los valores normales (BERNSTON, DESJARDINS, 1974). La administración de LHRH en estos animales, no es capaz de restaurar la actividad gonadal, pese a elevar los niveles de las gonadotrofinas a valores normales (TUREK, ALVIS, MENAKER, 1977). Sin embargo, suele ser constante la reducción de la Prolactina (PRL) circulante, coexistiendo con la atrofia gonadal inducida por hiperactividad pineal. Todos estos datos condujeron a BARTKE, CROFT, DALTERIO, (1975) a emitir la hipótesis del papel fundamental de la PRL como mediadora de las acciones pineales; en efecto, la reducción de los niveles de PRL, consecuencia de la actividad pineal, reduciría a su vez la población de receptores gonadales para la LH. Esta hipótesis ha sido desarrollada por numerosos autores (MATTEWS, BENSON, RICHARDSON, 1978; BEX y Cols. 1978; BENSON, MATTEWS, 1980; CHEN, REITER, 1980) y parece ser válida al menos en el hamster, pero no en otras espécies como la rata, en la que el grado de atrofia gonadal es independiente de la tasa de PRL

circulante (SANCHEZ BARCELO,1982;MEDIAVILLA y Cols.1982;LEADEM,BLASK,1982a). En las hembras del hamster, la estimulación pineal eleva las gonadotrofinas hipofisarias y desciende, como en los machos, la PRL (REITER, JOHNSON, 1974).

I.2.4. Acciones de la Melatonina sobre el eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónadas.-

I.2.4.1. Lugar de vertido de la melatonina: Aunque en un principio existió controversia sobre el lugar de vertido de las hormonas pineales: sangre o LCR: dado que en .ambos fué descrita la presencia de melatonina y que la administración de hormona exógena era eficaz tanto por vía sanguínea como intratecal, o incluso más eficaz por ésta última, desde los trabajos de WITHYACHUMNARNKUL y KNIGGE (1980), parece fuera de toda duda, que la pineal vierte su secreción hacia la sangre, de donde procede la melatonina hallada en el LCR, transportada, probablemente, a través de los plexos coroideos (SMULDERS, WRIGHT, 1980).

I.2.4.2. Sitios de acción de la Melatonina .- Cuatro son los principales órganos diana de esta hormona:

a) Hipotálamo.- KAMBERI, MIKAL, PORTER (1970), demostraron que la infusión de melatonina en los vasos portales hipotálamo-hipofisarios, no modificaba los niveles de gonadotrofinas, mientras que perfundiéndo en tercer ventrículo, se obsevaba un significativo descenso en la FSH y LH séricas. Posteriormente se demostró la existencia de receptores específicos, en el hipotálamo medio basal (CARDINALI, VACAS, BOYER, 1978), y REITER y Cols. (1981) comprobaron como la desaferentación anterior del hipotálamo, suprimía los efectos antigonadotróficos de la melatonina. Actualmente se acepta pues, que la melatonina bloquea la síntesis y/o liberación de LHRH hipotalámica. Pese a la generalización de esta hipótesis, existen datos en contra, no de la actuación de la melatonina sobre el hipotálamo, sino de la forma en que modifica la liberación de LHRH; así, KAO y WEISZ (1977) perfundiéndo hipotálamos "in vitro", obtienen un incremento en la liberación de LHRH.

b) Hipófisis.- En la rata inmadura, la hipófisis parece ser

uno de los sitios de acción de la melatonina, bloqueando la respuesta a las hormonas hipotalámicas (MARTIN, ENGEL, KLEIN, 1977; MARTIN, Mc KELLAR, KLEIN, 1980), pero este hecho sólo ha podido ser demostrado en animales inmaduros, nunca en adultos.

c) Pineal.- VACAS y CARDINALI (1980), demostraron la existencia de receptores para la melatonina, en la propia pineal. El significado funcional de este dato, permanece aún sin aclarar, aunque, no cabe duda, que estas estructuras justifican las diferencias en la respuesta a la melatonina exógena, cuando ésta se administra a ratas intactas ò pinealectomizadas (SANCHEZ BARCELO, 1982; SANCHEZ BARCELO y Cols.1982a), quizás a través de la liberación de otros compuestos pineales, para los cuales, la melatonina, actuaría como un auténtico factor de liberación, idea defendida por PAVEL (1973), para quien la melatonina no es más que el factor de liberación de Arginina-Vasotocina pineal.

d) Gónadas y/o glándulas sexuales accesorias.- DEBELJUK y Cols. (1971), demostraron que la melatonina afectaba la regresión de los testículos y glándulas accesorias tras hipofisectomía, lo que patentizaba la existencia de acciones directas de esta hormona sobre las gónadas. Estos autores propusieron las células de Leydig como sitio de acción de la melatonina. Para ELLIS (1972), el mecanismo de acción de la melatonina consistiría en una inhibición de las enzimas: 17-alfa-hidroxipregneno-C_{17}-C_{20}-asa y 17-beta-hidroxiesteroide-deshidrogenasa, en la síntesis de testosterona, explicando así los resultados obtenidos por PEAT y KINSON (1971), de una reducción de la producción de andrógenos, en incubaciones de tejido testicular, tras al adición de melatonina. Estudios "in vitro", sobre tejido ovárico, demostraron también inhibición de la síntesis de estrógenos y progesterona, en presencia de melatonina (Mc. PHEE, COLE, RICE, 1975). La descripción de receptores específicos citoplasmáticos para la melatonina, en las gónadas de roedores y humanos (COHEN y Cols. 1978), corroboraban los anteriores trabajos.

Nos parecen especialmente interesantes, los trabajos de ALONSO y Cols. (1978), que aportan un enfoque distinto a los anteriormente expuestos, siempre en la

línea de las acciones periféricas de la melatonina. Para estos autores, la melatonina actuaría como un antiandrógeno, bloqueando la respuesta de las glándulas sexuales accesorias a la testosterona. La experiencia que tenemos en nuestro laboratorio, apoya estas ideas, ya que frecuentemente encontramos , tras inducción de hiperactividad pineal por diversos medios, atrofia de los órganos testosterona-dependientes, sin alteraciones morfológicas ni ponderales de las gónadas (SANCHEZ BARCELO, 1982; COS y Cols. 1983). Estudios recientes de THIEBLOT y Cols. (1983), no hallaron efectos de la melatonina sobre la producción de testosterona en cultivos de células de Leydig, contrariamente a las descripciones de Ellis y a las de Peat y Kinson, citados anteriormente. En las hembras no se ha estudiado la posibilidad de acciones antiesteroideas semejantes a las de los machos.

1.2.4.3. Acciones de la Melatonina .- Las descripciones de los efectos de esta hormona pineal, son extraordinariamente abundantes y derivan, en su mayor parte, de la administración de melatonina sintética, por diversas vías: intratecal, inyecciones subcutáneas o intraperitoneales, "pellets" subcutáneos (MINNEMAN, WURTMAN, 1975; REITER , 1982 ; SMITH, 1983; revisiones) y más recientemente por vía oral (HORST, BUCK, ADAM, 1982; PEVET, HALDAR-MISRA, 1982; BUBENIK, 1983).

Pese a que, en la mayoría de los casos, se describen efectos de tipo antigonadotrófico, existen también descripciones de ausencia de efectos (TALBOT, REITER, 1973-74), e incluso de efectos progonadotróficos (HOFMANN, 1974; TUREK, DESJARDINS, MENAKER, 1975). Para MOGUILEVSKY y Cols. (1979), el carácter anti o progonadotróficos sería función de la dosis administrada.

En 1976, TAMARKIN y Cols. aportaron un dato fundamental para comprender estas discrepancias, observando que, la hora del día a la cual se inyectaba la melatonina, era de capital importancia para obtener o no efectos sobre el eje hipófiso-gonadal. Sólo resultaba eficaz cuando se administraba durante el último tercio de la fase de iluminación. VACAS y CARDINALI (1979), aportaron las bases

necesarias al trabajo del grupo de Tamarkin, al describir que, el número de receptores a la melatonina, en los cerebros de la rata y hamster, varía siguiendo los ritmos luz/oscuridad, y la máxima concentración de receptores corresponde a las horas de máxima sensibilidad a la melatonina exógena. Por otra parte, REITER (1980), consideraba que, tras la interacción melatonina-receptor, sucede una fase de refractoriedad en éstos, que impide la respuesta a nuevas descargas de melatonina, de esta forma se explicaría la falta de efectos cuando es administrada en las primeras horas de la mañana, en el período refractario provocado por el pico nocturno de hormona endógena. De igual manera, la implantación de "pellets" subcutáneos, da lugar a efectos progonadotróficos, por mantener los receptores continuamente bloqueados.

Tampoco los resultados obtenidos con la administración de melatonina, son totalmente superponibles a los derivados de la inducción de hiperactividad pineal. De acuerdo con SANCHEZ BARCELO (1982), la razón de tantas aparentes contradicciones, estriba en la dificil valoración del grado de incidencia de la melatonina exógena, en cada uno de los niveles en que se han demostrado receptores específicos (hipotálamo, hipófisis, pineal, gónadas y g. sexuales accesorias), y de las alteraciones que, consecuentemente, se introducen en los lazos de retroalimentación hipotálamo-hipófisis-gónadas, sin olvidar la posible liberación de otras hormonas pineales, inducida por la melatonina. La dosis administrada, podría ser uno de los factores determinantes de los sitios de acción. También la presencia o no de la pineal condicionaría los efectos de las indolaminas. La Fig. I-5., tomada de SANCHEZ BARCELO (1982), esquematiza estas ideas.

Por todas estas razones, renunciamos a definir un patrón "normal" de respuesta a la melatonina, ya que hay muchos patrones dependiendo de las condiciones del experimento en el que se hayan obtenido. MINNEMAN y WURTMAN, (1975), publicaron una completa revisión de los efectos de las indolaminas pineales en los mamíferos, y a ella nos remitimos.

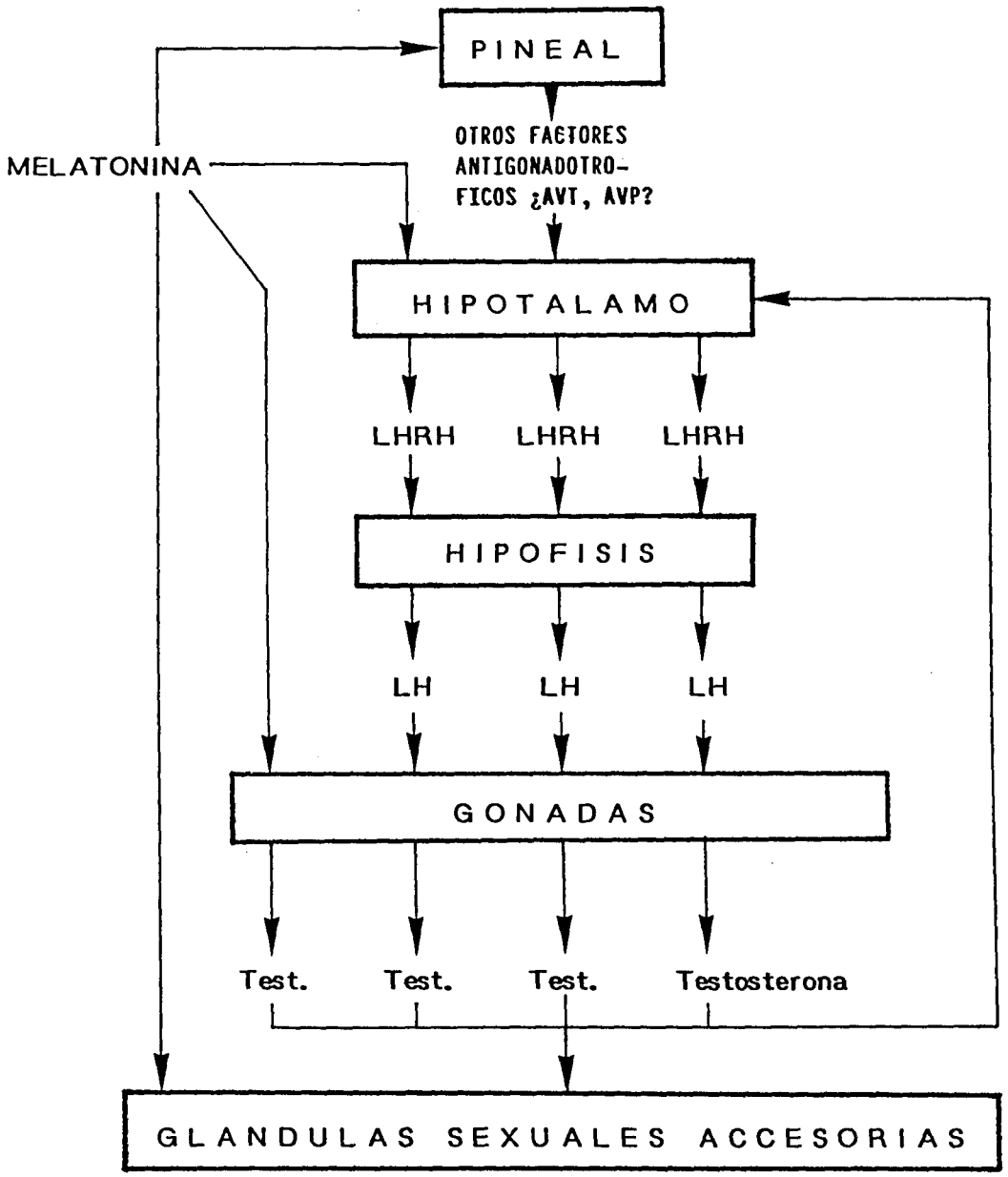


Fig. I-5. Diagrama explicativo de los posibles sitios de acción de la Melatonina exógena. (Modificado de SANCHEZ BARCELO, 1982).

I.3. ANATOMIA FUNCIONAL DE LOS SISTEMAS OLFATORIOS .-

El sentido del olfato, está integrado por una serie de sistemas asociados, aunque morfológicamente bien diferenciados, cuya participación en el proceso sensorial global, no es bien conocida para alguno de ellos. Sus dos componentes más importantes parecen ser el Sistema Olfatorio Principal (SOP), que se proyecta fundamentalmente hacia áreas hipotalámicas, y el Sistema Olfatorio Accesorio o Vómeronasal (SVN), con proyecciones hacia amígdala (RAISMAN, 1972). Menos conocidos son el Sistema Trigeminal, Sistema de los Nervios Terminales y Sistema del Organo de Masera.

I.3.1 Sistema olfatorio principal.-

Está presente en todos los vertebrados y ha sido objeto de numerosos estudios morfofuncionales; en nuestra descripción seguiremos los trabajos de CAJAL* (1972), DE CASTRO (1920), GRAZIADEI (1971), Mc LEOD (1971), SHEPHERD (1972), WESTRUM (1975), SCALIA y WINANS (1975), LEONARD (1981).

Para facilitar su descripción, dividiremos la vía olfatoria principal en:

1.- Receptor sensorial y vías aferentes.

2.- Primera sinapsis: bulbo olfatorio principal (BOP)

3.- Proyecciones centrípetas del BOP.

4.- Proyecciones centrífugas sobre el BOP.

I.3.1.1. Receptor sensorial y vías aferentes.-

La percepción olfatoria, se realiza en la parte superior de la mucosa que tapiza las fosas nasales. Esta mucosa está organizada en dos capas:

1.- Capa superficial o epitelial; consta de:

a) Células epiteliales o de sostén.

b) Células bipolares o receptoras: constituyen los auténticos receptores sensoriales. Son células nerviosas, provistas de dos prolongaciones,

* Fecha de reimpresión.

una periférica, que termina en la superficie libre de la mucosa, a cuyo nivel se implantan varios cilios finos e inmóviles, bañados por una película mucoide que actúa como solvente para las partículas olorosas. Estudios recientes (KAUER, 1983) han demostrado una continuidad entre el citoplasma celular y el ciliar, detalle de gran repercusión funcional, como veremos más adelante, en la génesis de los potenciales de acción en las células bipolares. La otra prolongación, central, atraviesa la dermis. Las prolongaciones centrales de varias células bipolares, se agrupan formando los nervios olfatorios, que atraviesan la lámina cribosa del etmoides, penetrando en los bulbos olfatorios principales, donde establecerán la primera sinapsis de la vía olfatoria principal, con las células mitrales y en penacho.

c) Células basales: son de forma cuboidal y están situadas en la región más profunda de la mucosa. En todos los mamíferos, incluidos los primates, estas células están en continua proliferación (GRAZIADEI y Cols. 1980) y son la fuente de nuevas células receptoras, que al cabo de un cierto tiempo, sufren degeneración, siendo sustituidas por otras.Se establece así un proceso de continua renovación del neuroepitelio sensorial.

d) Fibras de Brunn: terminan en la superficie libre de la mucosa, aunque su origen es desconocido.

2.- Capa profunda, conjuntivo glandular o dermis: Está constituida por tejido conjuntivo laxo, capilares linfáticos y sanguíneos y glándulas de Bowman.

I.3.1.2. Primera sinapsis. B.O.P.-

El BOP se sitúa, en los vertebrados inferiores, por delante del lóbulo frontal. Constituye la primera estación de relevo de la vía olfatoria principal, que se establece entre las prolongaciones centrales de las células bipolares, las dendritas de las células mitrales y las de las células en penacho, constituyendo los llamados glomérulos olfatorios.

El BOP, está estructurado en siete capas que, de fuera a dentro, son:

I.- Capa nerviosa superficial, constituida por paquetes de fibras amielínicas, que no son otra cosa que las prolongaciones de las células bipolares que atraviesan la lámina cribosa. Existe también abundante neuroglía.

II.- Capa de los glomérulos. Está integrada por los llamados glomérulos olfatorios, dispuestos en una a modo de banda concéntrica alrededor de todo el bulbo. Cada glomérulo está compuesto por: una arborización terminal de fibras olfatorias originadas en las bipolares; dendritas de las células mitrales y en penacho; los granos externos o superficiales y las células de neuroglía. Los granos externos, poseen prolongaciones dendríticas que se extienden a varios glomérulos, por lo que pueden considerarse neuronas de asociación, además, según estudios de HALASZ y Cols. (1977) y DAVIS, HOFFMAN, MACRIDES, (1980), contienen diversos neuropéptidos (encefalinas, releasing factors y dopamina).

III.- Capa molecular o plexiforme externa, constituida por un plexo resultante del entrecruzamiento de: las dendritas de las células mitrales y en penacho, que se dirigen hacia los glomérulos; las arborizaciones dendríticas de los granos internos; las colaterales recurrentes de los axones de las células mitrales y en penacho. En esta capa existen también células en penacho, situadas o bien en el espesor de la capa (c. internas) o próximas a los glomérulos (c. externas).

IV.- Capa de las células mitrales. Estas células tienen forma ovoidea o triangular, situándose en una o varias capas concéntricas. Poseen tres tipos de prolongaciones:

- Axón, que se dirige hacia la capa plexiforme interna dando origen, junto a los axones de las células en penacho, al tracto olfatorio lateral.

- Dendrita principal, que se dirige hacia los glomérulos olfatorios.

- Dendritas secundarias o accesorias, que partiendo del soma neuronal o de la base de la dendrita principal, se dirigen hacia la plexiforme externa, sin alcanzar nunca los glomérulos.

V.- Capa plexiforme interna, formada por los cilindroejes de las c. en penacho y mitrales, y algunas fibras centrífugas.

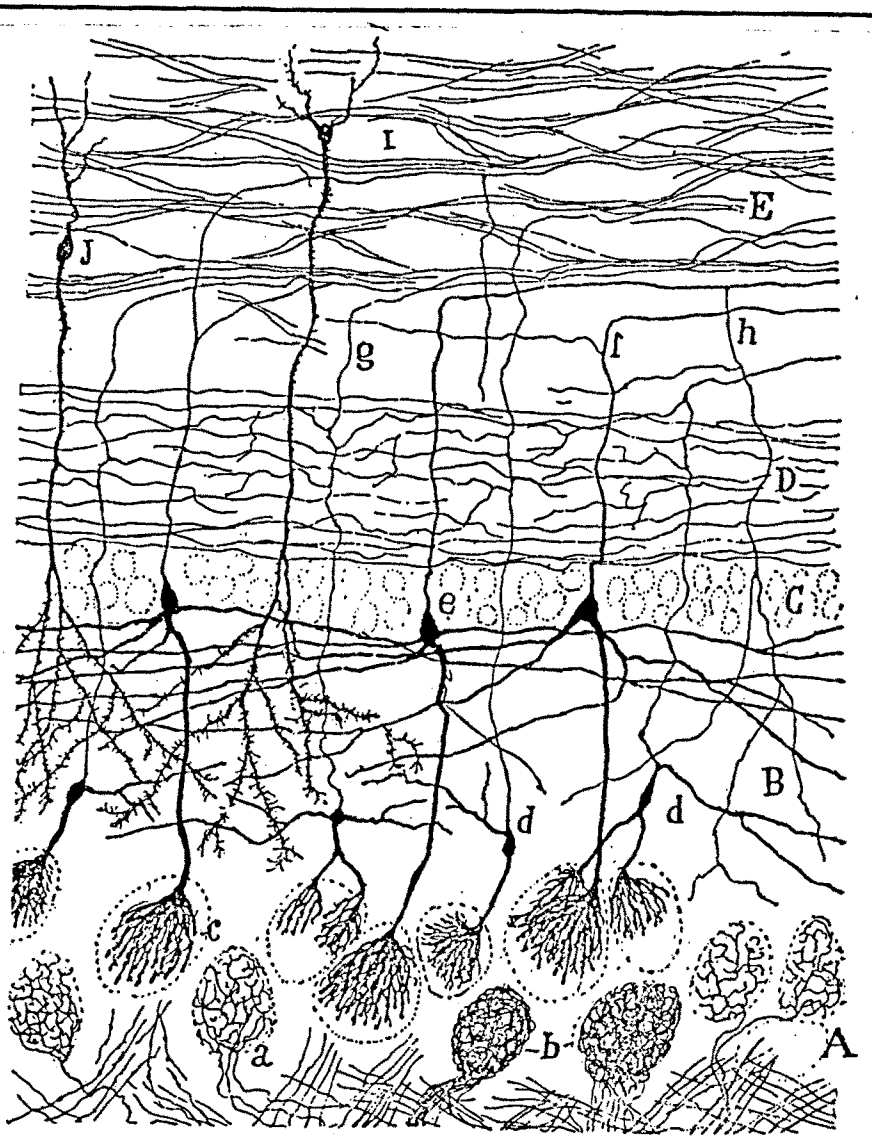


FIG. 412. — Coupe du bulbe olfactif du chat âgé de quelques jours. Méthode de Golgi.

A, couche des glomérules; — B, couche plexiforme externe; — C, couche des cellules mitrales; — D, couche plexiforme interne; — E, couche des grains et substance blanche; — I, J, grains internes; — *a*, arborisation terminale d'une fibre olfactive; — *b*, glomérules renfermant plusieurs terminaisons olfactives; — *c*, bouquet protoplasmique d'une cellule mitrale; — *d*, cellules à panache dendritique; — *h*, collatérale récurrente du cylindre-axe d'une cellule mitrale.

Fig. I.6. Citoarquitectura del bulbo olfatorio (Según Ramón y Cajal, tomado de "Histologie du systeme nerveus de l'homme & des vertebres" , edición de 1972).

VI.- Capa de los gránulos y de los fascículos de sustancia blanca, constituida por tres elementos: granos internos, células de axón corto y plexos nerviosos. Los granos internos poseen dendritas que se proyectan hacia la plexiforme externa, donde hacen sinapsis con las dendritas secundarias de las c. mitrales. Son neuronas inhibidoras gabérgicas (KAPLAN, HINDS, 1977), capaces de generarse a lo largo de la vida del animal. Las c. de axón corto, de forma estrellada o fusiforme, atendiendo a la morfología de su cilindroeje se denominan Células de Golgi, Células de Cajal o Células de Blanes. Los plexos nerviosos están integrados por pequeños haces de fibras mielínicas y amielínicas, aferentes y eferentes.

VII.- Capa epitelial, formada por células ependimarias que rodean la cavidad ventricular del bulbo olfatorio.

I.3.1.3. Proyecciones centrípetas de los B.O.P.

Los axones de las células mitrales y en penacho, forman el tracto olfatorio lateral (TOL), que es el único tracto de proyección olfatoria hacia centros superiores (DEVOR, 1976).

La figura I-7, sistematiza los lugares de proyección del BOP. Ha sido realizada con datos procedentes de SCALIA y WINANS (1975) y LEONARD (1981).

I.3.1.4. Proyecciones centrífugas hacia los B.O.P.

En los últimos diez años, se han realizado numerosos estudios histológicos, histoquímicos y electrofisiológicos, tendentes a identificar las proyecciones del SNC sobre los BOP. Se han descrito vías noradrenérgicas y serotoninérgicas, originadas en el locus ceruleus y núcleos del rafe medio (DE OLMOS, HARDY, HEIMER, 1978; FALLON, MOORE,1978a ;MACRIDES y Cols. 1981; FONT y Cols. 1982), y vías colinérgicas de distintos orígenes (UNGERSTEDT, 1971), proyectadas todas ellas hacia los bulbos olfatorios. Al parecer, el Tubérculo Olfatorio, juega un importante papel,

como estación de relevo de la información eferente del tronco cerebral hacia los bulbos olfatorios (GUEVARA-AGUILAR y Cols. 1982).

I.3.2. Sistema olfatorio accesorio o vómeronasal.-

EL sistema vómeronasal es común a los reptiles y a la mayoría de los mamíferos.

I.3.2.1. Receptor y vías aferentes.-

El órgano receptor en el sistema vómeronasal (SVN), es el epitelio vómeronasal u Organo de Jacobson, descrito por este autor en 1811. En la rata, el Organo de Jacobson es una cavidad par, tubular, situada sobre el suelo de la cavidad nasal, en el septum; se abre únicamente a la cavidad nasal, a través de un ductus en la pared septal (KRATZING, 1971; BOJSEN, MOLLER, 1975); en otras especies se abre también a la cavidad oral, a través del canal nasopalatino. El epitelio vómeronasal deriva, al igual que el olfatorio, de la placoda olfatoria. A diferencia del SOP, el sistema vómeronasal carece de cílios, poseyendo en cambio microvellosidades (GRAZIADEI, 1971); es rudimentario en el hombre, aunque está presente en los fetos. El epitelio vomeronasal está especializado en la recepción de los componentes olorosos no volátiles (MEREDITH, O'CONNELL, 1979; LADEWIG, HART, 1980; WYSOCKI y Cols. 1980), y parece ser el receptor del mensaje feromonal (SANCHEZ CRIADO, GALLEGO, 1977).

Los axones de las células receptoras, forman los dos nervios vómeronasales, amielínicos, que siguen un trayecto intranasal en la profundidad de la mucosa olfatoria (BOJSEN , MOLLER, 1975), atravesando posteriormente la lámina cribosa etmoidal y situándose entre ambos bulbos olfatorios principales, hasta alcanzar los bulbos olfatorios accesorios, por su parte anteromedial.

I.3.2.2. Primera sinapsis. Bulbo Olfatorio Accesorio (BOA).-

Los nervios vómeronasales, en el interior de los BOA, se arborizan

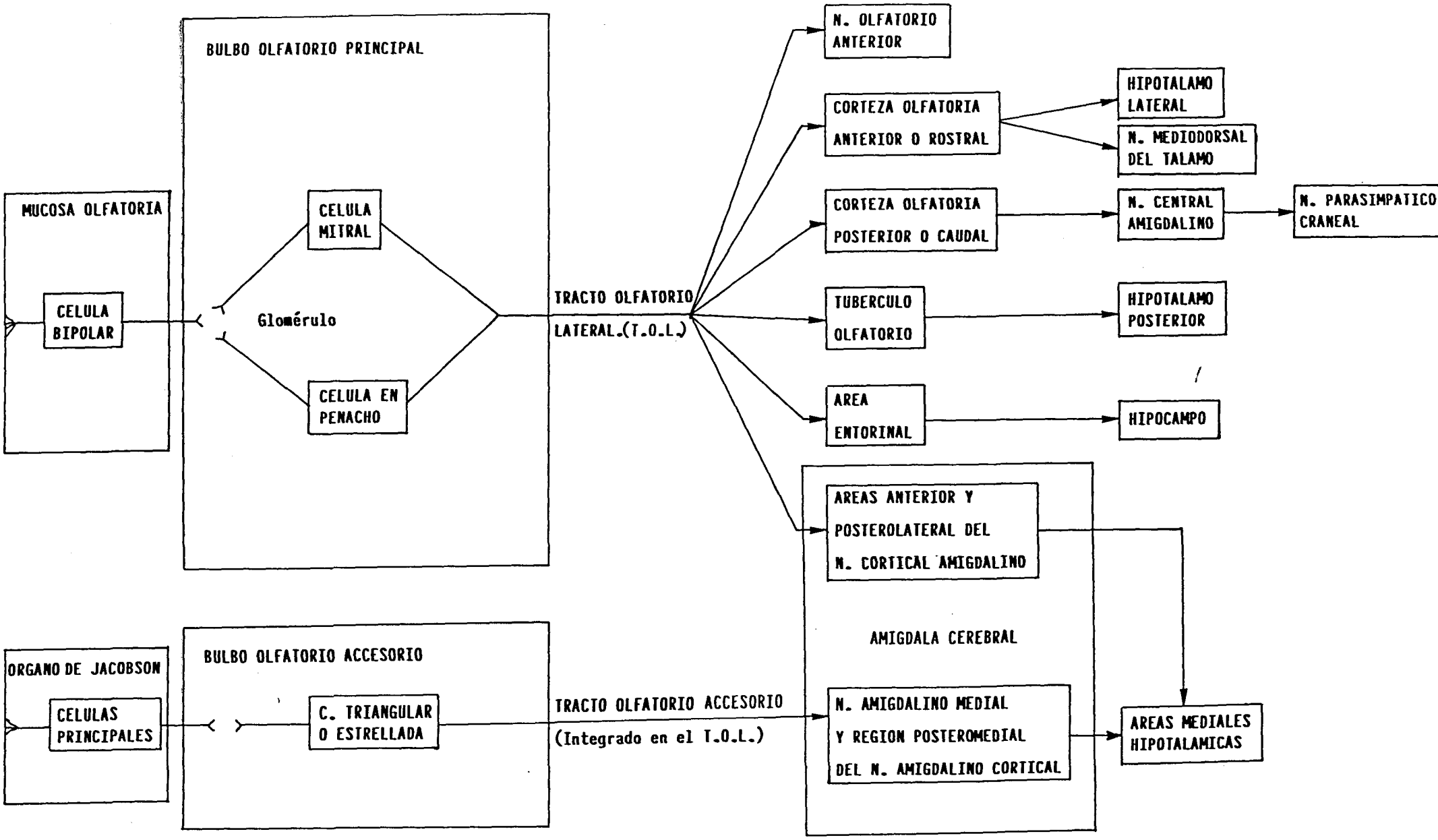


Fig. I-7 .- Proyecciones centrípetas de las vías olfatorias

estableciendo sinapsis, con unas neuronas de forma triangular o estrellada, equivalentes a las c. mitrales del BOP. El BOA, ocupa la porción posterosuperior del BOP, y su estructura es semejante a la de un BOP rudimentario, donde se pueden distinguir seis capas:

I.- Capa de las fibras vómeronasales, formada por los n. vómeronasales y sus ramificaciones.

II.- Capa glomerular, formada por estructuras semejantes a los glomérulos olfatorios, aunque peor delimitadas. Cada fibra de los n. vómeronasales, se distribuye por más de un glomérulo.

III.- Capa plexiforme externa, formada por neuronas pequeñas y triangulares (semejantes a las mitrales), sus prolongaciones y las procedentes de los granos internos.

IV.- Capa plexiforme interna, prácticamente inexistente, incluye fibras tangenciales de origen desconocido, y colaterales de las células de la capa plexiforme externa.

V.- Capa granular, integrada por axones de las neuronas de la plexiforme externa, y fibras eferentes de la comisura anterior.

VI.- Capa periventricular, formada por fibras procedentes de la comisura anterior.

I.3.2.3. Proyecciones centrípetas del B.O.A.

La vía aferente del BOA, está formada por los axones de las células estrelladas de la plexiforme externa, constituyendo el tracto olfatorio accesorio (TOA), que en sus comienzos se integra en el TOL.

Las proyecciones del BOA, están claramente diferenciadas de las del BOP, y aparecen sistematizadas en la Fig. I-4 .

I.3.2.4. Proyecciones centrífugas al B.O.A.

El BOA, recibe proyecciones de los núcleos corticomediales de la amígdala ipsilateral, a través de la stria terminalis (RAISMAN, 1972). Las estrechas relaciones anatómicas entre estos núcleos amigdalinos y los núcleos preópticos hipotalámicos, sugieren una posible participación del BOA en procesos endocrinos.

I.3.3. Significado funcional de las proyecciones olfatorias .-

Existen evidencias anatómicas y funcionales, que relacionan diferentes áreas de proyección olfatorias, con las zonas de control de determinadas conductas. Así, el tubérculo olfatorio, estaría relacionado con la conducta exploradora y locomotora (ORMOND, HARTESVELDT, 1979; FINK, SMITH, 1980); el área entorinal, está relacionada con determinadas formas de aprendizaje (LOESCHE, STEWARD, 1977); y la amígdala, con comportamientos específicos de especie, sociales, reproductores, agresividad y alimentación (VALENSTEIN, 1973). Además, las zonas corticales y mediales de las amígdalas, contienen receptores estrogénicos (PFAFF, KEINER, 1973) y se proyectan a áreas hipotalámicas mediales, involucradas en el control endocrino de la reproducción y de determinados comportamientos.

Todos estos datos, indican la importancia de la olfación en los sistemas neuroendocrinos de control de conductas relacionadas con la reproducción.-

I.3.4. Otros sistemas olfatorios.-

I.3.4.1. Sistema trigeminal

En algunas especies animales, incluyendo la rata y el hombre, fibras procedentes de las tres divisiones del V par craneal (mandibular, maxilar y oftálmica), terminan libremente en la mucosa nasal, actuando como quimiorreceptores.

El significado de este sistema trigeminal en el contexto de la olfación, no ha sido aclarado. En un principio se pensó, que era sensible sólo a irritantes químicos, aunque posteriormente se demostró su sensibilidad se extiende a cualquier estímulo olfatorio, incluso, a veces, con umbrales de excitación inferiores a los

del sistema olfatorio principal (WALKER, TUCKER y SMITH, 1979).

I.3.4.2. Sistema de los nervios terminales .-

De acuerdo con la revisión de ALBERTS (1974), los nervus terminalis, tienen su origen aparente, en algunos pequeños fascículos del cerebro anterior, dirigiéndose a lo largo de la superficie ventromedial de los pedúnculos y bulbos olfatorios, formando un plexo laxo en la región donde los nervios vómeronasales se unen formando los dos troncos, junto a la lámina cribosa. Los nervus terminalis caminan junto con las fibras vómeronasales y trigeminales, dando terminaciones libres en la mucosa olfatoria.

Sus proyecciones centrales se dirigen hacia áreas septales e hipotalámicas. Su función, mal conocida, podría ser también la quimiorrecepción.

En la rata no ha sido descrita la existencia de este sistema olfatorio.

I.3.4.3. Sistema del Organo Olfatorio de Masera.-

Descrito por RODOLFO-MASERA (1943) en el septo nasal del cavia y otros roedores, carece de funciones conocidas.

I.4. BIOQUIMICA DE LOS SISTEMAS OLFATORIOS .-

Durante los últimos años, numerosos estudios han demostrado la presencia, en la mucosa y bulbos olfatorios, de sustancias de carácter peptídico, catecolaminas y otras cuyas funciones serían, en unos casos, las de neurotransmisores, permaneciendo ignoradas en otros casos. Vamos a hacer una descripción breve del estado actual de los conocimientos a este respecto.

- **TRH (Thyrotrophin Release Hormone).-** KREIDER, WINOKUR, KRIEGER, (1981), demostraron la presencia de elevadas concentraciones de TRH en los bulbos olfatorios de la rata, sólo inferiores a las hipotalámicas. Esta TRH, no procede de terminaciones neuronales centrífugas, como lo demuestra el hecho de que su concentración, no se modifica por desaferentación de los bulbos (KREIDER y Cols. 1982).

- **LHRH (Luteinizing Hormone Release Hormone).-** En los bulbos olfatorios del hamster, se ha demostrado la presencia de este péptido (JENNES, STUMPF, 1980; PHILLIPS y Cols. 1980). Mediante técnicas inmunohistoquímicas, PHILLIPS, HO y LINNER (1982) han descrito dos poblaciones de fibras con LHRH: una superficial, en los n. vómeronasales y capa glomerular, y otra periventricular, en relación con las células granulares y capa periventricular. Curiosamente en el hamster, animal en el que se realizaron estos estudios, el sistema olfatorio accesorio desempeña un papel fundamental, en el desencadenamiento de la conducta de monta, por lo que la presencia de LHRH, podría estar relacionada con una posible función reguladora de la conducta reproductora.

- **Encefalinas.-** BOGAN y Cols. (1982) han descrito, en los bulbos olfatorios de la rata, péptidos con actividad inmunológica idéntica a las encefalinas. Se distribuyen en tres poblaciones celulares diferentes : 1. Células periglomerulares. 2. Células granulosas y sus prolongaciones en la plexiforme externa (es la localización más abundante). 3. Células de axón corto en la capa de los gránulos y en

la plexiforme externa.

- **Carnosina.**- El dipéptido beta-alanil-L-histidina (carnosina), ha sido identificado en los bulbos y nervios olfatorios, en cantidades 10-50 veces superiores que en ninguna otra región cerebral (MARGOLIS, 1974;1980; MARGOLIS, GRILLO, 1977). Este péptido, actuaría como neurotransmisor en la vía olfatoria primaria, siendo transportado por flujo axoplásmico, hasta las capas del bulbo olfatorio, que contienen los nervios olfatorios y sus terminaciones (MARGOLIS, GRILLO, 1977). Además, la vía olfatoria, contiene enzimas degradantes (carnosinasa) y sintéticos (carnosin sintetasa) específicos, de localización extraneuronal (HARDING, MARGOLIS, 1976; HARDING y Cols. 1977; MARGOLIS y Cols. 1979).

La carnosina, se fija a los receptores procedentes de membranas del bulbo olfatorio del ratón, de forma saturable , reversible y estereoespecífica, a concentraciones fisiológicas (HIRSCH y MARGOLIS, 1979).

La liberación de carnosina a partir de sinaptosomas del bulbo olfatorio, puede obtenerse mediante despolarización con K o veratridina, y es un proceso calcio dependiente (ROCHEL, MARGOLIS, 1982). Sin embargo, para establecer definitivamente el carácter neurotransmisor de este dipéptido, faltaría demostrar si juega algún papel en la fisiología de la olfación. En este sentido, se estudiaron mediante técnicas electrofisiológicas, las respuestas de las neuronas del bulbo tras la aplicación de carnosina (TONOSAKI, SHIBUYA, 1979; Mc. LEOD, STRAUGHAN, 1979; y GONZALEZ - ESTRADA, FREEMAN, 1980), pero los resultados no fueron concluyentes en ningún sentido.

El papel de la carnosina en el sistema olfatorio accesorio, sería semejante al del principal (BURD y Cols. 1982).

- **Proteína Marcadora Específica (OMP).**- Una característica de las neuronas del epitelio olfatorio, es su capacidad para sintetizar una proteína específica, la llamada OMP (Olfactory Marker Protein). Esta proteína ha sido hallada, por métodos

bioquímicos, en el neuroepitelio y bulbos olfatorios de numerosos vertebrados (MARGOLIS, 1972), aunque con técnicas inmunohistoquímicas, su presencia quedaría restringida a las neuronas receptoras de la mucosa (MONTI GRAZIADEI y Cols. 1977; FARBMAN, MARGOLIS, 1980).

La aparición de OMP, marca la maduración funcional de las neuronas olfatorias y la consiguiente capacidad para discriminar olores GESTELAND, YANCEY, FARBMAN, 1980; MIRAGALL, MONTI GRAZIADEI, 1982).

En la actualidad, se especula con la posibilidad de que esta OMP, pueda tener una función trófica, en el desarrollo y mantenimiento de los bulbos olfatorios (MIRAGALL, MONTI GRAZIADEI, 1982).

- **Catecolaminas.**- En los bulbos olfatorios, se ha descrito la presencia de noradrenalina y serotonina, procedentes del transporte axónico a través de vías originadas en el locus ceruleus y núcleos del rafe (ARANEDA y Cols. 1980a,b y 1981 FONT y Cols. 1982). La norepinefrina se distribuye por todo el bulbo, pero se concentra, sobre todo, en la plexiforme externa, capa de las c. mitrales y capa de los gránulos (JAFE, CUELLO, 1980; NADI y Cols. 1981), limitándose a las fibras centrífugas, pero sin que existan evidencias de su presencia en los cuerpos celulares (MACRIDES y Cols. 1981).

La dopamina se concentra en las células periglomerulares y en algunas c. en penacho (JAFE, CUELLO, 1980; NADI y Cols. 1981; HALASZ y Cols. 1981), donde se ha demostrado, por técnicas inmunohistoquímicas, la presencia de las enzimas implicadas en su síntesis: tirosina-hidroxilasa y dopa-decarboxilasa.

- **G.A.B.A .**- Se ha descrito su presencia en las células granulosas del bulbo olfatorio y en el tubérculo olfatorio, donde se supone que actúa como un neurotransmisor de tipo inhibidor (KRIEGER, MEGILL, STERLING, 1981).

Estudios recientes de CAIN y SIMMONDS (1982) han demostrado,

in vitro, que el GABA causa una disminución de la excitabilidad en el lugar donde actúa, y un incremento en las áreas neuronales adyacentes.

- **Acetilcolina.**- Está presente en las fibras que proceden de los tubérculos olfatorios, área preóptica lateral y banda diagonal GODFREY y Cols.1980). Las mayores concentraciones de este neurotransmisor, se dan probablemente en los tubérculos olfatorios, donde además de receptores para la misma, se ha descrito también la existencia de acetilcolinesterasa y colinacetiltransferasa (GORDON, KRIEGER, 1983).

- **Taurina** .- El aminoácido taurina, es sabido que actúa como un neurotransmisor inhibidor en la retina y en algunas áreas cerebrales (MANDEL y Cols. 1976). Recientemente, LINDQUIST y Cols (1983), han demostrado su presencia en la mucosa nasal y en los bulbos. Cuando se administra taurina marcada en una cavidad nasal, ésta se acumula en el bulbo olfatorio ipsilateral. Estos autores sugieren que en el bulbo, este aminoácido se uniría a algún péptido, quizás la carnosina, actuando como un neuromodulador.

I.5 FISIOLOGIA DE LOS SISTEMAS OLFATORIOS .-

I.5.1. Fenómenos que ocurren a nivel de la mucosa olfatoria:

Las neuronas receptoras olfatorias, son las encargadas de detectar las moléculas de sustancias volátiles de bajo peso molecular. Estas particulas son transportadas por el aire hasta la cavidad nasal, y depositadas sobre la superficie del epitelio, con cada ciclo inspiratorio; durante la espiración se produce el fenómeno contrario, por lo tanto, el ritmo de las contracciones del diafragma y de la pared torácica durante el ciclo respiratorio, son inicialmente responsables de la exposición del epitelio olfatorio a las moléculas que pueden evocar sensaciones olorosas.

La interacción de ciertas moléculas con el epitelio olfatorio, aporta al organismo un enorme caudal de información, sobre los cambios químicos del medio ambiente y la presencia de sustancias olorosas. Los fenómenos desencadenados por esta interacción han sido estudiados por métodos electrofisiológicos y neuroanatómicos y podríamos resumirlos así:

- Las sustancias olorosas, se disuelven en la capa mucosa que recubre el neuroepitelio olfatorio. Se establece una interacción entre las moléculas de la sustancia olorosa y receptores situados en la membrana de los cílios o microvellosidades, que origina un cambio en la conductancia a través de la membrana (demostrado en peces e invertebrados por GETCHELL, 1977; SUZUKI, 1982). La continuidad del citoplasma ciliar con el de las células neuroepiteliales (KAUER. 1983), permite la propagación de este cambio de potencial, hasta el lugar del soma celular en el que se desencadena el potencial de acción conducido hasta la primera estación de relevo en los bulbos olfatorios.

Numerosos estudios, realizados en la última década, han empleado técnicas bioquímicas para aislar los receptores de membranas de células del neuroepitelio, e investigar las características de su unión con la fracción molecular de las sustancias olorosas por su importancia en la génesis de las señales neurales . Estos trabajos sugieren que se trata de proteínas que reconocen, inicialmente, e interaccionan, a través de grupos sulfidrilos, con las moléculas olorosas (GETCHELL, GETCHELL, 1982, revisión).

Según BURD (1982), la carnosina es el neurotransmisor o neuromodulador de las neuronas olfatorias, que a través de sus axones se transporta hasta los bulbos olfatorios, donde puede ser hallada tanto en la capa de las fibras nerviosas, como en la de los glomérulos. Experimentos realizados por HIRS, MARGOLIS (1979), sobre la captación de carnosina marcada, o sobre la liberación de la misma (ROCHEL, MARGOLIS, 1982), apoyan estas teorias (Ver datos sobre la carnosina en el aptdo. I-3).

- Las células receptoras informan sobre los cambios en la concentración de olores y duración de la exposición a los mismos, a través de un código de frecuencias de descarga de potenciales de acción, comportándose como receptores de adaptación lenta.

La situación de electrodos en contacto con la superficie del epitelio olfatorio, permite registrar potenciales lentos, de forma compleja y escasa amplitud, durante la estimulación olorosa. Estos registros constituyen el electroolfatograma (EOG), descrito por OTTOSON (1956), y representa la actividad global de la zona de receptor activada.

- Las células de sostén, juegan un importante papel en el mantenimiento de los componentes líquidos mucoso y extracelular, mediante la liberación de una serie de secreciones, tras activación en respuesta directa a los olores (GETCHELL y GETCHELL, 1982, revisión). Cierto tipo de compuestos, como los anestésicos o los irritantes, son los más activos inductores de la secreción en las c. de sostén. La liberación de estos productos, quizás mucopolisacáridos ácidos, ejercería un importante papel protector de la porción apical de los receptores, frente a cambios en la composición del mucus que recubre la superficie del neuroepitelio.

Mediante registros intracelulares, se han descrito despolarizaciones de estas células de sostén, semejantes a las registradas en las células gliales que rodean a los nervios ópticos y neuronas del SNC. Estos cambios de potencial de la membrana, resultarían de la acumulación de K, en el espacio extracelular, entre

las neuronas receptoras y las células de sostén, como consecuencia de la propia actividad del epitelio receptor.

Resumiendo, las células de sostén, no son un elemento pasivo de la mucosa olfatoria, sino que juegan un importante papel en la actividad global de del epitelio olfatorio, que concretaríamos en tres puntos:

1.- Mantienen la integridad estructural del epitelio, mediante el establecimiento de uniones estrechas con las neuronas receptoras.

2.- Descargan material secretorio en la capa de mucus y en algunas situaciones, contribuye a la formación de ésta aportando mucopolisacáridos específicos.

3.- Participan en la regulación de la composición ionica del medio que rodea a las neuronas receptoras.

I.5.2. Procesamiento de la información en los Bulbos Olfatorios .-

Tiene tres caracteristicas fundamentales que lo definen:

1.- Marcada convergencia de la información sensorial sobre las células mitrales.

2.- Existencia de circuitos de retroalimentación, en base a sinapsis recíprocas entre c. mitrales, c. periglomerulares y granos.

3.- Control de la información aferente, a través de eferencias centrales.

En la figura I-8, modificada de SHEPHERD (1972), se esquematizan las relaciones entre los principales tipos celulares del bulbo. En la capa de los glomérulos, los axones de alrededor de 1000 células receptoras, convergen sobre las dendritas primarias de una célula mitral. También hacen sinapsis con dendritas de las células periglomerulares. Las sinapsis célula mitral-célula periglomerular son excitatorias en esa dirección, e inhibidoras en sentido contrario (ver fig I-8). Los axones de las células periglomerulares, establecen sinapsis con dendritas de las mitrales adyacentes, haciendo así posible una modulación de la respuesta local de las dendritas.

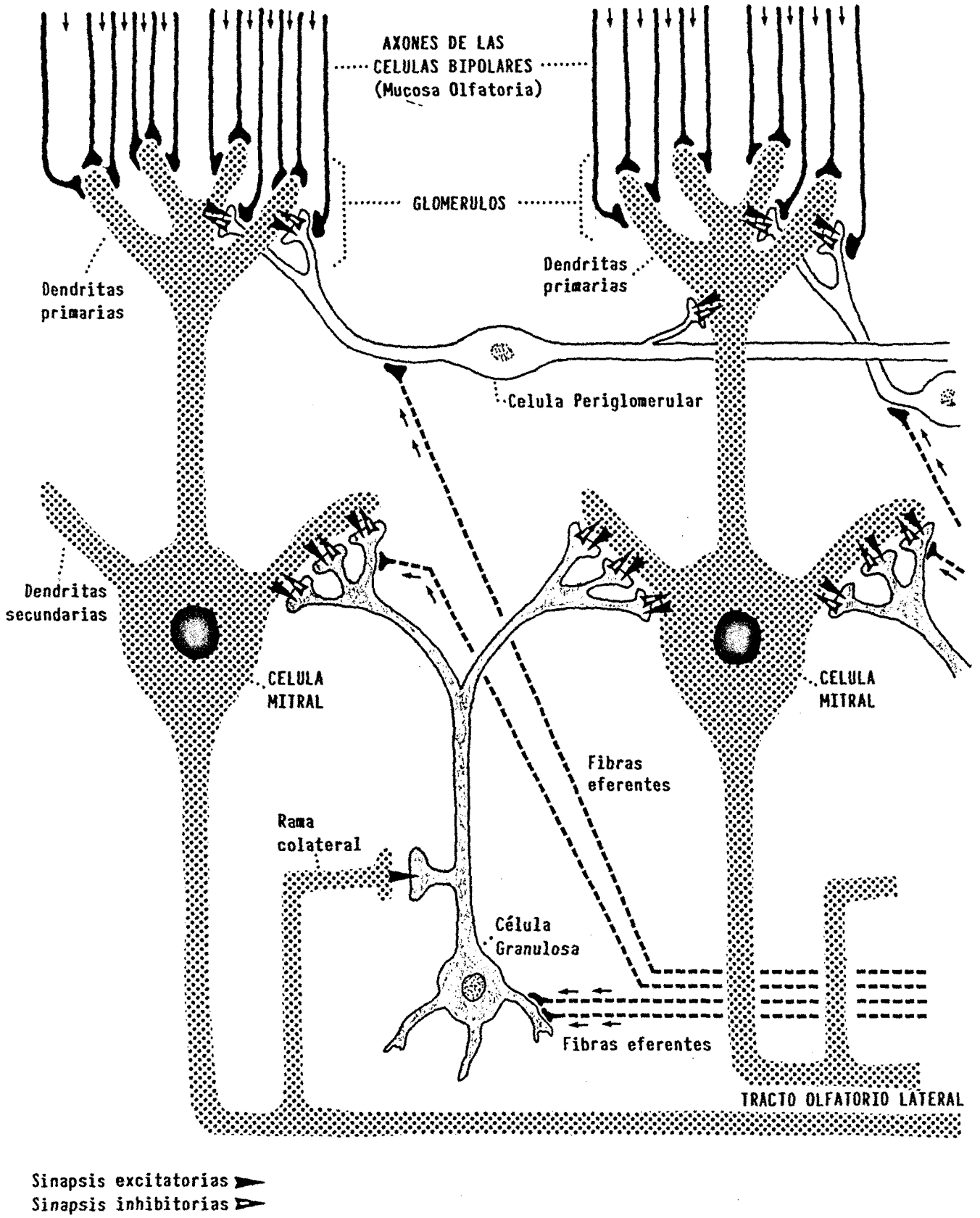


Fig. 1-8. Procesamiento de la información olfatoria en el bulbo.

Cumplen una función semejante a la inhibición lateral en la retina (SEPHERD, 1979).

Los gránulos, que serían equivalentes a las amacrinas retinianas, establecen sinapsis dendro-dendríticas con las dendritas secundarias de las mitrales; estas sinapsis son inhibitorias en dirección a las células mitrales y excitatorias en la contraria. El contacto se establece con varias mitrales adyacentes, y también con axones eferentes de centros superiores del SNC o del bulbo contralateral vía comisura anterior.

El bulbo está también sometido a numerosos "inputs" centrífugos: fibras colinérgicas de tubérculo olfatorio, área preóptica lateral y banda diagonal (GODFREY y Cols. 1980); fibras serotoninérgicas del rafe y fibras noradrenérgicas del locus ceruleus (SHEPHERD, 1979). Todas juegan algún papel en el procesamiento de la información que llega a los glomérulos, actuando como moduladoras. El que su origen sean estructuras límbicas, relaciona su función moduladora con procesos de conducta. A favor de esta idea hay datos como los de CORNWELL-JONES (1980), que demostraron que las ratas macho con depleción de norepinefrina y consecuentemente inhabilitación de las vías centrífugas noradrenérgicas, no muestran las típicas preferencias por las orinas procedentes de hembras en estro, pese a que su discriminación olfatoria no se halle alterada.

La codificación olfatoria es el mayor de los problemas aún por resolver, en el capítulo de la neurofisiología de la olfación. Es difícil explicar, como una enorme variedad de olores, puede ser discriminada mediante unos receptores que responden a todos los olores en forma semejante, y unas células mitrales bulbares que reciben información de cientos de receptores. Hay numerosas teorías a este respecto, aunque ninguna aporta datos concluyentes. KAUER y MOULTON (1974), utilizan una técnica de aplicación puntual de olores, para estimular el epitelio olfatorio, registrando la actividad eléctrica de las células bulbares; sus resultados suponen que los receptores de áreas discretas del neuroepitelio, convergen en determinadas mitrales, es decir, que habría una representación espacial del epitelio receptor, en los bulbos olfatorios. También a este respecto , STEWART, KAUER, SHEPHERD (1979), con técnicas de estimulación puntual y captación de 2-desoxi-

glucosa, concluyeron que la codificación olfatoria se lleva acabo a nivel glomerular.

I.6. DEFICITS OLFATORIOS EXPERIMENTALES .-

El témino **"anosmia"** , define una situación funcional de carencia del sentido del olfato, ya sea de forma temporal o permanente, y con independencia de su etiología.

En el laboratorio, la anosmia se obtiene interrumpiendo, en algún punto, las vías olfatorias. En este sentido, cuando la maniobra se lleva a cabo sobre las estructuras situadas por delante de los bulbos olfatorios (mucosa olfatoria o nervios olfatorios), hablamos de **"anosmia periférica"** , reservando el término **"anosmia central"** para la obtenida por lesiones a nivel de los bulbos olfatorios (bulbectomías) o de estructuras más caudales (tractos olfatorios, etc.).

Las dos técnicas más usuales de obtención de anosmias experimentales son, la bulbectomía olfatoria y la irrigación nasal con sulfato de zinc.

Analizaremos estos dos tipos de anosmias experimentales y otros menos habituales.

I.6.1. Bulbectomía Olfatoria .-

Se trata de una técnica relativamente sencilla, consistente en la abertura de uno o dos orificios de trépano sobre los huesos que cubren a los bulbos, aspirando a través de ellos la masa de tejido bulbar (Fig. V-5).

Los principales inconvenientes que plantea esta técnica son:

a) Hemorragia muy abundante.

b) Posible aspiración de particulas procedentes de los cuerpos extraños depositados sobre la zona quirúrgica con finalidades hemostáticas o antisépticas.

c) Variabilidad en los límites de la lesión, que suele incluir,

además de los bulbos olfatorios principales y accesorios, los núcleos olfatorios anteriores, limbo rostral de la comisura anterior, tractos olfatorios laterales, fibras de proyección de los bulbos accesorios, tubérculos olfatorios y numerosas eferencias centrales hacia los bulbos (ALBERTS, 1974).

d) La ablación de los bulbos olfatorios, provoca lesiones difusas en areas telencefálicas (WHITE, 1965).

e) La bulbectomía induce alteraciones conductuales y fisiológicas, no directamente relacionadas con el déficit sensorial, ya que no acontecen cuando la anosmia se obtiene mediante otro tipo de manipulaciones que respetan la integridad bulbar. (CAIN, 1974 a).

f) La bulbectomía, reduce la concentración de catecolaminas, sobre todo norepinefrina, (POHORECK, LARIN, WURTMAN, 1969; EICHELMAN y Cols . 1972). La explicación podría estar en la destrucción de tejidos, a través de los cuales, vías adrenérgicas procedentes de los bulbos, atraviesan hacia distintas áreas telencefálicas.

I.6.2. Irrigación nasal con Sulfato de Zinc .-

ALBERTS y GALEF (1971), redescubrieron esta técnica de anosmia periférica, descrita ya por SMITH en 1938, consistente en la aplicación intranasal de sulfato de zinc al 5%, que produce una necrosis reversible de la mucosa olfatoria. La recuperación de la anosmia así inducida, es gradual, comenzando a partir del 5º o 7º días después de la aplicación (ALBERTS, 1974), siendo necesarias aplicaciones múltiples si se desea mantener el estado de anosmia (THOR, CARTY, FLANNELLY, 1976; THOR, FLANNELLY, 1977).

Sus principales inconvenientes, aparte de la ya citada reversibilidad, que la descarta en estudios de anosmia crónica, son:

a) Posibilidad de lesiones en vías respiratorias, por aspiración del SO_4Zn durante su aplicación.

b) Toxicidad sistémica, que se manifiesta por anorexia,

laxitud, y pérdidas de peso en los animales tratados (ALBERTS, 1976; SING, TUCKER, HOFER, 1976).

I.6.3. Otras técnicas clásicas de obtención de déficits olfatorios .-

I.6.3.1. Lesión del T.O.L.

Suele practicarse mediante cirugía estereotáxica, y en casi un 50% de los casos, la sección que se obtiene es incompleta y los animales son capaces de responder a test de olfación (LONG y TAPP, 1970); además, por lesionarse núcleos y fibras aferentes y eferentes de las áreas circundantes, se obtienen, como en el caso de la bulbectomía, efectos no dependientes de la deprivación sensorial, aunque menos importantes que en aquel caso.

La ventaja fundamental de esta técnica , sería el preservar intacto el sistema trigeminal (ALBERTS, 1974).

I.6.3.2. Lesión de estructuras centrales de la vía olfatoria.-

Incluye la lesión del limbo anterior de la comisura anterior, tubérculos olfatorios, corteza piriforme, núcleos amigdalinos, etc. (CATTARELLI, 1982,a y b; GERVAIS, PAGER, 1982; ASTIC, CATTARELLI, 1982). Son de difícil análisis, ya que producen cambios conductuales, que pueden enmascarar los efectos dependientes de la alteración del proceso sensorial.

I.6.3.3. Destrucción de los nervios olfatorios.-

Plantea el inconveniente de que, en la mayoria de los animales,entre ellos la rata, no existe un tronco nervioso bien delimitado, que permita una sección quirúrgica precisa. La técnica más habitual es la sección intracraneal de las fibras nerviosas que, procedentes del neuroepitelio, atraviesan la lámina cribosa. Para ello,se desliza un instrumento adecuado entre la masa bulbar y la lámina cribosa (HARDING y Cols. 1977). El inconveniente que se plantea es que este tipo de lesión

es totalmente reversible debido a que, las neuronas receptoras, en los mamiferos adultos, pueden ser reemplazadas a partir de las células epiteliales basales (HARDING, y Cols. 1977; GRAZIADEI y Cols. 1980; MONTI GRAZIADEI y Cols. 1980). El curso temporal de esta regeneración, puede apreciarse a través de los cambios que se experimentan en la conducta o en parámetos bioquímicos, como la concentración bulbar de OMP (HARDING, WRIGHT, 1979).

I.6.3.4. Legrado del neuroepitelio .-

Consiste en la exposición de la cavidad nasal, a través de un orificio de trépano, y destrucción mecánica del epitelio olfatorio, seguida de aspiración. Plantea dificultades de tipo técnico, entre las cuales la más grave es la muerte del animal por asfixia, además, se produce regeneración del epitelio, por lo que se trata también de una forma de anosmia reversible (ALBERTS, 1974).

I.6.3.5. Anestesis de la mucosa nasal.-

La administración tópica de algunos anestésicos, como xylocaína, procaína, etc, bloquea los receptores de la mucosa olfatoria, durante un cierto tiempo, dependiente de la naturaleza del anestésico. Su utilización plantea, como problema, la duración de los efectos anestésicos, que limitan la realización de experimentos crónicos; también el posible efecto tóxico del fármaco y la posibilidad de que penetre a través de la lámina cribosa, o por vía sanguínea, tras su absorción por la mucosa, al SNC.

I.6.3.6. Oclusión nasal unilateral + hemibulbectomía ipsilateral.-

Esta técnica está basada en el hecho anatómico de que cada bulbo olfatorio, recibe las aferencias de los receptores situados en la mucosa del mismo lado. Consiste en una hemibulbectomía seguida de bloqueo, por medios físicos, de la cavidad nasal contralateral (BENNET, 1971; LEONARD, 1972; DEVOR, MURPHY, 1973). Plantea la dificultad técnica del hemibloqueo nasal, sobre todo en animales en

los que el septo nasal no es completo en el plano anteroposterior. Tiene también el inconveniente de requerir manipulaciones en el SNC para la hemibulbectomía,

I.7. ¿POR QUE ANOSMIA Y BULBECTOMIA NO SON CONCEPTOS EQUIVALENTES?

Cuando revisamos la bibliografía en torno a la relación pineal-olfación, llama la atención que la totalidad de los experimentos en los que se describe el efecto potenciador de la anosmia sobre la función pineal, se han llevado a cabo bulbectomizando a los animales.

Esto supone la asunción de que los bulbos olfatorios son únicamente una estación de relevo de la vía sensorial, que transmite a los centros olfatorios superiores, las informaciones procedentes de los receptores de la mucosa olfatoria, lo que no es en absoluto correcto. Existen datos suficientes para afirmar que anosmia y bulbectomia olfatoria, no son totalmente equivalentes.

La bulbectomia olfatoria bilateral destruye aproximadamente el 4% del tejido nervioso central, rostral al tronco cerebral, en la rata (CAIN, 1974a) y afecta la función del sistema límbico en forma no relacionada, o sólo parcialmente relacionada, con la pérdida de la información olfatoria. Además, en los animales macrosmáticos, como la rata, a las funciones sensoriales del bulbo se unen las de moduladores de la actividad del sistema límbico, del que pueden considerarse como una prolongación rostral.

Ya ADRIAN, en 1950, distinguía dos tipos de actividad eléctrica en los bulbos olfatorios, siendo solamente uno de ellos dependiente de los olores presentes en el aire inhalado, lo que sugería la posible existencia de funciones no sensoriales en los bulbos olfatorios. Una actividad eléctrica semejante a la descrita por Adrian, ha sido registrada por varios autores en estructuras límbicas e hipotalámicas, que reciben, directa o indirectamente, proyecciones de los bulbos olfatorios (ADEY; 1970; CAIN, BINDRA, 1972; CAIN, 1974a).

Tras la descripción, por ALBERTS y GALEF, (1971), de la técnica de anosmia periférica por irrigación con sulfato de zinc, pudieron obtenerse modelos de anosmia con integridad de los bulbos, y en los años inmediatamente posteriores se publicaron numerosos estudios demostrando que la anosmia periférica y la bulbectomía no eran tratamientos idénticos, pues la bulbectomía provocaba cambios sobre la conducta y la fisiología del animal, no directamente relacionados con el déficit sensorial. Algunos de estos ejemplos se resumen en la tabla de la Fig. I-9.

Como puede apreciarse en la mencionada tabla, son numerosos los patrones de conducta dependientes de funciones bulbares, no directamente relacionadas con la olfación. En algunos casos, como el aumento de irritabilidad por la bulbectomía, ha podido precisarse su causa: la destrucción de una pequeña porción de los pedúnculos olfatorios durante la bulbectomía. (CAIN, 1974 b).

También merece resaltarse, que puede existir una cierta especificidad de especie en algunos de estos patrones de control bulbar; tal es el caso de la conducta de agresión (ver tabla fig. I-9), que en el ratón no se modifica por la anosmia periférica y si por bulbectomía, mientras que en el hamster ambas maniobras tienen el mismo resultado, reducir la agresividad. (DEVOR, MURPHY, 1973). Estas diferencias de especie, podrían estar basadas, en el grado de dependencia del sistema límbico y otras estructuras cerebrales, a la modulación por los bulbos olfatorios.

ROUTHENBERG (1971), proponía la existencia de dos sistemas de vigilia: Sistema I, que se identificaría con el sistema activador reticular ascendente de Moruzzi y Magoun; Sistema II, que se identificaría con el sistema límbico-cerebro medio de Nauta. La hipótesis pretendia explicar ciertos datos sobre la organización subcortical de los fenómenos de reforzamiento y aprendizaje. Este autor propone que, cuando, tras una bulbectomía olfatoria, se producen efectos sobre conducta, que no son explicables por la anosmia, serían debidos al bloqueo del Sistema activador II, por la destrucción de tejidos interconectados con él.

AUTOR (ES)	PARAMETRO ESTUDIADO	EFECTOS DE LA ANOSMIA CENTRAL (BULBECTOMIA)	EFECTOS DE LA ANOSMIA PERIFERICA	ANIMAL DE EXPERIMENTACION
- CAIN & PAXINOS (1974)	- Conducta de Cópula o Apareamiento	- Afectada de forma variada, según especies, edad, sexo y experiencia previa.	- No altera la Conducta de Cópula	- Ratas macho.
- MOSS (1971) - EDWARDS & WARNER (1972)	- Conducta de Cópula o Apareamiento.	- Potencia la Receptividad sexual.	- No modifica la Receptividad sexual.	- Ratas hembra.
- GOODMAN & FIRESTONE (1973) - CAIN & PAXINOS (1974) - ALBERTS & FRIEDMAN (1972)	- Irritabilidad.	- Aumenta la Irritabilidad.	- No altera el grado de Irritabilidad.	- Ratas y Hamsters de ambos sexos.
- FORTUNA & GANDELMAN (1972) - EDWARDS,THOMPSON,BURGE (1972)	- Agresión.	- Suprime la Agresividad espontanea e inducida.	- En la mayoría de los casos no se modifica la conducta agresiva.	- Ratones.
- SCHELEIN y Cols. (1972)	- Conducta Materna	- Suprime la conducta maternal e induce al canibalismo.	- Potencia la conducta maternal.	- Ratas hembra vírgenes.
- EDWARDS & ROBERTS (1972)	- Conducta de Agrupamiento inducida por el frio.	- Suprime o reduce el agrupamiento inducido por frio.	- No lo reduce.	- Ratones.
- La RUE & Le MAGNEN (1972) - Nosotros (Serie exptal. I)	- Ingesta de alimentos.	- Aumenta la frecuencia de ingesta, reduciendo la cantidad de alimento por cada toma.	- No altera el patrón de ingesta diaria de alimentos.	- Ratas macho.
- CARTER (1973)	- Ciclos Vaginales.	- Alargamiento.	- Duración normal.	- Hamsters hembra.
- VACCAREZZA & AFFANNI (1966)	- EEG del Sueño.	- Disminuye la duración de las fases REM.	- No se alteran los ciclos del sueño.	- Zorros.
- HANKINS, GARCIA, RUSINIAK (1973)	- Aprendizaje.	- Déficit en el aprendizaje asociado a ruido-shock o gusto-dolor.	- Carece de efectos.	- Ratas hembra.

Fig. I.9. Diferencias entre anosmia periférica y bulbectomía. Los datos y citas recogidos en esta tabla proceden de CAIN (1974a).

I.8. LA BULBECTOMIA, COMO POTENCIADOR DE LAS ACCIONES PINEALES.

En 1966, ORBACH y KLING, describían ligeros retrasos madurativos en las ratas a las que se extirpaban los bulbos olfatorios (B.O.), pero fué tres años después, cuando REITER, KLEIN, DONOFRIO, (1969), realizaron los primeros estudios de las interacciones entre olfación-fotoperíodo-pineal y reproducción. Estos autores describieron, en ratas macho, tras 6-7 semanas de serles practicadas la ablación de los B.O y de los globos oculares (operación a los 21-23 días de vida), una marcada reducción tanto del peso corporal, como de los pesos de gónadas, vesículas seminales, glándulas de coagulación y próstatas ventrales, con respecto a animales intactos o simplemente ciegos ; estos últimos mostraban también efectos antigonadotróficos, aunque mucho menores que los de la asociación bulbectomía+ceguera. La pinealectomía prevenía la mayor parte de los efectos anteriormente descritos, y aunque seguían siendo menores los pesos de las glándulas sexuales accesorias, sus características histológicas estaban comprendidas en los límites de la normalidad. La actividad de la HIOMT en las pineales de los animales ciegos bulbectomizados, era idéntica a la de los ciegos, lo que sugería que los potentes efectos antigonadotróficos de la asociación ceguera+bulbectomía, se producían sin alteraciones en la síntesis pineal de melatonina. Estudios posteriores confirmaron esta suposición, al obtener análogos resultados con otros enzimas como la NAT (KLEIN,REITER,WELLER, 1971). Finalmente, REITER y Cols. (1971), midieron los niveles de melatonina en pineales de animales ciegos bulbectomizados, comprobando que no existían diferencias con respecto a las que sólo fueron cegadas.

La asociación bulbectomía+ceguera, reducía los niveles séricos de FSH y LH (RONNEKLEIV y Mc CANN, 1975) y la bulbectomía potenciaba los efectos antigonadotróficos y prolactín-inhibitorios de la administración de melatonina (BLASK, NODELMAN, 1979; BLASK, NODELMAN, LEADEM, 1980; LEADEM, BLASK, 1981), así como de la exposición a fotoperíodos cortos (NELSON, ZUCKER, 1981). Este tipo de efectos aparecen tanto en machos como en hembras (LEADEM, BLASK,1982b)

Otros efectos descritos en la bulbectomía y/o ceguera son:

- Reducción de la actividad de las neuronas dopaminérgicas tubero-infundibulares, con la asociación bulbectomia+ceguera (MORGAN, REITER, 1982).

- Incremento de la sensibilidad al benzoato de estradiol, en las ratas hembras, por bulbectomía (TYLER, GORSKI, 1980).

- En ratas macho adultas, elevación de los niveles de ACTH en las ciegas bulbectomizadas (VAUGHAN y Cols. 1980).

- La bulbectomia reduce el pico nocturno de PRL en ratas seudopreñadas (PIEPER, GALA, 1979 a), aunque la regulación de los picos de PRL en ratas ovariectomizadas tratadas con estrógenos, es independiente de la pineal y de los B.O. (PIEPER, GALA, 1979 b).

Ante estos resultados, el grupo de Reiter planteaba dos posibles explicaciones para el poder potenciador mostrado por la bulbectomía.

1.- La bulbectomía induciría la liberación pineal de otras hormonas antigonadotróficas, distintas de la melatonina, aunque capaces de actuar sinérgicamente con ella.

2.- La bulbectomía no modificaría la actividad pineal, sino que sensibilizaría a los órganos diana sobre los cuales la melatonina ejerce sus acciones antigonadotróficas.

Los trabajos de BLASK y NODELMAN (1979, 1980) y REITER y Cols. (1980), parecen confirmar la segunda hipótesis, a la vista de que la administración de cantidades idénticas de melatonina a animales intactos o bulbectomizados, provoca acciones antigonadotróficas significativamente más intensas en éstos últimos. No ha sido aclarado aún, cuales serían los órganos diana a la melatonina, sobre los cuales incidiría el efecto sensibilizador de la bulbectomía olfatoria.

I.9. OTROS FACTORES POTENCIADORES DE LA ACTIVIDAD PINEAL.

1.- Tratamiento neonatal con esteroides: La administración de propionato de

testosterona, a ratas macho o hembras, recién nacidas, unido a la deprivación de luz, o exposición a fotoperíodos cortos, durante los días 25 a 75 de vida, hacen que, tanto el peso, como el aspecto histológico de gónadas y glándulas sexuales accesorias, permanezcan con características infantiles, mientras que en animales no tratados con los esteroides, estos efectos son mucho menores. La pinealectomía previene estos efectos antigonadotróficos (REITER y Cols. 1968; HOFFMANN, KORDON, BENOIT, 1968).

No se conocen bien las causas de este efecto potenciador del tratamiento con esteroides, ya que no se han encontrado diferencias en los ritmos de actividad NAT, entre las ratas intactas o tratadas con esteroides, en fotoperíodo LD 12/12 (ILLNEROVA, VANECEK, 1980), aunque la duración del pico nocturno de actividad NAT, es mayor en las ratas tratadas con propionato de testosterona, en LD 8/10 (VANECEK, ILLNEROVA, 1982).

2.- Subnutrición: Restringiendo a la mitad la ingesta de ratas, entre los días 25 a 60 de edad, se produce una reducción altamente significativa del peso corporal y adenohipofisario, así como de los niveles plasmáticos de GH. El peso de gónadas y glándulas sexuales accesorias, sólo sufre una ligera reducción ponderal. Sin embargo, cuando se asociaban ceguera+subnutrición se producia una marcada reducción del peso de estos órganos, mucho mayor que la obtenida con cada una de las maniobras experimentales por separado. La mediación pineal de estos efectos quedó demostrada, al no producirse en animales previamente pinealectomizados (SORRENTINO, REITER, SCHALCH, 1971).

La subnutrición, por si sola, induce un descenso en los niveles séricos de FSH, LH, TSH, PRL, GH y Testosterona (CAMPBELL y Cols. 1977; HERBERT, 1980), pero no modifica ni los ritmos ni la concentración de la melatonina pineal (HERBERT, REITER, 1981), reduciendo su concentración de AVP (SANCHEZ BARCELO, 1982, SANCHEZ BARCELO y Cols. 1982 b). Como quiera que la subnutrición hace al eje neuroendocrino reproductor, más sensible a los efectos antigonadotróficos de la melatonina exógena (BLASK y Cols. 1980), éste podría ser también el mecanismo

de acción para la melatonina endógena, en los casos de asociación ceguera+subnutrición.

3.- Exposición al frio : Recientemente hemos comprobado, en nuestro laboratorio, como la exposición crónica a temperaturas de 10ºC. , potencia los efectos antigonadotróficos derivados de la supresión de la luz. La pinealectomía previene los efectos de la asociación frio+ceguera. El mecanismo de acción del frio parece ser, como en los casos anteriores, una sensibilización de los órganos diana a la melatonina (COS, 1983; COS y Cols. 1983).

I.10. LA PINEAL COMO INTEGRADOR DE ESTIMULOS AMBIENTALES QUE INFLUYEN SOBRE LA REPRODUCCION.

Buscando un resumen a todo lo anteriormente expuesto, podríamos decir que, para la práctica totalidad de los mamíferos, la pineal actúa como un transductor neuroendocrino, que controla los procesos de reproducción a través de sus secreciones hormonales: las indolaminas y los neuropéptidos. Este efecto regulador consiste en la sincronización de las fases reproductoras del animal , con las épocas del año en que las posibilidades de supervivencia de las crías son mayores. Para llevar a cabo esta función, la pineal recibe, por vía neural y neurohumoral, informaciones procedentes del medio externo y del propio organismo, elaborando como respuesta, señales hormonales, fundamentalmente liberación de melatonina, capaces de actuar sobre el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas.

El parámetro ambiental más importante en el control de la función pineal, parece ser la luz, que inhibe la síntesis de melatonina . Existen, sin embargo, otros factores dependientes del ecosistema, que también son capaces de incidir directa o indirectamente sobre la actividad pineal: temperatura, disponibilidad de alimentos, densidad de olores ambientales, ruido, magnetismo, etc. Todos ellos presentan ritmos circadianos y/o circanuales, que guardan cierta sincronía con los de la luz y actúan sinérgicamente sobre la pineal.

II. JUSTIFICACION.

II . JUSTIFICACION .-

Consideramos, que nuestro proyecto de trabajo, encuentra su justificación en cuatro puntos fundamentales, ya comentados a lo largo de la introducción y que ahora resumimos:

1º La demostración, llevada a cabo por numerosos autores, de interacciones entre la función de los bulbos olfatorios y la actividad antigonadotrófica de la pineal, a partir de estudios sobre la potenciación, mediante bulbectomía olfatoria, de los efectos de la hiperactividad pineal inducida por ceguera o exposición a fotoperíodos cortos. (Ver aptdo. I-7 de la introducción).

2º La asunción gratuita, por estos mismos autores, de que los efectos potenciadores de la bulbectomía olfatoria, se deben a la deprivación sensorial provocada (anosmia), cuando ninguno de ellos realizó sus experimentos sobre animales anósmicos pero con los bulbos intactos. Así pues, en todos los casos consideraron como equivalentes anosmia y bulbectomía, cuando está perfectamente demostrado que tal identidad no es correcta, debido a que los bulbos olfatorios ejercen funciones moduladoras sobre diversas estructuras del SNC, especialmente sistema límbico, además de servir como estación de procesamiento de la información sensorial olfatoria. (Ver aptdo. I-6 de la introducción).

3º La existencia de dos divisiones fundamentales del sistema olfatorio: el principal y el vómeronasal o accesorio, siendo éste último el responsable de las acciones feromonales sobre la reproducción, hace interesante el estudio de su posible interacción con la pineal en el control de estas mismas funciones. (Ver aptdo. I.2.2.1 de la introducción).

4º Al describir la relación de factores potenciadores de la actividad pineal, se cita la subnutrición (ver aptdo. I-8 de la introducción), pero hay un hecho poco valorado y es que en otras situaciones como la bulbectomía+ceguera o la exposición al frio + fotoperíodo corto (en animales en libertad)se produce una reducción de la ingesta, que aparece así como un "factor común" a varias situaciones, que merece ser estudiado en el contexto de los déficits olfatorios.

III. OBJETIVOS.

III . OBJETIVOS .-

1.- Estudiar, si la potenciación de los efectos antigonadotróficos pineales, obtenida por bulbectomía olfatoria y atribuida a la anosmia, es realmente debida a la deprivación sensorial o, por el contrario, se trata de un efecto específico de la supresión de los bulbos olfatorios y con ello, de alguna de las funciones no sensoriales de estas estructuras.

Para conseguir este objetivo desarrollaremos, en primer lugar, una técnica de anosmia que reúna la doble condición de ser periférica (respetando la integridad de los bulbos), y crónica (evitando la regeneración del neuroepitelio y la reinervación de los bulbos) , extremos ambos que serán comprobados histológicamente. A continuación, estudiaremos los efectos de esta anosmia periférica, asociada o no a deprivación de luz, sobre los órganos del eje hipófiso gonadal, comparándolos con los obtenidos mediante bulbectomía (Serie exptal. I).

2.- Verificar la mediación pineal de los efectos obtenidos con la asociación de anosmia periférica más deprivación de luz.

Para ello, en la Serie II, realizaremos pinealectomías en animales ciegos anósmicos, para ver si la ablación de la epífisis previene los efectos derivados de la deprivación sensorial.

3.- Estudiar si la anosmia periférica, modifica la respuesta del eje hipófiso-gonadal a la melatonina exógena, tal como ocurre en el caso de la bulbectomía olfatoria.

Lo realizaremos en la Serie III, administrando dosis idénticas de melatonina a animales intactos, anósmicos (anosmia periférica) o bulbectomizados, y viendo sus efectos sobre los órganos del eje hipófiso-gonadal. Este estudio, nos proporcionará datos indirectos sobre la posibilidad de que el mecanismo potenciador de la anosmia periférica, consista en un aumento de la sensibilidad a la melatonina en sus órganos diana, tal como parece que ocurre en la bulbectomía.

4.- Estudiar la participación relativa del sistema olfatorio vómero nasal o accesorio, en los efectos descritos con la anosmia periférica global.

A este fín, compararemos los efectos de la anosmia periférica global, con los obtenidos mediante supresión selectiva del sistema accesorio, por sección intracraneal (electrocoagulación) de los nervios vómeronasales. (Serie IV).

5.- Valorar el papel de las alteraciones en la conducta alimentaria, inducidos por la anosmia o bulbectomía más ceguera, como responsable, al menos parcialmente, de los efectos derivados de ambas deprivaciones sensoriales.

Para ello, animales intactos o ciegos, recibirán un aporte dietético reducido a los niveles de ingesta definidos por las ratas ciegas bulbectomizadas, comprobando en que forma esta subnutrición afecta al eje hipófiso-gonadal. (Serie V).

IV. SERIES EXPERIMENTALES.

IV.- SERIES EXPERIMENTALES

Los objetivos previstos en nuestro trabajo fueron cubiertos con el desarrollo de cinco series experimentales, que en todos los casos tuvieron una duración de seis semanas:

Serie I .- Encaminada al estudio de la anosmia periférica, como factor potenciador de los efectos antigonadotróficos inducidos por la deprivación de luz. Incluimos también animales bulbectomizados, con el fin de establecer las posibles diferencias entre la anosmia central y la periférica. Utilizamos 120 ratas, distribuidas en ocho categorias experimentales:

- Grupo O .- Animales intactos.
- Grupo E .- Animales ciegos por enucleación óptica bilateral.
- Grupo A .- Animales con anosmia periférica.
- Grupo B .- Animales con ablación de los bulbos olfatorios.
- Grupo EA .- Animales con ceguera+anosmia periférica.
- Grupo EB .- Animales con ceguera+bulbectomía olfatoria.
- Grupo ESA .- Animales con ceguera+falsa anosmia periférica.
- Grupo ESB .- Animales con ceguera+falsa bulbectomía.

Serie II .- Tuvo por objeto verificar si los efectos constatados con la anosmia periférica+ceguera eran pineal-dependientes. Para ello distribuimos 70 ratas en los siguientes grupos experimentales:

- Grupo O .- Animales intactos.
- Grupo E .- Animales cegados.
- Grupo EA .- Animales con ceguera+anosmia periférica.
- Grupo EAP .- Animales con ceguera+anosmia periférica+pinealectomía.
- Grupo EASP .- Animales con ceguera+anosmia periférica, fálsamente pinealectomizados.

Serie III .- Una vez comprobado que la anosmia periférica potencia los efectos de la deprivación de luz, y que se trata de un fenómeno mediatizado por la pineal, tratamos de verificar la hipótesis de que tales efectos potenciadores, radican en una sensibilización de los órganos diana de la melatonina. Incluimos también en esta serie animales bulbectomizados, con el fin de detectar posibles diferencias entre las respuestas a la melatonina exógena, de ratas sometidas a una de las dos formas de anosmia. Establecimos tres grupos experimentales de 35-40 ratas, divididas a su vez en tres subgrupos cada uno:

1.- Animales intactos:

- Grupo **O** .- Tratados con el diluyente de la melatonina.
- Grupo **OM** .- Tratados con 50 microgramos/rata/día de melatonina.
- Grupo **OM/P** .- Tratados con melatonina pero en dosis de 50 microgramos/ 100 gr. de peso corporal/ día.

2.- Animales con anosmia periférica:

- Grupo **A** .- Tratados con el diluyente de la melatonina.
- Grupo **AM** .- Tratados con 50 microgramos/rata/día de melatonina.
- Grupo **AM/P** .- Tratamiento con melatonina en dosis proporcional al peso: 50 microgramos/ 100 gr. de peso corporal/dia.

3.- Animales bulbectomizados:

- Grupo **B** .- Tratamiento con el diluyente de la melatonina.
- Grupo **BM** .- Tratamiento con 50 microgramos/rata/dia de melatonina.
- Grupo **BM/P** .- Tratamiento con 50 microgramos/ 100 gr. de peso corporal/día de melatonina.

Serie IV .- Destinada al estudio de la participación relativa de cada uno de los sistemas olfatorios (el principal, y el vómeronasal o accesorio), en los efectos

descritos con la anosmia periférica global. Integrada por 5 grupos de 10-15 ratas:

- Grupo **O** .- Animales intactos.

- Grupo **E** .- Animales ciegos.

- Grupo **Evnx** .- Animales ciegos a los que se seccionan los nervios vómeronasales en su trayecto intracraneal.

- Grupo **ESvnx** .- Animales ciegos con falsa operación de sección de los nervios vómeronasales.

- Grupo **EA** .- Animales ciegos+anosmia periférica.

Serie V .- Destinada a cuantificar el papel de la reducción en la ingesta, verificada en los animales ciegos, tanto anósmicos (periféricos), como bulbectomizados, en los efectos globales descritos en ambos casos. Se establecieron para ello 5 grupos de 10-15 animales, adscribiéndolos a uno de los dos régimenes de alimentación:

1.- Animales con alimentación "ad libitum".

- Grupo **O** .- Animales intactos.

- Grupo **E** .- Animales cegados.

- Grupo **EB** .- Animales ciegos bulbectomizados.

2.- Animales con dieta restringida.

- Grupo **OH** .- Animales intactos recibiendo sólo una cantidad de alimento, diaria, igual a la consumida, en promedio, por los del grupo EB.

- Grupo **EH** .- Animales ciegos recibiendo, diariamente, una cantidad de alimento igual al promedio del consumido por los del grupo EB.

V. MATERIAL Y METODOS.

V. MATERIAL Y METODOS

V.1. Animales de experimentación .- Empleamos ratas Wistar, machos, de 28 días de edad, nacidas en nuestro vivarium, procedentes de camadas estandarizadas a 8 crías por madre, y con un tiempo de lactación de 21 días. Seleccionamos únicamente los animales con peso comprendido entre 80 y 100 gr. y verificamos la homogeneidad de cada serie experimental, mediante un test de Análisis de la Varianza entre los distintos grupos integrantes de las mismas.

V.2. Condiciones experimentales .-

V.2.1. Estabulación : Los animales fueron situados en jaulas transparen de policarbonato, de dimensiones 15x25x50 cm, en número de 3-4 por jaula, salvo en la serie V en la que, con el fin de efectuar controles fiables de ingesta, colocamos un solo animal por jaula.

V.2.2. Iluminación y Fotoperiodo : Desde el nacimiento, y a lo largo de toda la experiencia, los animales permanecieron expuestos a luz procedente de tubos fluorescentes de 40 w. que en número de dos por cada sala, proporcionaban una intensidad luminosa de 300 lux a nivel de las jaulas. Con el fin de homogeneizar al máximo los niveles de radiación luminosa recibidos por cada animal, rotamos periódicamente la posición de las jaulas.

El fotoperíodo seleccionado en todo momento fue de 14 horas de luz y 10 de oscuridad (LD 14/10), con período de iluminación comprendido entre las 6.00 y las 20.00 horas.

V.2.3. Temperatura : Fué mantenida en 23 ± 1º C mediante radiadores eléctricos dotados de termostatos.

V.2.4. Ventilación : Se realizó mediante extractores de aire con un flujo de 150 litros/minuto, lo que garantizaba la renovación de los aproximadamente 20 m^3 de aire de cada sala, en dos horas. Los extractores de las distintas salas fueron conectados a un interruptor programable común, estandarizando así los ci-

clos de ventilación, con lo que eliminamos factores de error dependientes de las posibles diferencias en cuanto a nivel de ruido o densidad de olores soportados por los animales de grupos experimentales distintos.

V.2.5. Alimentación : Como pauta general, los animales recibían agua y pienso estandard de laboratorio "ad libitum".

En la serie V la pauta seguida fué:

- Animales de los grupos O (intactos) y E (ciegos), alimentación "ad libitum", controlando la ingesta semanal por la diferencia entre la comida depositada y el remanente.
- Los animales ciegos bulbectomizados (EB), situados uno por jaula, como el resto de los grupos, recibian diáriamente una cantidad conocida de pienso (superior a la ingesta prevista). A las 24 horas se pesaba el remanente calculándose la ingesta/rata/día y posteriormente el promedio de todo el grupo. El resto de los animales (grupos OH y EH) , recibieron diariamente una cantidad de pienso igual al consumo promediado del grupo EB.

* El pienso utilizado fué el rata mantenimiento, de Altromin, con una composición porcentual de: Proteína bruta 19.0; Grasa bruta 4.0; Fibra bruta 6.0; Cenizas 7.0; Agua 13.5; Extracto libre de N 50.5; Minerales (Ca,Mg, P,Na) 2.0;Vitaminas ($A,D_3,E,K_3,B_1,B_2,B_6,B_{12}$, Ac. Nicotínico, Ac. Pantoténico, Ac. Fólico,Biotina, Colina, C). Valor energético 3100 KCal/Kgr.

V.3. Técnicas Quirúrgicas .-

V.3.1. Anestesia : Utilizamos 2-2-2-Tribromo-Etanol ($C_2H_3Br_3O$) suministrado por Merck (lote 2187749) en solución acuosa (2.5 gr/100 ml.) administrada via intraperitoneal, en dosis de 25 mg./100 gr. de peso corporal.

Las enucleaciones ópticas, por ser intervenciones de muy corta duración se realizaron bajo anestesia ligera con éter.

V.3.2. Ceguera : Se produjo por enucleación de los globos oculares , suturando posteriormente ambos párpados .

V.3.3. Bulbectomía olfatoria : Ver descripción en figura V-5 .

V.3.4. Anosmia periférica : (Fig. V-6 a , b y c) . Tras anestesia y fijación en un aparato estereotáxico (Figs. V-2 , 3 , 4) se depila el tercio anterior de la cabeza y se practica una incisión longitudinal , de unos 10 mm , sobre la piel , dejando al descubierto la unión de los huesos nasales y los frontales . Mediante una broca especial realizamos un orificio rectangular , de 4 X 1 mm paralelo a la cisura nasofrontal . A través de este orificio introducimos un bisturí oftalmológico orientándolo hacia abajo y hacia atrás , es decir paralelo a la lámina cribosa (Fig. V-6 c) y lo deslizamos también hacia derecha e izquierda . De esta manera se seccionan las vías que , procedentes de la mucosa olfatoria , atraviesan esta lámina para penetrar en bulbos olfatorios . A continuación cauterizamos esta zona mediante un termocauterizador oftálmico , siguiendo un trayecto idéntico al del bisturí .

La cavidad que se crea por delante de la lámina cribosa se tapona con una lámina de espongostán , suturando posteriormente la incisión cutánea .

En la Serie IV modificamos ligeramente esta técnica en el sentido de recubrir la cara nasal de la lámina cribosa con cera amasada con una pequeña cantidad de antibiótico (ampicilina) , aplicada con el bisturí oftálmico utilizado como espátula . El orificio óseo se tapa con la misma cera .

La mortalidad intraoperatoria es muy baja (5-10 %) , teniendo la precaución de aspirar , a través de los orificios nasales , la sangre que procede de la herida , evitando su aspiración . La mortalidad post-operatoria es prácticamente nula .

V.3.5. Sección intracraneal de los nervios vómeronasales : Ver descripción en Fig. V-7 a , b y c .

Fig. V-2. Anestesia intraperitoneal.

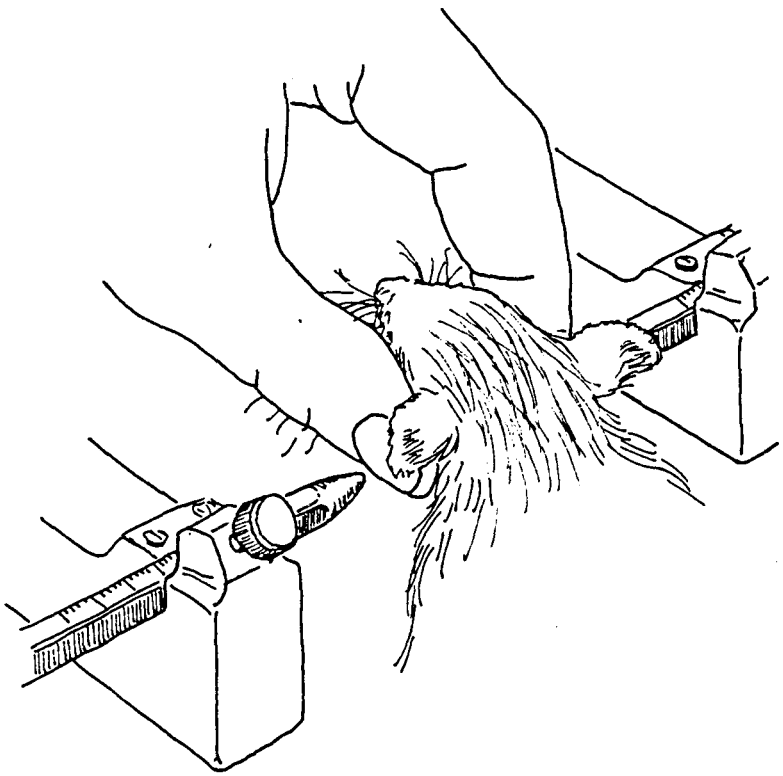


Fig. V-3.- Fijación de la cabeza en el soporte del aparato estereotáxico.

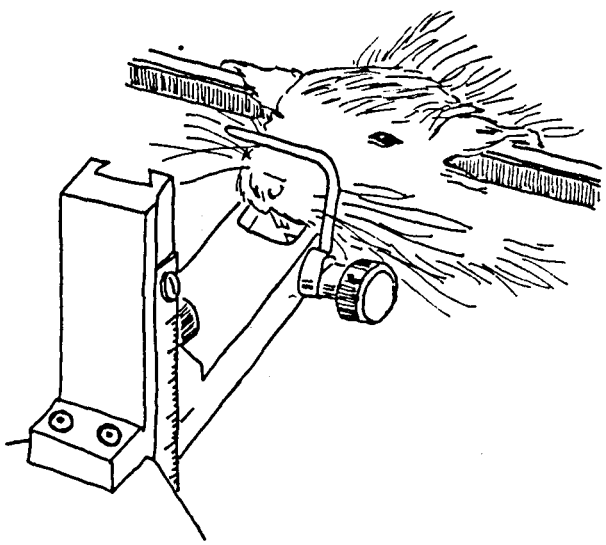


Fig. V-4. Situación de la pieza bucal del soporte.

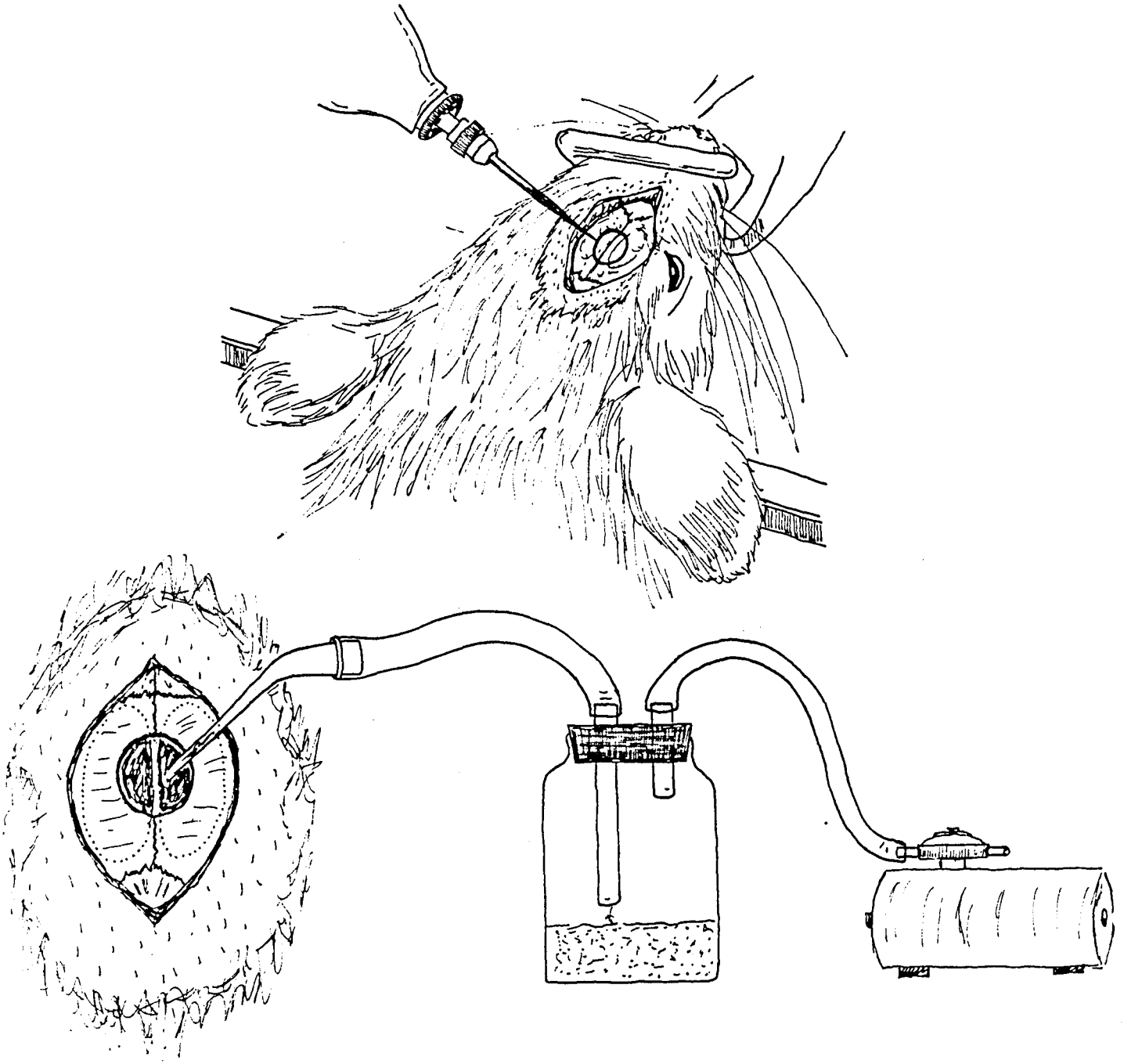
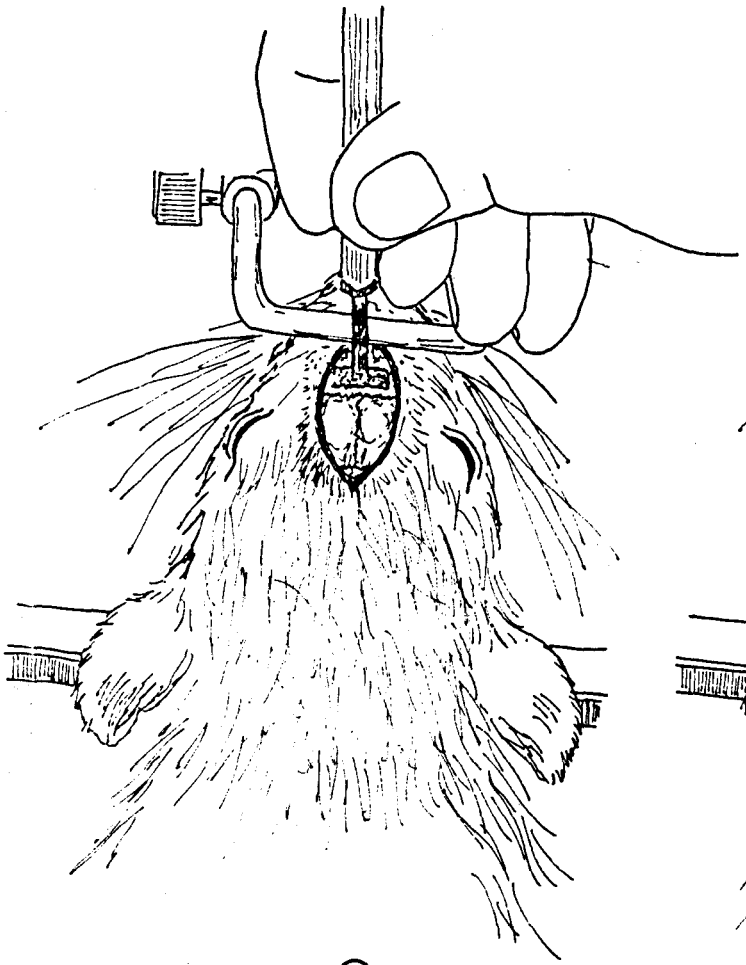
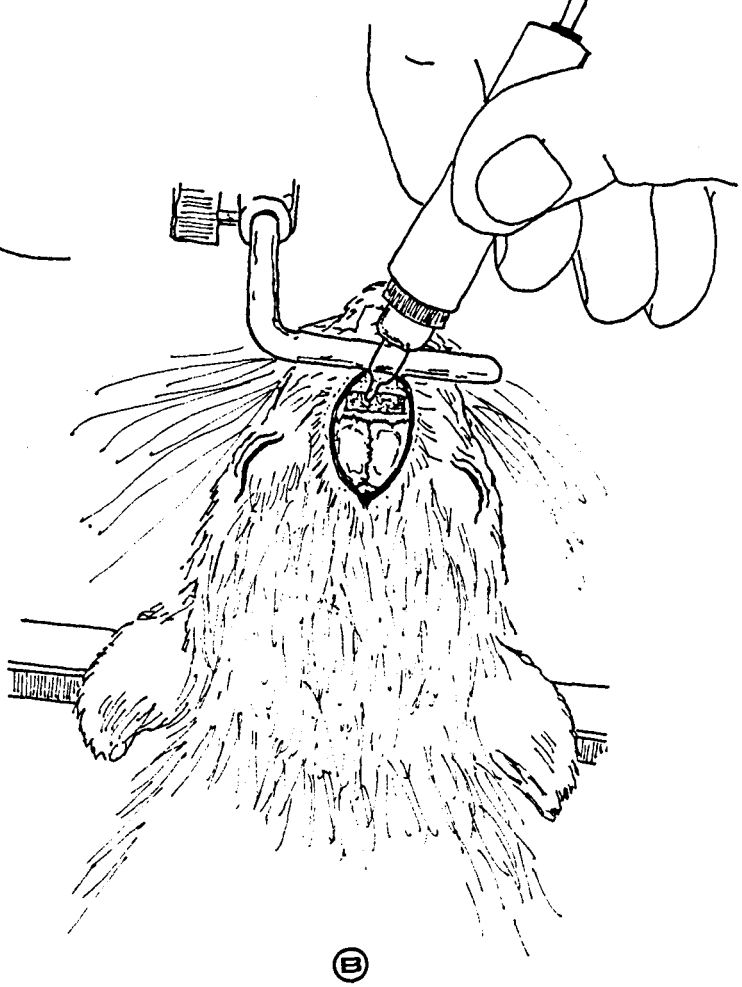


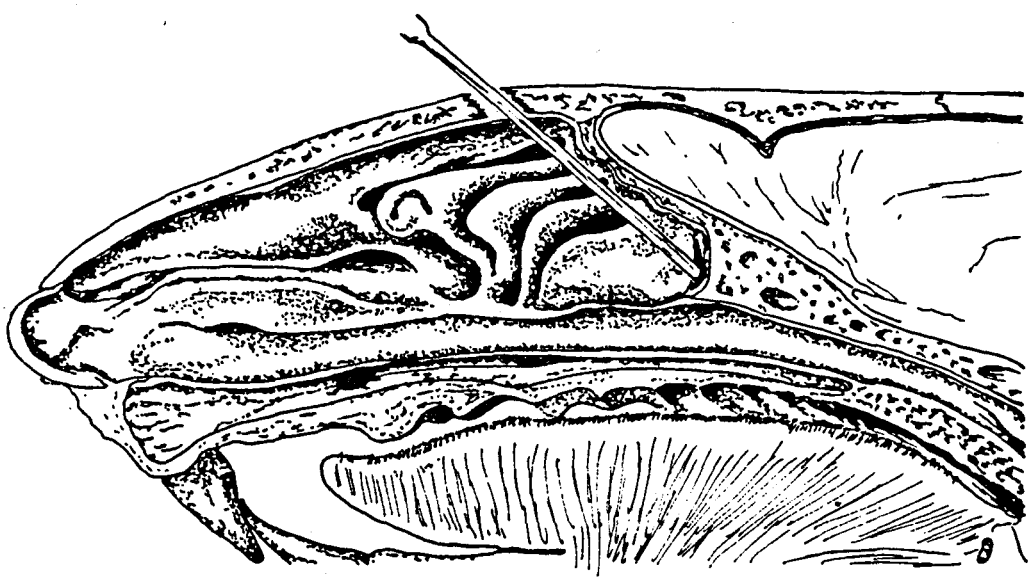
Fig. V-5. Técnica de la bulbectomía olfatoria. Tras anestesiar al animal y rasurar el area quirúrgica, se le fija la cabeza en el soporte de un aparato estereotáxico y se practica una incisión longitudinal de unos 10 mm sobre la zona frontal. Desperiostizamos los huesos frontales y abrimos un orificio de trépano, de unos 2 mm de diámetro, en la línea media, sobre los relieves óseos marcados por los bulbos olfatorios. A través del orificio se introduce una pipeta de vidrio, conectada a un aspirador, succionando ambas masas bulbares. A continuación, se tapa con cera el orificio y se sutura la herida.



Ⓐ



Ⓑ



Ⓒ

Fig. V-6, a,b,c. Anosmia periférica por sección intranasal de los n. olfatorios.

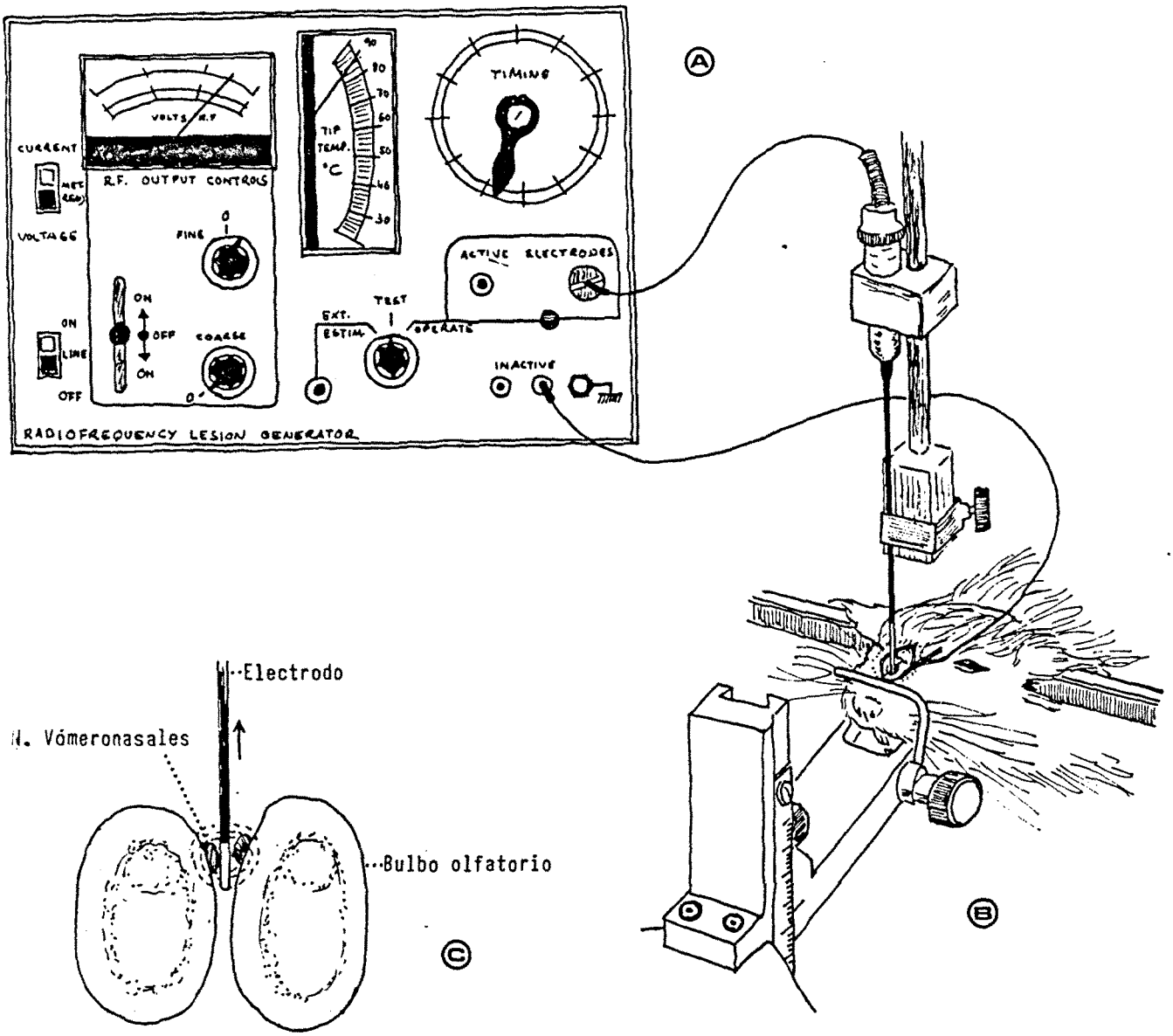


Fig. V-7, a,b,c. Sección intranasal de los nervios vómeronasales. Una vez anestesiado el animal y rasurada la zona frontal de la cabeza, se coloca en un aparato estereotaxico (DKI-900), fijando la pieza bucal 2.4 mm. por debajo de la línea interaural. Se practica una incisión longitudinal de unos 10 mm, dejando al descubierto los huesos frontales. Tras desperiostizar, se aprecian fácilmente los relieves marcados por ambos bulbos. A 15 mm. por delante del plano frontal cero (línea interaural), practicamos un orificio de trépano de 1 mm de diámetro, justo en la línea media. Utilizando el micromanipulador ántero-posterior, situamos, en este punto, un electrodo (K-1388-Z) con termistor, de 0.7 mm de diámetro en la punta y 1.5 mm de longitud de la zona activa, conectado a un generador de lesiones por radiofrecuencia (Radionics RG-4). El polo inactivo del generador se conecta a uno de los bordes de la incisión. Con el micromanipulador vertical descendemos el electrodo 3 mm. por debajo del nivel de la cubierta ósea y aplicamos durante 30 seg. una corriente de 20 v rms, alcanzándose una temperatura de 75ºC en la punta, retirándolo a continuación lentamente, sin dejar de aplicar la corriente. Finalmente cerramos el orificio de trépano y suturamos la herida. En la figura C, se esquematiza la situación de los n. vómeronasales y la forma en que son seccionados por electrocoagulación.

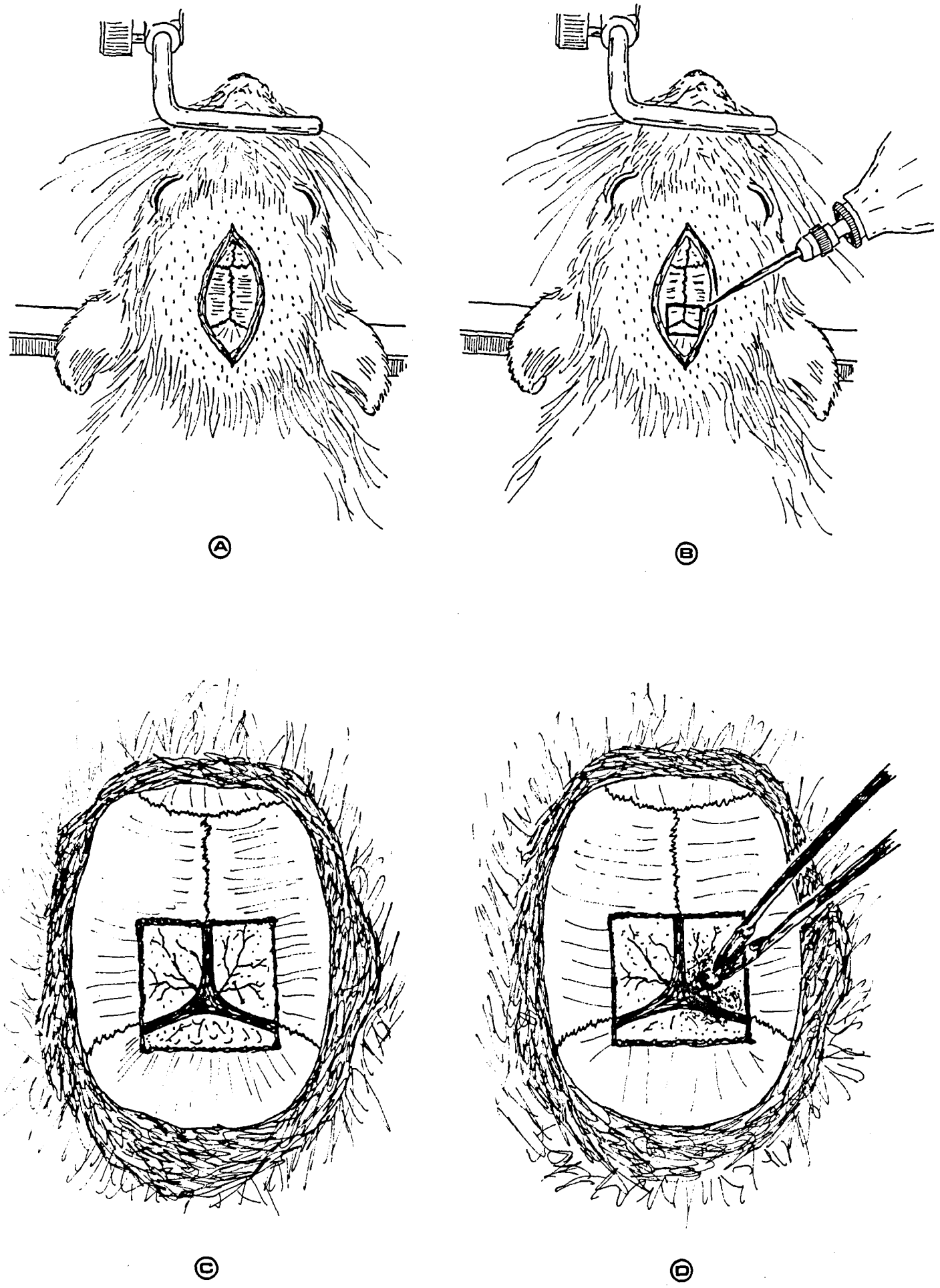


Fig. V-8, a,b,c. Pinealectomía según la técnica de Hoffman y Reiter. (1965 b).

V.3.6. Pinealectomía : (Fig. V-8 a , b , c y d) Seguimos la clásica técnica de Hoffman y Reiter (1965) ligeramente modificada. Tras anestesiar la rata y fijarla en un dispositivo adecuado , se depila la zona posterior de la cabeza y se practica una incisión longitudinal de unos 15 mm. , dejando al descubierto la zona que rodea al punto lambda (Fig. V-8a). Tras desperiostizar , se practica un orificio de trépano , cuadrado , de unos 4 mm. de lado , centrado sobre el punto lambda (Fig. V-8b). Tras levantar el fragmento óseo , se observa la confluencia de los senos venosos longitudinal y transversos (Fig. V.8c) bajo la cual se encuentra situada la pineal. A través de una pequeña incisión sobre la duramadre se deslizan unas pinzas de forceps por debajo de la confluencia de los senos venosos atrapando la glándula y extrayéndola (Fig. V-8d).

A continuación se deposita de nuevo el fragmento óseo trepanado y se cubre con una laminilla de espongostán , suturando la herida.

V.3.7. Pseudo-operaciones : Para cada uno de los grupos de animales que fueron objeto de alguno de los tratamientos quirúrgicos anteriormente mencionados., realizamos el correspondiente grupo "sham" o pseudo-operados con el fin de valorar el estres quirúrgico.

V.3.8. Cuidados post-operatorios : Durante los 5 días siguientes a la operación se añadió antibiótico al agua de la bebida (ampicilina 250 mgr./500 cc. de agua). El tratamiento se hizo extensivo también a los animales pseudo-operados y a los controles intactos .

V.4. Pautas de Administración de Melatonina .-

Administramos melatonina cristalizada (N-Acetil-5-Metoxi-Triptamina) suministrada por Sigma London (lote 84. C-0009) con la que preparabamos diáriamente , en el momento de su utilización , una solución , diluyendo la melatonina en unas gotas de Alcohol Etílico Absoluto (3 % del volúmen total de la solución) , añadiendo posteriormente solución salina (9 %) hasta completar el volumen deseado.

La melatonina se administró por vía subcutánea , en un volumen de 0,2 ml, diariamente durante 6 semanas , entre las 17.30 h. y las 18.30 h. , es decir , dos horas antes del final de la fase de iluminación , que es el período de mayor sensibilidad a la indolamina (TAMARKIN y Cols. 1976).

La cantidad de melatonina administrada se determinó en base a los siguientes criterios :

1.- Animales de los grupos OM , AM y BM . Como el objetivo de la administración de la melatonina era valorar si en los casos de la anosmia (A) o bulbectomía (B) , la sensibilidad a la indolamina era mayor que en los animales intactos , administramos a todos ellos una misma cantidad 50 microgramos/rata/dia . Esta es la pauta utilizada por la mayoría de los autores con los que pretendemos comparar nuestras experiencias (BLASK, NODELMAN, 1979, 1980; BLASK, NODELMAN, LEADEM, 1980; REITER y Cols. 1980).

2.- Animales de los grupos OM/P ; AM/P ; BM/P . El objetivo fué análogo al anterior , pero en estos grupos tratamos de valorar una posible fuente de error que no había sido considerada por los autores anteriormente citados. En efecto , a medida que transcurre el tiempo de experimento se van estableciendo diferencias de peso entre los distintos grupos y aunque la cantidad de melatonina administrada sea la misma en valor absoluto , no lo es en términos relativos. Para obviarlo en estos grupos la dosis de melatonina fué fijada en 50 microgramos/100 gr. de peso corporal/día , pesando a los animales cada 3 días para establecer las oportunas correcciones de la dosis. La Fig. V-9 muestra la dosis diaria de melatonina en los diversos grupos de la serie III.

- En todos los casos los animales control (grupos O , A y B) recibían , con las mismas pautas de administración que los experimentales , idéntico volúmen de la solución salino-alcohólica utilizada como diluyente de la melatonina.

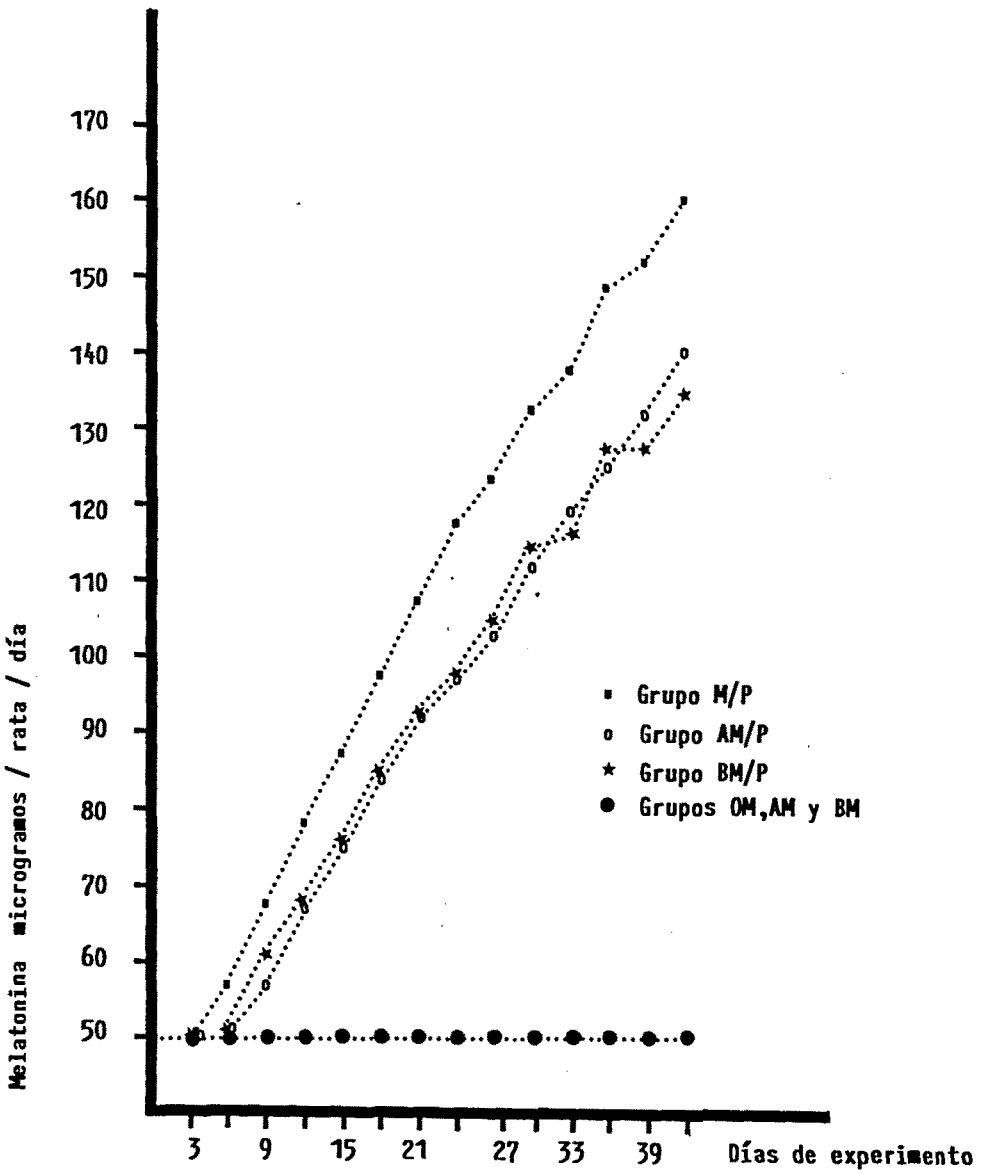


Fig. V-9 Dosis diaria de Melatonina en los distintos grupos experimentales.

V-5. Recogida de datos .-

- Durante las seis semanas de duración de los experimentos establecimos controles semanales de la ingesta y del peso corporal. En algunos casos (Serie V) los controles de ingesta fueron diarios. También se tomaron con periodicidad semanal o quincenal , según los grupos , muestras de sangre (0,5 ml.) obtenidas por punción de la subclavia , bajo una anestesia ligera con éter. Estas muestras , tras coagulación , eran centrifugadas a 3500 r.p.m. durante 30 minutos a 5ºC , obteniendo el suero que se conservaba en tubos kartel a -20ºC para análisis posteriores.

- El sacrificio de los animales se llevó a cabo , en todos los casos , por decapitación , tras anestesia con éfer , entre las 10.00 h. y las 12.00 h. . La sangre recogida (4-5 ml.) sufrió un proceso idéntico al anteriormente descrito. Los órganos obtenidos siguieron los siguientes tratamientos :

.. Adenohipófisis : pesado en fresco y conservación en tubos kartel a -20ºC.

.. Adrenales : fijación en Bouin Acético (48 h.) , disección y pesado.

.. Testículos : pesado en fresco. Posteriormente una gónada de cada animal fué fijada en Bouin Hollande para su estudio histológico.

.. Vesículas Seminales, Glándulas de Coagulación, Próstatas, Epidídimos y Conductos Deferentes :

fijación en Bouin Acético (48 horas), disección y pesado.

.. Bazo : fijación en Bouin Acético (48 horas), disección y pesado.

** Procedimientos Especiales .- Algunos animales seleccionados al azar, de entre los intactos, vómeronasalectomizados y con anosmia periférica fueron objeto de tratamientos específicos destinados a la realización de estudios histológicos. Estos procedimientos fueron de dos tipos :

- Perfusión intracardíaca con formol al 10 % y posterior extracción del cerebro.
- Decapitación e inmersión de la cabeza en solución decalcificante.

En el apartado V-6 se detallan estos procedimientos y su utilidad.

V-6. Técnicas Histológicas .-

V.6.1. Procesos comunes a todas las técnicas

V.6.1.1. Deshidratación : Los pases realizados fueron inmersión en

- Agua Destilada, 24 horas
- Alcohol 80º, dos pases de 24 horas cada uno
- Alcohol 96º, 24 horas
- Alcohol 100º, dos pases de dos horas cada uno
- Benzoato de Metilo, dos pases de dos horas cada uno
- Benzol, 5 minutos

V.6.1.2. Inclusión en parafina :

- Parafina blanda, dos pases de 4 horas cada uno en una estufa a 57ºC
- Parafina dura, 6 horas en estufa a 57ºC
- Inclusión en moldes de parafina

V.6.1.3. Cortes de las piezas : Utilizamos un microtomo vertical, realizando cortes de 6 micras de espesor, manteniéndolos en una estufa a 37ºC durante 24 horas para el secado de los mismos.

V.6.2. Procesos específicos para determinadas técnicas

V.6.2.1. Tinción KLÜBER-BARRERA : Esta técniea fué utilizada para demostrar en los bulbos olfatorios de las ratas con anosmia periférica, la ausencia de otras alteraciones que las específicas de la desaferentación. Se llevó a cabo en los siguientes pasos :

I- Fijación con formaldehido al 10 %. Los animales

fueron perfundidos bajo anestesia con formaldehido al 10 %, a través de ventriculo izquierdo. La fijación fué realizada durante 20 minutos manteniendo la presión de perfusión a 120 mmHg. Seguidamente se realizó la extracción de cerebro y bulbo olfatorio de la cavidad craneal e inmersión en formaldehido al 10 % durante 48 horas.

II- Deshidratación, ya descrita.

III- Inclusión en Parafina.

IV- Corte de la pieza.

V- Desparafinización. Realizamos inmersión en

. xileno, de 15 a 30 minutos

. alcohol 100º, 5 minutos

. alcohol 96º, 5 minutos

VI- Tinción.

. colorear en solución A

. dejar enfriar

. lavado en alcohol a 96º el exceso de color

. lavado en agua destilada

. diferenciación en solución acuosa de carbonato de litio a 0.05 %

. diferenciación en alcohol de 70º, tres pases

. lavado en agua destilada

. diferenciación en el carbonato de litio, y en tres pases más por el alcohol de 70º

. lavado en agua destilada

. colorear en solución B

. diferenciar en alcohol de 96º, varios pasos

. aclarado en xilol-terpinol, montar

* Solución A, Luxol-Fast Blue M.B.S. (Chroma) 1gr.. Disolver en 1 litro de alcohol de 96º. Añadir 5 cc. de ac. acético glacial (10 %). Filtrar.

* Solución B, Violeta de Cresilo (5235 Merck) 1 gr.. Disolver en 1 litro de agua destilada. Antes de usar, añadir a cada 30 cc. de sol. 5 gotas de ac. acético glacial (10 %). Filtrar.

V.6.2.2. Tinción HEMATOXILINA-EOSINA : Se empleó para el estudio histológico de los testículos. Se realizaron los siguientes procesos:

I- Fijación en Bouin Hollande, compuesto por

. ácido pícrico 4 gramos

. acetato de cobre 2,5 gramos

. formol 10 cc.

. agua destilada 100 cc.

. ác. acético 1,5 cc.

Los testículos permanecen 48 horas en dicha solución. Transcurridas las primeras 24 horas los testículos se cortan en dos transversalmente, con el fin de homogeneizar el grado de fijación de las partes corticales y profundas.

II- Deshidratación

III- Inclusión en parafina

IV- Corte de la pieza

V- Desparafinización en

. xileno de 15 a 30 minutos

. alcohol 100º, 5 minutos

. alcohol 96º, 5 minutos

. alcohol 70º, 5 minutos

. agua destilada

VI- Tinción con hematoxilina-eosina

. hematoxilina, 20 minutos

. paso por agua destilada

. paso rápido por alcohol 96º con ácido clorhídrico

. lavado en agua corriente hasta que los colores adquieran un azul fuerte

. eosina, 3 minutos

. lavado en agua corriente 3-4 minutos

. alcohol 96º, dos pases de 5 minutos cada uno

. alcohol absoluto, 5 minutos

. xileno, de 15 a 30 minutos

V.6.2.3. Técnica de decalcificación y tinción con nitrato de plata (Cajal-Castro,1933). Utilizada para verificar el resultado de las vómeronasalectomias y las anosmias periféricas en cabezas enteras.

I- Descalcificación : Inmersión de las piezas, durante 2 o 3 días, en una solución formada por:

. 50 cc. de Alcohol 96º

. 50 cc. de Agua Destilada

. 4 cc. de Acido Nítrico

. 5 gr. de Hidrato de Cloral

II- Lavado de la pieza : durante 24 horas en agua corriente

III- Inmersión en solución de Alcohol Amoniacal durante 1 día, formada por:

. 50 cc. de alcohol 96º

. 4-5 gotas de amoníaco

IV- Tinción en plata : Inmersión de la cabeza en nitrato de plata al 1,5 %, durante 5-6 días en estufa a 37ºC.

V- Lavado de la pieza en agua destilada durante 1-2 minutos

VI- Reducción de la pieza en una solución compuesta por :

. ácido pirogálico, 1 gramo

. formol, 5 ml.

. agua destilada, 70-100 ml.

VII- Lavado de la pieza

VIII- Endurecimiento en alcohol

IX- Inclusión en parafina o celoidina

V.7. Radioinmunoensayo de Testosterona .-

Las medidas se realizaron en el suero obtenido tras centrifugación de las muestras de sangre procedentes de las punciones venosas y de la decapitación, conservadas a -20ºC hasta su utilización.

Utilizaremos el NOSOLVEX^{TM} I^{125} Testosterone kit, de Radioassay Systems Laboratories, Inc., que aporta la enorme ventaja de no requerir extracción previa del esteroide con una fiabilidad semejante a la de los métodos convencionales. Utiliza un antisuero con alta especificidad para la testosterona y escasas reacciones cruzadas (3,4 % a 5α Dihidrotestosterona, 2 % a 11Oxotestosterona, 2,2 % a 5αAndroston 3β-17βdiol; menor de 0.01 para androsterona, estrona, estriol, progesterona, etc.).

La realización del RIA se llevará a cabo según las pautas indicadas en el kit.

V.8. Análisis estadístico y diseño gráfico .-

El estudio estadístico de los datos experimentales, se realizó siguiendo los criterios específicos para el estudio de muestras pequeñas (menos de 30 casos)(SWOVODA,1975) en las siguientes etapas :

V.8.1. Medidas de centralización y dispersión :

- Media aritmética ($\overline{X}$)

$$X = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots\dots\dots\dots\dots\dots x_n}{n}$$

Siendo x_1, x_2, x_3..... x_n cada uno de los n elementos u observaciones de la muestra.

- Desviación típica poblacional (σ)

$$\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma(x-\bar{x})^2}{n-1}}$$

- Desviación típica muestral (s)

$$s = \sqrt{\frac{\Sigma(x-\bar{x})^2}{n}}$$

- Error estandar de la media (EEM)

$$EEM = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

V.8.2. Análisis de la varianza : (Test de la F de Snedecor) Lo utilizaremos en el estudio de las posibles diferencias entre poblaciones.

$$F = \frac{Tr\ MS}{E\ MS}$$

Siendo - Tr MS la varianza entre las distintas muestras

$$Tr\ MS = \frac{Tr\ SS}{f_1}$$

Tr SS la dispersión debida a las diferencias entre las muestras : suma de los cuadrados de las diferencias entre la media del total de observaciones y cada una de las observaciones modificadas en el sentido de asumir el valor de la media del conjunto muestral en el que se halla integrado.

f_1 los grados de libertad entre las muestras = nº de muestras menos uno.

- EMS la varianza dentro de las muestras

$$EMS = \frac{ESS}{f_2}$$

ESS dispersión debida a diferencias dentro de las muestras = suma de los cuadrados de las diferencias de cada observación, con respecto a la media de la

muestra a la cual pertenece.

f_2 grados de libertad dentro de las muestras = nº total de observaciones menos número de muestras en las que se agrupan.

Consideraremos que las muestras pertenecen a poblaciones distintas cuando el valor de F hallado , sea superior al teórico calculado en la distribución de Snedecor para una P menor de 0.05 .

V.8.3. Análisis de la diferencia entre medias muestrales : Utilizamos el test de Student.

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\alpha\sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \qquad \alpha = \sqrt{\frac{n_1 \cdot s_1^2 + n_2 \cdot s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

Aceptaremos como significativo la diferencia entre medias cuando el valor encontrado para t sea mayor al teórico calculado en la distribución de Student para grados de libertad ($= n_1 + n_2 - 2$) y una P menor de 0.05 .

V.8.4. Diferencias porcentuales e intervalo de confianza : Las diferencias entre dos medias muestrales lo expresamos como tanto por ciento de reducción experimentado por la de mayor valor (D).

$$D = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\bar{x}_1} 100 \qquad \text{siendo } \bar{x}_1 \text{ la media mayor}$$

Con el fin de poder valorar la significación del porcentaje de diferencia entre las medias , calculamos el intervalo de confianza (IC) del mismo para una P = 0.05

- Límite superior del IC $= \frac{Y \cdot 100}{X_1}$

- Límite inferior del IC $= \frac{Z \cdot 100}{X_1}$

Siendo:

$$Y = (\overline{X}_1 - \overline{X}_2) + \alpha t$$

$$Z = (\overline{X}_1 - \overline{X}_2) - \alpha t$$

$$\alpha = \sqrt{\frac{n_1 s_1^2 + n_2 s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

t = Valor de la distribución de Student, para n_1+n_2-2 grados de libertad y P=0.05

** Los cálculos de las medidas de centralización y dispersión, así como los Análisis de las varianzas (ANOVA), fueron realizados con una calculadora HP-41 C, utilizando los programas editados por el propio fabricante. Los cálculos de los test de Student, porcentajes de diferencia e intervalos de confianza de los mismos, fueron realizados mediante un mini-ordenador Dragon 32, unido a una impresora Centronics 739, utilizando un programa en Basic, confeccionado por nosotros (Fig. V-10)

** La realización de los histogramas, fué mecanizada mediante un ordenador de propósito general HP-1000 y un plotter HP-7225 B, utilizando un programa en Fortran IV, confeccionado en nuestro departamento. (Fig. V-11).

```
10 INPUT A,B,C,D,E,F
20 X=((B*B*C)+(E*E*F))/(C+F-2)
30 Y=SQR(X)
40 Z=SQR((1/C)+(1/F))
50 W=Y*Z
60 T=(A-D)/W
70 V=C+F-2
80 J=A-D
90 K=(100*J)/A
100 IF V=3 THEN G=3.182
110 IF V=4 THEN G=2.776
120 IF V=5 THEN G=2.571
130 IF V=6 THEN G=2.447
140 IF V=7 THEN G=2.365
150 IF V=8 THEN G=2.306
160 IF V=9 THEN G=2.262
170 IF V=10 THEN G=2.228
180 IF V=11 THEN G=2.201
190 IF V=12 THEN G=2.1788
200 IF V=13 THEN G=2.1604
210 IF V=14 THEN G=2.1448
220 IF V=15 THEN G=2.1315
230 IF V=16 THEN G=2.1199
240 IF V=17 THEN G=2.1098
250 IF V=18 THEN G=2.1009
260 IF V=19 THEN G=2.093
270 IF V=20 THEN G=2.086
280 IF V=21 THEN G=2.0796
290 IF V=22 THEN G=2.0739
300 IF V=23 THEN G=2.0687
310 IF V=24 THEN G=2.0639
320 IF V=25 THEN G=2.0595
330 IF V=26 THEN G=2.0555
340 IF V=27 THEN G=2.0518
350 IF V=28 THEN G=2.0484
360 IF V=29 THEN G=2.0452
370 IF V=30 THEN G=2.0423
380 IF V=31 THEN G=2.0395
390 IF V=32 THEN G=2.0370
400 IF V=33 THEN G=2.0345
410 IF V=34 THEN G=2.0323
420 IF V=35 THEN G=2.0301
430 IF V=36 THEN G=2.0281
440 IF V=37 THEN G=2.0262
450 IF V=38 THEN G=2.0244
460 IF V=39 THEN G=2.0227
470 L=J+(W*G)
480 M=J-(W*G)
490 N=(100*L)/A
500 P=(100*M)/A
510 PRINT T,V,K,N,P
520 PRINT#-2,"ENTRADA",A,B,C,D,E,F,G
530 PRINT#-2,"SALIDA",T,V,K,N,P
```

Fig. V-10. Listado del programa en BASIC, para el cálculo de: t de Student, % de dif. entre medias y límites del intervalo de confianza.

```
T*00004 IS ON CR19010 USING 00009 BLKS R=0063

  FTN4,L
        PROGRAM PLOTT
        DIMENSION AL(12),DE(12),IROTU(70),INOM(12,6),IBAS(40)
        WRITE(1,30)
  30    FORMAT("ENTRAR EJE X, EJE Y,NUMERO DE BARRAS, Y FONDO DE ESCALA:_
       1")
        READ(1,*)IXB,IYB,N,FE
        WRITE(1,31)
  31    FORMAT("ENTRAR PIE DE FIGURA:")
        READ(1,7)(IROTU(I),I=1,35)
  7     FORMAT(35A2)
        WRITE(1,32)
  32    FORMAT("ENTRAR BASE:_")
        READ(1,33)(IBAS(I),I=1,20)
  33    FORMAT(20A2)
        FS=(IYB-1500)/FE
        DO68I=1,N
        WRITE(1,69)I
  69    FORMAT(I3,2X,"VALOR Y DESVIACION: _")
        READ(1,*)AL(I),DE(I)
  68    READ(1,77)(INOM(I,J),J=1,6)
  77    FORMAT(6A2)
        IX=1000
        IY=1500
        WRITE(14,10)IX,IYB,IX,IY,IXB,IY
  10    FORMAT("PU"/"PA",I5,",",I5/"PD"/"PA",I5,",",I5/"PD"/"PA",I5,",",I5
       1/"PD")
        IY=IYB
        IY1=((IYB-1500)/2)+1500
        IX=950
        IX1=1050
        IX2=400
        DL=FE/2
        WRITE(14,90)IX,IY,IX1,IY,IX2,IY,FE,IX,IY1,IX1,IY1,IX2,IY1,DL
  90    FORMAT("PU"/"PA",I5,",",I5/"PD"/"PA",I5,",",I5/"PU"/"PA",I5,",",I5
       1/"PD"/"LB",F5.1,"$"/"PU"/"PA",I5,",",I5/"PD"/"PA",I5,",",I5/"PU"/
       2"PA",I5,",",I5/"PD"/"LB",F5.1,"$")
        IK=(IXB-1000)/(N+1)
        IL=.66*IK
        WRITE(14,333)(IROTU(I),I=1,35)
  333   FORMAT("PU"/"PA1200,500"/"PD"/"LB",35A2,"$")
        DO40I=1,N
        IX=1400+(1/6*IK)+(I-1)*IK
        IY=1500
        IY1=1500+AL(I)*FS
        IX1=IX+IL
        IX2=IX+(IX1-IX)/2
        IY2=IY1+DE(I)*FS
        IX3=IX2-40
        IX4=IX2+40
        IYY=1125
        WRITE(14,777)IX,IY,IX,IY1,IX1,IY1,IX1,IY,IX2,IY1,IX2,IY2
       1,IX3,IY2,IX4,IY2,IX,IYY,(INOM(I,J),J=1,6)
  777   FORMAT("PU"/"PA",I5,",",I5/"PD"/"PA",I5,",",I5/"PA",I5,",",I5/"PA"
       1,I5,",",I5/"PU"/"PA",I5,",",I5/"PD"/"PA",I5,",",I5/"PU"/"PA",I5,",
       2",I5/"PD"/"PA",I5,",",I5/"PU"/"PA",I5,",",I5/"LB",6A2,"$")
  40    CONTINUE
        WRITE(14,667)(IBAS(I),I=1,20)
  667   FORMAT("PU"/"PA500,1500"/"PD"/"DI0,1"/"LB",20A2,"$")
        WRITE(14,999)
  999   FORMAT("IN")
        END
        END$
```

Fig. V-11 . Programa en FORTRAN IV para la realización de los histogramas.

VI. RESULTADOS.

VI.1. RESULTADOS DE LA SERIE I.

La tabla VI-I-8, resume los resultados en cuanto a peso de órganos, mientras que en las VI-I-9, 10 y 11 se recogen los datos relativos a ingesta de alimentos, en la VI-I-14 la evolución del peso corporal, y en la VI-I-33 los RIA de testosterona.

VI.1.1. Controles histológicos de la Anosmia Periférica. Las fotografías I-1 y I-2, corresponden a cortes frontales de cabezas enteras decalcificadas, de ratas intactas y anósmicas respectivamente, teñidas mediante la técnica del Nitrato de Plata reducida de Cajal. El espesor de los cortes fue de 8 micras.

En la I-1, puede apreciarse el paso de las fibras nerviosas procedentes de la mucosa olfatoria, a través de la lámina cribosa, para integrarse en las masas bulbares, mientras que en la I-2 estas fibras no están presentes, como consecuencia de la sección intranasal de las mismas, llevada a cabo 6 semanas antes. La fotografía I-3 corresponde a la misma preparación que la I-2, pero a mayor aumento.

Las fotografías I-4 y I-5, corresponden también a preparaciones de cabezas descalcificadas e impregnadas con plata. En la primera (rata intacta), se observa como el bulbo olfatorio aparece rodeado por una capa de fibras nerviosas, que adquiere mayor grosor en las superficies externa, medial e inferior, y corresponde a la entrada de los nervios olfatorios. En la I-5 (rata anósmica) se observa la total ausencia de esta capa de fibras nerviosas.

Las fotografías I-6 y I-7 corresponden a preparaciones realizadas sobre bulbos fijados en formol al 10% (perfusión intracardiaca) y teñidos según la técnica de Klüver-Barrera, siendo la primera de una rata control y la segunda de una con sección intranasal de los n. olfatorios (anosmia periférica). Puede observarse como en nuestra técnica de anosmia queda preservada la integridad del bulbo olfatorio, ya que en la I-7 únicamente podría apreciarse una ligera reducción de la capa superficial de fibras nerviosas, más claramente visible en las tinciones con plata (fotografía I-5).

VI.1.2. Ingesta de alimentos .- En las figuras VI-1-9 y VI-1-12, se indica el consumo de alimentos (gramos/rata/día), durante las tres últimas semanas del experimento, mientras que las figuras VI-1-11 y VI-1-13 contienen los datos correspondientes a la eficiencia global de la alimentación (EGA), entendiendo por tal, los gramos de incremento en el peso corporal por cada 100 Kcal. ingeridas durante las seis semanas de duración de la prueba.

Las ratas ciegas anósmicas o ciegas bulbectomizadas, mostraron patrones de ingesta semejantes, siendo también análoga la EGA. A su vez, la ingesta (gr/rata/día) en ambos grupos experimentales fue siempre significativamente más baja que en cualquiera de los otros grupos, que tampoco mostraron diferencias entre sí.

En cuanto a la EGA, ni la anosmia periférica ni la bulbectomía, por si solas produjeron modificaciones con respecto a los animales intactos. La ceguera, por el contrario, sí provocó una reducción de aproximadamente un 18% ($P < 0.005$) con respecto a los controles , reducción que fue de mayor intensidad cuando a la deprivación de luz se asoció la anosmia periférica o la ablación de los bulbos olfatorios (O vs EA y EB, $P<0.001$).

Los animales seudo-operados (ESA y ESB), mostraron valores de ingesta y de EGA semejantes a los de los ciegos (E).

VI.1.3. Peso Corporal .- Las figuras VI-1-14 y 15 muestran la evolución del peso corporal en los distintos grupos durante las seis semanas de duración del experimento. Ya en la primera semana, se aprecia un descenso en el peso de las EA, con respecto a los controles ($P<0.05$), ciegos ($P<0.005$) y ciegos seudo-anósmicos ($P<0.01$), mientras que las EB sólo son significativamente menores que las intactas a partir de la segunda semana.

Como puede apreciarse en la fig. VI-I-15, a medida que avanza el tiempo, se marcan más las diferencias entre los grupos EA y EB (semejantes entre sí),

y el resto de los grupos, a excepción de los ciegos, que se sitúan en un escalón intermedio, mostrando diferencias significativas con los controles, a partir de la cuarta semana.

En la figura VI-I-16, que muestra el incremento ponderal experimentado en cada grupo durante las seis semanas, se aprecia como, tanto en las EA como en las EB, fué significativamente inferior al resto de los grupos ($P<0.001$ en todos los casos), siendo el de los animales enucleados (E), inferior al de los intactos ($P<0.005$), pero superior al de los EA o EB.

VI.1.4. Adenohipófisis .- (Figs. VI-I-17 y 18). Mientras la anosmia, por si sola, no modificó los pesos absolutos y relativos, con respecto a los controles, la bulbectomía indujo una reducción de los mismos ($P<0.005$, en p. abs. y $P<0.02$ en p. rel.), aunque no hubo diferencias entre ambos grupos (A vs B, P=N.S.).

La ceguera también redujo los pesos adenohipofisarios con respecto a los controles ($P<0.001$, en p. abs. y $P<0.02$ en p. rel.). Los animales de este grupo no establecieron diferencias significativas con los otros animales ciegos a los que se practicó algún tipo de seudo-operación (E vs ESA o ESB, P=N.S.).

Cuando a la ceguera se asoció la anosmia (EA) o la bulbectomía (EB), se produjo un notable descenso de los pesos hipofisarios con respecto a los controles ($P<0.001$ en ambos casos). Los EB, también mostraron reducciones significativas frente a los E ($P<0.001$ en p. abs. y rel.) y a sus homólogos no enucleados (B vs EB, $P<0.001$ en p. abs. y rel.). Las EA, sólo establecieron diferencias con las E, en cuanto a peso absoluto ($P<0.01$), mientras que en relación a las A mostraron pesos absolutos y relativos significativamente más bajos ($P<0.001$).

No hallamos diferencias entre los grupos EA y EB.

VI.1.5. Glándulas suprarrenales .- (Figs. VI-I-19 y 20). Ni la ceguera, ni la bulbectomía, presentaron diferencias significativas, en peso absoluto, frente a los controles. La anosmia, sin embargo, provocó una reducción de los pesos absolutos y

relativos (P<0.05 y P<0.02, respectivamente), con respecto a las O.

La asociación de ceguera con anosmia periférica o bulbectomía dió lugar, en ambos casos, a reducciones del peso absoluto, tanto en relación a las O, como a las E , ESA y ESB (O vs EA, P<0.001; O vs EB, P<0.01; E vs EA, P 0.001; E vs EB, P<0.02; EA vs ESA, P<0.05; EB vs ESB, P<0.05). No hallamos diferencias entre las EA y las EB.

VI.1.6. Peso de Testículos .- (Figs. VI-I-21 y 22). En cuanto a pesos absolutos: tanto la anosmia como la ceguera, por sí solas, carecieron de efectos, mientras que la bulbectomía indujo un incremento ponderal con respecto a los O (P<0.001).

La asociación de ceguera y bulbectomía o anosmia periférica, redujo los pesos gonadales absolutos con respecto a los controles (O vs EA, P<0.005; O vs EB, P<0.001), anósmicos (A vs EA, P<0.005) y bulbectomizados (B vs EB, P<0.001). En el caso de las EB, las diferencias se extendieron a las E (P<0.05) y a las ESB (P<0.05).

No hallamos diferencias entre los dos tipos de anosmias, asociadas o no a ceguera.

Todas las diferencias anteriormente mencionadas, se anulan cuando consideramos pesos relativos (F de Snedecor=1.93, P=N.S.).

VI.1.7. Peso de Vesículas Seminales .- (Figs. VI-I-23 y 24). No hallamos diferencias entre los animales intactos, anósmicos o bulbectomizados. La enucleación óptica, provocó una reducción de los pesos absolutos (P<0.001) y relativos (P<0.005), con respecto a los controles, no estableciéndose diferencias con los dos grupos de animales ciegos seudo-operados (ESA y ESB).

Cuando a la ceguera se unió la anosmia periférica o la bulbectomía, la reducción ponderal experimentada por las vesículas seminales fue muy marcada, estableciéndose diferencias con respecto a todos los demás grupos (P<0.001 en to-

dos los casos). No hubo diferencias entre las dos formas de anosmia en animales intactos o ciegos (A vs B y EA vs EB, P=N.S.).

VI.1.8. Peso de las glándulas de coagulación .- (Figs. VI-I-25 y 26).

Los resultados en estos órganos, fueron semejantes a los descritos para las v. seminales; la única diferencia estriba en una ligera reducción del peso absoluto en las bulbectomizadas, con respecto a las intactas ($P<0.05$), y en pesos relativos las A mostraron también valores inferiores a los controles ($P<0.05$).

Los animales ciegos, mostraron pesos análogos a los ESA y ESB y en todos los casos inferiores a los intactos ($P<0.001$, en p. abs. y $P<0.005$ en p. rel.).

La asociación de ceguera más anosmia o bulbectomía, produjo una marcada atrofia de las g. de coagulación, que fueron significativamente menores que las del resto de los grupos, con una $P<0.001$ en todos los casos.

Las dos formas de anosmia no mostraron diferencias entre sí, tanto en animales ciegos (EA vs EB) como en los no enucleados (A vs B).

VI.1.9. Peso de las Próstatas Ventrales .- (Figs. VI-I-27 y 28).

No hallamos diferencias entre los grupos O, A, B, E, ESA, ni en pesos absolutos ni en relativos.

Aunque el peso de las próstatas en los animales ciegos seudo-bulbectomizados fue inferior al de los E ($P<0.02$ en p. abs. y $P<0.005$ en p. rel.), el análisis de la varianza entre los grupos E,ESA y ESB mostró que todos ellos pertenecen a una misma población y por lo tanto las diferencias antes mencionadas pueden ser consideradas como azar.

La asociación de anosmia periférica o bulbectomía con ceguera, provocó, al igual que en los otros órganos testosterona-dependientes, una marcada reducción de los pesos prostáticos , situándolos en valores significativamente menores que en el resto de los grupos, con una $P<0.001$ en todos los casos.

VI.1.10. Peso de Epidídimos y Conductos Deferentes .- (Figs. VI-I-29 y 30). La anosmia periférica y la bulbectomía, carecieron de efectos por sí solas. La ceguera provocó reducciones del p. absoluto ($P<0.005$), pero no del relativo, con respecto a los controles. Tampoco hubo diferencias entre los animales ciegos y aquellos que, además, fueron sometidos a seudo-operaciones (ESA yESB).

La asociación EA, mostró reducciones significativas, en cuanto a p. absoluto, con respecto a las O ($P<0.001$), E ($P<0.02$), A ($P<0.001$) y ESA ($P<0.005$), mientras que en p. relativo, solamente fueron significativas las diferencias con O ($P<0.02$).

La asociación EB, provocó igualmente reducciones del p. absoluto en relación a los grupos O ($P<0.001$), E ($P<0.005$), B ($P<0.001$), ESB ($P<0.005$), y en pesos relativos frente a O ($P<0.001$), E ($P<0.05$) y B ($P<0.005$).

No hallamos diferencias entre las dos formas de déficits olfatorios.

VI.1.11. Peso de los Bazos .- (Figs. VI-I-31 y 32). Solamente fué significativo el análisis de la varianza de los pesos absolutos. En cuanto a estos, no hallamos diferencias entre los grupos O, A, B, E, ESA y ESB. Los animales de los grupos EA y EB, mostraron pesos inferiores a los controles ($P<0.001$ y 0.005 respectivamente); los primeros (EA), fueron también significativamente menores que los E ($P<0.005$), A ($P<0.01$) y ESA ($P<0.02$), no estableciéndose diferencias entre las EA y las EB.

VI.1.12. Niveles séricos de Testosterona.- (Fig. VI-I-33). La tasa sérica de esta hormona fue semejante en los grupos O, A, B y E.

Los animales anósmicos, mostraron niveles de testosterona significativamente más altos que los bulbectomizados ($P<0.005$), ciegos ($P<0.05$), ciegos anósmicos ($P<0.001$) y ciegos bulbectomizados ($P<0.001$). Los niveles más bajos de esteroide correspondieron a los grupos EA y EB, que, sin mostrar diferencias entre ellos, fueron significativamente menores que en el resto de los grupos ($P<0.001$, en todos los casos).

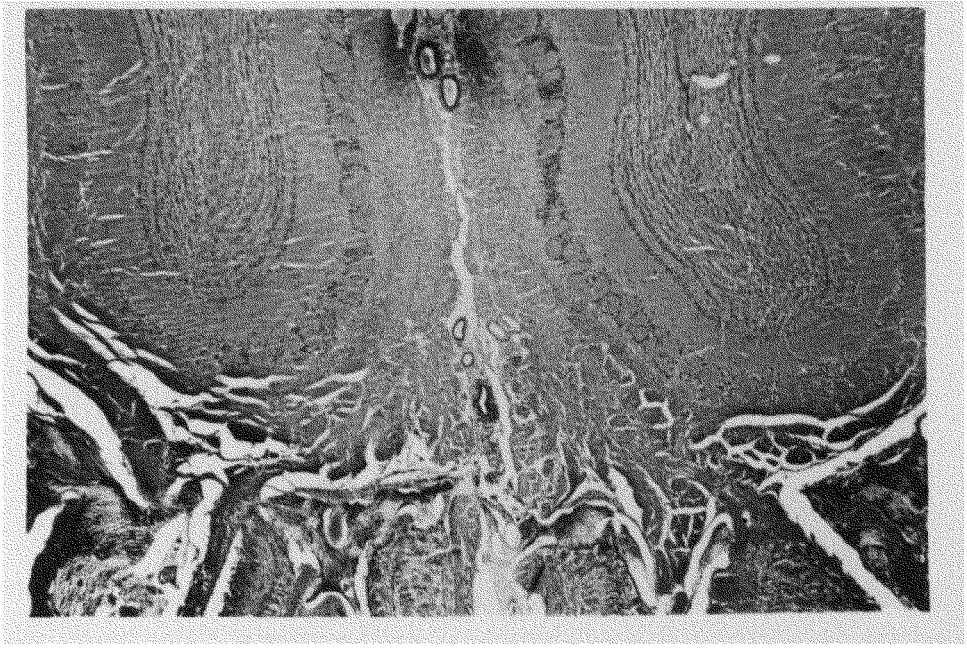


Fig. I-1.
(x 36)

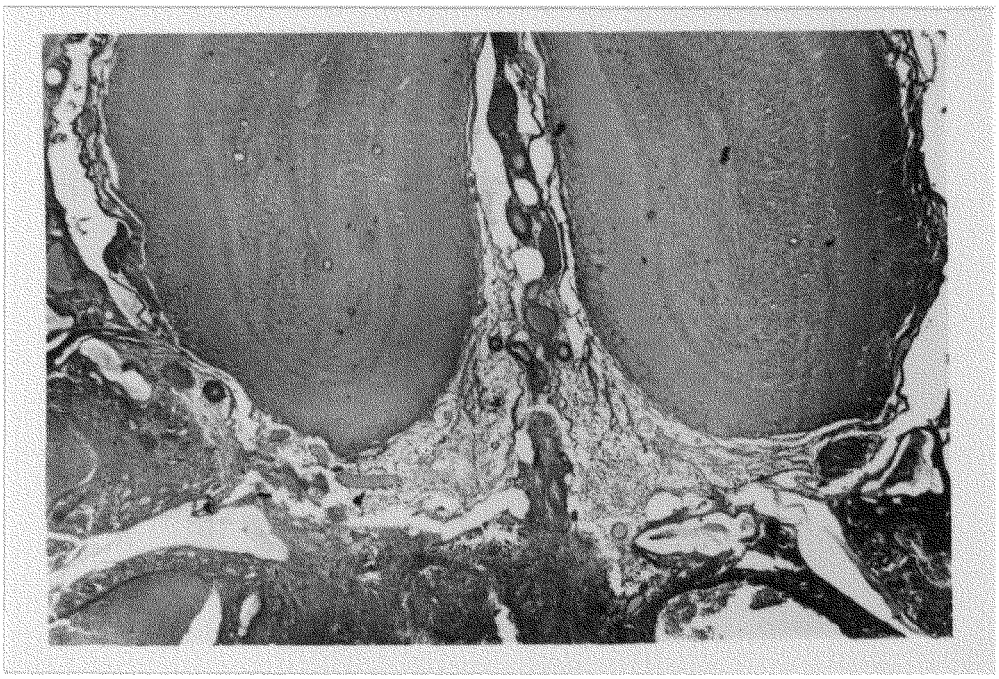


Fig. I-2.
(x 36)

Fig. I-3.
(x 90)

Fig. I-4.
(x 36)

Fig. I-5.
(x 36)

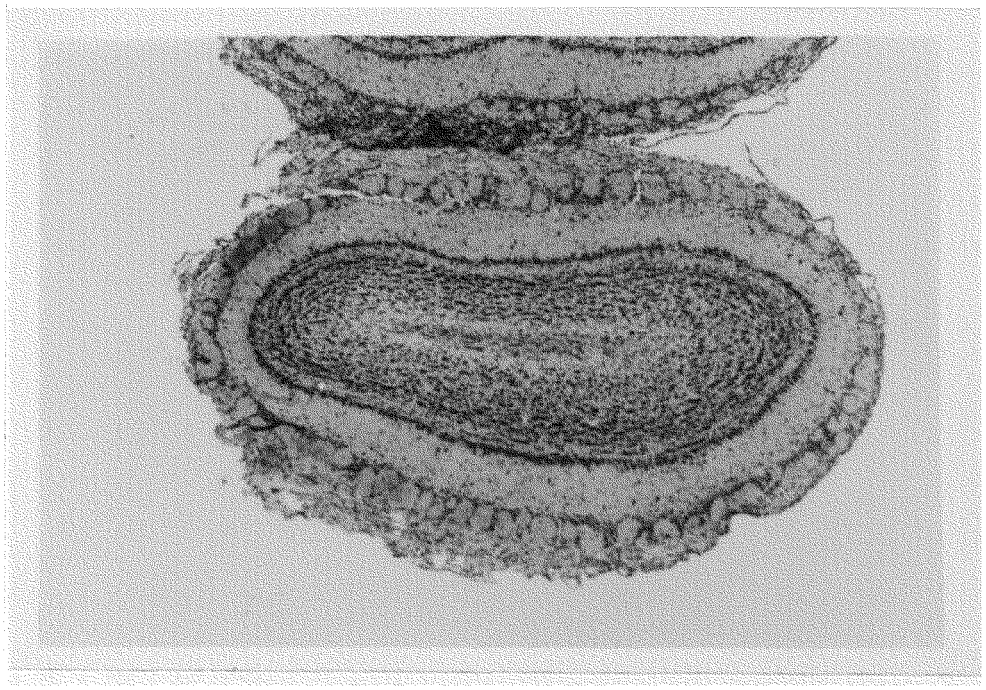


Fig. I-6. (x 46)

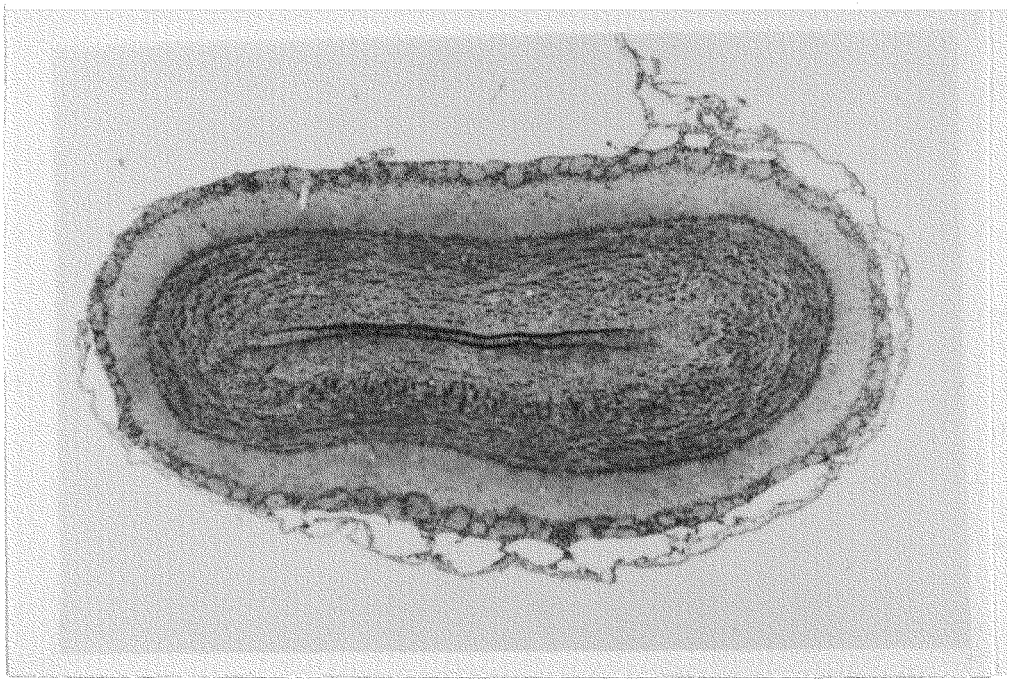


Fig. I-7. (x 46)

	HIPOFISIS	TESTICULOS	VESICULAS SEMINALES	GLANDULAS COAGULACION	EPIDIDIMOS + DEFERENTES	PROSTATAS	BAZO	ADRENALES
Grupo O [14]	7.78 ± 0.24	3041.9 ± 75.62 [13]	560.29 ± 19.23 [13]	110.21 ± 4.62 [13]	837.39 ± 24.58	201.85 ± 15.86	633.16 ± 31.65	31.55 ± 1.29 [13]
	2.49 ± 0.08	980.7 ± 20.28 [13]	179.57 ± 6.71 [13]	35.25 ± 1.34 [13]	268.45 ± 6.30	65.00 ± 5.01	201.85 ± 6.99	10.13 ± 0.29 [13]
Grupo A [8]	7.48 ± 0.39 [7]	3292.7 ± 139.74	562.24 ± 29.37	95.42 ± 5.78	806.72 ± 32.13	239.97 ± 12.94	571.96 ± 35.72	27.17 ± 1.44
	2.46 ± 0.07 [7]	1080.2 ± 48.60	183.70 ± 7.47	30.91 ± 1.36	263.90 ± 7.86	78.49 ± 3.82	187.26 ± 11.50	8.86 ± 0.32
Grupo B [10]	6.64 - 0.23	3475.1 ± 54.82 [9]	561.06 ± 26.98	97.40 ± 2.35	787.80 ± 21.76	233.72 ± 15.30	578.94 ± 28.02	29.18 ± 0.97
	2.19 ± 0.06	1159.2 ± 31.94 [9]	185.36 ± 9.05	32.25 ± 0.59	260.78 ± 8.57	77.08 ± 4.56	190.75 ± 7.36	9.67 ± 0.30
Grupo E [10]	6.12 ± 0.36	2830.7 ± 191.23 [9]	368.70 ± 39.35	74.77 ± 6.85	681.63 ± 46.00	198.36 ± 12.83	548.00 ± 21.72	31.67 ± 1.52
	2.17 ± 0.10	1006.2 ± 72.97 [9]	130.82 ± 13.72	26.53 ± 2.32	242.75 ± 15.45	20.21 ± 3.53	194.93 ± 4.67	11.25 ± 0.41
Grupo EA [11]	4.80 ± 0.26	2447.7 ± 156.25	54.27 ± 10.67	11.38 ± 1.70	494.09 ± 50.68	36.47 ± 5.83	434.28 ± 27.72	24.76 ± 0.81 [10]
	2.09 ± 0.05	1082.2 ± 68.96	23.26 ± 4.18	4.83 ± 0.59	216.26 ± 19.57	15.74 ± 2.12	188.88 ± 7.45	10.83 ± 0.38 [10]
Grupo EB [15]	3.88 ± 0.18	2284.1 ± 155.90 [14]	95.50 ± 27.12 [14]	19.42 ± 4.71 [14]	461.04 ± 48.29 [14]	68.76 ± 14.44 [14]	504.88 ± 27.00	26.11 ± 1.43 [14]
	1.62 ± 0.06	938.1 ± 50.47 [14]	37.54 ± 10.16 [14]	7.69 ± 1.75 [14]	188.15 ± 17.05 [14]	27.50 ± 5.31 [14]	209.79 ± 8.11	10.93 ± 0.49 [14]
Grupo ESA [7]	5.62 ± 0.21	2818.6 ± 106.53 [7]	331.91 ± 61.01	68.50 ± 12.16	778.00 ± 57.66	195.70 ± 34.83 [6]	562.67 ± 40.10	29.23 ± 1.84
	1.94 ± 0.07	977.9 ± 369.60 [7]	113.62 ± 20.95	23.38 ± 3.97	268.11 ± 18.12	66.98 ± 12.53 [6]	193.45 ± 9.61	10.10 ± 0.62
Grupo ESB [8]	6.77 ± 0.42	2951.3 ± 136.96 [7]	308.24 ± 38.12 [7]	62.91 ± 9.84 [7]	706.41 ± 48.04	144.04 ± 16.87 [7]	612.70 ± 53.17	30.68 ± 0.60 [7]
	2.27 ± 0.08	1007.9 ± 25.19 [7]	99.65 ± 10.45 [7]	20.27 ± 2.82 [7]	237.25 ± 11.21	47.32 ± 5.82 [7]	204.12 ± 11.41	10.09 ± 0.30 [7]

Fig. VI-I-8. Listado general de los datos correspondientes a peso de órganos. Para cada grupo, los recuadros superiores contienen los pesos absolutos(mgr) y los inferiores los relativos (mgr/100 gr de peso corporal). Se indican media ± ESM, y número de casos.

	4ª SEMANA	5ª SEMANA	6ª SEMANA
GRUPO- O [14]	24.37 ± 0.43 [13]	25.50 ± 0.58	24.13 ± 0.61
GRUPO- A [9]	23.53 ± 0.60	24.28 ± 0.63 [8]	24.23 ± 0.55 [8]
GRUPO- B [10]	23.42 ± 0.63	24.62 ± 0.62	25.85 ± 0.67
GRUPO- E [10]	21.88 ± 0.51	22.64 ± 0.46	22.62 ± 0.58 [9]
GRUPO- EA [11]	19.37 ± 0.75	18.55 ± 0.69	20.28 ± 0.76 [10]
GRUPO- EB [14]	19.42 ± 0.36	19.12 ± 0.77	20.81 ± 0.47
GRUPO- ESA [7]	22.34 ± 0.39	22.69 ± 0.45	23.34 ± 0.72
GRUPO- ESB [9]	21.96 ± 1.00	22.43 ± 1.09 [8]	23.40 ± 1.09 [8]
ANOVA	$f_1 = 7$ $f_2 = 75$ $F = 9.99$ $P < 0.01$	$f_1 = 7$ $f_2 = 74$ $F = 14.66$ $P < 0.01$	$f_1 = 7$ $f_2 = 72$ $F = 7.76$ $P < 0.01$

Fig. VI-I-9. Ingesta de alimentos en gramos/ rata/ dia. Se indican: media ± ESM , y análisis de la varianza.

EFICIENCIA GLOBAL DE LA ALIMENTACION							
O [13]	A [8]	B [10]	E [9]	EA [10]	EB [14]	ESA [6]	ESB [6]
8.19 ± 0.33	7.96 ± 0.12	7.66 ± 0.19	6.72 ± 0.23	6.20 ± 0.14	6.07 ± 0.19	6.96 ± 0.28	7.56 ± 0.21
ANOVA: $f_1 = 7$; $f_2 = 68$; $F = 13.15$; $P < 0.01$							

Fig. VI-I- 11. Eficiencia global de la alimentación: incremento de peso corporal (gr) experimentado durante seis semanas, por cada 100 Kcal. ingeridas. Se indican: media ± ESM, y análisis de la varianza.

	PESO INICIAL	PESO 1ª SEMANA	PESO 2ª SEMANA	PESO 3ª SEMANA	PESO 4ª SEMANA	PESO 5ª SEMANA	PESO 6ª SEMANA (Final)
Grupo O [14]	80.24 ± 1.60	118.42 ± 3.47	158.57 ± 4.68	206.92 ± 6.00	254.70 ± 5.88	294.30 ± 5.50	316.38 ± 5.24
Grupo A [9]	78.00 ± 1.72	111.72 ± 2.20	153.90 ± 3.54	195.58 ± 4.70	241.40 ± 5.43	281.50 ± 6.32	305.50 ± 7.40 [8]
Grupo B [10]	74.80 ± 1.22	110.65 ± 2.72	148.12 ± 3.31	194.27 ± 4.32	236.90 ± 4.87	273.50 ± 5.02	303.10 ± 5.92
Grupo E [10]	80.80 ± 2.37	124.20 ± 3.97	167.60 ± 5.58	197.40 ± 7.27	236.00 ± 6.41	262.60 ± 6.96	280.85 ± 7.47
Grupo EA [11]	81.45 ± 1.72	108.45 ± 2.04	141.82 ± 3.09	171.09 ± 4.46	200.50 ± 5.79	216.54 ± 6.16	227.63 ± 8.41
Grupo EB [15]	77.50 ± 1.22	112.00 ± 1.59	143.64 ± 2.87	171.20 ± 2.84	195.40 ± 2.19	220.95 ± 3.79	240.00 ± 4.97
Grupo ESA [7]	79.77 ± 2.65 [6]	122.30 ± 4.85	167.70 ± 4.59	209.27 ± 3.21	245.60 ± 3.52	263.28 ± 5.58	289.57 ± 7.10
Grupo ESB [9]	77.80 ± 1.43	119.71 ± 2.72	163.50 ± 5.10	208.00 ± 7.12	246.10 ± 9.21	274.50 ± 10.7 [8]	296.50 ± 11.2 [8]
ANOVA	f = 7 f = 76 F = 2.03 P = N.S.	f = 7 f = 73 F = 3.63 P < 0.01	f = 7 f = 77 F = 6.04 P < 0.01	f = 7 f = 77 F = 9.44 P < 0.01	f = 7 f = 77 F = 18.26 P < 0.01	f = 7 f = 75 F = 24.81 P < 0.01	f = 7 f = 75 F = 22.00 P < 0.01

Fig. VI-I-14. Evolución del peso corporal durante las seis semanas de experimento. Se indican media (gr) ± error estandard de la media, así como el análisis de la varianza entre los ocho grupos pra los valores de cada semana. El número de casos aparece en el angulo superior derecho del recuadro de cada grupo, salvo las excepciones que se indican.

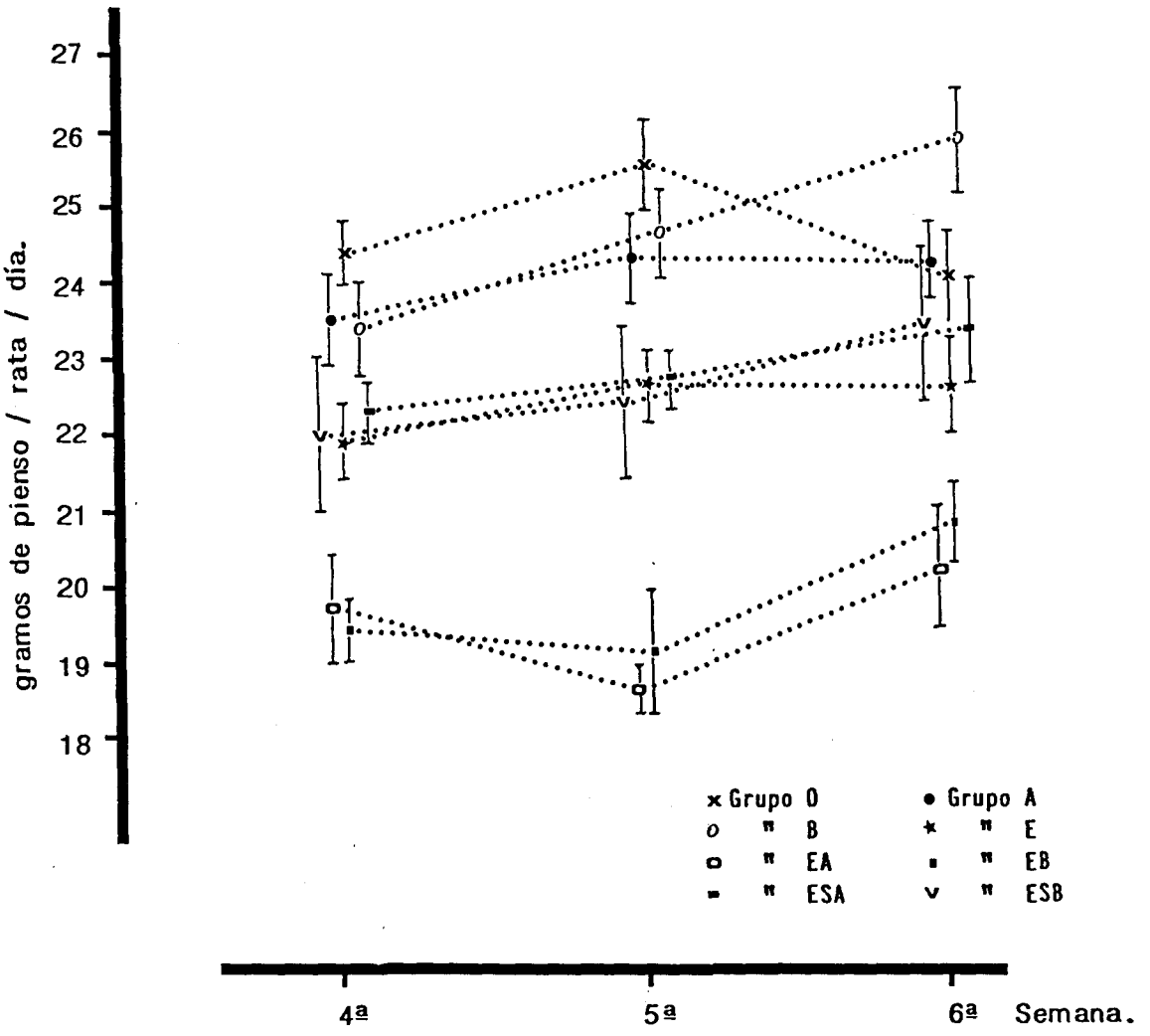


Fig. VI-I-12. Ingesta de alimentos durante las tres últimas semanas de experimento.

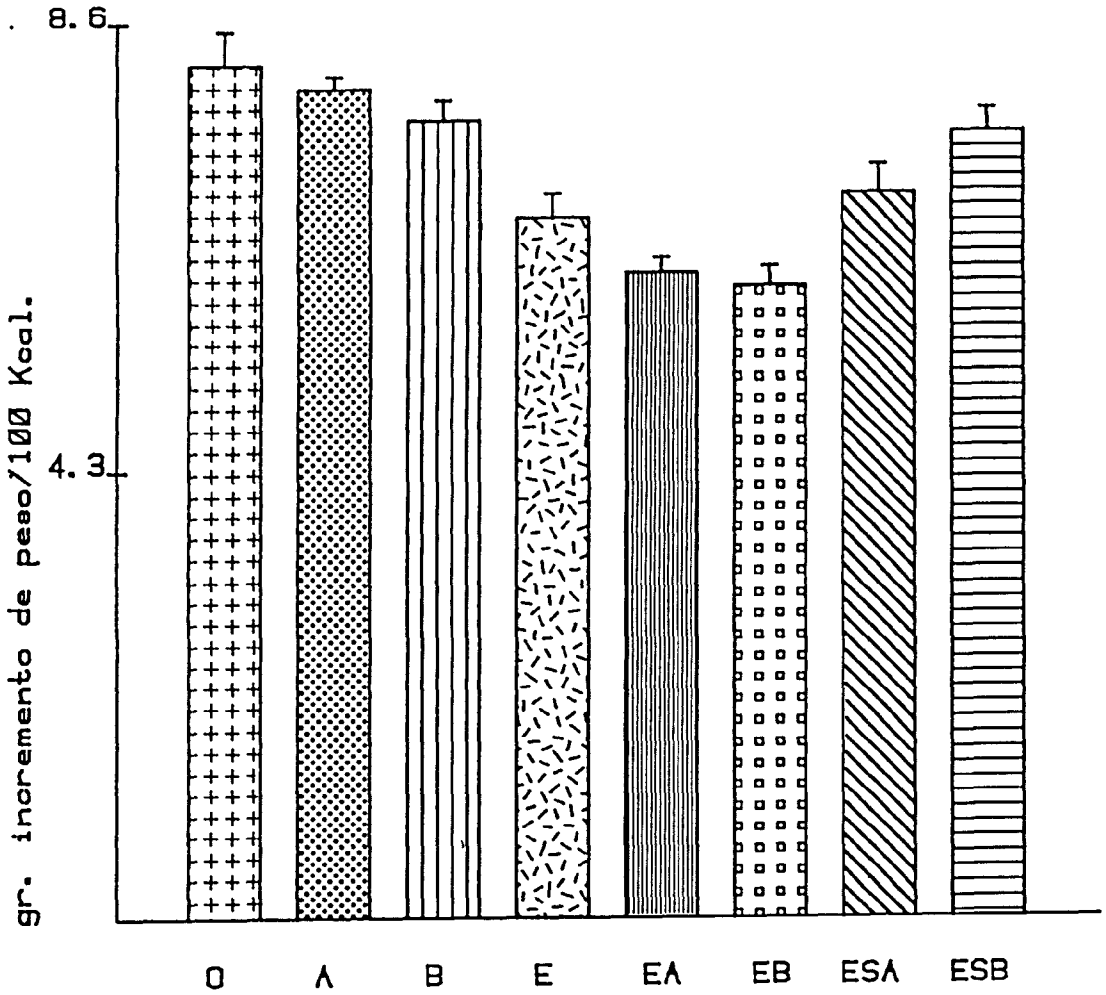


Fig. VI-I-13. Eficiencia Alimentaria Global

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB; ESA; ESB;	7	68	13.15	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	3.244	20	0.005	17.94	6.40 - 29.48
O-EA	4.891	21	0.001	24.29	13.96 - 34.62
O-EB	5.564	25	0.001	25.88	16.30 - 35.46
E-EB	2.130	21	0.05	9.67	0.23 - 19.11
E-ESB	2.467	13	0.05	11.11	1.38 - 20.83
EA-ESA	2.701	14	0.02	10.91	2.24 - 19.58
EB-ESB	4.566	18	0.001	19.70	10.64 - 28.77
A-EA	8.911	22	0.001	22.11	16.85 - 27.37
B-EB	5,687	22	0.001	20.75	13.18 - 28.32

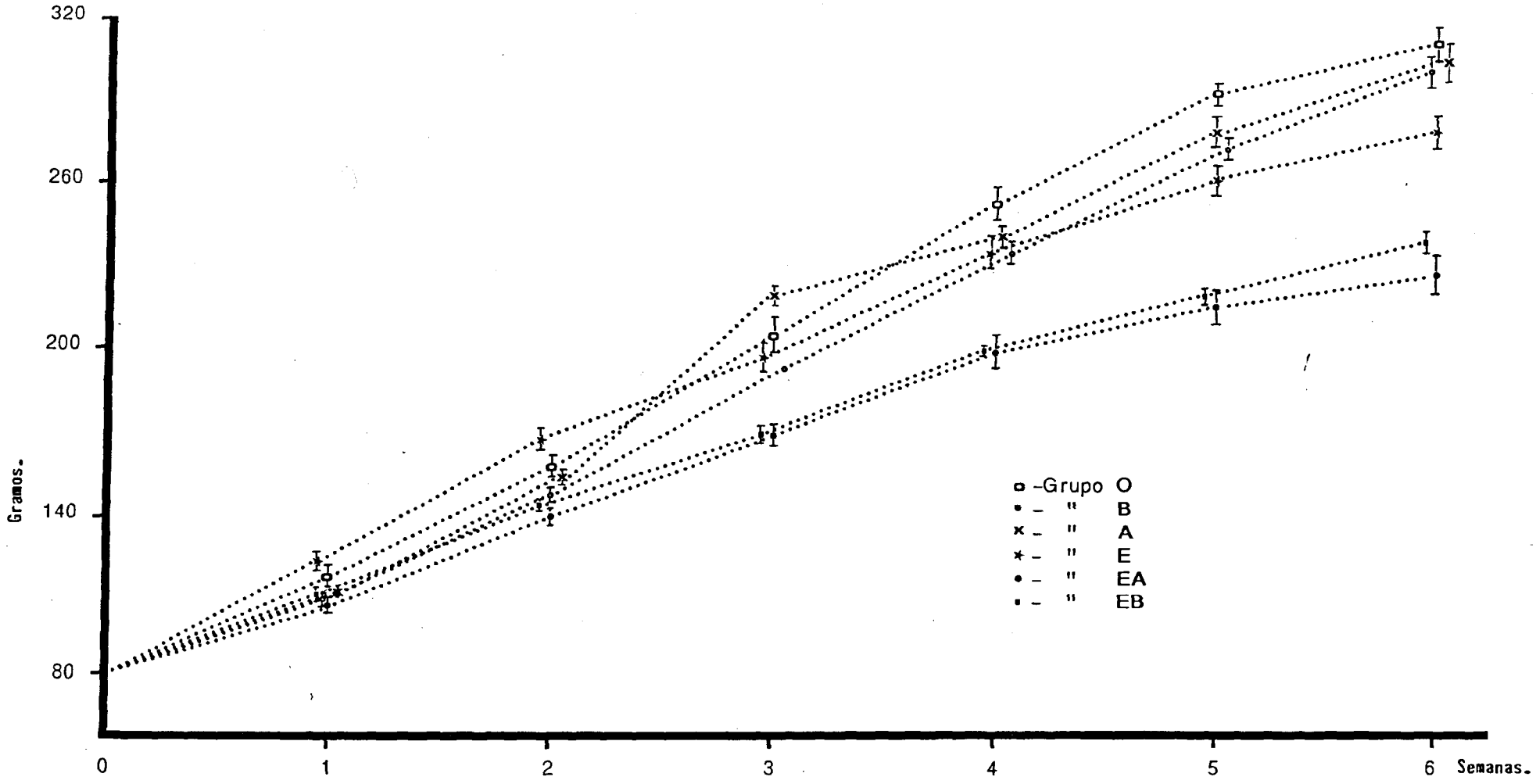


Fig. VI-I-15. Evolución semanal del peso corporal.

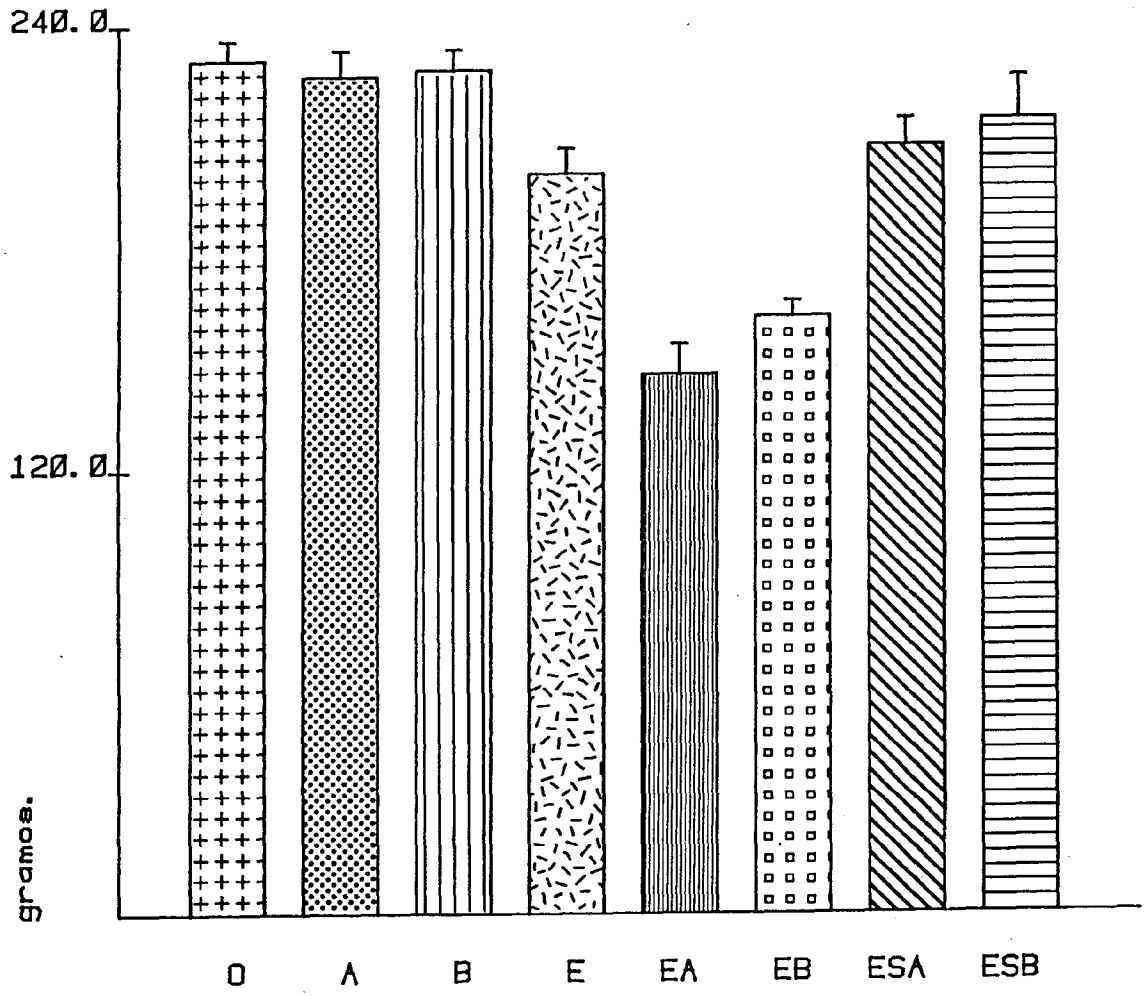


Fig. VI-I-16. Incremento de Peso

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB; ESA; ESB.	7	75	26.05	<0.001

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P <	% de diferencia	Intervalo de confianza para P = 0.05
O;E	3.594	22	0.005	13.42	5.68 - 21.16
O;EA	9.247	23	0.001	36.72	28.50 - 44.93
O;EB	10.385	27	0.001	29.99	24.06 - 35.91
E;EA	5.017	19	0.001	26.91	15.70 - 38.14
E;EB	4.954	23	0.001	19.31	11.14 - 27.12
EA;ESA	5.345	16	0.001	29.72	17.93 - 41.51
EB;ESB	5.425	20	0.001	24.87	15.31 - 34.44
A;EA	7.178	17	0.001	35.46	25.03 - 45.88
B;EB	9.636	23	0.001	29.15	22.89 - 35.41

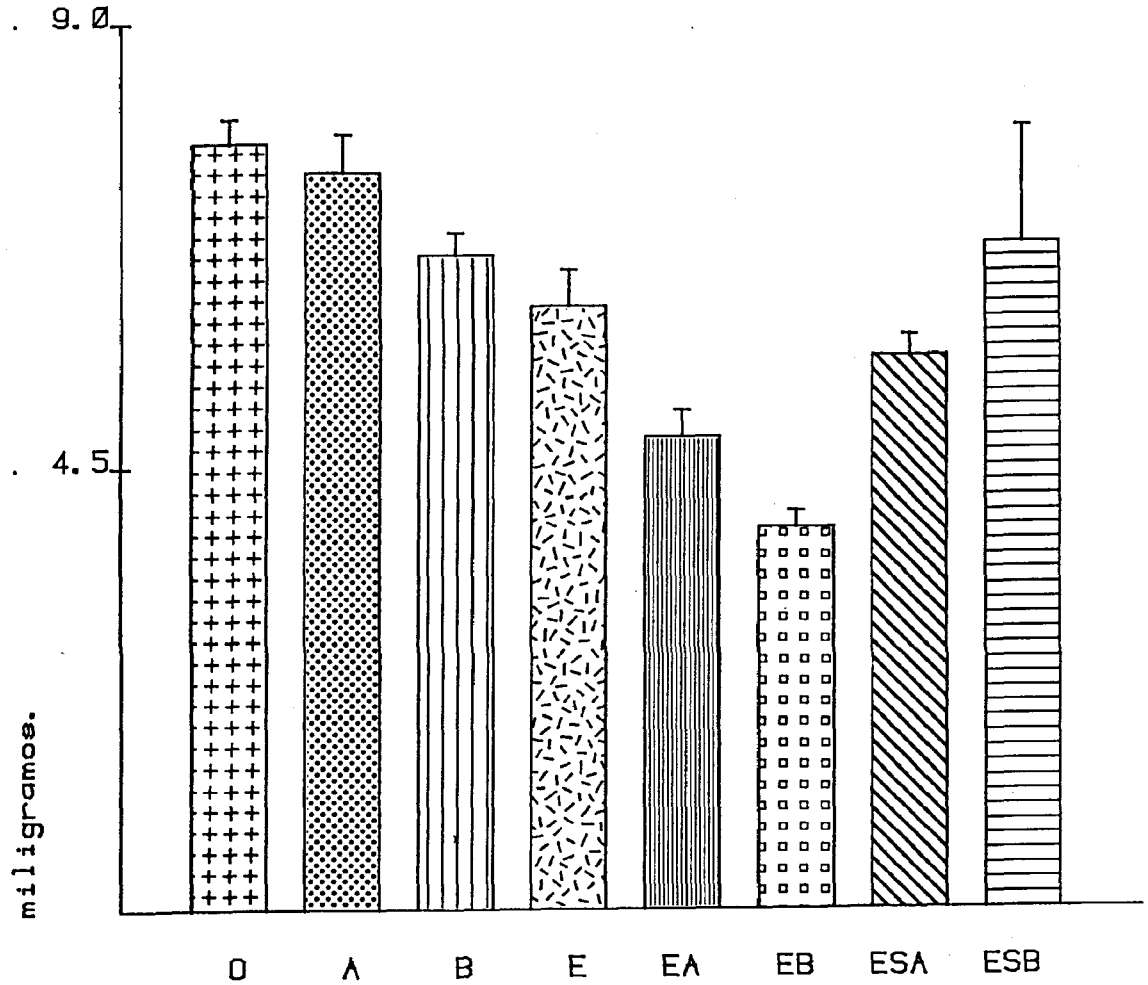


Fig. VI-I-17. Peso Absoluto de Hipófisis

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB; ESA; ESB.	7	74	26.86	<0.001

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Lims. interv. de confianza P=0.05
O;E	3.956	22	0.001	21.34	10.18 - 32.49
O;B	3.295	22	0.005	14.65	5.43 - 23.87
O;EA	8.278	23	0.001	38.30	28.73 - 47.83
O;EB	13.176	27	0.001	5.13	42.32 - 57.93
E;EA	2.971	19	0.01	21.57	6.37 - 36.76
E;EB	6.132	23	0.001	36.60	24.25 - 48.95
EA;ESA	2.183	16	0.05	14.59	0.42 - 28.75
EB;ESB	7.472	21	0.001	42.69	30.81 - 54.57
ESA;ESB	2.337	13	0.05	16.99	1.28 - 32.69
EA-EB	3.003	24	0.01	19.17	6.05 - 32.29
A-EA	5.908	16	0.001	35.46	22.97 - 48.88
B-EB	9.646	23	0.001	41.55	32.65 - 50.47

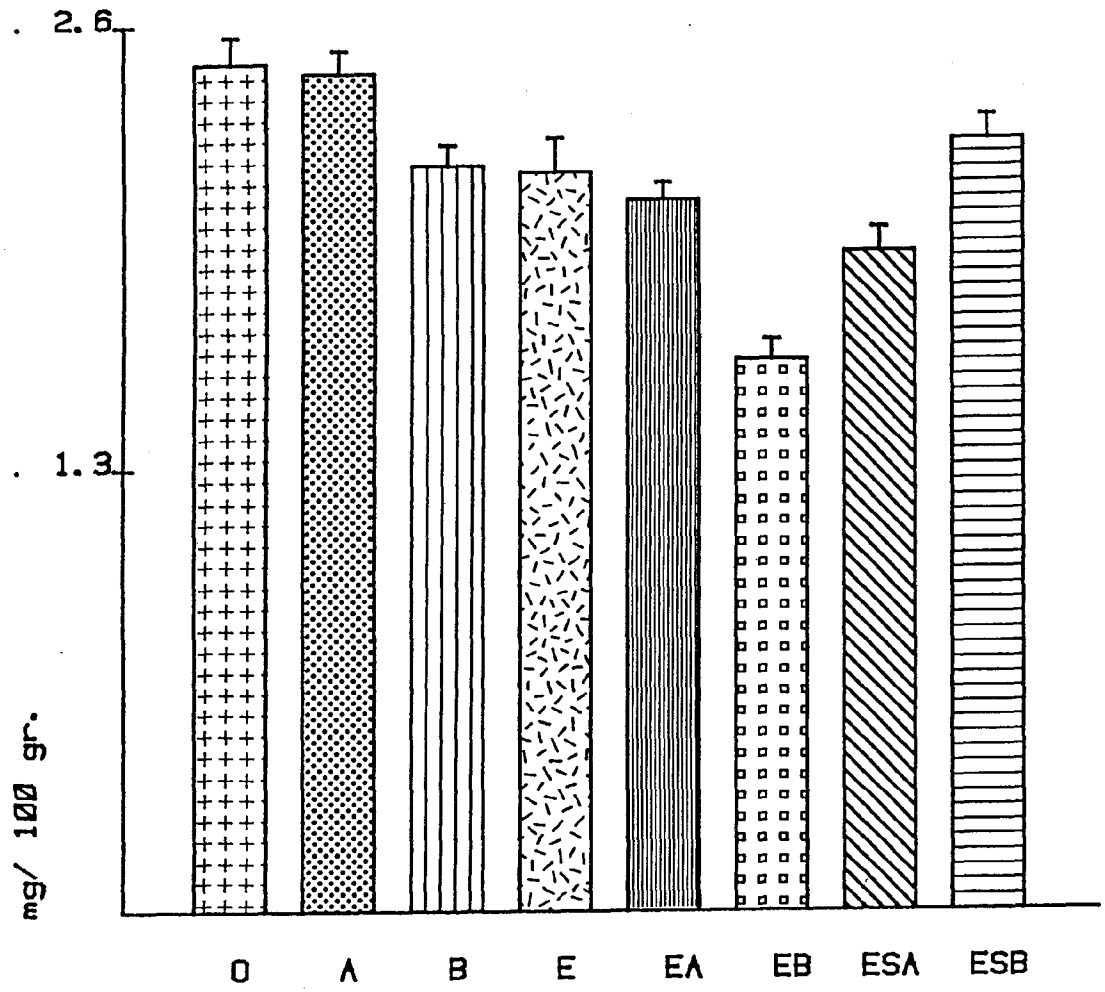


Fig.VI-I-18. Peso Relativo de Adenohipófisis.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB; ESA; ESB;	7	74	16.91	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	2.565	22	0.02	12.85	2.86 - 23.24
O-B	2.777	22	0.02	12.05	3.05 - 21.04
O-EA	4.002	23	0.001	16.06	7.66 - 24.36
O-EB	8.846	27	0.001	34.94	26.84 - 43.04
E-EB	4.965	23	0.001	25.34	14.78 - 35.90
EB-ESB	6.540	21	0.001	28.63	19.53 - 37.74
ESA-ESB	3.280	13	0.01	14.54	4.96 - 24.11
EA-EB	5.502	24	0.001	22.48	14.05 - 30.92
A-EA	4.147	16	0.001	15.04	7.35 - 22.72
B-EB	6.129	23	0.001	26.02	17.24 - 34.81
A-B	2.680	15	0.02	10.97	2.25 - 19.70

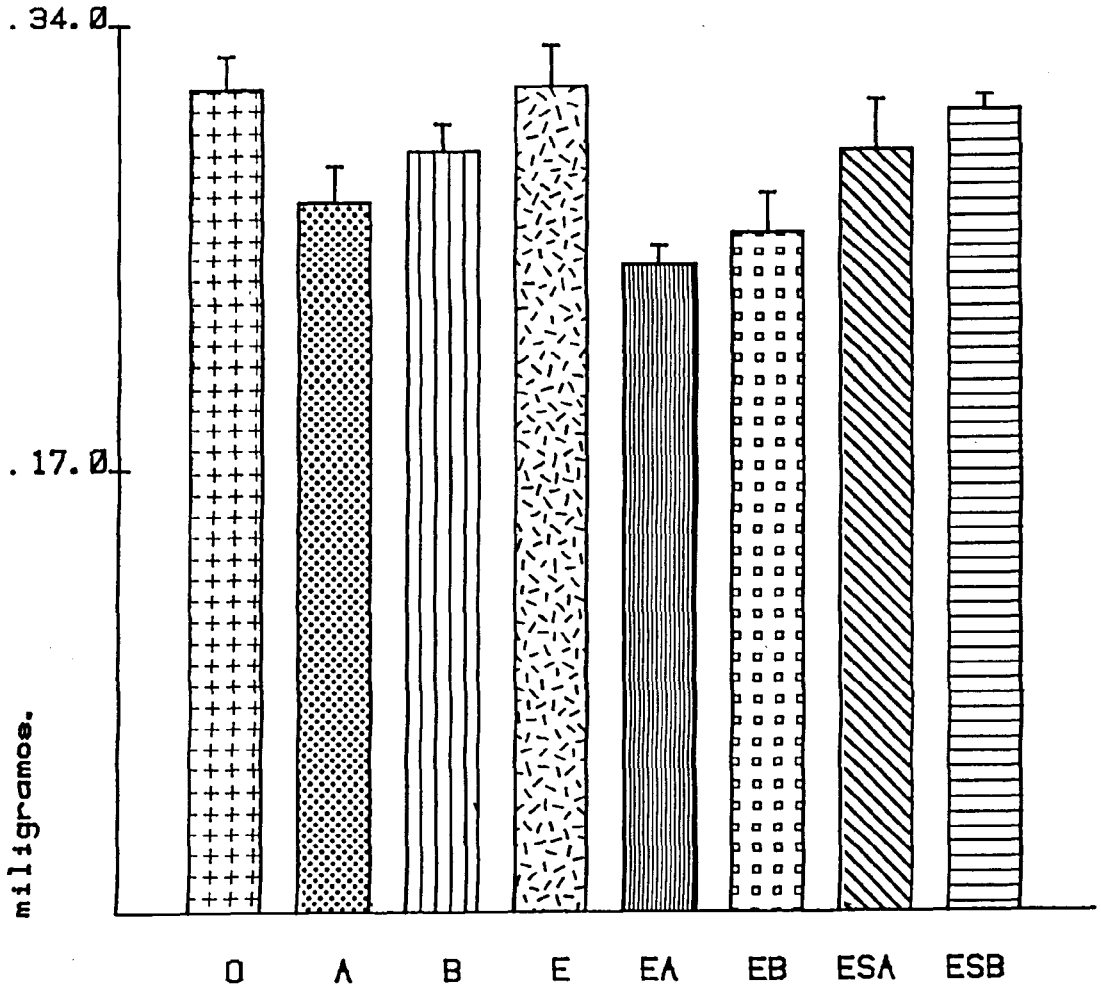


Fig. VI-I-19. Peso Absoluto de Adrenales.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB; ESA; ESB;	7	71	3.96	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-A	2.196	19	0.05	13.88	0.65 - 27.11
O-EA	4.150	21	0.001	21.52	10.74 - 32.30
O-EB	2.807	25	0.01	17.24	4.59 - 29.89
E-EA	3.984	18	0.001	21.82	10.31 - 33.32
E-EB	2.602	22	0.02	17.56	3.56 - 31.55
E-ESA	2.467	15	0.05	15.29	2.08 - 28.5
EB-ESB	2.180	19	0.05	14.89	0.60 - 29.19

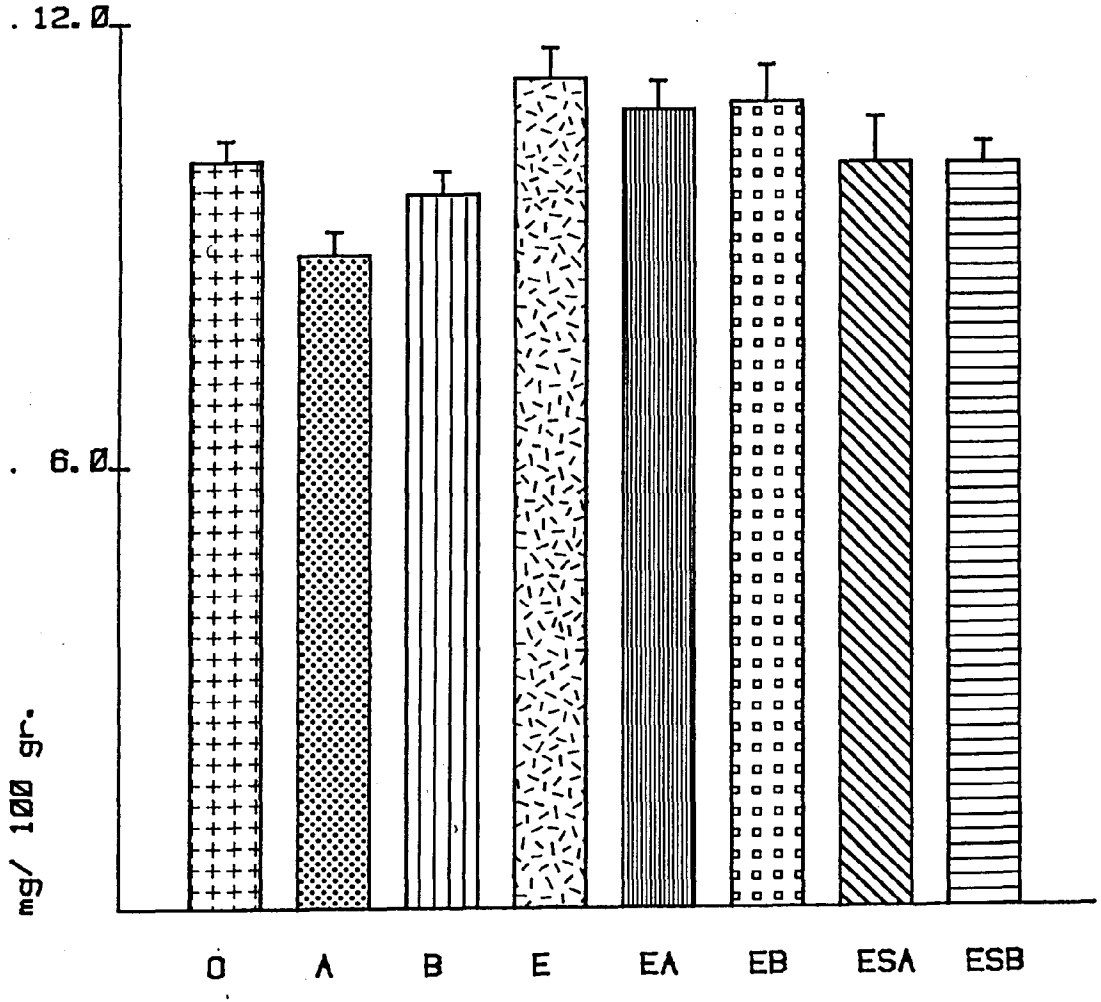


Fig. VI-I-20. Peso Relativo de Adrenales.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB; ESA; ESB;	7	71	3.30	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-A	2.813	22	0.02	12.54	3.21 - 21.86
A-EA	3.774	16	0.005	18.19	7.97 - 28.40

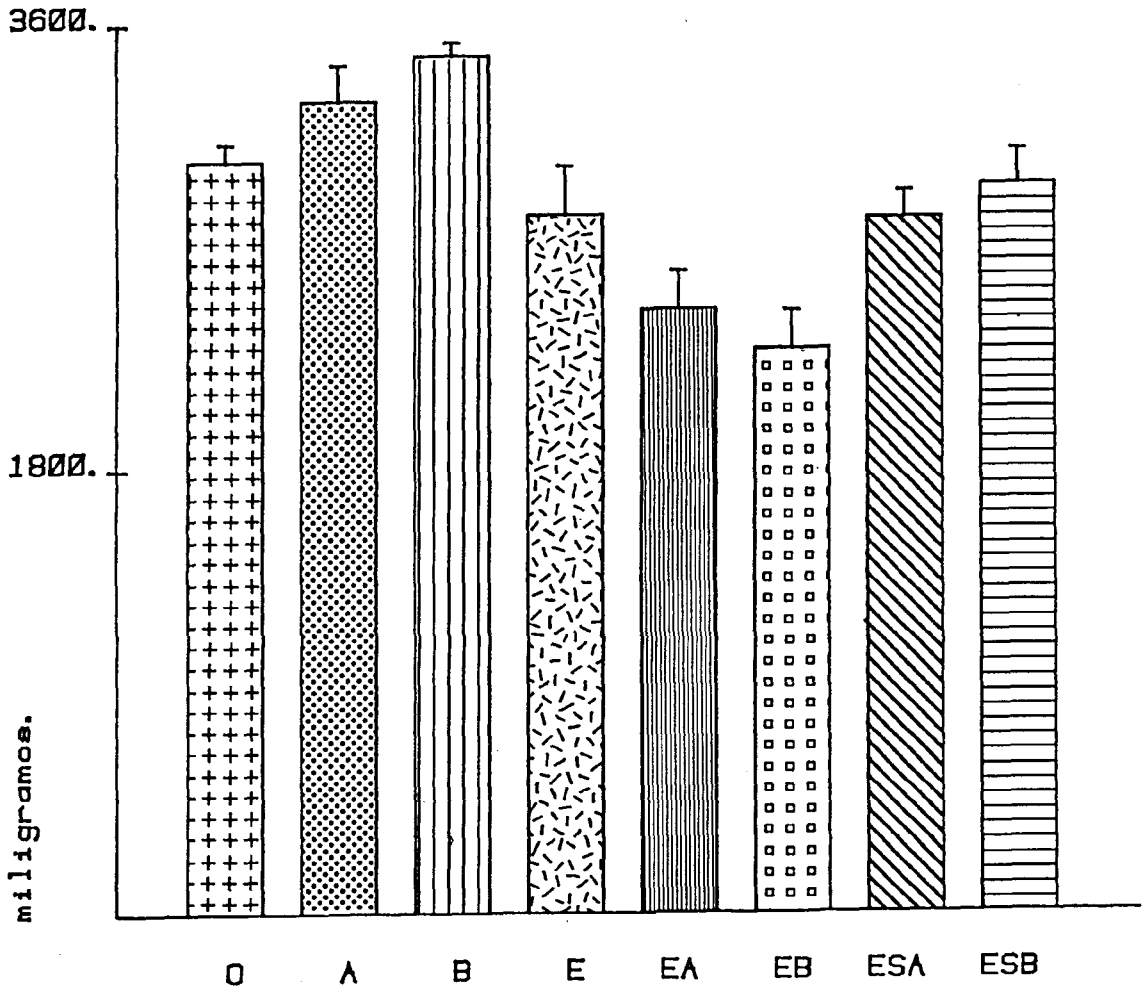


Fig. VI-I-21. Peso Absoluto de Testículos

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB; ESA; ESB.	7	68	9.28	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Intervalo de confianza para P = 0.05
O;B	4.251	20	0.001	12.49	6.36 - 18.62
O;EA	3.596	22	0.005	19.53	8.27 - 30.80
O;EB	4.266	25	0.001	24.90	12.88 - 36.93
E;EB	2.204	21	0.05	19.29	1.09 - 37.49
EB;ESB	2.751	19	0.05	22.60	5.40 - 39.80
A;EA	3.857	17	0.005	25.66	11.62 - 39.69
B;EB	5.931	21	0.001	34.27	22.25 - 46.28

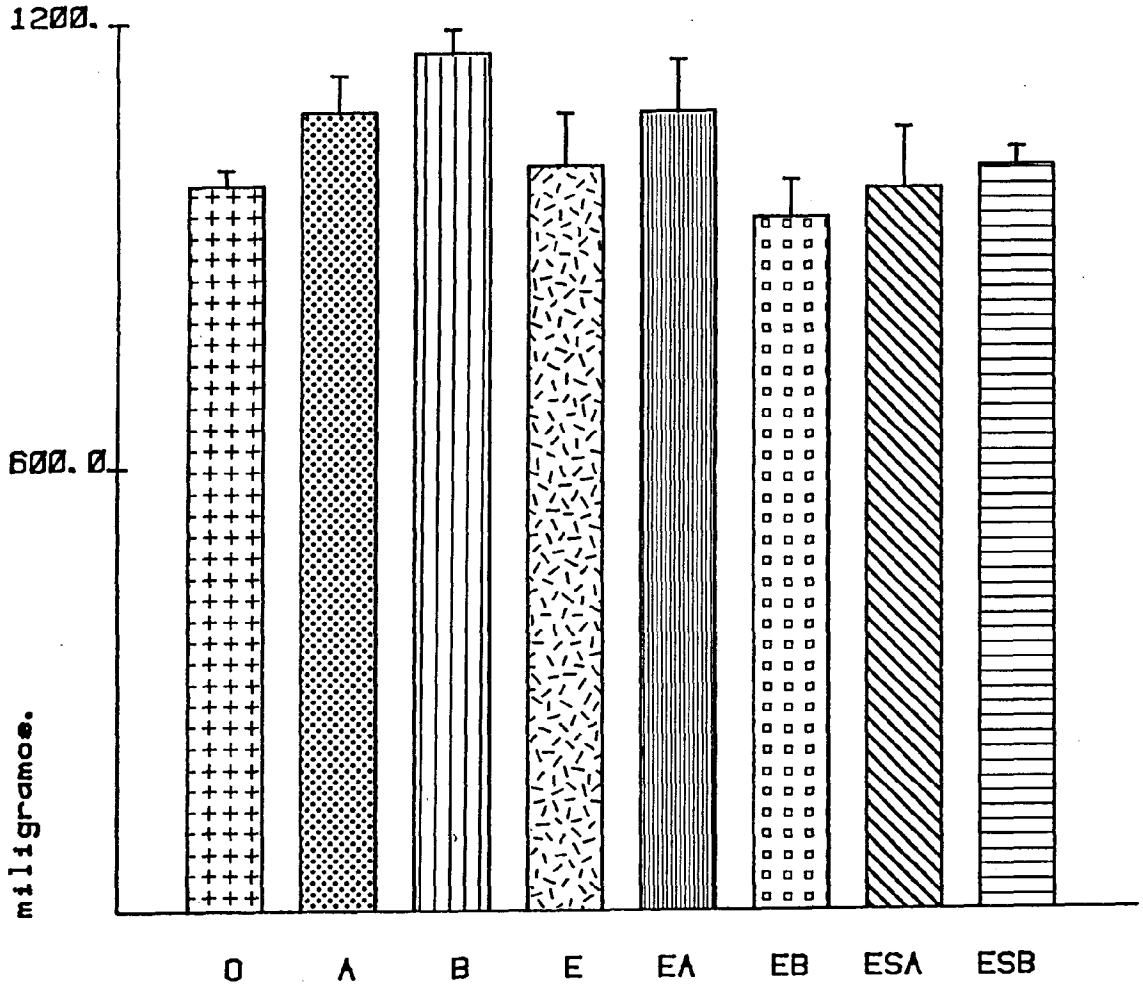


Fig. VI-I-22. Peso Relativo de Testículos

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB; ESA; ESB.	7	70	1.93	N.S.

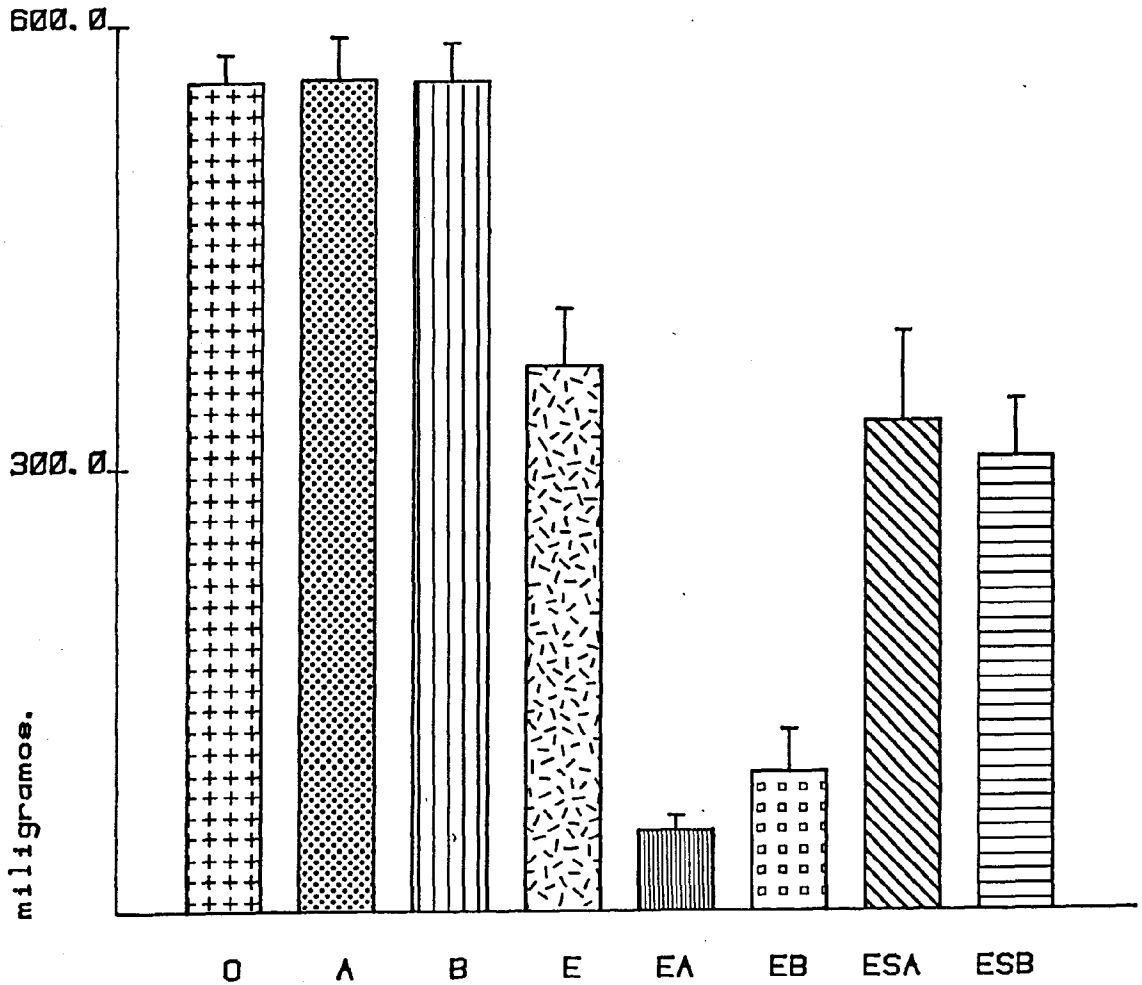


Fig. VI-I-23. Peso Absoluto de V. Seminales

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de Libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB; ESA; ESB.	7	72	49.78	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O;E	4.704	21	0.001	34.19	19.07 - 49.31
O;EA	21.860	22	0.001	90.31	81.74 - 98.87
O;EB	13.784	25	0.001	82.95	70.56 - 95.35
E;EA	8.053	19	0.001	85.28	63.12 - 107.44
E;EB	5.922	22	0.001	74.10	48.15 - 100.00
EA;ESA	5.590	16	0.001	83.65	51.93 - 115.37
EB;ESB	4.537	19	0.001	69.02	37.17 - 100.85
A;EA	18.275	17	0.001	90.34	79.91 - 100.77
B;EB	11.812	22	0.001	82.97	68.40 - 97.54

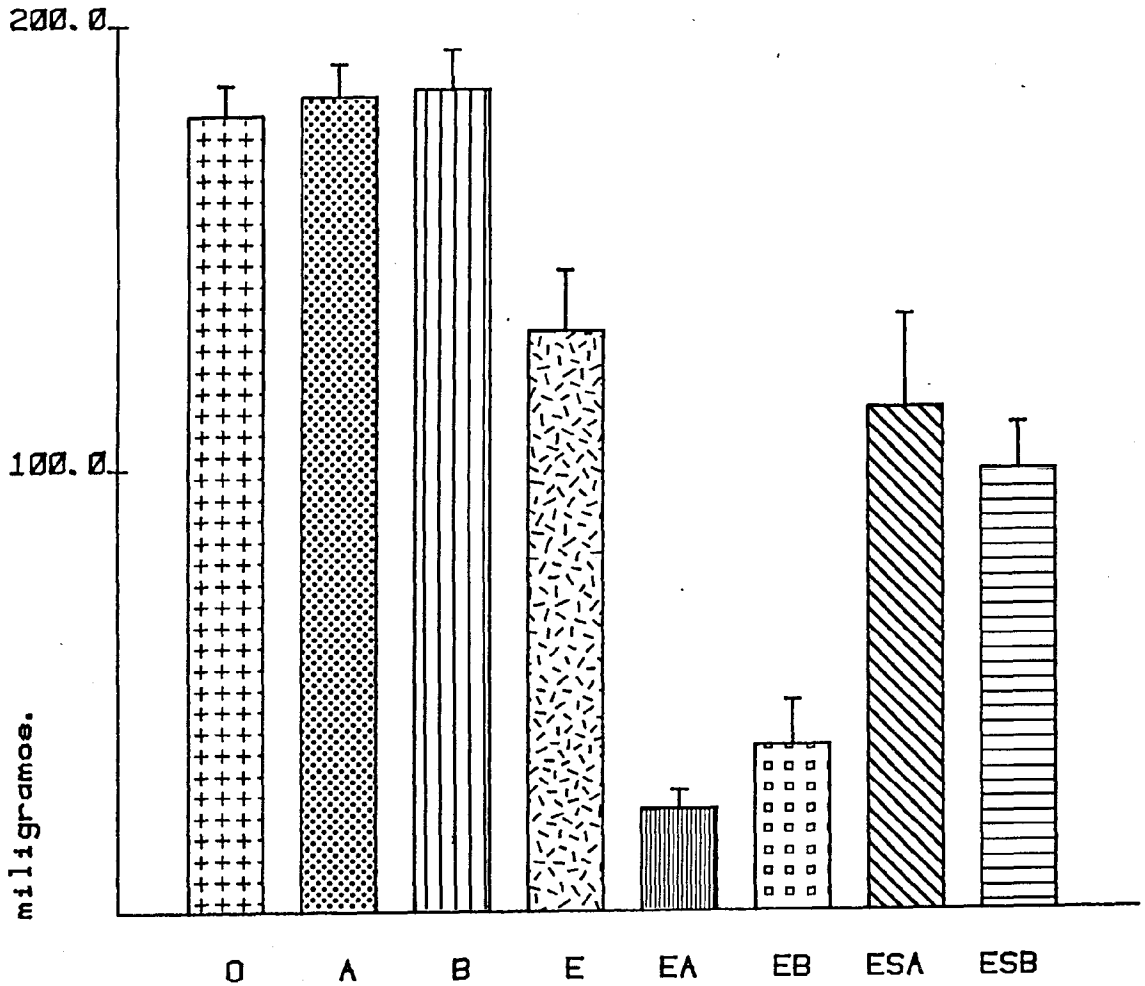


Fig. VI.I.24. Peso Relativo de V. Seminales

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB ESA; ESB.	7	72	24.40	<0.001

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Intervalo de confianza para P = 0.05
O;E	3.431	21	0.005	27.14	10.69 - 43.60
O;EA	18.920	22	0.001	87.05	77.50 - 96.58
O;EB	11.486	25	0.001	79.09	64.91 - 93.27
E;EA	7.814	19	0.001	82.22	60.20 -104.24
E;EB	5.595	22	0.001	71.30	44.87 - 97.73
EA;ESA	5.238	16	0.001	79.53	47.33 -111.72
EB;ESB	3.829	19	0.005	62.33	28.26 - 96.40
A;EA	20.020	17	0.001	87.31	78.11 - 96.51
B;EB	10.360	22	0.001	79.77	63.81 - 95.73

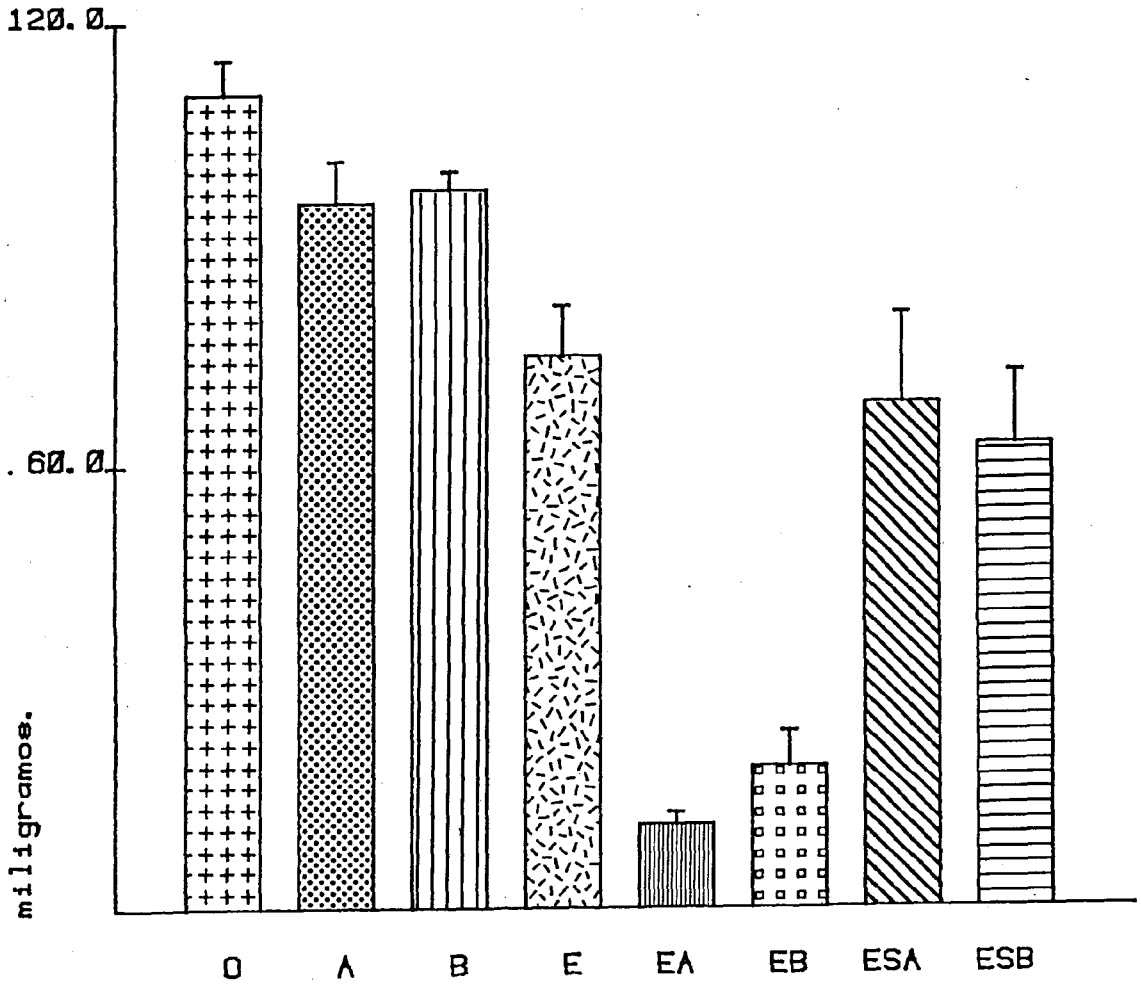


Fig. VI.I-25. Peso Absoluto de Gl. de Coagulación

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de Libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB; ESA; ESB.	7	72	44.47	<0-01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O;E	4.441	21	0.001	32.16	17.10 - 47.21
O;B	2.254	21	0.05	11.62	0.90 - 22.35
O;EA	18.617	22	0.01	89.67	79.74 - 99.61
O;EB	13.721	25	0.001	82.39	70.01 - 94.74
E;EA	9.384	19	0.001	84.78	65.87 - 103.69
E;EB	6.897	22	0.001	74.03	51.77 - 96.28
EA;ESA	5.848	16	0.001	83.39	53.16 - 113.62
EB;ESB	4.547	19	0.001	69.13	37.31 - 100.95
A;EA	15.910	17	0.001	88.05	76.38 - 99.72
B;EB	13.09	22	0.001	80.08	67.40 - 92.76

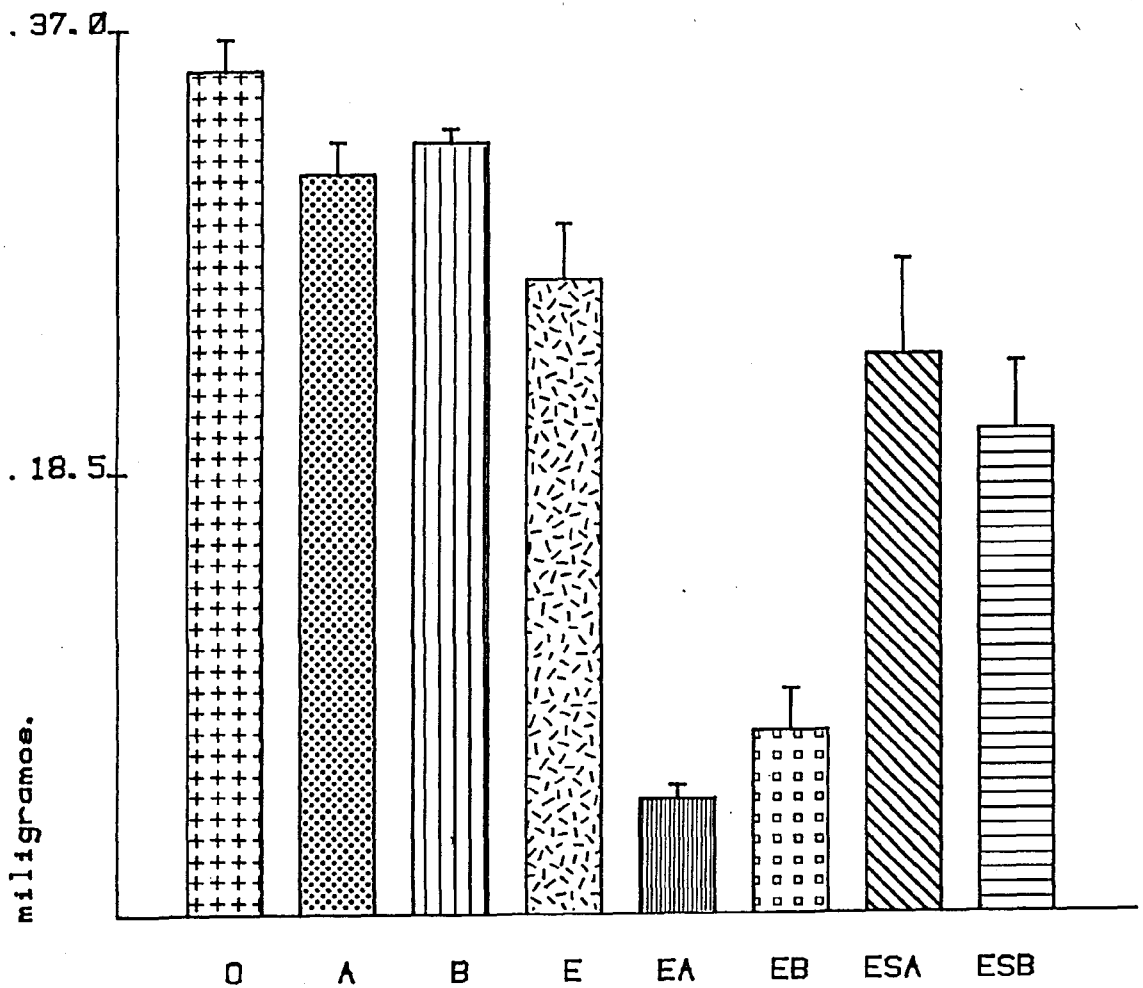


Fig. VI-I-26. Peso Relativo de Gl. de Coagulación

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB; ESA; ESB.	7	72	42.41	<0.001

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Intervalo de confianza para P = 0.05
O;E	3.439	21	0.005	24.74	9.78 - 39.70
O;A	2.193	19	0.05	12.48	0.57 - 24.40
O;EA	19.594	22	0.001	86.30	77.16 - 95.43
O;EB	17.220	25	0.001	78.18	68.83 - 87.54
E;EA	9.467	19	0.001	81.79	63.71 - 99.88
E;EB	6.607	22	0.001	71.01	48.72 - 93.31
EA;ESA	5.784	16	0.001	79.34	50.26 -108.42
EB;ESB	3.959	19	0.001	62.06	29.25 - 94.87
A;EA	19.340	17	0.001	84.46	75.25 - 93.68
B;EB	11.440	22	0.001	76.08	62.29 - 89.87

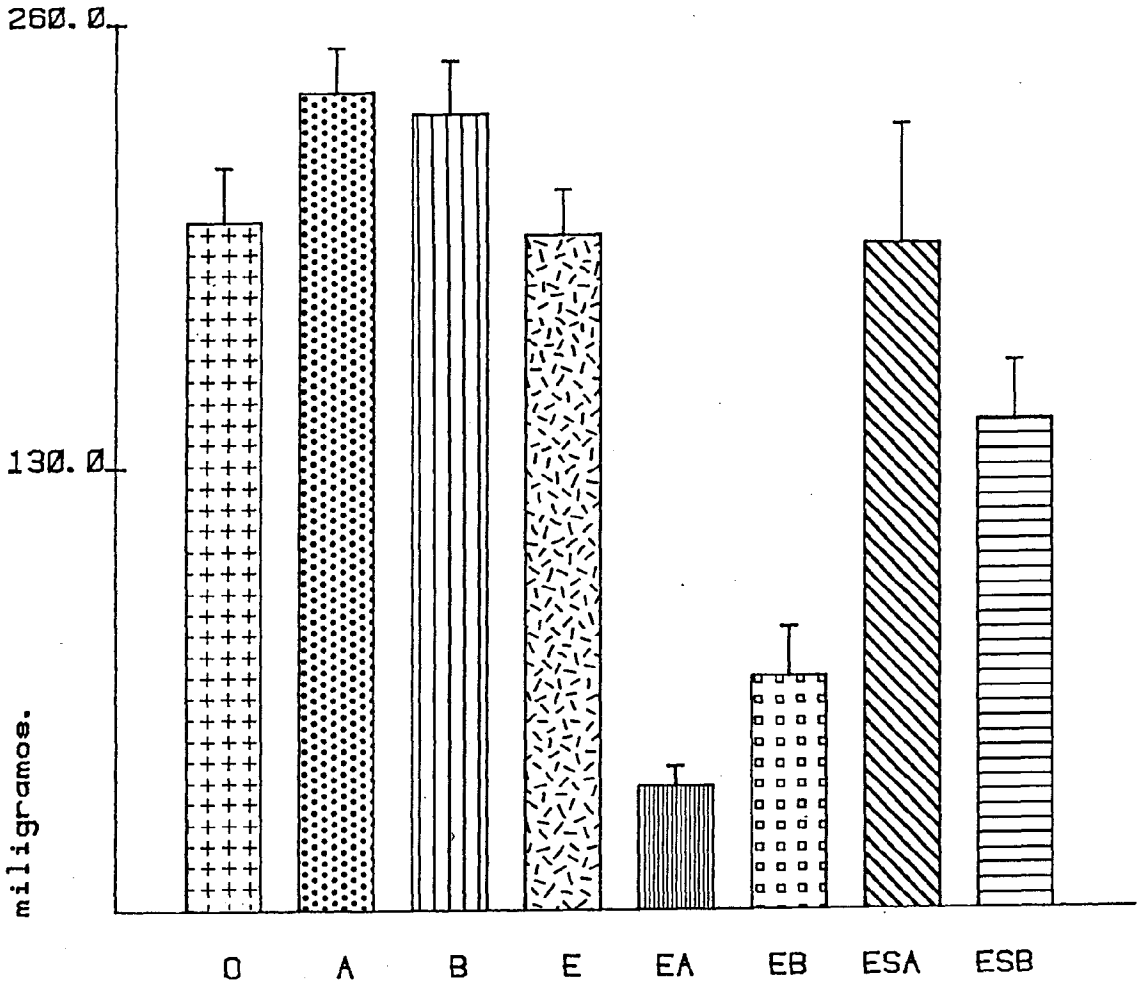


Fig. VI-I-27. Peso Absoluto de Próstatas

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de Libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB; ESA; ESB.	7	72	24.89	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O;EA	8.846	23	0.001	81.93	62.77 - 101.09
O;EB	6.204	26	0.001	65.93	44.09 - 87.78
E;EA	11.862	19	0.001	81.61	67.21 - 96.01
E;EB	6.391	22	0.001	65.33	44.13 - 86.53
E;ESB	2.611	15	0.02	27.39	5.03 - 49.75
EA;ESA	6.064	15	0.001	81.36	52.76 - 109.96
EB;ESB	3.172	19	0.01	52.26	17.77 - 86.74
A;EA	15.820	17	0.001	84.79	73.49 - 96.09
B;EB	12.480	19	0.001	84.40	70.24 - 98.55

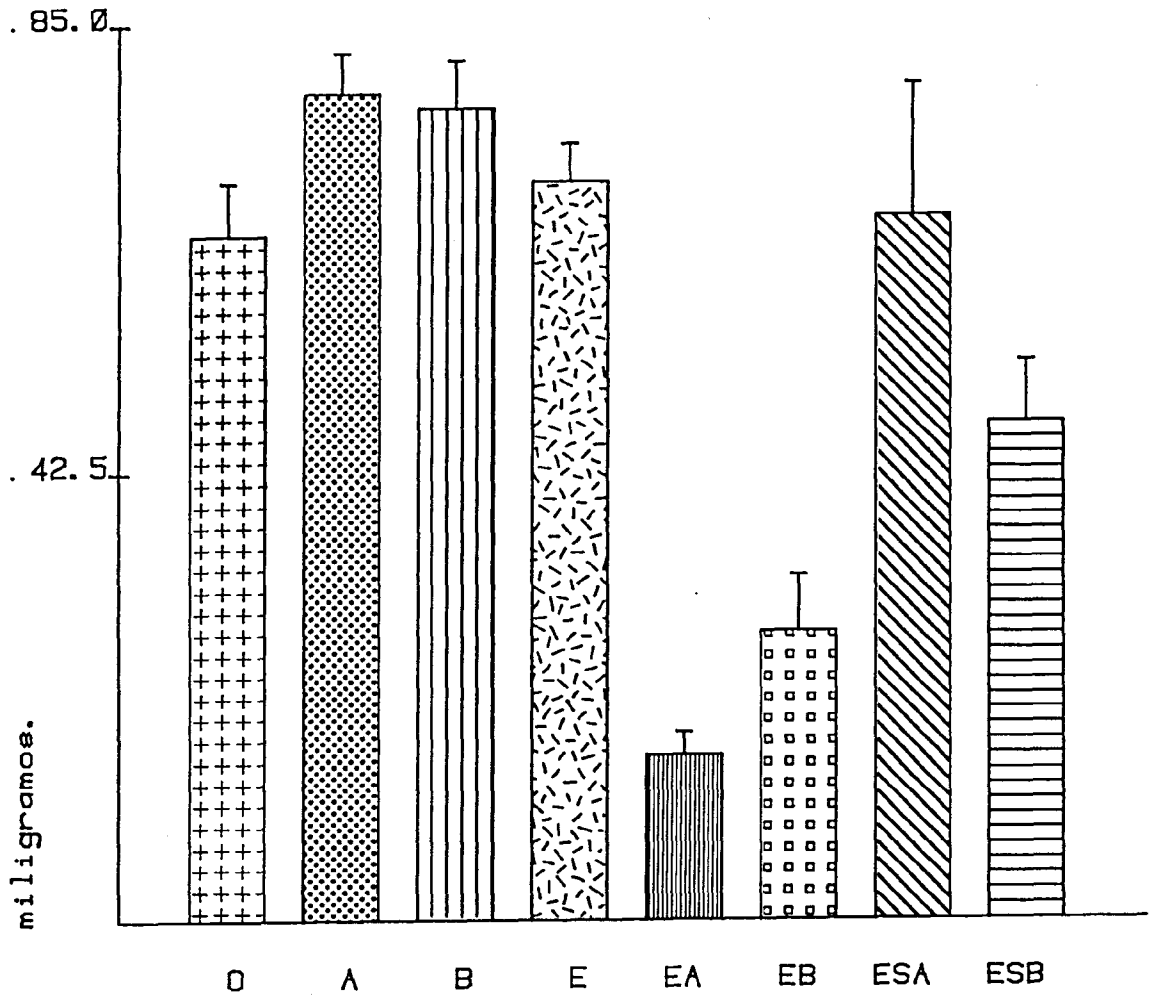


Fig. VI-I-28. Peso Relativo de Próstata

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB; ESA; ESB;	7	72	21.28	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-EA	8.236	23	0.001	21.28	56.75 -94.82
O-EB	5.196	26	0.001	58.38	35.29 - 81.48
E-EA	13.517	19	0.001	77.58	65.57 - 89.59
E-EB	6.118	22	0.001	60.83	40.21 - 81.45
E-ESB	3.567	15	0.005	32.60	13.12 - 52.08
EA-ESA	5.417	15	0.001	76.50	46.40 - 106.6
EB-ESB	2.305	19	0.05	41.88	3.85 - 79.92
A-EA	15.396	17	0.001	80.00	69.03 - 90.96
B-EB	6.69	22	0.001	64.33	44.41 - 84.25

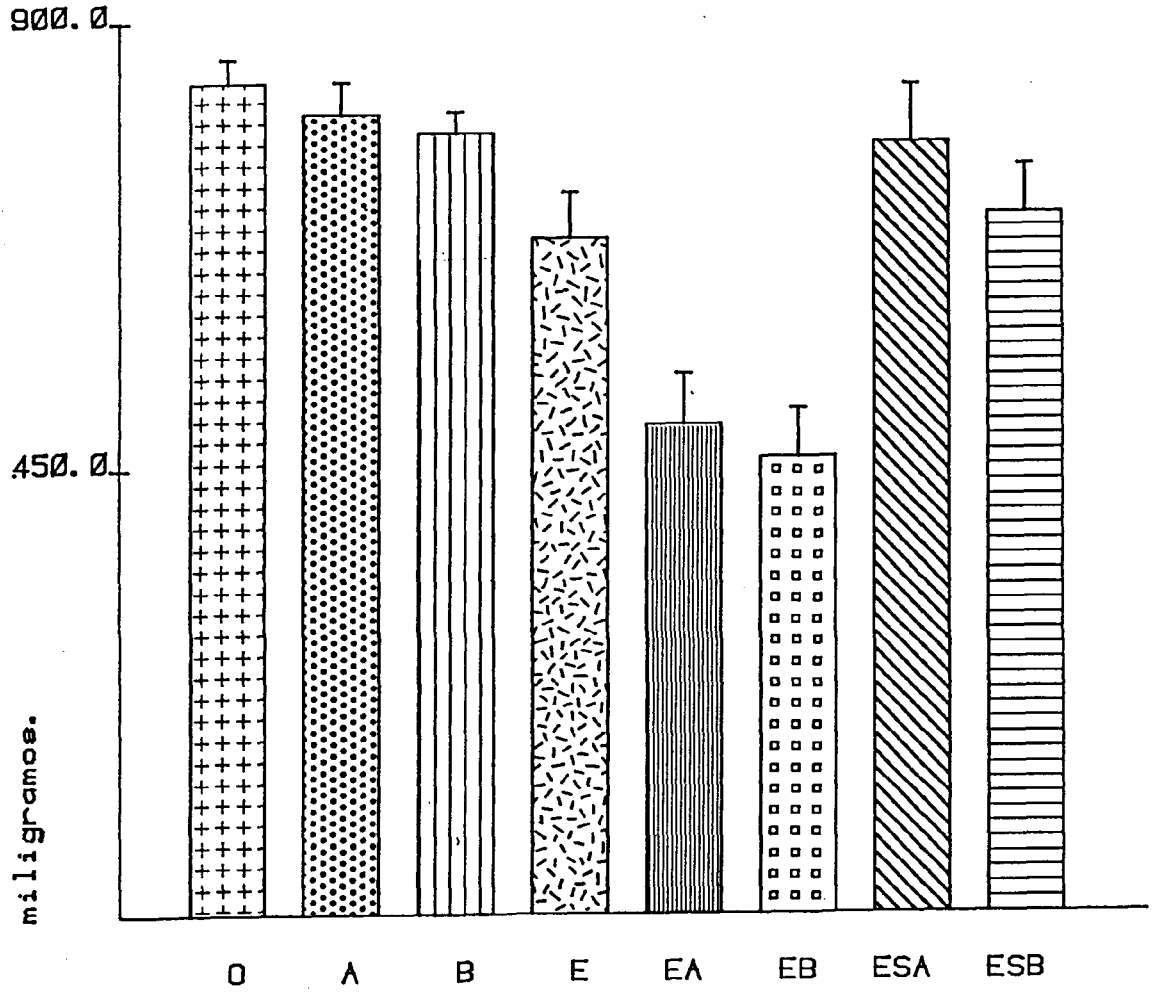


Fig. VI-I-29. Peso Absoluto de Epidídimos + C. Deferente

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de Libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB; ESA; ESB.	7	74	13.18	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O;E	3.221	22	0.005	18.60	6.62 - 30.58
O;EA	6.523	23	0.001	41.00	28.00 - 54.00
O;EB	6.946	26	0.001	44.94	31.64 - 58.24
E-EA	2.721	19	0.02	27.51	6.35 - 48.68
E;EB	3.188	22	0.005	32.36	11.31 - 53.42
EA;ESA	3.615	16	0.005	36.49	15.09 - 57.89
EB;ESB	3.327	20	0.005	34.73	12.96 - 56.51
A;EA	4.767	17	0.001	38.78	21.62 - 55.95
B;EB	5.417	22	0.001	41.48	25.60 - 57.36

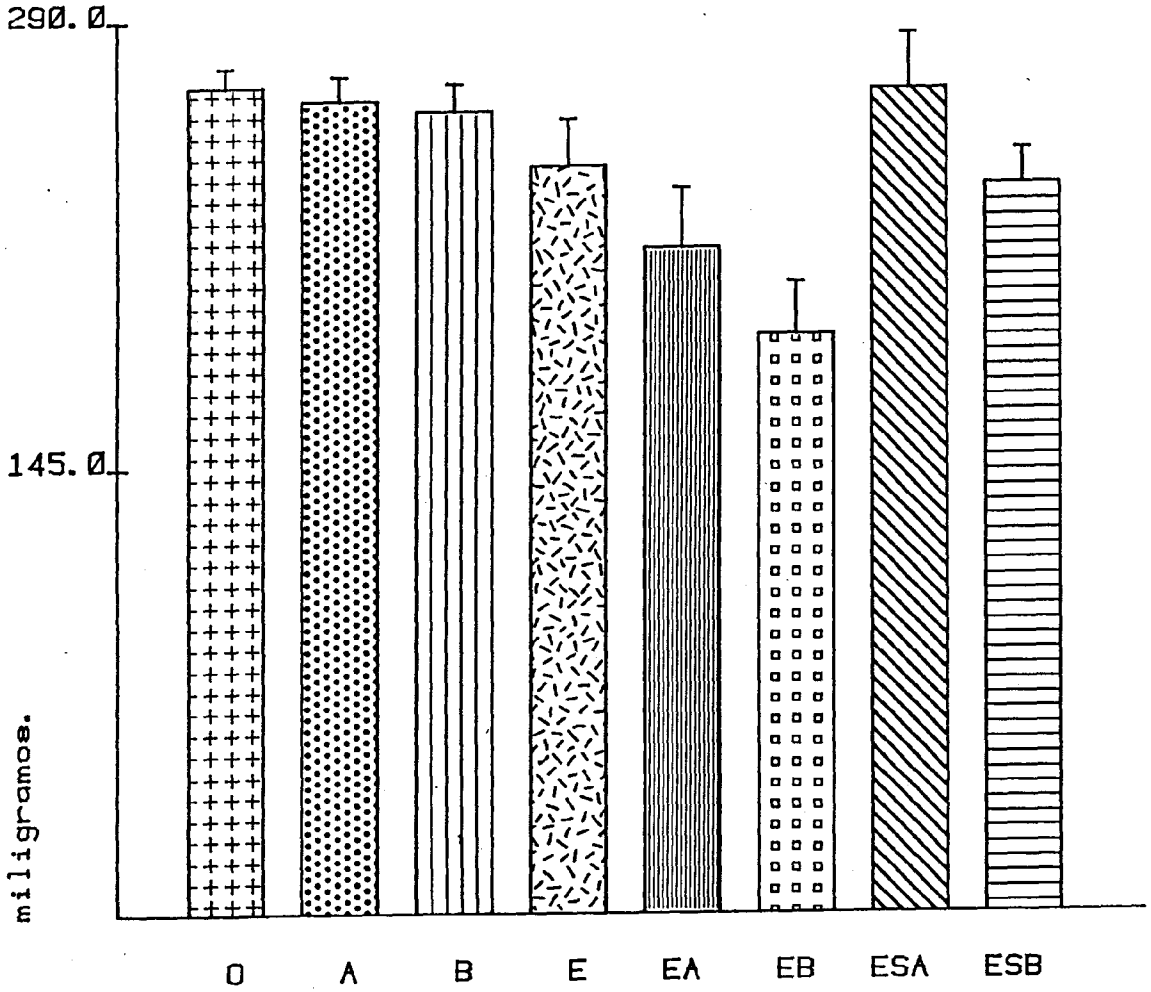


Fig. VI-I-30. Peso Relativo de Epidídimos + C. Deferente

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de Libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB; ESA; ESB.	7	74	4.06	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O;EA	2.797	23	0.02	19.44	5.06 - 33.82
O;EB	4.417	26	0.001	29.91	16.00 - 43.83
E;EB	2.268	22	0.05	22.49	1.92 - 43.06
B;EB	3.370	22	0.005	27.83	10.70 - 44.96

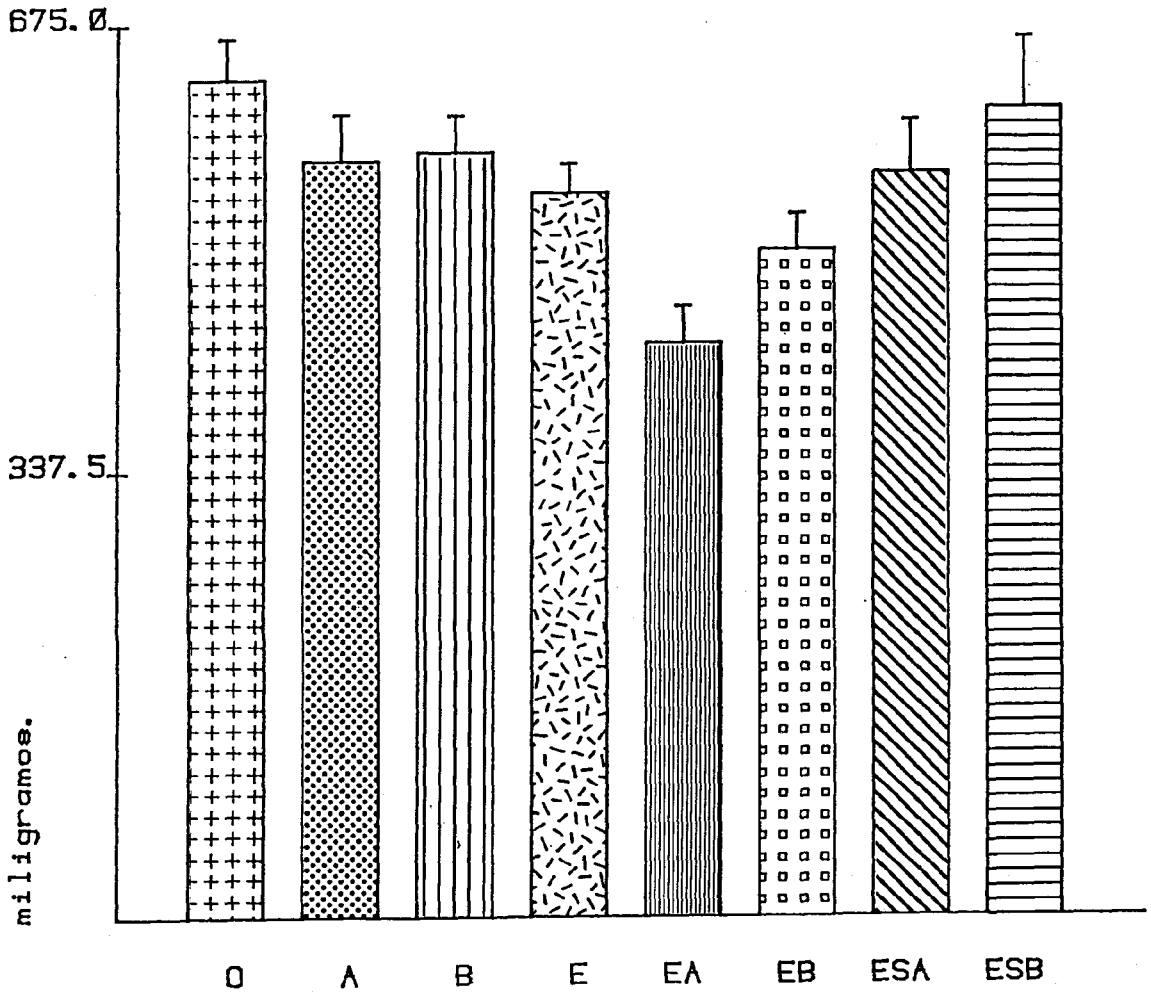


Fig. VI-I-31. Peso Absoluto de Bazos

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB; ESA; ESB;	7	75	4.13	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-EA	4.583	23	0.001	31.41	17.23 - 45.69
O-EB	3.097	27	0.005	20.26	6.84 - 33.68
E-EA	3.191	19	0.005	20.78	7.15 - 34.42
EA-ESA	2.724	16	0.002	22.81	5.06 - 40.57
A-EA	3.093	17	0.01	24.07	7.65 - 40.49

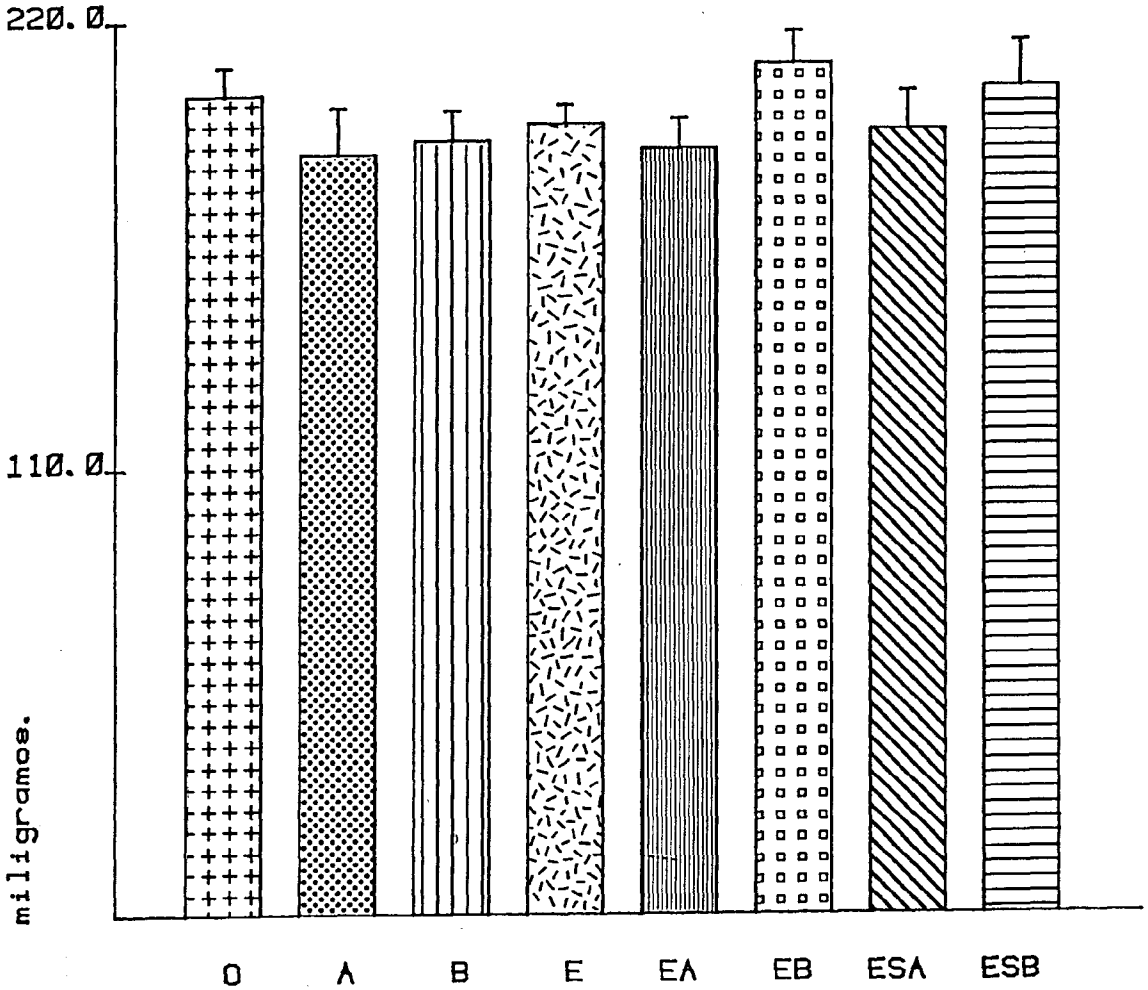


Fig. VI-I-32. Peso Relativo de Bazos

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB; ESA; ESB.	7	76	1.06	N.S.

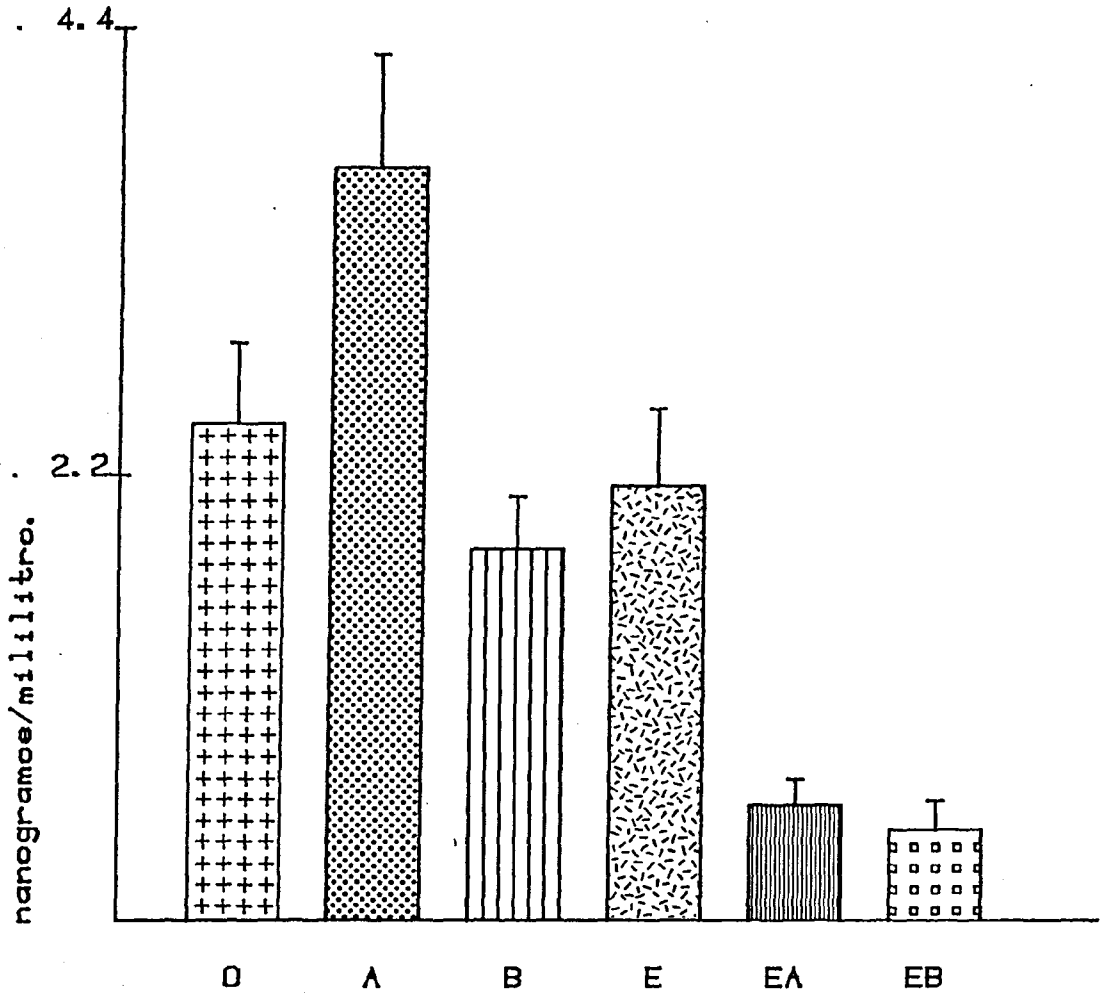


Fig. VI-I-33. Testosterona sérica.

Niveles Séricos de Testosterona ngr/ml (X ± ESM) (n)			
Grupo O.	2.450 ± 0.392 (10)	Grupo E.	2.146 ± 0.377 (9)
Grupo A.	3.710 ± 0.558 (8)	Grupo B.	1.836 ± 0.259 (10)
Grupo EA.	0.570 ± 0.132 (11)	Grupo EB.	0.446 ± 0.144 (11)

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	"p"
	Grupos	Muestras		
O; A; B; E; EA; EB	5	53	14.53	< 0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P <	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-EA	4.716	19	0.001	76.73	110.79 - 42.68
O-EB	4.973	19	0.001	81.79	116.22 - 47.37
A-B	3.258	16	0.005	50.51	83.37 - 17.65
A-E	2.369	15	0.05	42.16	80.10 - 4.22
A-EA	6.327	17	0.001	84.64	112.86 - 56.41
B-EB	4.797	19	0.001	75.71	108.74 - 42.68
E-EA	4.261	18	0.001	73.44	109.64 - 37.23
E-EB	4.533	18	0.001	79.22	115.93 - 42.50

VI.2. RESULTADOS DE LA SERIE II.

La tabla VI-II-1, recoge los resultados obtenidos en los distintos parámetros medidos.

VI.2.1. Peso corporal .- (Fig. VI-II-2). El incremento de peso corporal experimentado por las ratas ciegas (E), fue semejante al de los controles (O). Las EA, sin embargo, mostraron incrementos ponderales significativamente más bajos que las O ($P<0.001$), y las E ($P<0.01$). Las pinealectomizadas (EAP) no mostraron parte de estos efectos ya que sus incrementos ponderales fueron semejantes a los de las E, pero se mantuvieron por debajo de las controles (O vs. EAP, $P<0.001$). El incremento ponderal de las EAP fue significativamente mayor que el de las EA ($P<0.02$). No hallamos diferencias entre los ciegos anósmicos (EA) y los falsamente pinealectomizados (EASP).

VI.2.2. Peso de la Adenohipófisis .- (Fig. VI-II-3 y VI-II-4).La ceguera (E), provocó una disminución significativa del peso hipofisario, con respecto a los animales intactos (O), tanto en valores absolutos (P 0.05), como en relativos (P 0.02). En los EA, los pesos absolutos y relativos se redujeron significativamente con respecto a los O ($P<0.01$) y a los E ($P<0.001$ en abs. y $P<0.05$ en rel.). La pinealectomía (EAP), previene parcialmente la reducción ponderal provocada por la anosmia+ceguera; así, en las EAP, los pesos absolutos y relativos fueron semejantes a las E, pero no alcanzaron los valores control (OvsEAP, $P<0.001$, en p. abs; $P<0.005$, en p. rel.). No hallamos diferencias entre los EA y los EASP.

VI.2.3. Peso de Adrenales .- (Figs. VI-II-5 y VI-II-6). La ceguera redujo significativamente los pesos absolutos y relativos, con relación a los O ($P<0.001$). Las ratas EA, mostraron adrenales significativamente menores, en peso absoluto, que las O ($P<0.001$) y las E ($P<0.001$); en peso relativo, sin embargo, las diferencias se

circunscribieron a las intactas (O EA, P<0.001), pero no a las ciegas. La pinealectomía, en los animales ciegos anósmicos, previno parcialmente, la reducción ponderal descrita a propósito de los EA; así, en cuanto a pesos absolutos EAP EA (P<0.005), aunque sorprendentemente no se establecieron estas diferencias entre las EAP y las EASP; en pesos relativos, sin embargo, no hallamos diferencias entre EA y EAP, pero EASP EAP (P<0.05). Los animales EAP, mostraron pesos adrenales semejantes a los E, pero inferiores a los O (P<0.001). Tampoco se establecieron diferencias entre la EA y la EASP.

VI.2.4. Peso Gonadal .- (Figs. VI-II-7 y VI-II-8). En cuanto a pesos absolutos, los animales ciegos no presentaron diferencias significativas con respecto a los intactos. La asociación ceguera+anosmia, provocó una disminución significativa en relación a los ciegos (P<0.05) y a los intactos (P<0.001). La pinealectomía (EAP), evita sólo en parte los efectos descritos en las EA, comportándose de manera análoga a las ciegas, pero sin alcanzar los valores control (O EAP, P<0.001). La pinealectomía, no provocó efectos específicos, derivados del trauma quirúrgico (EA vs. EASP, P=N.S.), (EA vs. EAP, P=N.S.). En cuanto a pesos relativos, el análisis de la varianza no mostró diferencias entre los grupos (F=0.67 , P=N.S.).

VI.2.5. Peso de las Vesículas Seminales .- (Figs. VI-II-9 y VI-II-10). La enucleación óptica (E), dio lugar a reducciones significativas de peso, con respecto a los controles (P<0.001 para p. abs. y P<0.005 para p. rel.). En los EA, encontramos disminuciones en relación a los O (P<0.001 para p. abs. y rel.), a los E (P<0.005 en p. abs. y P<0.002 en p. rel.). La pinealectomía (EAP) previene por completo los efectos de la asociación ceguera+anosmia; los pesos absolutos y relativos de las EAP fueron semejantes a los controles, mostrando diferencias tanto frente a los E (P<0.005 en p. abs. y P<0.001 en p. rel.), como frente a los falsamente operados (EAP vs. EASP, P<0.001 para p. abs. y rel.). No hallamos diferencias entre los EA y los homólogos falsamente pinealectomizados (EASP).

VI.2.6. Peso de las Glándulas de Coagulación .- (Figs. VI-II-11 y VI-II-12). La ceguera, produjo una disminución significativa con respecto a los animales intactos ($P<0.01$ en p. abs. y $P<0.005$ en p. rel.). Las ratas EA, mostraron drásticas reducciones de peso en relación, tanto a los controles ($P<0.001$ en p. abs. y $P<0.005$ en p. rel.), como a los ciegos ($P<0.005$ en p. abs. y $P<0.01$ en p. rel.). En los animales pinealectomizados (EAP), la reducción ponderal se evita parcialmente en cuanto a valores absolutos, ya que se alcanza el nivel de las E (EAP vs. E, P=N.S.), pero no el de los controles ($P<0.005$); en peso relativo, por el contrario, EAP y O no mostraron diferencias, siendo el peso de las EAP, mayor que el de las ciegas ($P<0.02$). Los animales EASP, se comportaron como los EA, estableciendo diferencias significativas con los O, E y EAP, con un nivel de significación inferior, en todos los casos a 0.001.

VI.2.7. Peso de las Próstatas Ventrales .- (Figs. VI-II-13 y VI-II-14). La ceguera, careció de efectos significativos, tanto en pesos absolutos como en relativos, con relación a los controles. Los animales ciegos anósmicos (EA), presentaron pesos menores en relación a los controles ($P<0.001$ para p. abs. y p. rel.) y a los ciegos solamente ($P<0.005$ en p. abs. y $P<0.02$ en p. rel.). La pinealectomía, previno los efectos de la asociación anosmia+ceguera, de tal menera que los EAP, mostraron pesos análogos a los O, y mayores que los E ($P<0.02$ en p. abs. y $P<0.005$ en p. rel.), EA ($P<0.001$ en p.abs y rel.) y EASP ($P<0.001$ en p. abs. y rel.). No hallamos diferencias entre los EA y los EASP.

VI.2.8. Peso de Epidídimos y Conductos Deferentes .- (Figs. VI-II-15 y VI-II-16). El análisis de la varianza entre los distintos grupos, no mostró diferencias significativas en cuanto a pesos relativos ($F=1.24$ P=N.S.). En cuanto a pesos absolutos, los animales ciegos presentaron reducciones significativas con respecto a los intactos ($P<0.005$). La asociación de ceguera+anosmia, provocó una disminución ponderal en relación a los controles ($P<0.001$) pero no a los ciegos. La pinealectomía, anu-

ló los efectos de la ceguera+anosmia, no hallándose diferencias entre las EAP, las O , y las E. Los pesos de las EAP, fueron superiores a las de EA ($P<0.02$), y EASP ($P<0.001$). No encontramos diferencias significativas entre las EA y EASP, siendo los pesos de estas últimas, inferiores a los de O ($P<0.001$), E ($P<0.005$) y EAP ($P<0.001$).

VI.2.9. Peso del Bazo .- (Figs. VI-II-17 y VI-II-18). Tal como era previsible, no se establecieron diferencias significativas, , en cuanto a pesos relativos, entre los distintos grupos ($F=1.24$ P=N.S.). En cuanto a pesos absolutos, la ceguera careció de efectos (O vs. E, P=N.S.). Los EA, mostraron pesos menores que los intactos ($P<0.001$), pero análogos a los E. La pinealectomía no evitó la reducción de peso en la asociación anosmia ceguera, así, EAP fue inferior a O ($P<0.005$), pero no a E. Los EASP, mostraron valores semejantes a los EA, y tampoco establecieron diferencias con respecto a las EAP, manteniéndose con pesos inferiores a los controles ($P<0.001$) y a los ciegos ($P<0.02$).

	HIPOFISIS	TESTICULOS	VESICULAS SEMINALES	GLANDULAS COAGULACION	EPIDIDIMOS + DEFERENTES	PROSTATAS	BAZO	ADRENALES
Grupo O [15]	8.65 ± 0.38 [13]	3383.5 ± 67.22	617.02 ± 18.30	121.54 ± 2.96	910.98 ± 9.96	301.50 ± 18.53	687.7 ± 22.71	39.48 ± 1.22
	2.68 ± 0.11 [13]	1052.5 ± 18.82	192.49 ± 6.68	37.83 ± 0.92	283.76 ± 4.40	93.93 ± 5.81	213.9 ± 6.77	12.27 ± 0.34
Grupo E [10]	7.07 ± 0.16	3196.2 ± 98.07	446.12 ± 43.78	89.55 ± 9.26	844.24 ± 19.9	247.26 ± 33.83	643.7 ± 40.98	31.2 ± 0.93 [9]
	2.30 ± 0.08	1041.1 ± 33.69	143.87 ± 12.93	28.83 ± 2.75	277.90 ± 6.54	79.04 ± 9.86	208.35 ± 10.51	10.20 ± 0.36 [9]
Grupo EA [10]	5.04 ± 0.29	2831.2 ± 141.8	212.26 ± 52.97	41.40 ± 9.86	727.32 ± 58.3	117.18 ± 22.35	545.10 ± 28.61	25.48 ± 0.57
	1.99 ± 0.01	1125.9 ± 53.47	79.93 ± 18.44	15.64 ± 3.40	287.69 ± 21.7	44.95 ± 7.58	218.19 ± 12.80	10.19 ± 0.34
Grupo EAP [16]	6.60 ± 0.28	3044.5 ± 49.06	571.69 ± 15.57	106.10 ± 3.17	863.10 ± 23.2	331.18 ± 11.40	578.90 ± 20.51 [13]	29.91 ± 1.08 [15]
	2.24 ± 0.08	1036.6 ± 14.64	194.64 ± 4.42	36.30 ± 1.21	294.33 ± 7.96	112.91 ± 4.07	195.38 ± 3.98 [13]	10.07 ± 0.32 [15]
Grupo EASP [12]	4.61 ± 0.25 [11]	2545.3 ± 179.2	159.78 ± 33.50	35.26 ± 7.43	600.77 ± 64.2	121.70 ± 23.15	521.55 ± 22.44	28.19 ± 1.16 [11]
	1.92 ± 0.10 [11]	1058.2 ± 76.87	66.26 ± 14.34	14.74 ± 3.22	234.83 ± 27.1	50.95 ± 9.91	215.76 ± 7.02	11.66 ± 0.64 [11]

Tabla VI-II-1. Listado general de datos de la Serie II. Se indica media ± error estandard. Para cada órgano, el recuado superior corresponde al peso absoluto (mg.), y el inferior al relativo (mg/100 gr. peso corporal). El número de casos se indica en el recuadro de cada grupo salvo las excepciones, que se indican en los recuadros correspondiente.

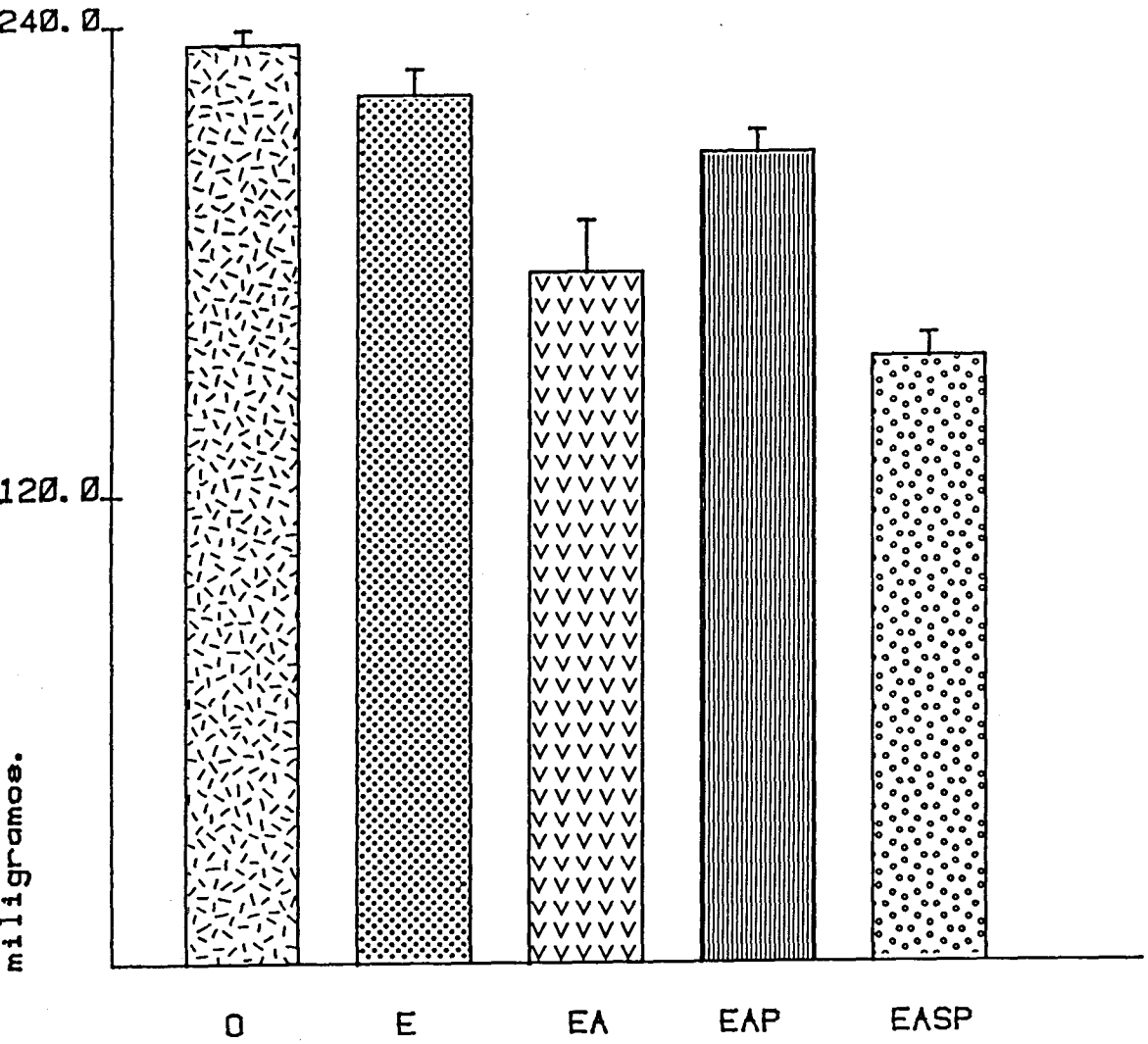


Fig. VI-II-2 Incremento de peso corporal.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; EA; EAP; EASP;	4	58	22.48	< 0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confisnza P=0.05
O-E	1.909	23	N.S.	——	——————
O-EA	5.071	23	0.001	24.89	14.73 - 35.04
O-EAP	4.088	29	0.001	11.74	5.87 - 17.62
O-EASP	11.951	25	0.001	34.04	28.18 - 39.91
E-EA	3.068	18	0.01	20.43	6.44 - 34.42
E-EAP	1.634	24	N.S.	——	——————
E-EASP	7.464	20	0.001	30.13	21.71 - 38.55
EA-EAP	2.459	24	0.025	14.89	2.39 - 27.30
EA-EASP	1.567	20	N.S.	——	——————
EAP-EASP	6.282	26	0.001	25.27	17.00 - 33.53

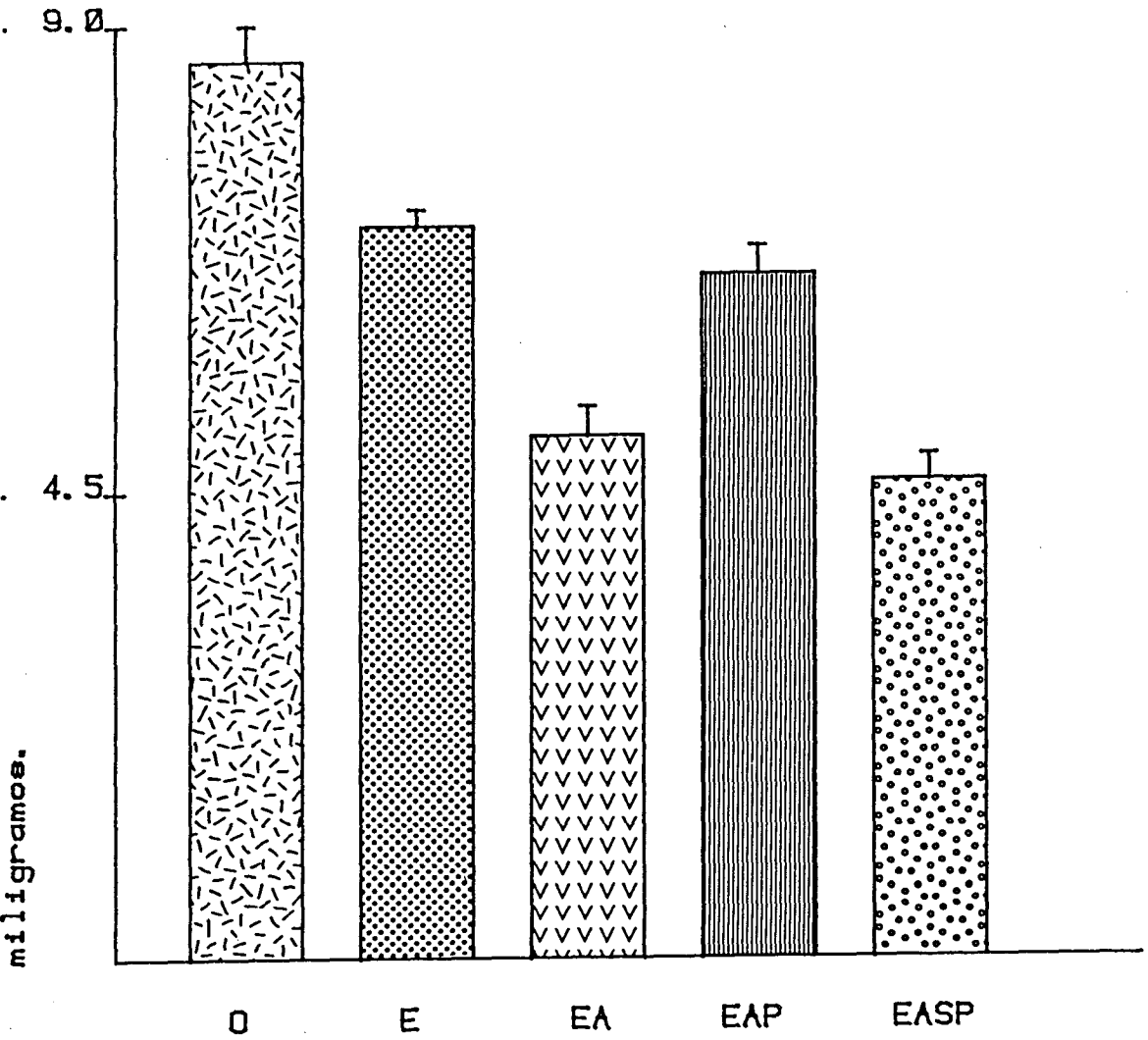


Fig. VI-II-3 Peso absoluto de adenohipófisis.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; EA; EAP; EASP;	4	55	28.28	< 0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	3.392	21	0.005	18.26	7.06 - 29.46
O-EA	7.073	21	0.001	41.73	29.46 - 54.00
O-EAP	4.383	27	0.001	23.69	12.60 - 34.79
O-EASP	8.342	22	0.001	46.70	35.09 - 58.31
E-EA	6.099	18	0.001	28.71	18.82 - 38.60
E-EAP	1.234	24	N.S.	——	——————
E-EASP	7.840	19	0.001	34.79	25.50 - 44.08
EA-EAP	3.677	24	0.005	23.63	10.37 - 36.90
EA-EASP	1.108	19	N.S.	——	——————
EAP-EASP	4.943	25	0.001	30.15	17.59 - 42.71

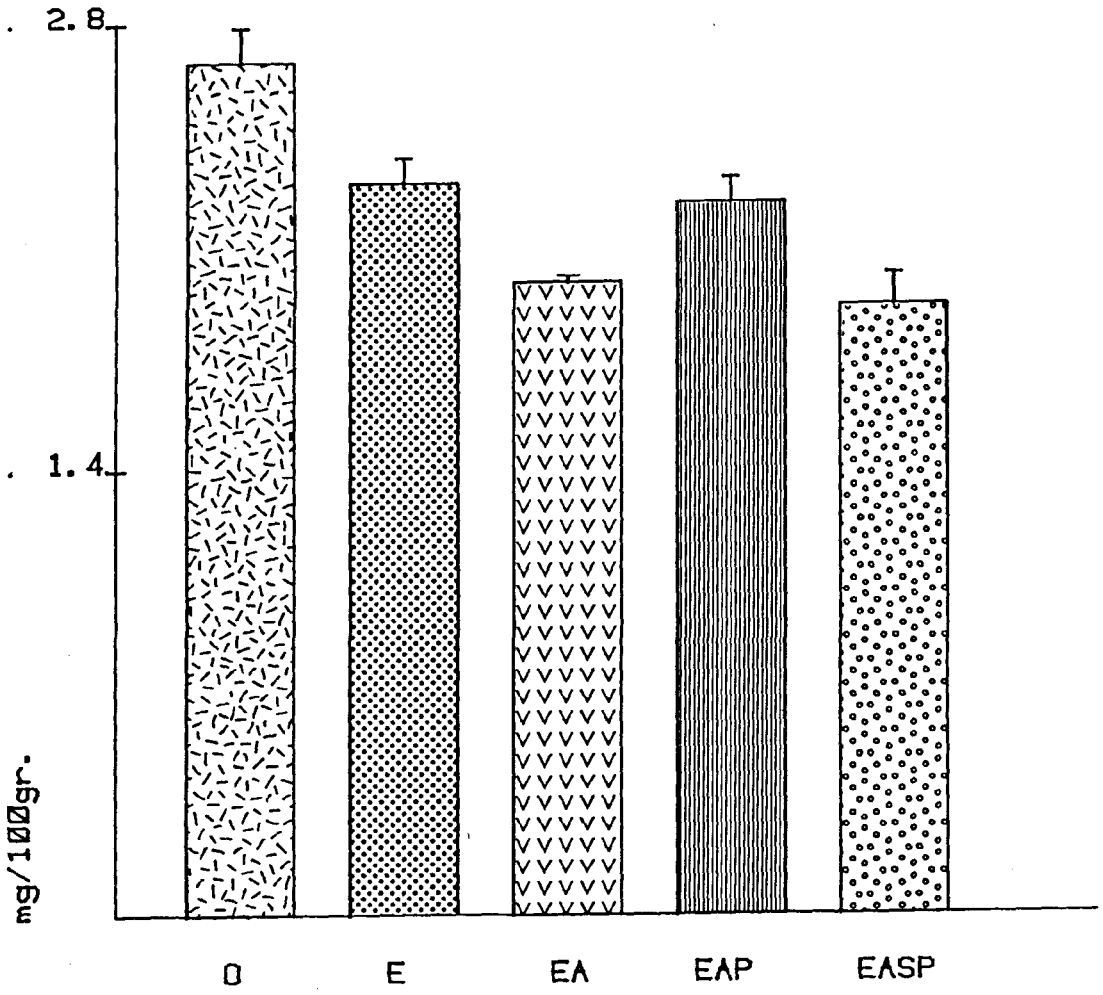


Fig. VI-II-4 Peso relativo de adenohipófisis.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; EA; EAP; EASP;	4	55	8.54	< 0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P <	% de diferencia	Limites interv. confianza P=0.05
O-E	2.541	21	0.02	14.17	2.57 - 25.78
O-EA	4.777	21	0.001	25.74	13.78 - 37.70
O-EAP	3.129	27	0.005	16.41	5.65 - 27.18
O-EASP	4.883	22	0.001	28.35	16.31 - 40.40
E-EA	2.387	18	0.05	13.47	1.61 - 25.33
E-EAP	0.458	24	N.S.	——	——————
E-EASP	2.769	19	0.02	16.52	4.03 - 29.00
EA-EAP	1.852	24	N.S.	——	——————
EA-EASP	0.489	19	N.S.	——	——————
EAP-EASP	2.340	25	0.05	14.82	1.71 - 26.85

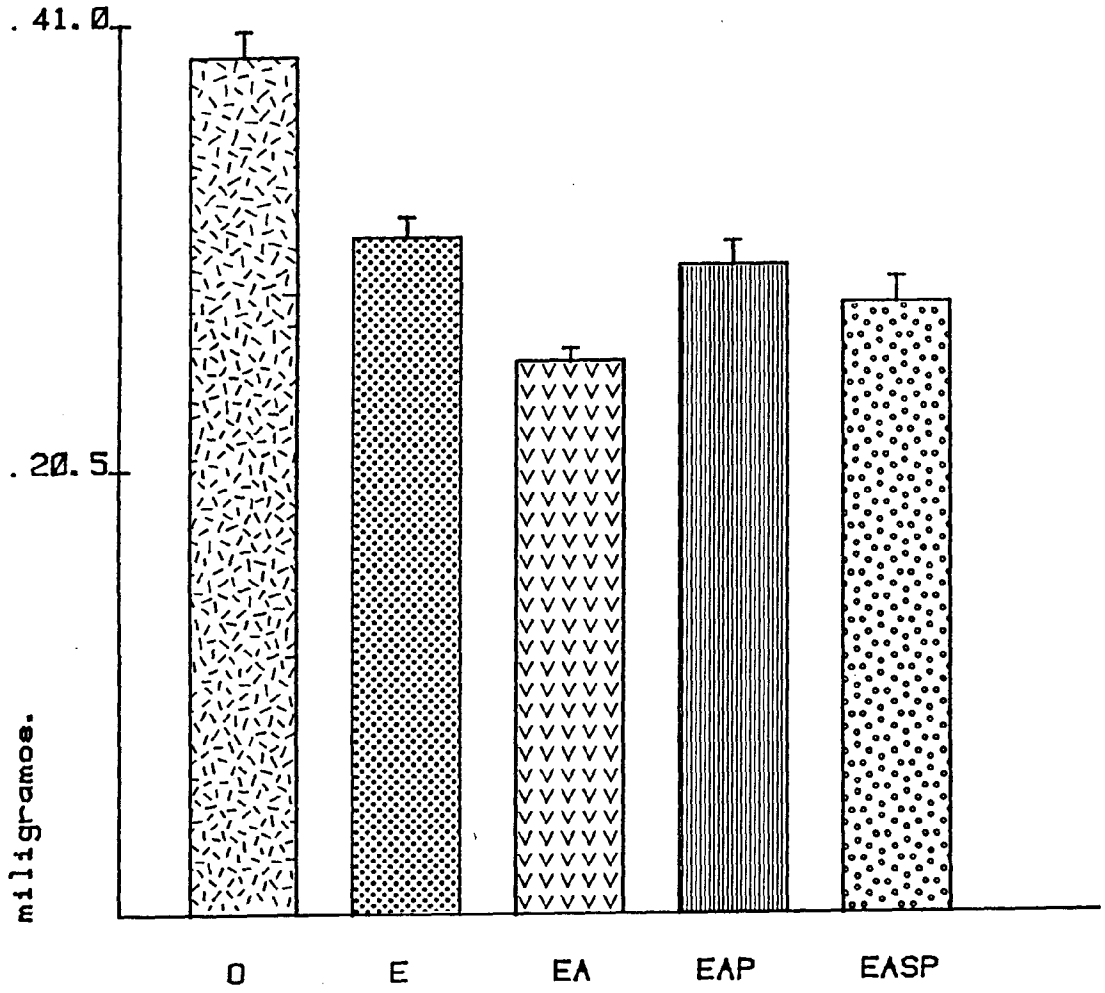


Fig. VI-II-5 Peso absoluto de Adrenales.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; EA; EAP; EASP;	4	55	24.96	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	4.693	22	0.001	20.97	11.70 - 30.24
O-EA	8.868	23	0.001	35.46	27.18 - 43.73
O-EAP	5.844	28	0.001	24.24	15.74 - 32.73
O-EASP	6.476	24	0.001	28.59	19.48 - 37.70
E-EA	5.138	17	0.001	18.33	10.80 - 25.83
E-EAP	0.803	22	N.S.	——	——————
E-EASP	1.921	18	N.S.	——	——————
EA-EAP	3.122	23	0.005	14.81	4.99 - 24.62
EA-EASP	2.029	19	N.S.	——	——————
EAP-EASP	1.065	24	N.S.	——	——————

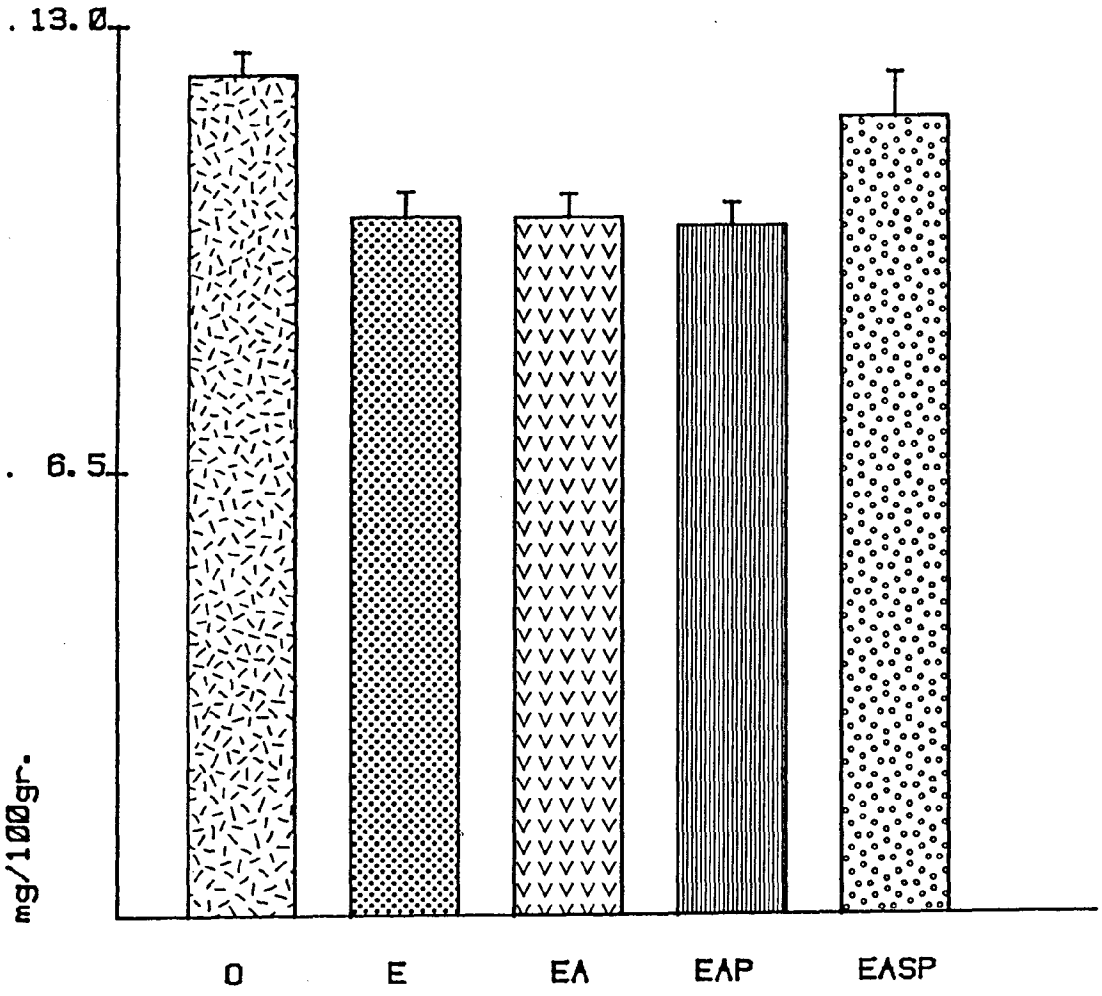


Fig. VI-II-6 Peso relativo de Adrenales.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; EA; EAP; EASP;	4	55	6.47	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	3.850	22	0.001	16.70	7.70 - 25.70
O-EA	4.074	23	0.001	16.95	8.34 - 25.55
O-EAP	4.670	28	0.001	17.92	10.06 - 25.79
O-EASP	0.889	24	N.S.	——	——————
E-EA	0.019	17	N.S.	——	——————
E-EAP	0.259	22	N.S.	——	——————
E-EASP	1.824	18	N.S.	——	——————
EA-EAP	0.249	23	N.S.	——	——————
EA-EASP	1.945	19	N.S.	——	——————
EAP-EASP	2.388	24	0.05	13.63	1.85 - 25.41

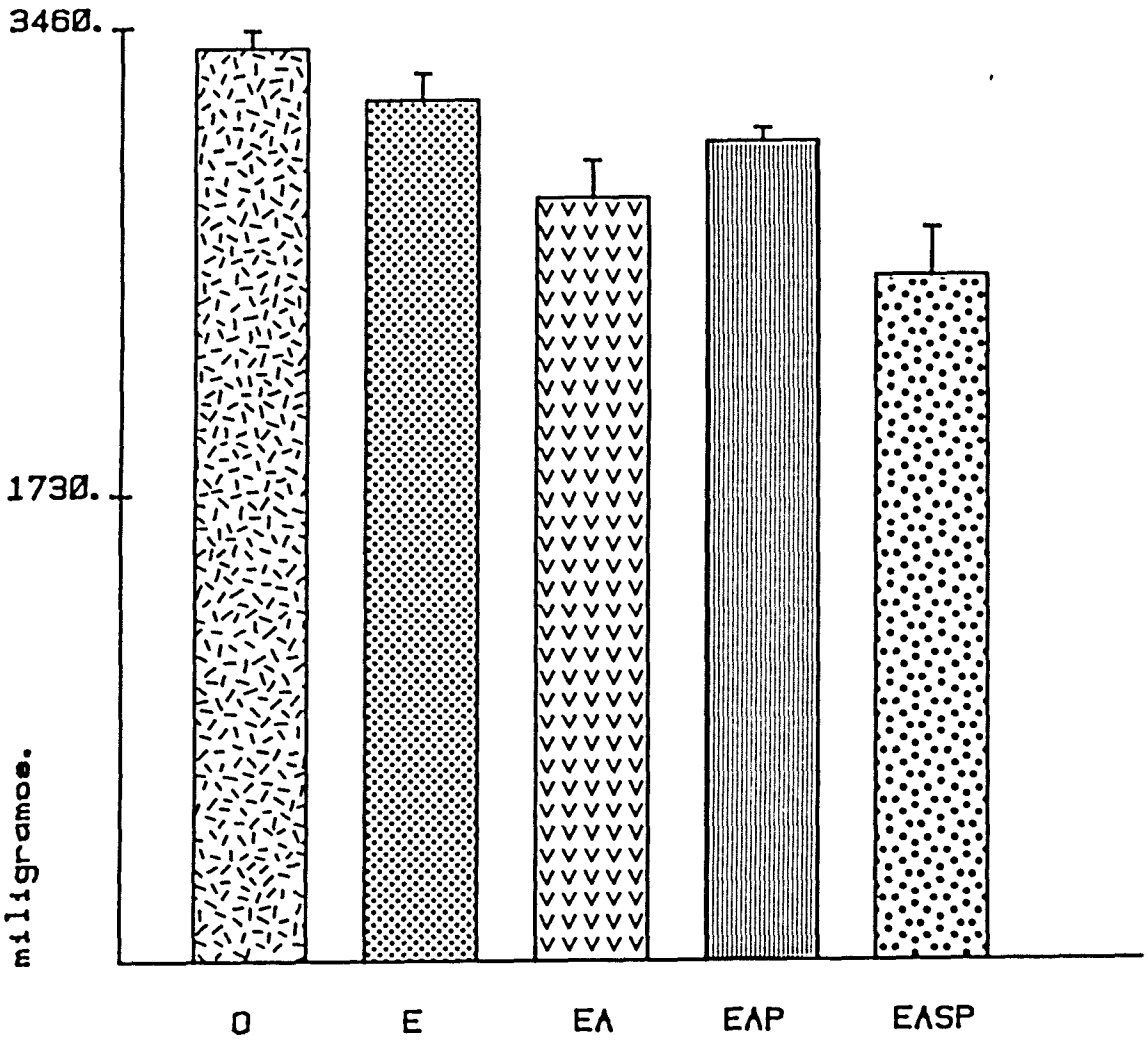


Fig. VI-II-7 Peso absoluto de testículos.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"f" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; EA; EAP; EASP;	4	58	9.21	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	1.633	23	N.S.	——	——————
O-EA	3.905	23	0.001	16.32	7.67 - 24.96
O-EAP	4.111	29	0.001	10.01	5.03 - 15.00
O-EASP	4.751	25	0.001	24.77	14.03 - 35.51
E-EA	2.116	18	0.05	11.41	0.08 - 22.75
E-EAP	1.534	24	N.S.	——	——————
E-EASP	3.008	20	0.01	20.36	6.24 - 34.48
EA-EAP	1.677	24	N.S.	——	——————
EA-EASP	1.213	20	N.S.	——	——————
EAP-EASP	3.036	26	0.01	16.39	5.29 - 27.49

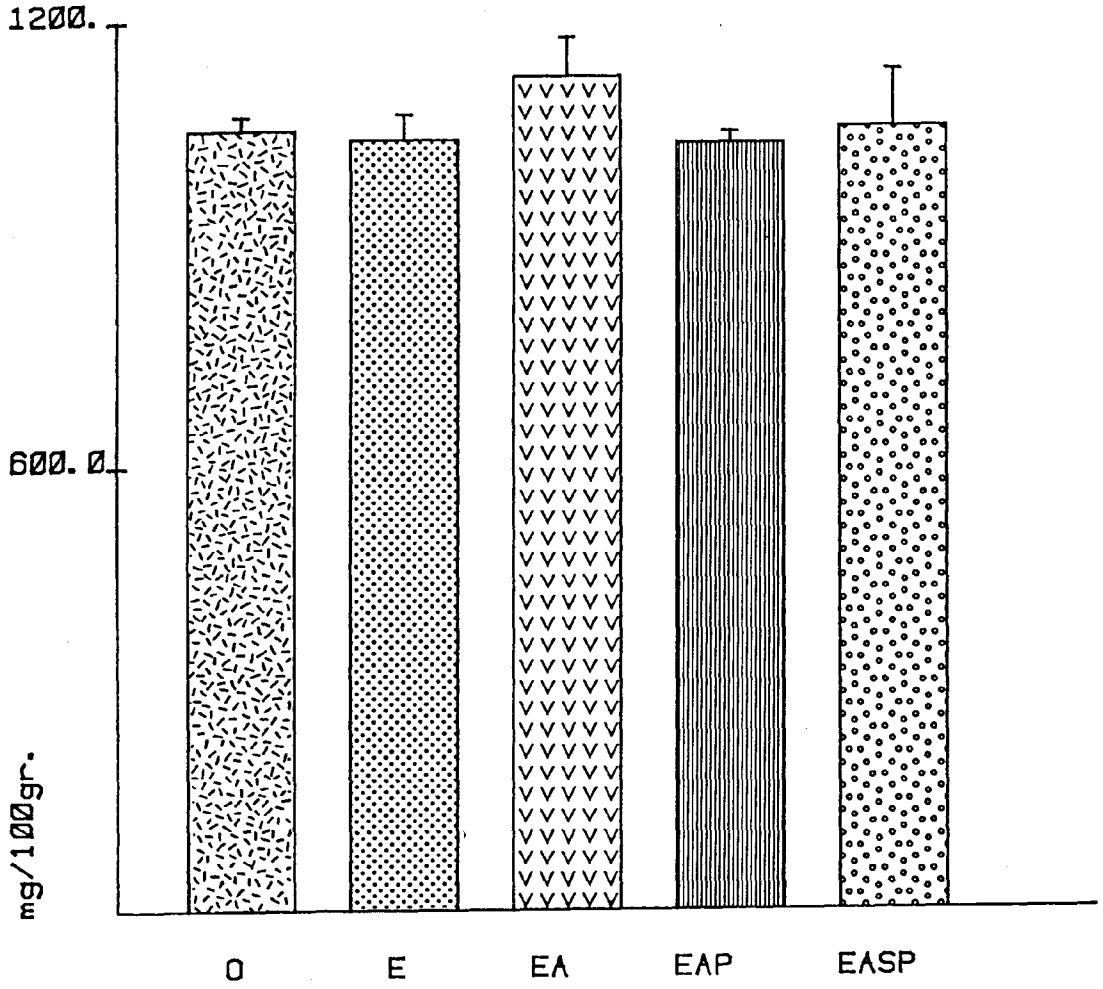


Fig. VI-II-8 Peso relativo de testículos

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; EA; EAP; EASP;	4	58	0.67	N.S.

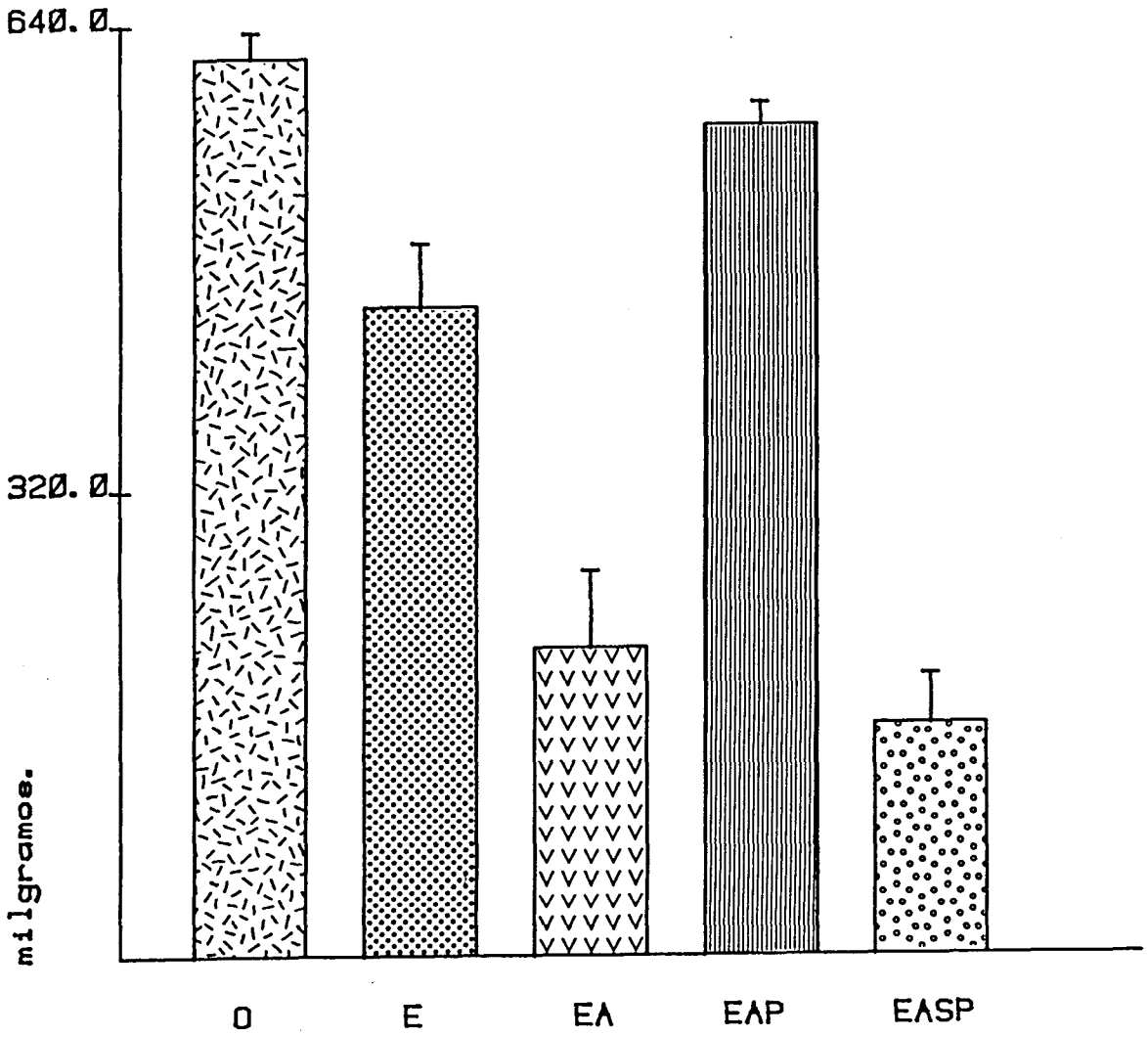


Fig. VI-II-9 Peso absoluto de Vesículas Seminales.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; EA; EAP; EASP;	4	58	45.66	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	4.074	23	0.001	27.69	13.63 - 41.76
O-EA	8.349	23	0.001	65.54	49.30 - 81.78
O-EAP	1.894	29	N.S.	——	——————
O-EASP	12.630	25	0.001	74.10	62.02 - 86.18
E-EA	3.403	18	0.005	52.42	20.05 - 84.78
E-EAP	3.176	24	0.005	21.96	7.69 - 36.23
E-EASP	5.281	20	0.001	64.18	38.83 - 89.53
EA-EAP	7.836	24	0.001	62.87	46.31 - 79.42
EA-EASP	0.765	20	N.S.	——	——————
EAP-EASP	12.105	26	0.001	72.05	59.81 - 84.28

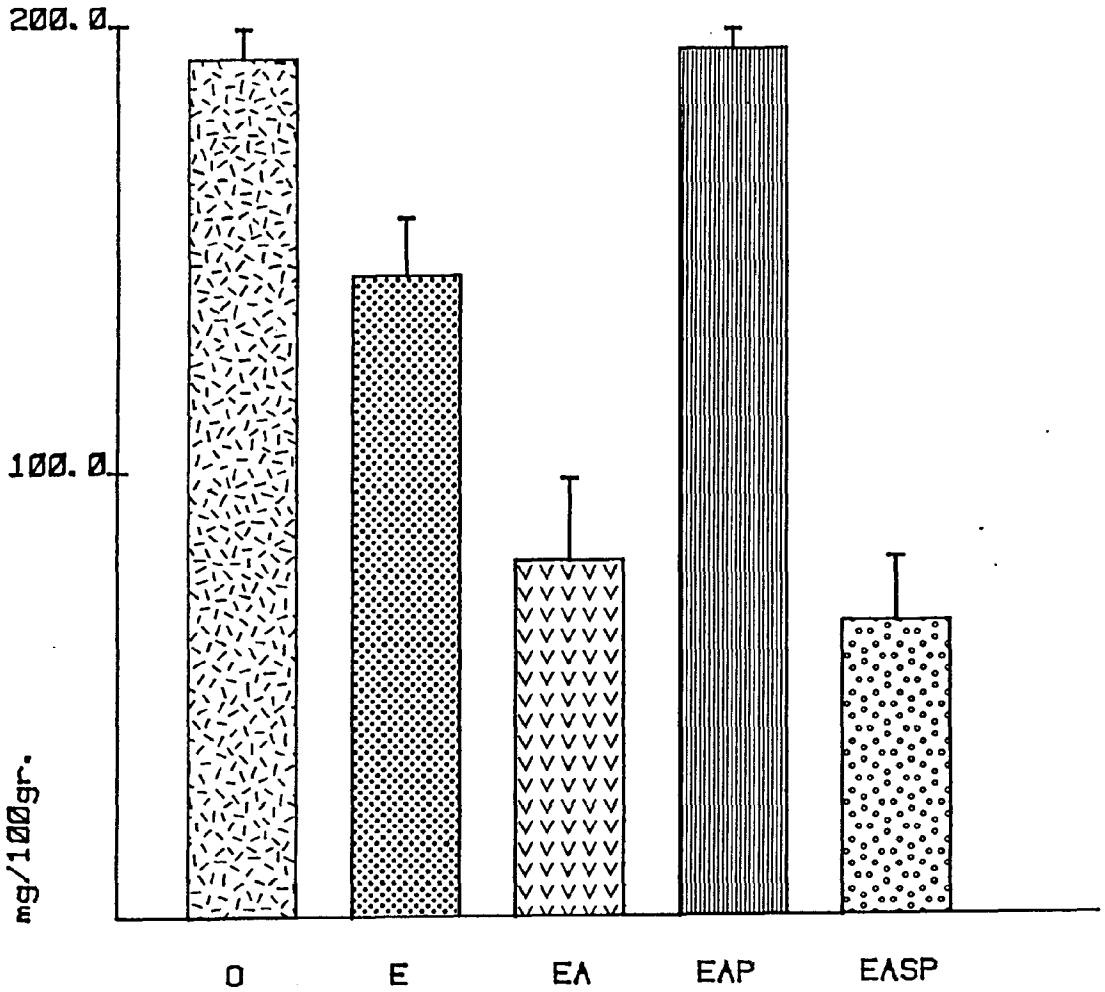


Fig.VI-II-10 Peso relativo de Vesículas Seminales.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; EA; EAP; EASP;	4	58	31.68	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	3.656	23	0.005	25.25	10.96 - 39.54
O-EA	6.612	23	0.001	58.47	40.18 - 76.77
O-EAP	0.271	29	N.S.	——	——————
O-EASP	8.526	25	0.001	65.57	49.73 - 81.41
E-EA	2.841	18	0.02	44.44	11.58 - 77.29
E-EAP	4.394	24	0.001	26.08	13.83 - 38.33
E-EASP	3.947	20	0.001	53.94	25.43 - 82.45
EA-EAP	7.658	24	0.001	58.93	43.05 - 74.81
EA-EASP	0.605	20	N.S.	——	——————
EAP-EASP	9.605	26	0.001	65.95	51.84 - 80.07

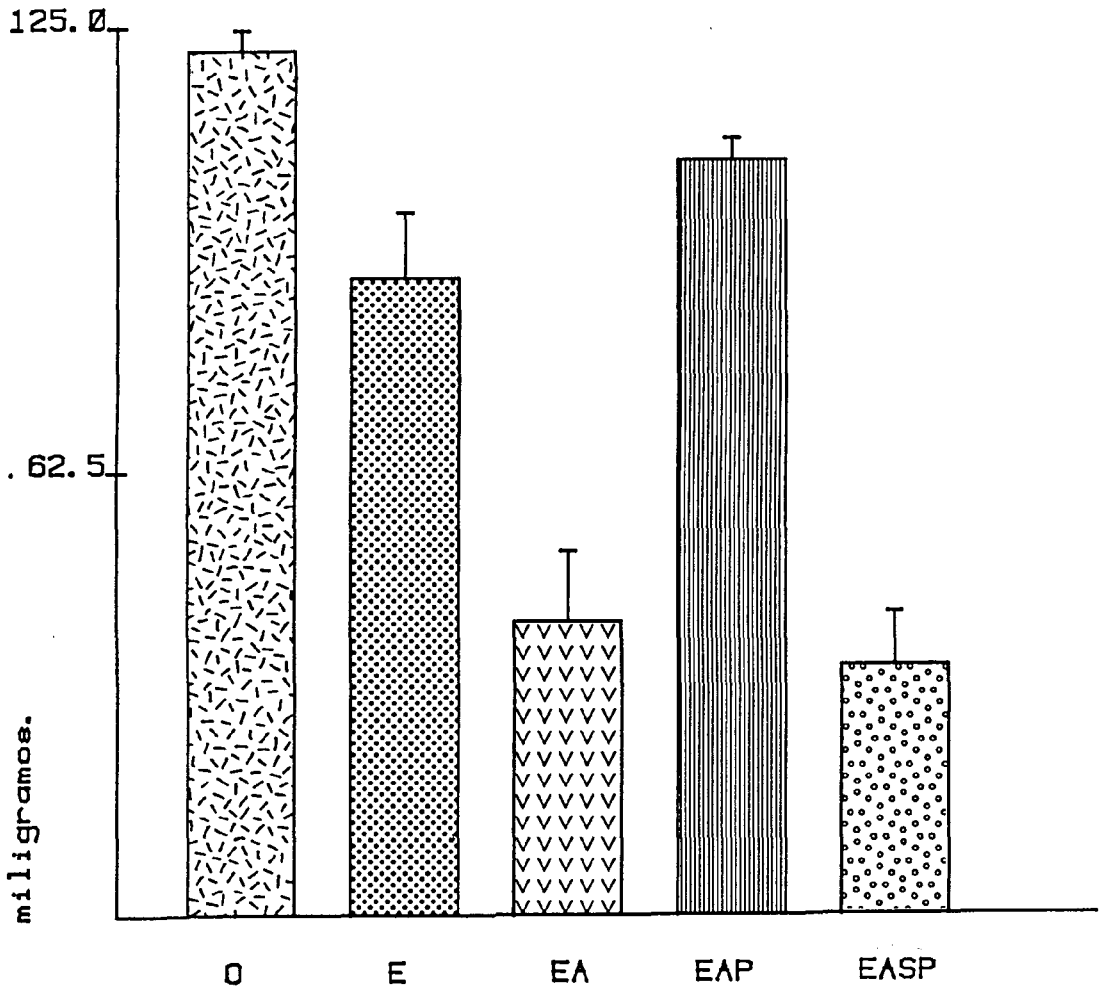


Fig.VI-II-11 Peso absoluto de Glándulas de Coagulación.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; EA; EAP; EASP;	4	58	39.22	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	3.841	23	0.001	26.32	12.14 - 40.49
O-EA	9.145	23	0.001	65.93	51.02 - 80.85
O-EAP	3.542	29	0.005	12.70	5.36 - 20.03
O-EASP	11.651	25	0.001	70.98	58.44 - 83.53
E-EA	3.557	18	0.005	53.76	22.01 - 85.51
E-EAP	1.990	24	N.S.	——	——————
E-EASP	4.625	20	0.001	60.62	33.28 - 87.96
EA-EAP	7.436	24	0.001	60.98	44.05 - 77.90
EA-EASP	0.506	20	N.S.	——	——————
EAP-EASP	9.593	26	0.001	66.76	52.46 - 81.07

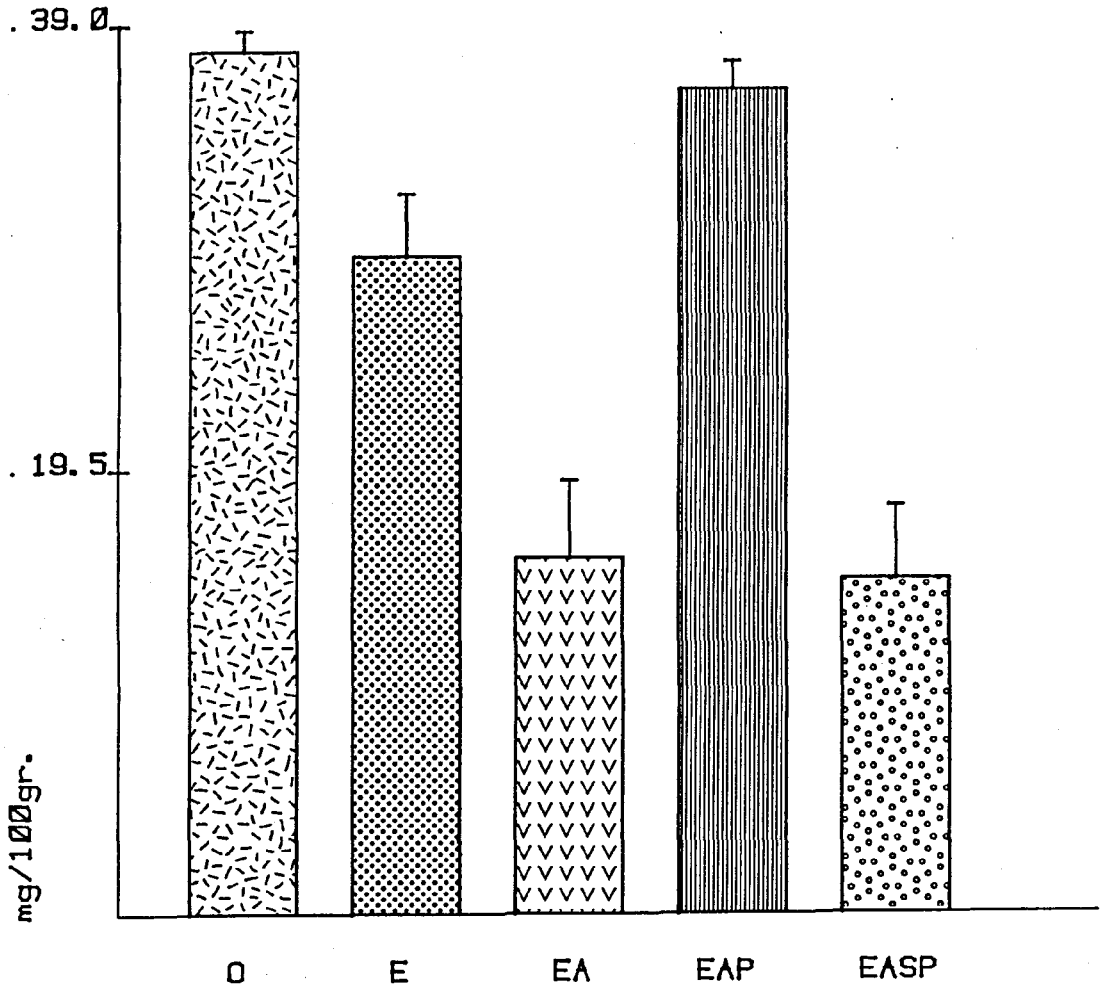


Fig. VI-II-12 Peso relativo de Glándulas de Coagulación.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; EA; EAP; EASP;	4	58	24.60	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	3.599	23	0.005	23.79	10.11 - 37.46
O-EA	7.447	23	0.001	58.65	42.36 - 74.95
O-EAP	1.059	29	N.S.	——	——————
O-EASP	7.560	25	0.001	61.03	44.40 - 77.66
E-EA	3.011	18	0.01	45.75	13.83 - 77.67
E-EAP	2.787	24	0.02	20.35	5.28 - 35.43
E-EASP	3.245	20	0.005	48.87	17.46 - 80.20
EA-EAP	6.690	24	0.001	56.79	39.27 - 74.31
EA-EASP	0.191	20	N.S.	——	——————
EAP-EASP	6.900	26	0.001	59.28	41.62 - 76.94

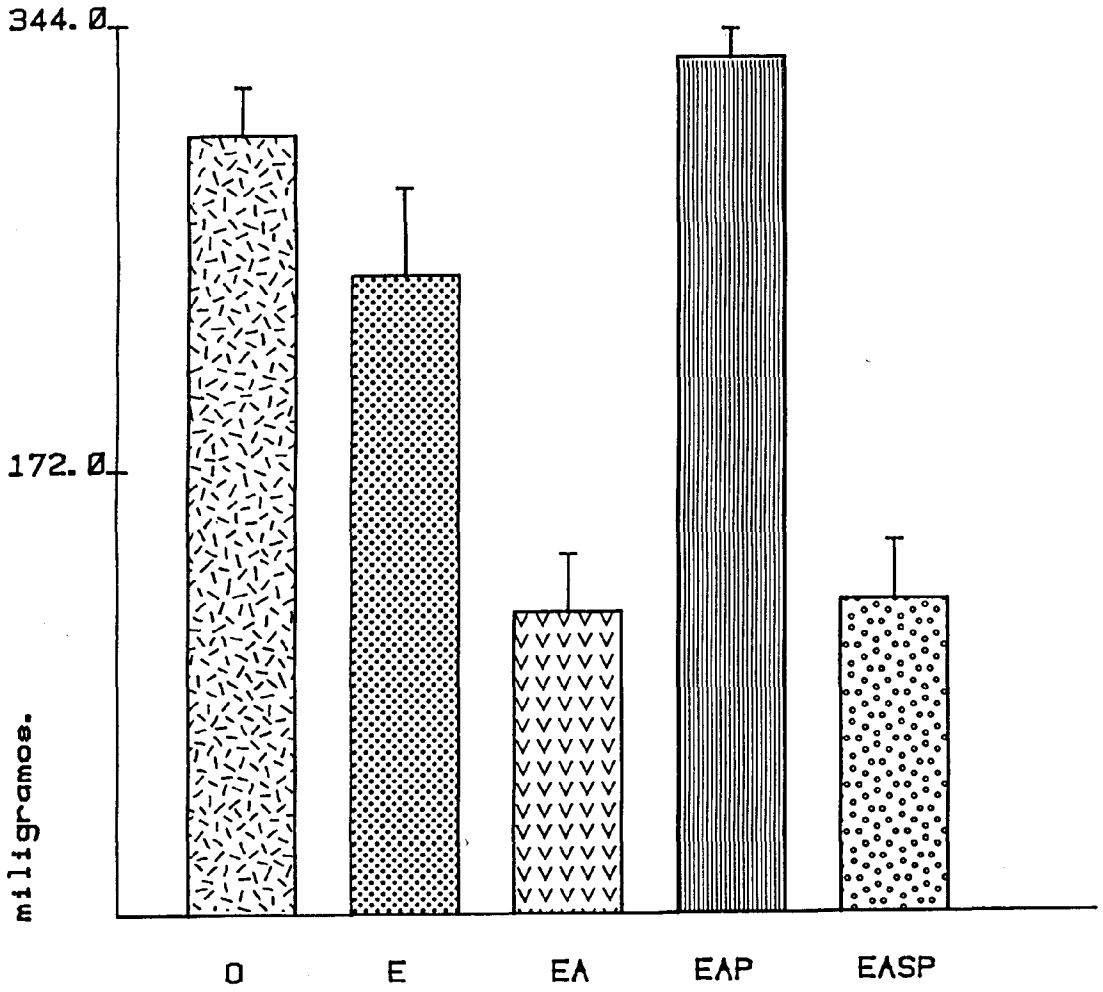


Fig.VI-II-13 Peso absoluto de Próstatas Ventrales.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; EA; EAP; EASP;	4	58	22.87	< 0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	1.522	23	N.S.	——	——————
O-EA	6.331	23	0.001	61.13	41.15 - 81.10
O-EAP	1.364	29	N.S.	——	——————
O-EASP	6.143	25	0.001	59.63	39.64 - 79.62
E-EA	3.207	18	0.005	52.60	18.14 - 87.06
E-EAP	2.783	24	0.02	25.33	6.54 - 44.13
E-EASP	6.143	25	0.001	59.63	39.64 - 79.62
EA-EAP	9.422	24	0.001	64.61	50.46 - 78.77
EA-EASP	0.138	20	N.S.	——	——————
EAP-EASP	8.759	26	0.001	63.25	48.41 - 78.09

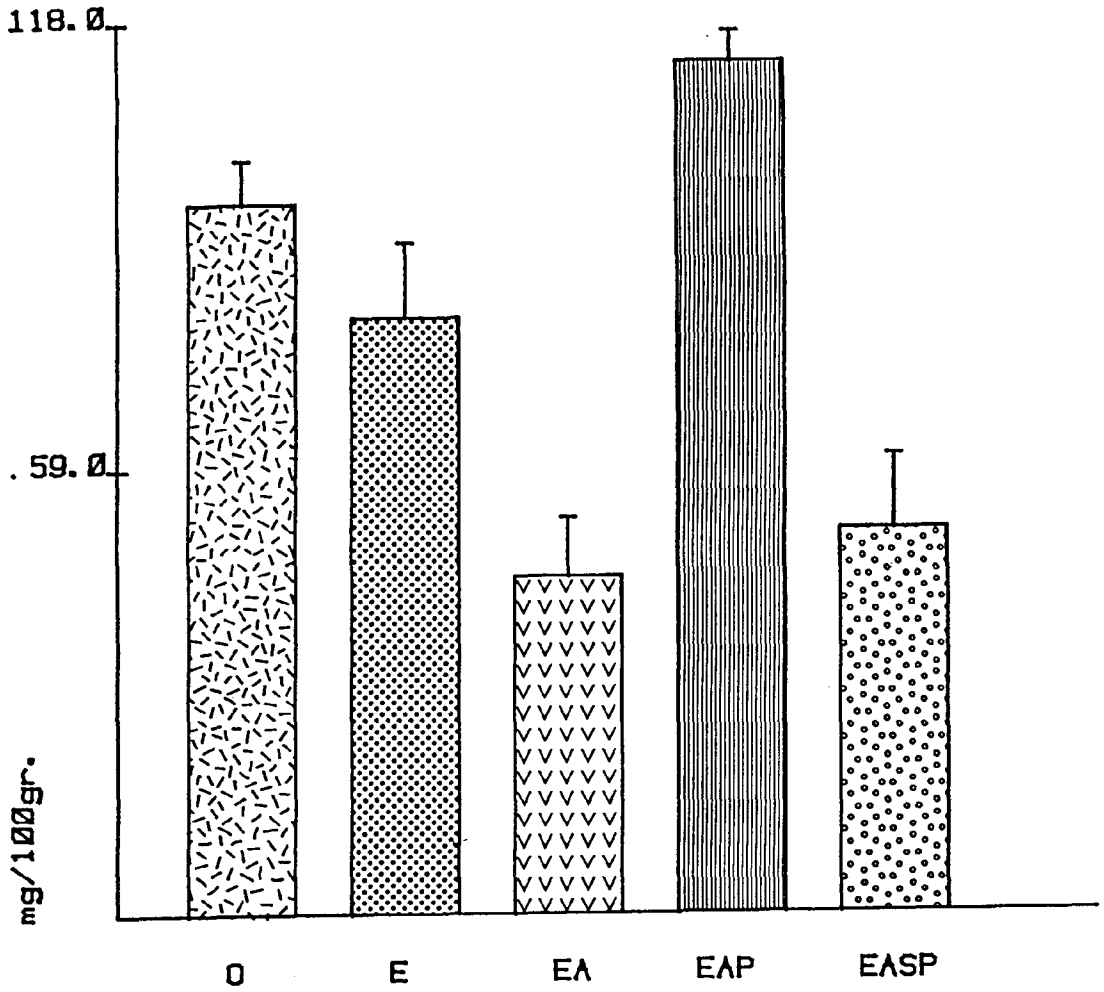
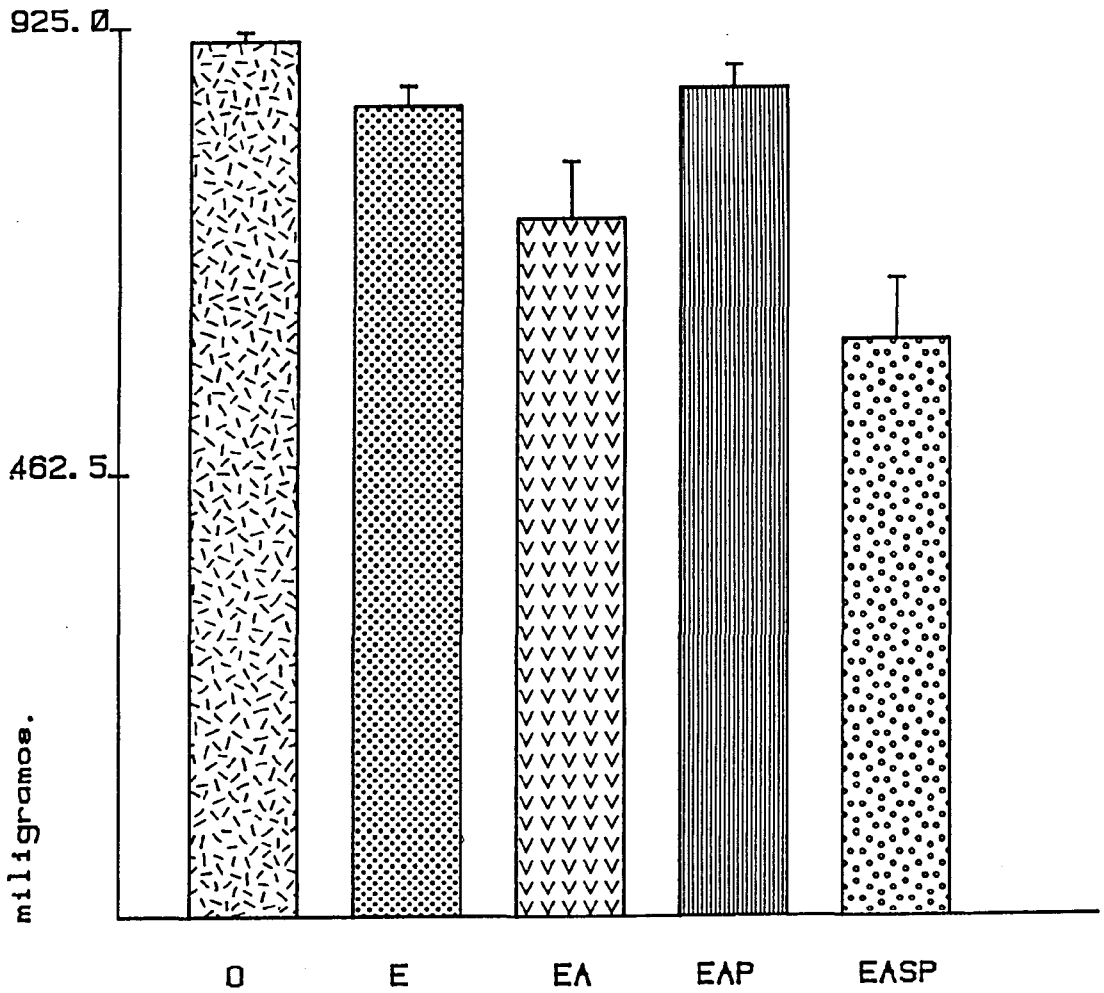


Fig. VI-II-14 Peso relativo de Próstatas Ventrales.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; EA; EAP; EASP;	4	58	16.27	<0.01

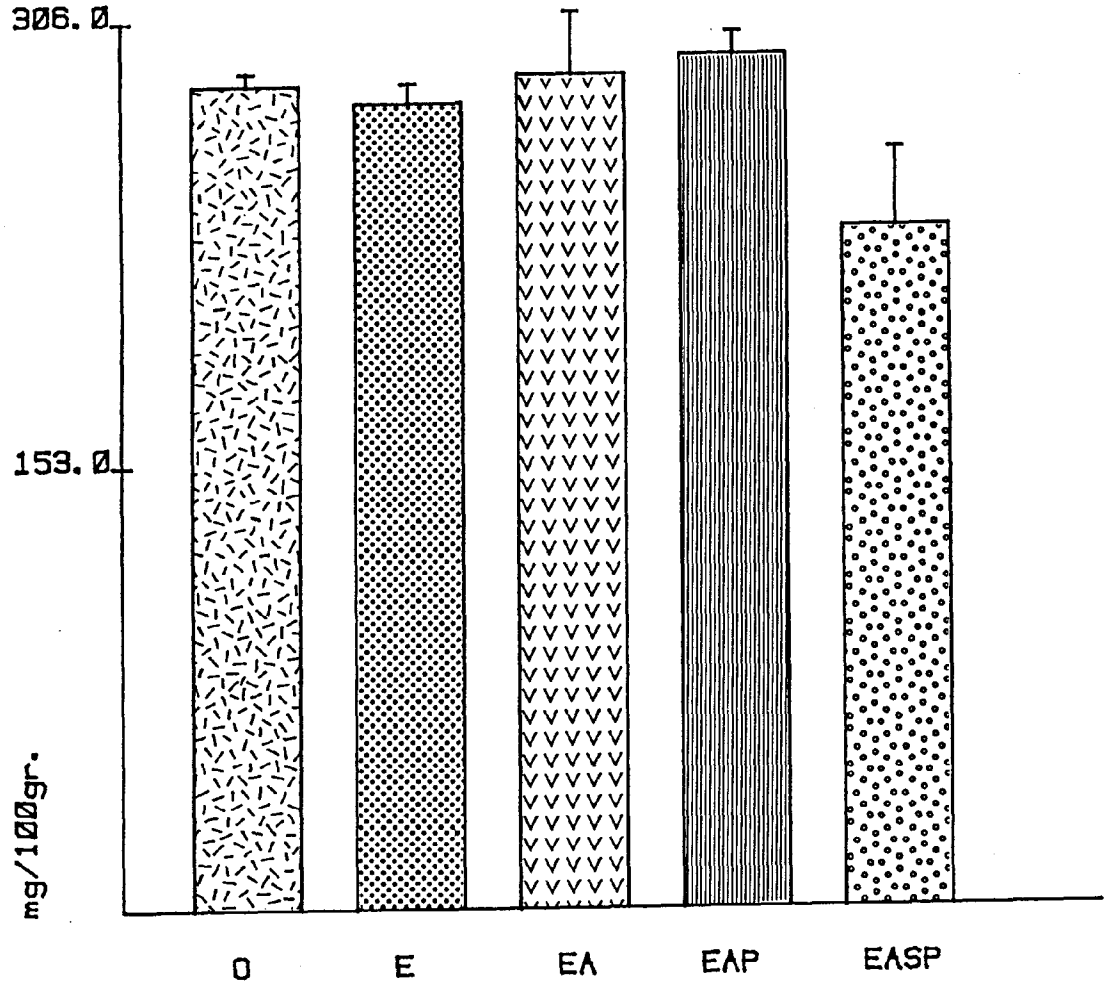
ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	1.375	23	N.S.	——	——————
O-EA	5.196	23	0.001	52.14	31.38 - 72.90
O-EAP	2.701	29	0.02	16.80	4.08 - 21.53
O-EASP	3.916	25	0.001	45.75	21.69 - 69.81
E-EA	2.745	18	0.02	43.13	10.12 - 76.13
E-EAP	3.653	24	0.005	29.99	13.05 - 46.94
E-EASP	1.992	20	N.S.	——	——————
EA-EAP	8.629	24	0.001	60.18	45.79 - 74.58
EA-EASP	0.465	20	N.S.	——	——————
EAP-EASP	6.350	26	0.001	54.87	37.11 - 72.63



ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; EA; EAP; EASP;	4	58	11.92	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	3.297	23	0.005	7.32	2.72 - 11.92
O-EA	3.773	23	0.001	20.16	9.10 - 31.21
O-EAP	1.849	29	N.S.	——	——————
O-EASP	5.322	25	0.001	34.05	20.87 - 47.22
E-EA	1.897	18	N.S.	——	——————
E-EAP	0.563	24	N.S.	——	——————
E-EASP	3.335	20	0.005	28.83	10.80 - 46.87
EA-EAP	2.499	24	0.02	15.73	2.74 - 28.71
EA-EASP	1.432	20	N.S.	——	——————
EAP-EASP	4.263	26	0.001	30.39	15.74 - 45.04

Fig.VI-II-15 Peso absoluto de Epidídimos + C. Deferentes.



ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; EA; EAP; EASP;	4	58	2.5	N.S.

Fig. VI-II-16 Peso relativo de Epidídimos + C. Deferentes.

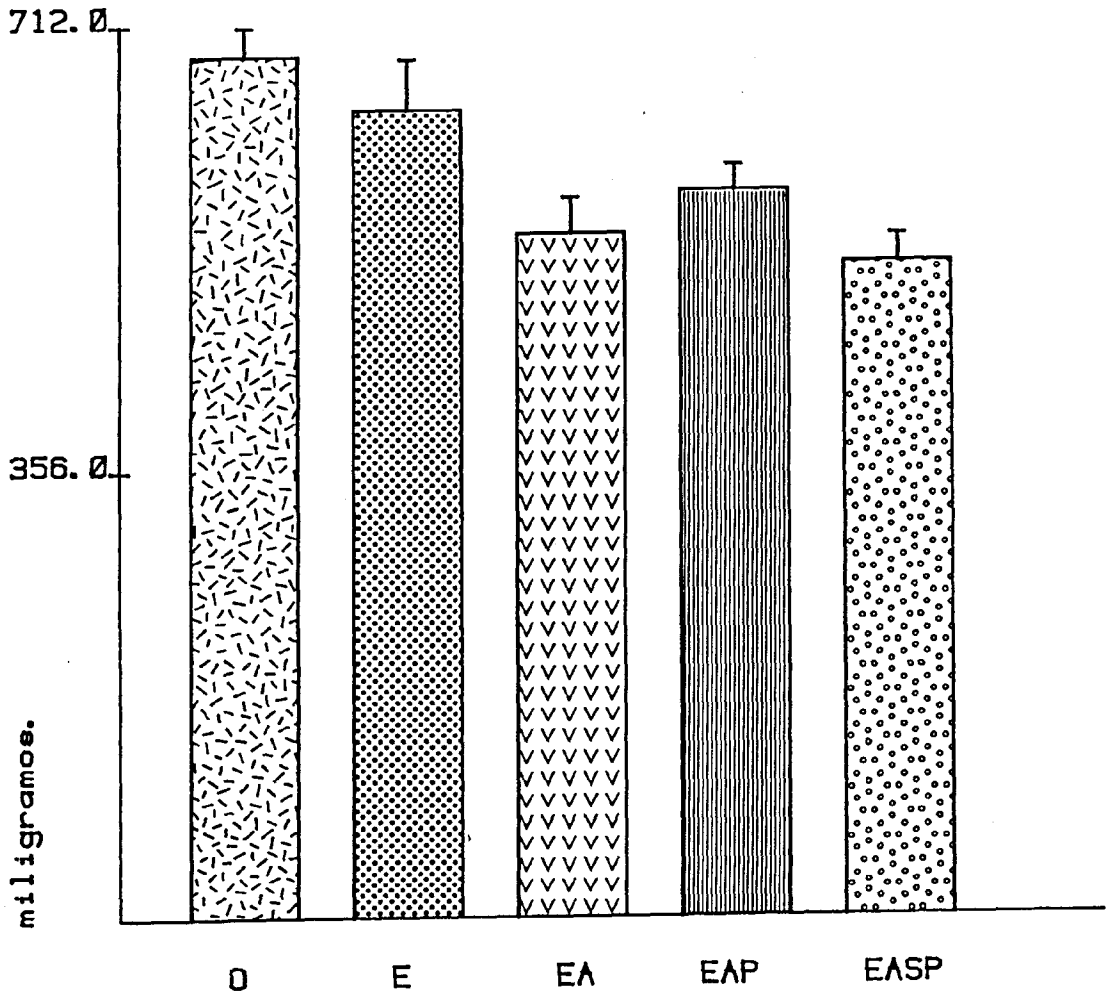


Fig.VI-II-17 Peso absoluto del bazo.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; EA; EAP; EASP;	4	55	7.23	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	1.105	23	N.S.	——	——
O-EA	3.927	23	0.001	20.73	9.81 - 31.65
O-EAP	3.511	26	0.005	15.82	6.56 - 25.08
O-EASP	5.137	25	0.001	24.16	14.46 - 33.85
E-EA	1.973	26	N.S.	——	——
E-EAP	1.516	21	N.S.	——	——
E-EASP	2.735	20	0.02	18.97	4.50 - 33.44
EA-EAP	0.986	21	N.S.	——	——
EA-EASP	0.656	20	N.S.	——	——
EAP-EASP	1.890	23	N.S.	——	——

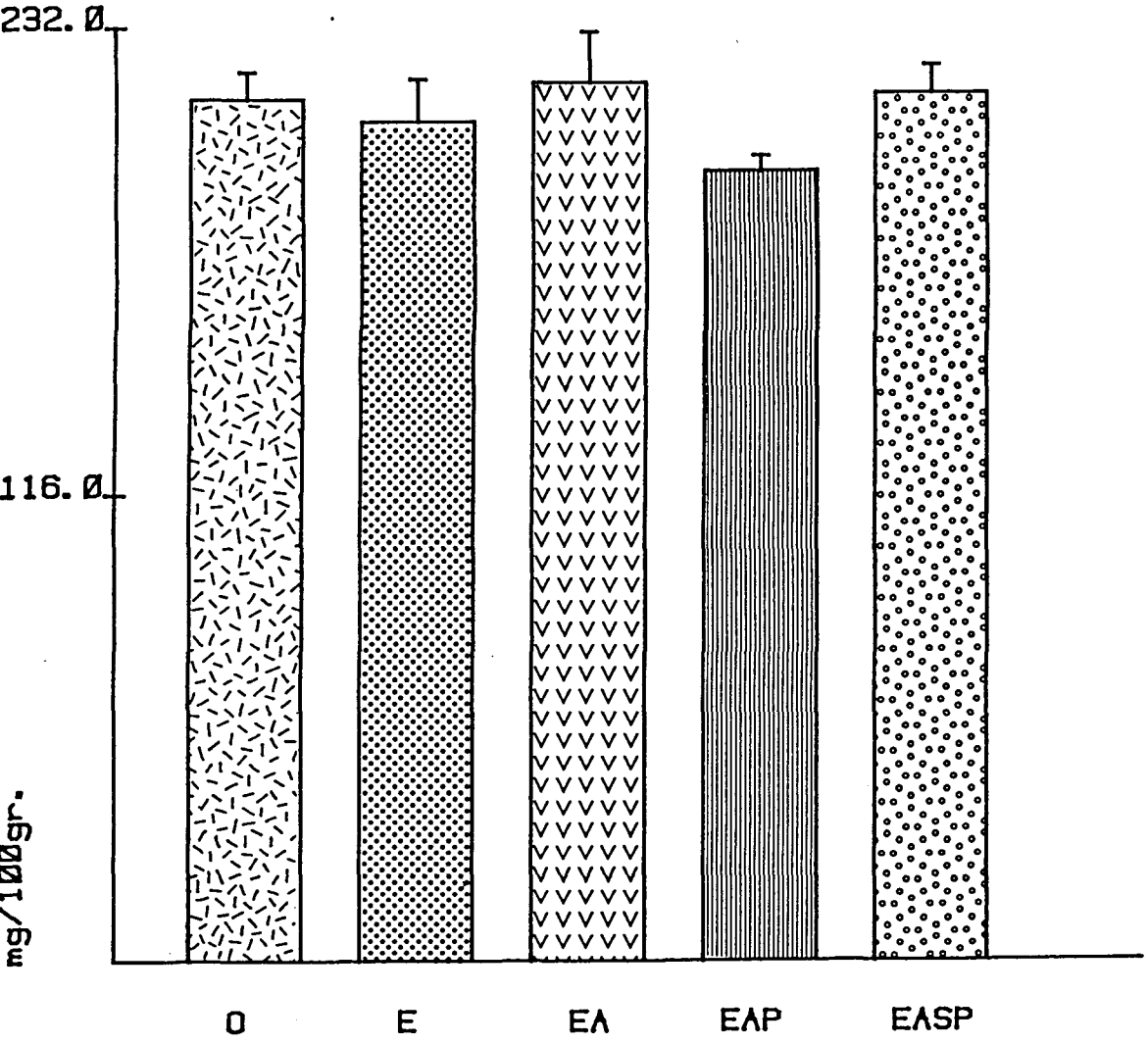


Fig. VI-II-18 Peso relativo de bazo.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; EA; EAP; EASP;	4	55	1.24	N.S.

VI.3. RESULTADOS DE LA SERIE III.

La tabla VI-III-1, recoge la totalidad de los datos obtenidos en esta serie. En la Fig. V-9 , se muestran las dosis diarias de melatonina, recibidas por los animales de cada grupo, según la pauta de dosificación adoptada.

VI.3.1. Peso Corporal .- (Fig..VI-III-2). El incremento de peso corporal experimentado por los animales intactos, fué semejante en los tres grupos (O,OM y OM/P), es decir, que la melatonina no provocó cambio alguno en estos animales.

La inyección de melatonina, con independencia de la dosis, indujo un menor incremento ponderal de los animales tanto anósmicos, como bulbectomizados, con respecto a sus homólogos tratados con el diluyente (A vs. AM, P<0.001; A vs. AM/P, P< 0.05; B vs. BM, P 0.005; B vs. BM/P, P 0.05) . No hallamos diferencias, entre los animales anósmicos o entre los bulbectomizados, tratados con melatonina, en función de la pauta dosificadora, asi: AM vs AM/P y BM vs BM/P , P=N.S.

VI.3.2. Peso de Adenohipófisis.- (Figs. VI-III-3 y VI-III-4). La melatonina careció de efectos en los animales intactos, sin embargo, en los anósmicos redujo el peso absoluto, tanto a dosis fija (A vs AM, P<0.001), como proporcional al peso corporal (A vs AM/P, P<0.005), sin diferencias entre los dos grupos tratados con melatonina (AM vs AM/P, P=N.S.). En cuanto al peso relativo, la reducción, aún existiendo en AM y AM/P , sólo fue significativa en este último caso (A vs AM/P, P<0.02); tampoco aparecen diferencias en función de la pauta de dosificación de la melatonina (AM vs AM/P, P=N.S.).

En los animales bulbectomizados, los resultados fueron análogos a los descritos para los anósmicos: el tratamiento con melatonina, reduce los pesos absolutos y, como única diferencia con los anósmicos, también los relativos, con independencia de las dosis, y sin diferencias entre BM y BM/P . Se cumple, pues, que B vs BM, P 0.001 en p. abs. y rel; B vs BM/P, P 0.001 en p. abs. y P<0.05 en relativo.

VI.3.3. Peso de Adrenales .- (Figs. VI-III-5 y VI-III-6). El análisis de la varianza entre los seis grupos, no mostró diferencias significativas en los pesos relativos. (F=1.39 , P=N.S.).

En cuanto a pesos absolutos, el tratamiento con melatonina, no tuvo ningún efecto en los animales intactos, ni en los anósmicos, en relación a sus correspondientes controles tratados con el diluyente. En los animales bulbectomizados, la melatonina, a dosis de 50 microgramos/rata/día, provocó una disminución significativa de los pesos absolutos, con respecto a los tratados con el diluyente (B vs BM, P<0.01). A dosis proporcional al peso corporal, también se produjo la reducción, pero no alcanzó niveles estadísticamente significativos.

Todos los animales anósmicos o bulbectomizados, tratados con melatonina, mostraron, con independencia de la dosis, pesos absolutos significativamente menores que los controles intactos (O vs AM, P<0.05; O vs AM/P, P<0.02; O vs BM, P<0.001 y O vs BM/P, P<0.005).

VI.3.4. Peso de Gónadas .- (Figs. VI-III-7 y VI-III-8). No hallamos diferencias entre los distintos grupos, en cuanto a pesos relativos (F=1.18 , P=N.S.).

En cuanto a pesos absolutos, sólo hallamos diferencias significativas entre los animales intactos y los anósmicos o bulbectomizados tratados con melatonina (O vs AM, P<0.05; O vs AM/P, P<0.02; O vs BM y O vs BM/P, P<0.01).

VI.3.5. Peso de Vesículas Seminales .- (Figs. VI-III-9 y VI-III-10). La inyección de dosis bajas de melatonina careció de efectos en los animáles intactos, tanto en pesos absolutos como en relativos, sin embargo, cuando se administró a dosis más altas (proporcionales al peso corporal), se redujo significativamente el peso absoluto (O vs OM/P, P<0.05), pero no el relativo.

En ratas anósmicas o bulbectomizadas, la melatonina redujo intensamente, tanto a dosis altas como bajas, los pesos absolutos y relativos con respecto a sus

homólogas tratadas con el diluyente (A vs AM, y A vs AM/P; B vs BM, y B vs BM/P, P<0.001 en todos los casos).

En cada uno de los tres grupos: intactos, anósmicos o bulbectomizados, no se establecieron diferencias entre los tratados con melatonina, dependiendo de la dosis administrada.

Los grupos OM/P, AM, AM/P, BM, BM/P, mostraron pesos absolutos significativamente más bajos que los O. Estas diferencias se extendieron también a los pesos relativos, con la excepción de OM/P y AM.

VI.3.6. Peso de las Glándulas de Coagulación .- (Figs. VI-III-11 y VI-III-12). La administración de dosis bajas de melatonina a animales intactos careció de efectos significativos, por el contrario, con dosis proporcionales al peso corporal, se apreciaron reducciones significativas tanto en peso absoluto (O vs OM/P, P<0.005), como en relativo (O vs OM/P, P<0.01).

Cuando la melatonina se administró a ratas bulbectomizadas o anósmicas las reducciones ponderales fueron intensas, tanto en valores absolutos (A vs AM, P<0.001; A vs AM/P, P<0.001; B vs BM, P<0.001; B vs BM/P, P<0.001) como en relativos (A vs AM, P<0.05 ; A vs AM/P, P<0.005; B vs BM, P<0.001; B vs BM/P, P<0.02).

Al igual que ocurría en las vesículas seminales, no hallamos diferencias entre los grupos tratados con melatonina, según esta fuera administrada a dosis altas o bajas.

Los grupos OM/P, AM, AM/P, BM y BM/P, mostraron pesos inferiores a los controles intactos, en cuanto a valores absolutos, en pesos relativos se excluye BM/P, que pese a tener valores inferiores a los O, no alcanzan los niveles de significación adecuados.

VI.3.7. Peso de Próstatas Ventrales .- (Figs. VI-III-13 y VI-III-14). En los animales intactos, la administración de melatonina a dosis altas, redujo los pesos absolutos (P<0.01), y relativos (P<0.02), con respecto a los tratados con el diluyente (O).

La administración de melatonina a animales anósmicos o bulbectomizados, redujo significativamente los pesos absolutos (A vs AM, P<0.01 y A vs AM/P, P<0.001; B vs BM, y B vs BM/P, P<0.001) y los relativos (A vs AM, P<0.05 y A vs AM/P, P< 0.001; B vs BM, y B vs BM/P, P<0.001).

No hallamos diferencias entre OM-OM/P, BM-BM/P o AM-AM/P.

Los grupos OM/P, AM, AM/P, BM y BM/P, mostraron pesos absolutos y relativos más bajos que los O, aunque las diferencias en cuanto a pesos relativos, no fueron significativas en el AM.

VI.3.8. Peso de Epidídimos y Conductos Deferentes .- (Figs. VI-III-15 y VI-III-16). El análisis de la varianza, no mostró diferencias de pesos relativos entre los seis grupos experimentales.

En cuanto a pesos absolutos, la melatonina careció de efectos en los animales intactos, mientras que en los anósmicos o bulbectomizados se produjeron reducciones significativas, con la excepción de éstos últimos con dósis altas de melatonina: A vs AM, P<0.05; A vs AM/P, P<0.001; B vs BM, P<0.005; B vs BM/P, P=N.S.). No hallamos diferencias entre los dos grupos de anósmicos o bulbectomizados tratados con melatonina, que mostraron, en todos los casos, valores inferiores a los controles (O vs AM; O vs AM/P; B vs BM; B vs BM/P; en todos los casos P<0.001).

VI.3.9. Peso del Bazo .- (Figs. VI-III-17 y VI-III-18). En cuanto a pesos absolutos, sólo hallamos diferencias significativas entre los animales intactos(O) y los anósmicos tratados con dosis de melatonina proporcionales al peso corporal (AM/P) (P<0.05), y también entre los bulbectomizados tratados con melatonina y los intactos (O vs BM y O vs BM/P, P<0.05). En todos los casos fueron más bajos los pesos de los animales tratados con la indolamina.

Los pesos relativos en los distintos grupos no fueron diferentes entre si (F=1.79 , P=N.S.).

VI.3.10. Niveles séricos de Testosterona.- (Fig. VI-III-19). Las diferencias halladas entre los distintos grupos carecen de significación estadística, tal como muestra el análisis de la varianza (F de Snedecor=0.71, P=N.S.).

	HIPOFISIS	TESTICULOS	VESICULAS SEMINALES	GLANDULAS COAGULACION	EPIDIDIMOS+ DEFERENTES	PROSTATAS	BAZO	ADRENALES
Grupo O [9]	7.48 ± 0.26	3293.8 ± 46.94	591.41 ± 39.62	126.44 ± 8.28	1021.97 ± 16.55	267.47 ± 5.96	632.25 ± 25.34	37.15 ± 2.02
	2.19 ± 0.08	969.3 ± 26.96	174.58 ± 13.01	37.24 ± 2.55	300.71 ± 8.38	78.69 ± 2.45	186.11 ± 8.63	10.82 ± 0.37
Grupo OM [10]	7.00 ± 0.36	3359.4 ± 84.23	549.95 ± 41.88	104.08 ± 9.50	1009.57 ± 23.17	237.55 ± 15.74	693.80 ± 21.00	40.02 ± 2.32 [8]
	2.09 ± 0.10	1003.8 ± 27.49	171.42 ± 9.62	30.77 ± 2.46	301.33 ± 5.92	70.68 ± 4.27	207.58 ± 7.19	11.81 ± 0.51 [8]
Grupo OM/P [10]	7.29 ± 0.32	3411.6 ± 58.68	489.18 ± 28.63	92.70 ± 5.93 [9]	974.60 ± 27.76	214.52 ± 15.81	662.08 ± 18.57	39.23 ± 1.39
	2.21 ± 0.08	1038.7 ± 26.73	148.61 ± 8.44	28.20 ± 1.69 [9]	296.78 ± 10.47	65.14 ± 4.56	206.10 ± 7.14	11.94 ± 0.48
Grupo A [10]	7.55 ± 0.30	3240.5 ± 70.63	663.09 ± 27.72	134.72 ± 7.57	980.14 ± 18.43	273.30 ± 13.92	282.67 ± 22.02	34.68 ± 2.07 [9]
	2.35 ± 0.08	1011.9 ± 28.85	207.59 ± 10.84	42.12 ± 2.64	305.83 ± 6.96	84.92 ± 3.76	181.49 ± 6.44	10.80 ± 0.56 [9]
Grupo AM [10]	5.92 ± 0.26	2972.3 ± 124.8	343.94 ± 64.49	70.41 ± 12.15 [9]	776.09 ± 52.44	170.04 ± 28.14	527.87 ± 38.39	31.07 ± 1.64 [9]
	2.15 ± 0.07	1081.5 ± 37.69	122.52 ± 21.75	25.17 ± 4.22 [9]	281.81 ± 17.25	60.73 ± 9.35	191.38 ± 10.85	11.35 ± 0.53 [9]
Grupo AM/P [10]	5.80 ± 0.40 [9]	2999.9 ± 90.87	284.96 ± 64.36	56.12 ± 13.66	760.19 ± 49.69	125.42 ± 22.41	587.60 ± 29.38	30.75 ± 1.33
	2.02 ± 0.09 [9]	1047.7 ± 39.86	96.86 ± 20.29	19.04 ± 4.31	264.38 ± 15.86	43.16 ± 7.46	203.30 ± 6.51	10.76 ± 0.56
Grupo B [10]	7.55 ± 0.23	3138.2 ± 86.51	607.42 ± 33.18	126.43 ± 6.75	944.91 ± 28.50	290.38 ± 12.00 [9]	567.64 ± 30.35	34.48 ± 1.94 [9]
	2.42 ± 0.07	1005.2 ± 22.73	193.69 ± 8.60	40.36 ± 1.84	302.51 ± 7.20	93.00 ± 3.23 [9]	181.65 ± 7.28	11.12 ± 0.52 [9]
Grupo BM [9]	5.40 ± 0.22	2924.5 ± 110.1	280.78 ± 44.65	57.96 ± 8.71	772.22 ± 42.87	156.17 ± 21.40	526.34 ± 37.46	27.41 ± 1.24
	1.91 ± 0.05	1036.2 ± 38.04	99.41 ± 15.84	20.49 ± 3.08	262.51 ± 11.41	55.52 ± 7.79	185.32 ± 10.50	9.73 ± 0.52
Grupo BM/P [10]	5.70 ± 0.35	2785.8 ± 162.7	323.68 ± 70.20 [9]	74.04 ± 16.63 [9]	808.52 ± 64.21 [9]	138.02 ± 21.02 [9]	527.30 ± 35.65 [9]	28.89 ± 2.68 [9]
	2.10 ± 0.11	987.4 ± 58.40	111.84 ± 23.34 [9]	25.43 ± 5.33 [9]	286.04 ± 22.99 [9]	47.65 ± 6.38 [9]	185.01 ± 6.75 [9]	10.65 ± 0.79 [9]

Tabla VI-III-1. Listado general de datos de la Serie III. Se indica media±error estandard. Para cada órgano, el recuadro superior corresponde al peso absoluto (mg.), y el inferior al relativo (mg/100gr.). El nº de casos se indica en el recuadro de cada grupo.

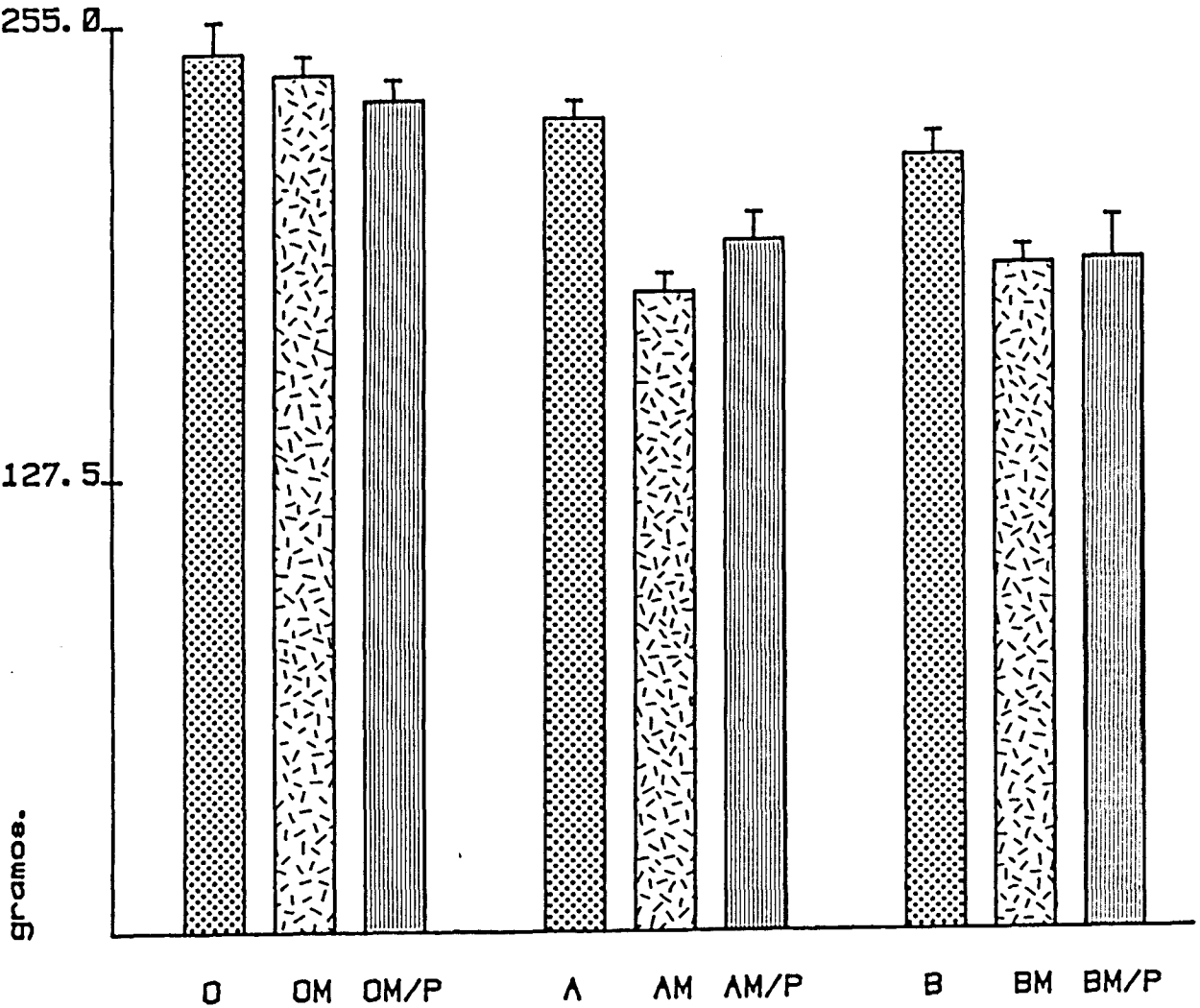


Fig. VI-III-2. Incremento de Pesos

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"f" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; OM/P; A; AM AM/P; B; BM; BM/P	8	78	13.23	<0.001

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Intervalo de confianza para P = 0.05
O;B	2.577	17	0.02	11.61	2.11 - 21.12
O;AM	6.589	17	0.001	27.17	18.47 - 35.87
O;AM/P	4.395	17	0.001	21.30	11.07 - 31.52
O;BM	5.695	16	0.001	23.93	15.03 - 32.85
O;BM/P	3.858	16	0.005	23.44	10.56 - 36.32
A;AM	6.720	18	0.001	21.42	14.72 - 28.11
A;AM/P	3.722	18	0.05	15.08	6.57 - 23.58
B;BM	3.636	17	0.005	13.94	5.85 - 22.03
B;BM/P	2.207	17	0.05	13.38	0.60 - 23.17
EL RESTO DE LAS DIFERENCIAS CARECEN DE SIGNIFICACION					

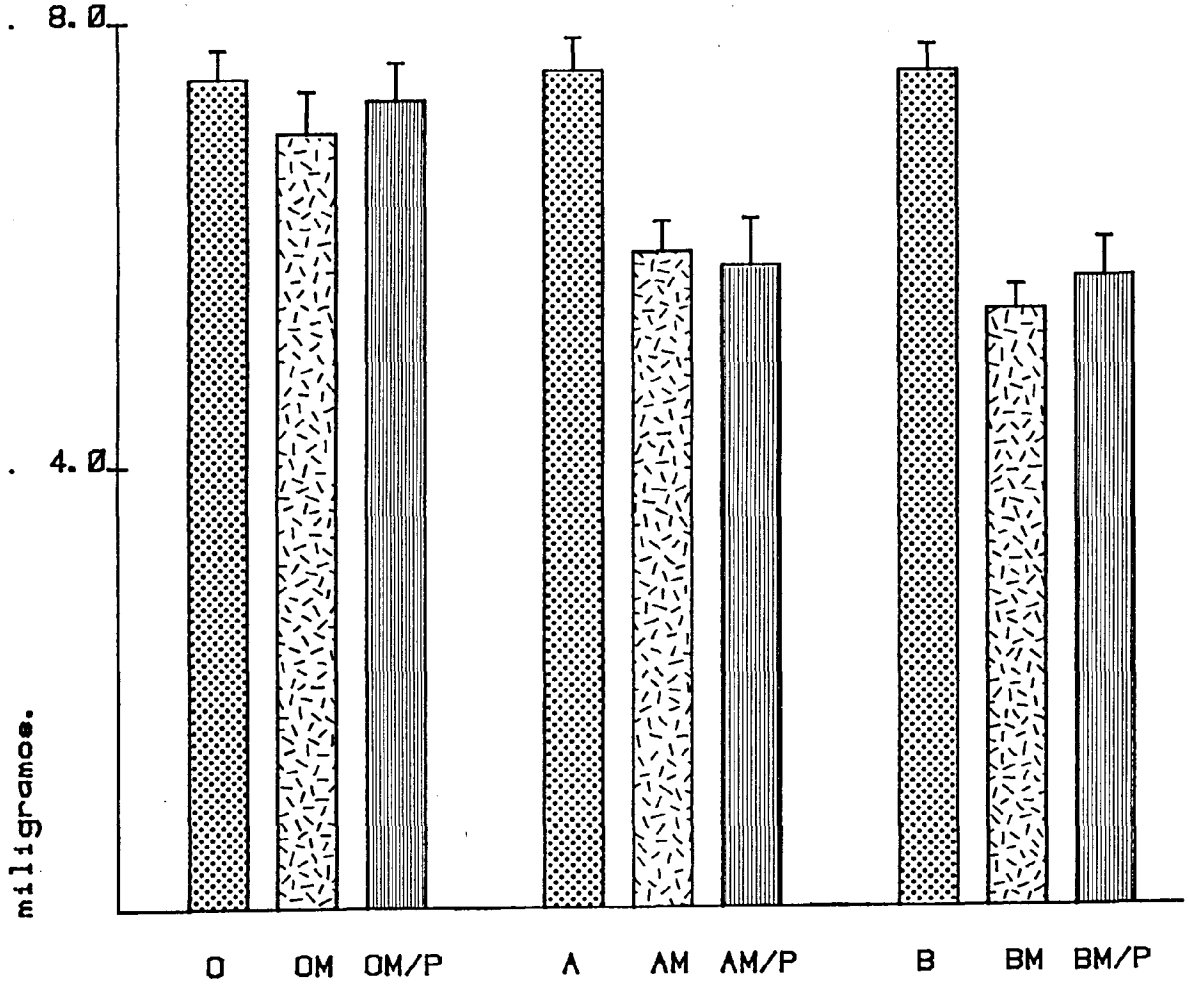


Fig.VI-III-3. Peso Absoluto de Adenohipófisis.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; OM/P; A; AM; AM/P; B; BM; BM/P	8	78	8.25	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Intervalo de confianza para P = 0.05
O;AM	4.154	17	0.001	20.86	10.26 - 31.45
O;AM/P	3.404	16	0.005	22.46	8.47 - 36.45
O;BM	6.143	16	0.001	27.81	18.21 - 37.40
O;BM/P	3.989	17	0.001	23.80	11.21 - 36.38
A;AM	4.038	18	0.001	21.59	10.36 - 32.82
A;AM/P	3.439	17	0.05	23.18	8.96 - 37.40
B;BM	6.617	17	0.001	21.48	19.40 - 37.60
B;BM/P	4.350	18	0.001	24.50	12.67 - 36.34

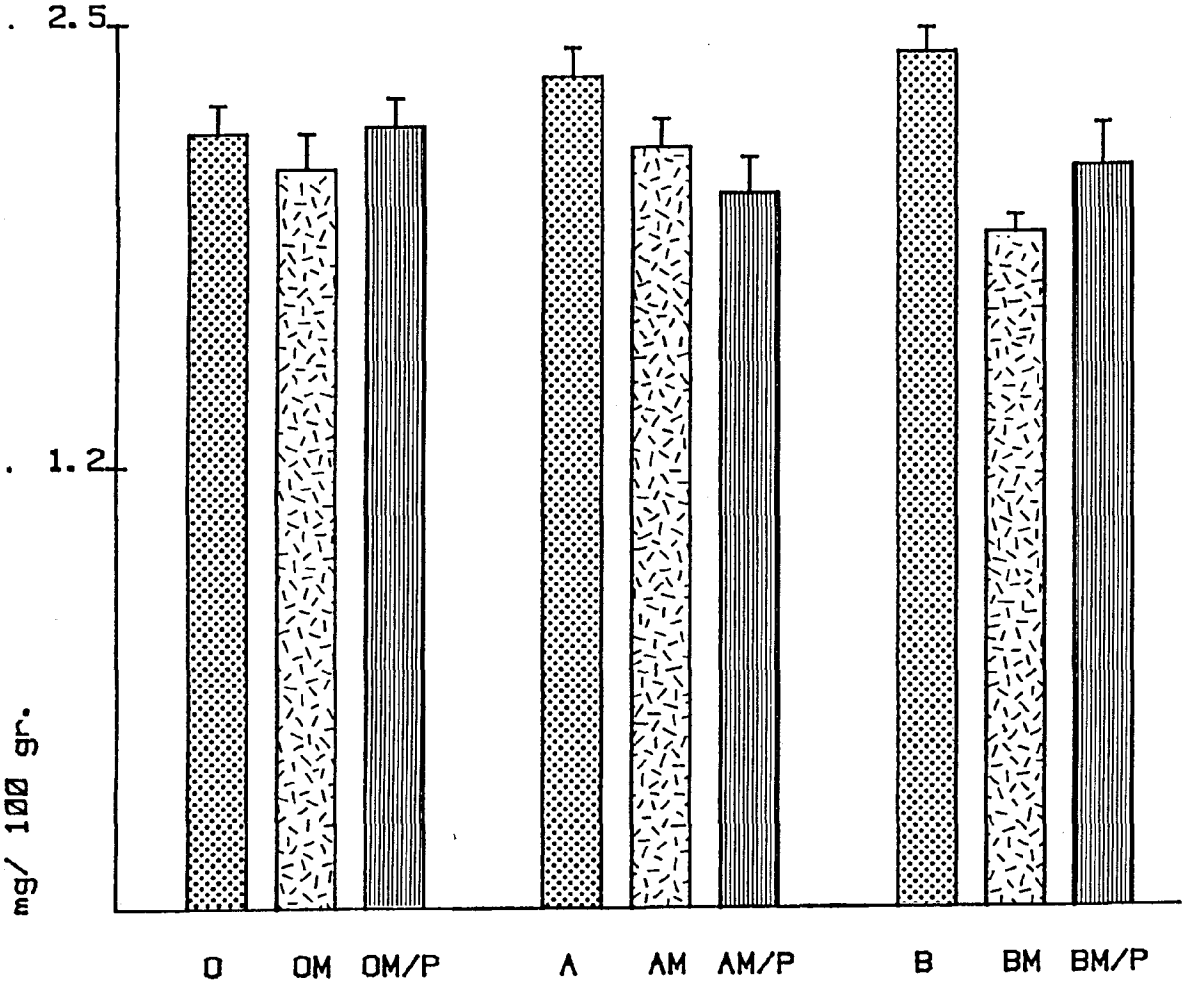


Fig.VI-III-4. Peso Relativo de Adenohipófisis.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; OM/P; A; AM; AM/P; B; BM; BM/P	8	78'	3.09	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Limites interv. confianza P= 0.05
O;BM	2.746	16	0.02	12.78	2.91 - 22.66
A;AM/P	2.567	17	0.02	14.04	2.50 - 25.58
B;BM	5.414	17	0.001	21.07	12.86 - 29.28
B;BM/P	2.322	18	0.05	13.22	1.26 - 25.19

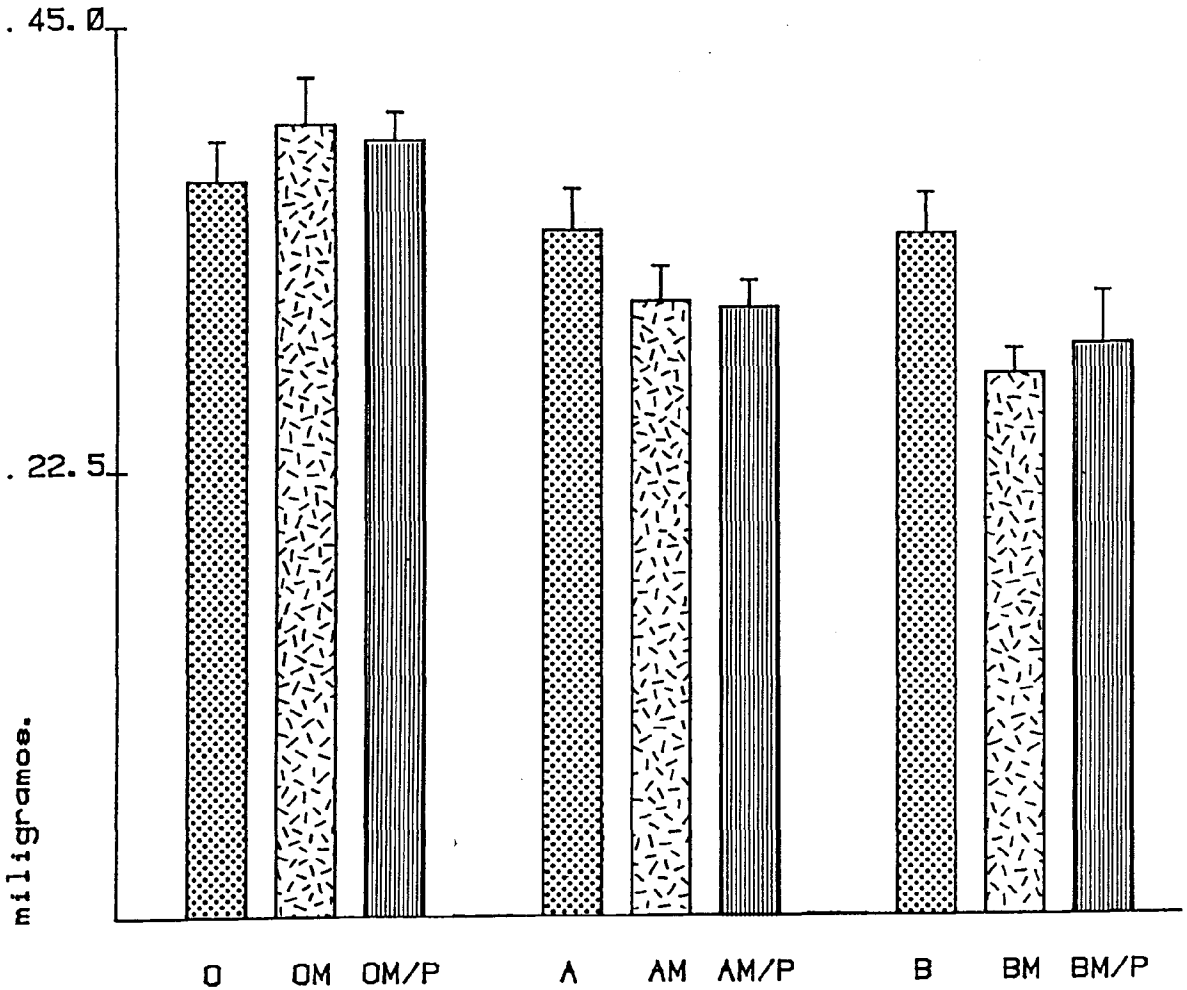


Fig. VI-III-5 Pesos Absolutos de Adrenales

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; OM/P; A; AM; AM/P; B; BM; BM/P	8	73	5.57	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-AM	2.279	16	0.05	16.36	1.14 - 31.60
O-AM/P	2.691	17	0.02	17.23	3.72 - 30.73
O-BM	4.096	16	0.001	26.22	12.65 - 39.78
O-BM/P	2.459	16	0.005	22.23	3.06 - 41.40
B-BM	2.951	16	0.01	20.50	5.77 - 35.23

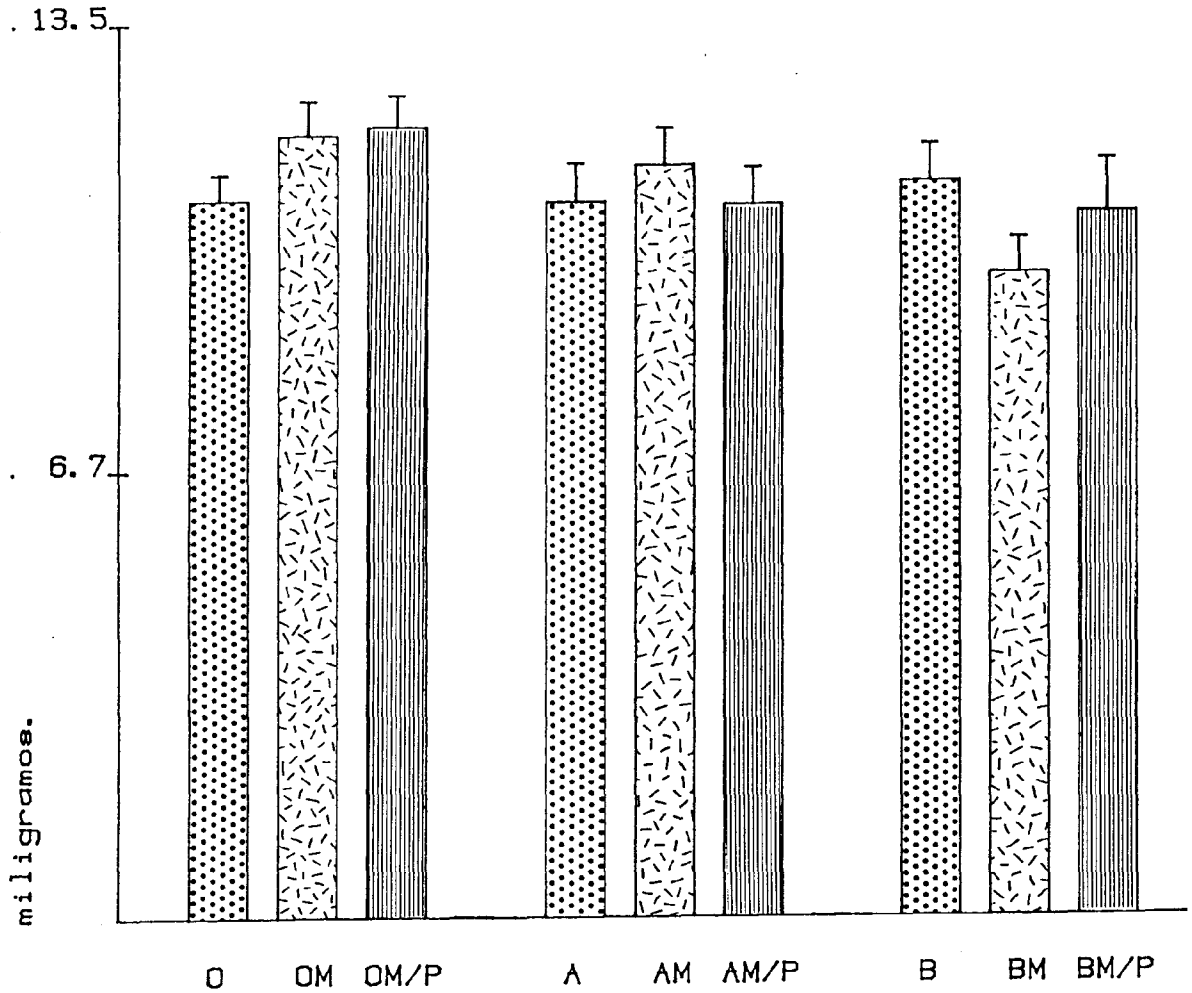


Fig. VI-III-6. Pesos Relativos de Adrenales

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; OM/P; A; AM; AM/P; B; BM; BM/P	8	73	1.39	N.S.

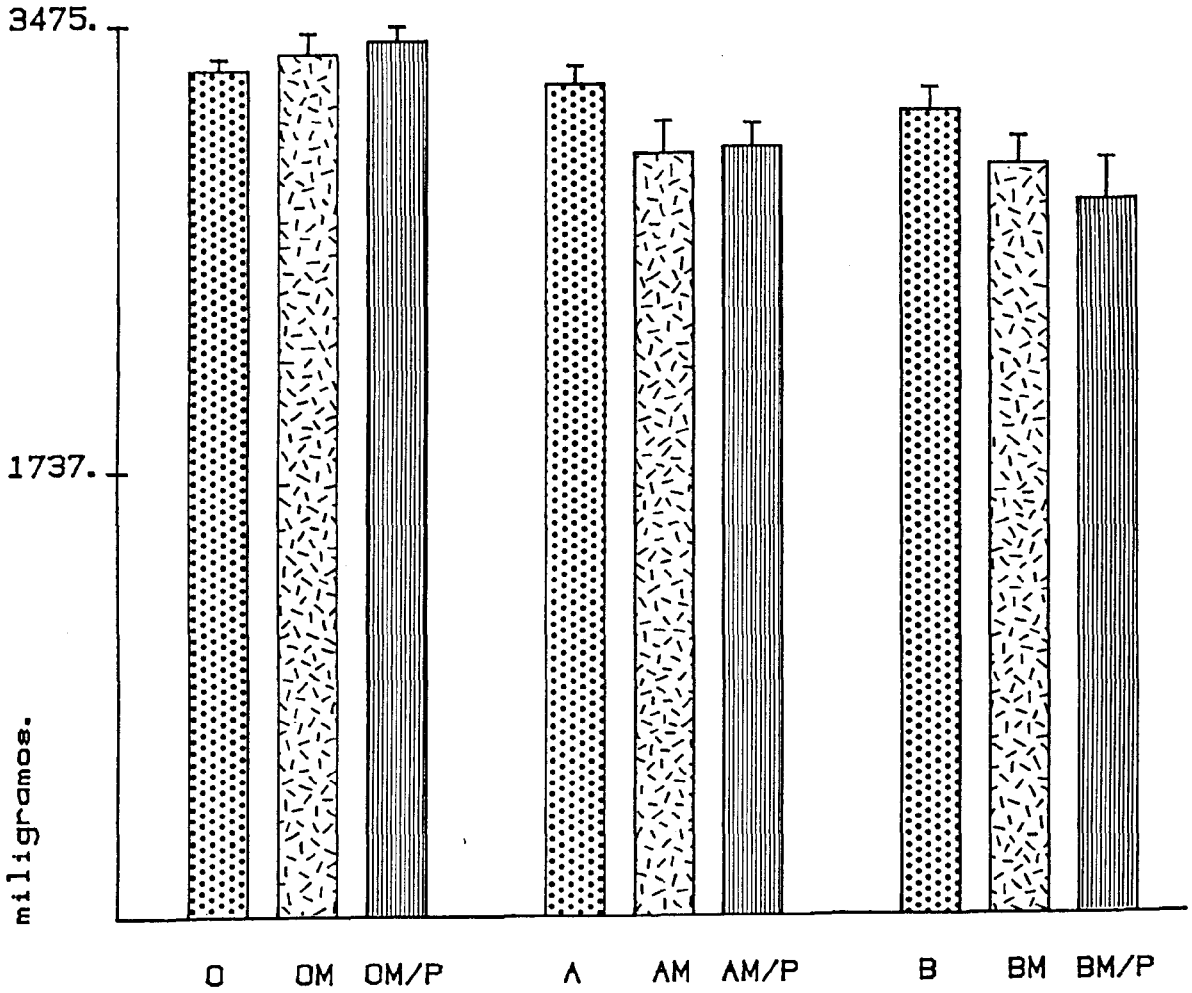
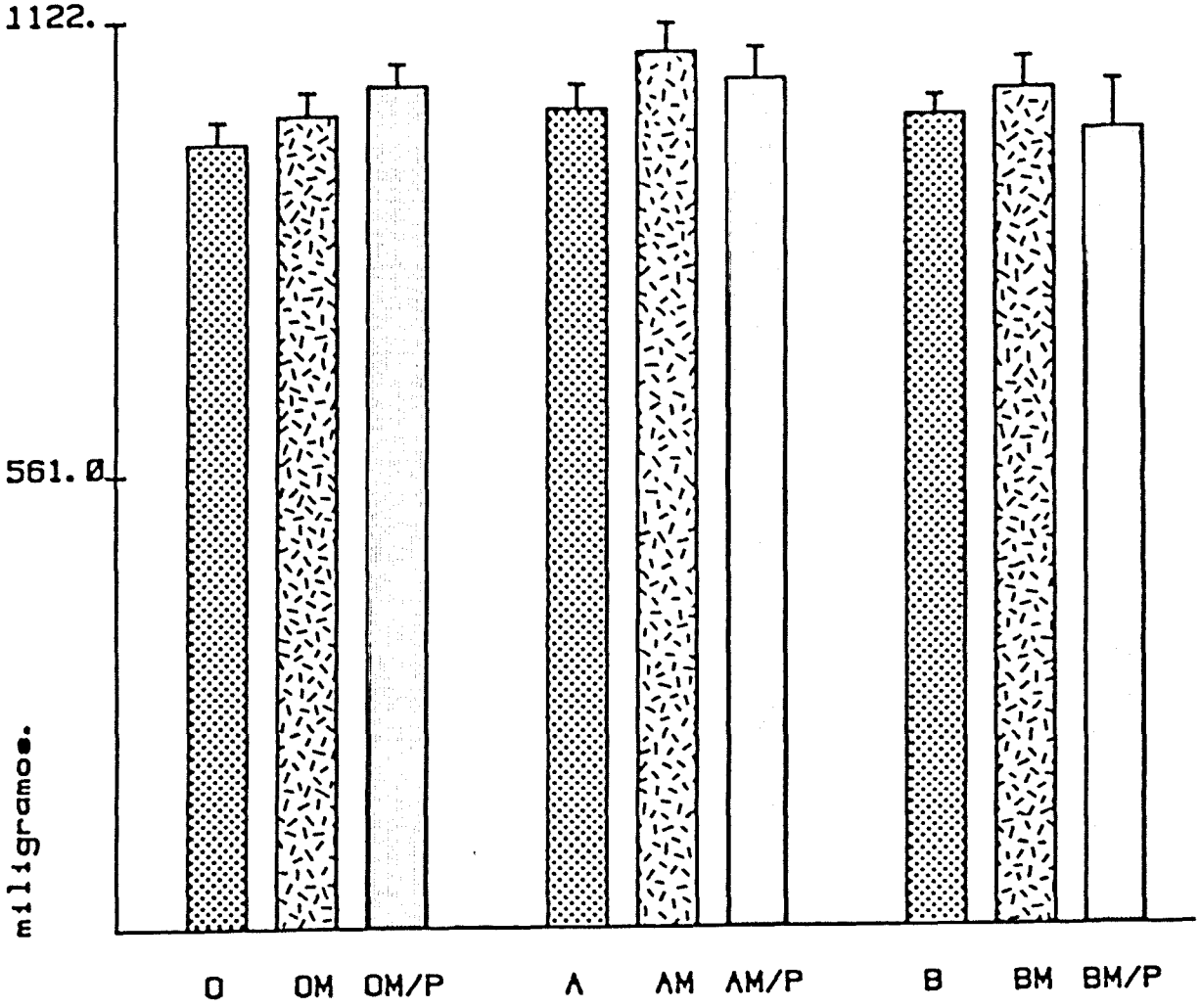


Fig. VI-III-7. Pesos Absolutos de Testículos

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; OM/P; A; AM; AM/P; B; BM; BM/P	8	78	4.83	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Limites interv. confianza P=0.05
O;AM	2.305	17	0.05	9.74	0.82 - 18.66
O;AM/P	2.785	17	0.02	8.95	2.17 - 15.63
O;BM	3.090	16	0.01	11.23	3.53 - 18.93
O;BM/P	2.999	16	0.01	15.43	4.52 - 26.33



ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; OM/P; A; AM AM/P; B; BM; BM/P	8	77	1.18	N.S.

Fig. VI-III-8. Pesos Relativos de Testículos

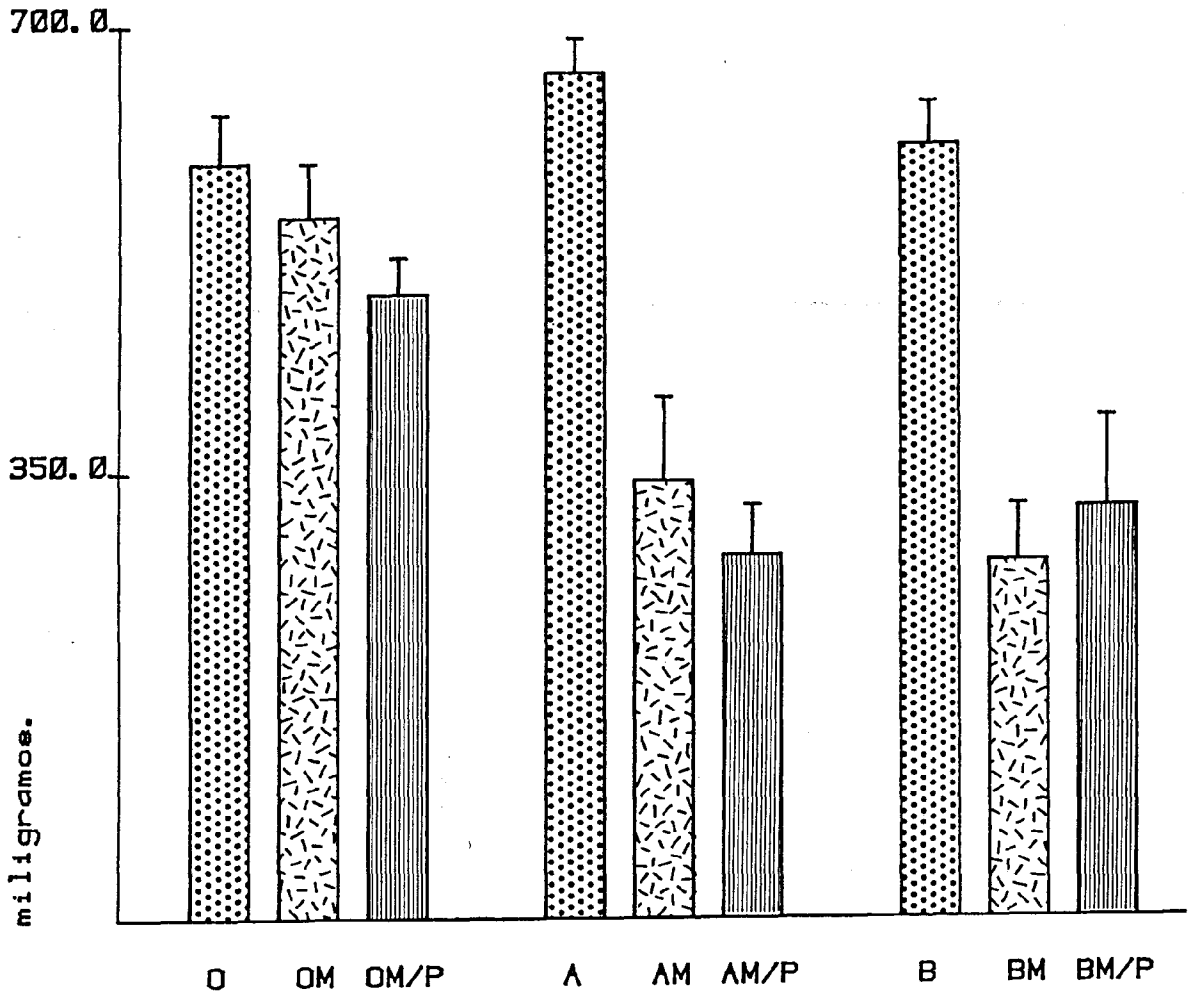


Fig. VI-III-9. Pesos Absolutos de Vesículas Seminales

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; OM/P; A; AM; AM/P; B; BM; BM/P	8	78	9.87	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Limites interv. confianza P=0.05
O;OM/P	2.122	17	0.05	17.28	0.10 - 34.47
O;AM	3.181	17	0.01	41.84	14.08 - 69.59
O;AM/P	5.434	17	0.001	51.82	37.70 - 71.93
O;BM	5.203	16	0.001	52.52	31.12 - 73.92
O;BM/P	3.321	16	0.005	45.27	16.37 - 74.16
A;AM	4.546	18	0.001	48.13	25.88 - 70.37
A;AM/P	7.787	18	0.001	57.02	41.64 - 74.40
B;BM	5.949	17	0.001	53.77	34.70 - 72.84
B;BM/P	3.788	17	0.005	46.71	20.73 - 72.79

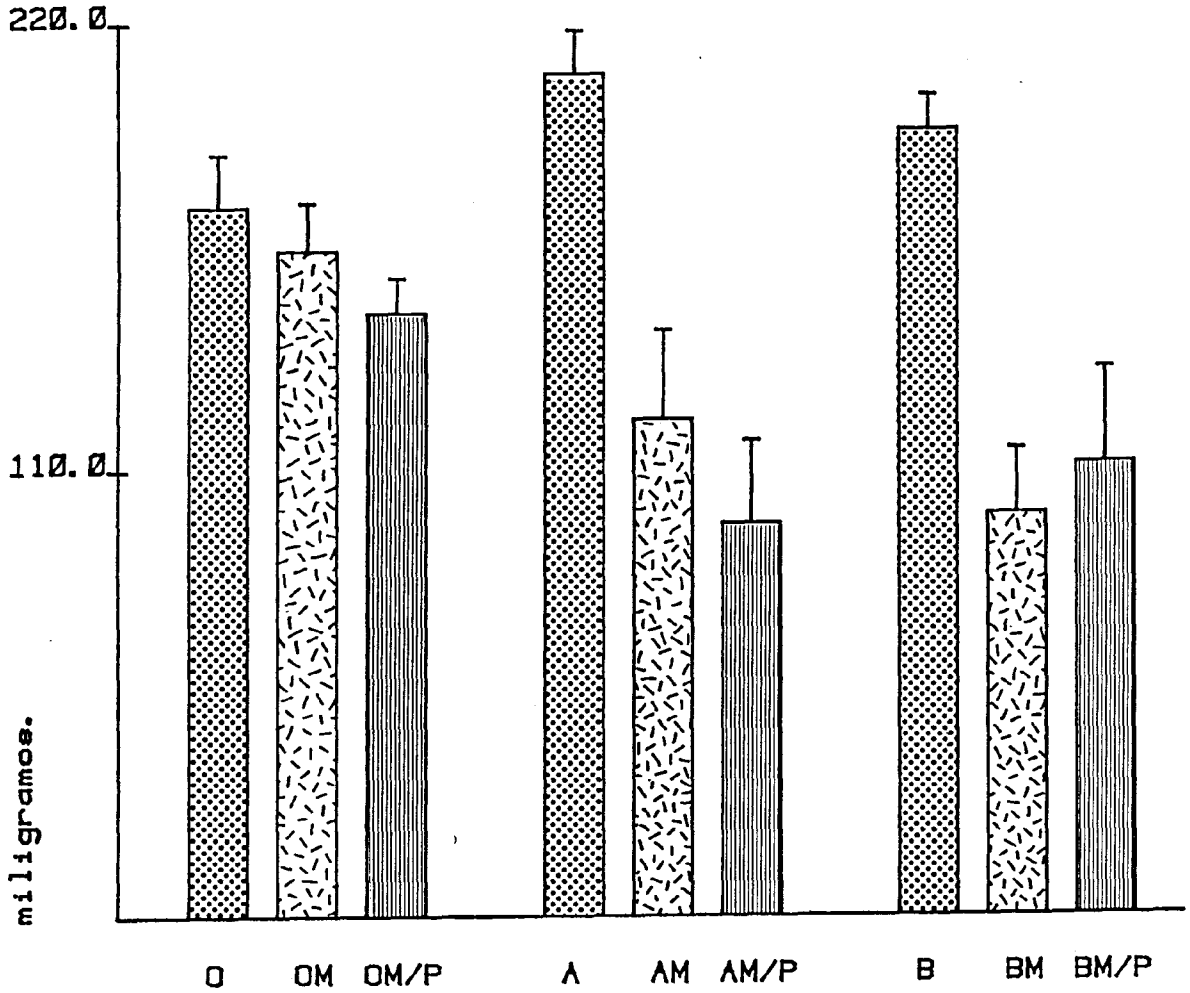


Fig. VI-III-10. Pesos Relativos de Vesículas Seminales

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; OM/P; A; AM AM/P; B; BM; BM/P	8	78	6.91	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Intervalo de confianza para P = 0.05
O;AM/P	3.142	17	0.01	44.52	14.62 - 74.41
O;BM	3.666	16	0.01	43.06	18.61 - 67.95
O;BM/P	2.345	16	0.05	35.94	3.46 - 68.41
A;AM	3.500	18	0.005	40.98	16.38 - 65.58
A;AM/P	4.812	18	0.001	53.35	30.05 - 76.63
B;BM	5.379	17	0.001	48.67	29.58 - 67.77
B;BM/P	3.425	17	0.005	42.26	16.23 - 68.28

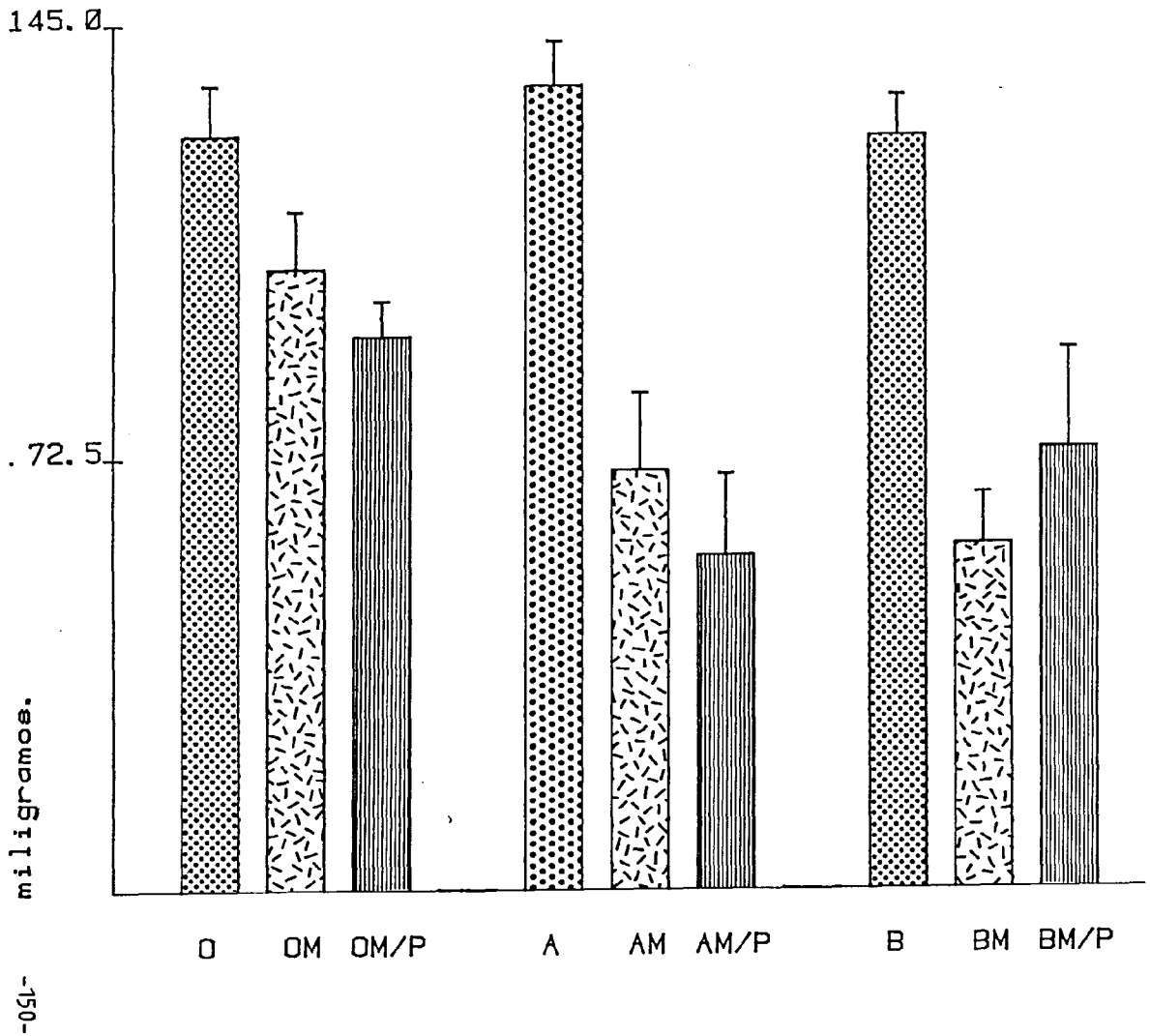


Fig. VI-III-11. Pesos Absolutos de Gl. de Coagulación

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; OM/P; A; AM; AM/P; B; BM; BM/P	8	76	8.69	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Limites interv. confianza P=0.05
O;OM/P	3.311	16	0.005	26.68	9.60 - 43.76
O;AM	3.672	16	0.005	44.31	18.73 - 69.89
O;AM/P	4.279	17	0.001	55.61	28.19 - 83.03
O;BM	5.697	16	0.001	54.16	34.00 - 74.31
O;BM/P	2.820	16	0.02	41.44	10.29 - 72.59
A;AM	4.427	16	0.001	47.73	24.99 - 70.48
A;AM/P	5.030	18	0.001	58.34	33.97 - 82.70
B;BM	6.281	17	0.001	54.15	35.96 - 72.34
B;BM/P	3.033	17	0.001	41.43	12.61 - 70.25

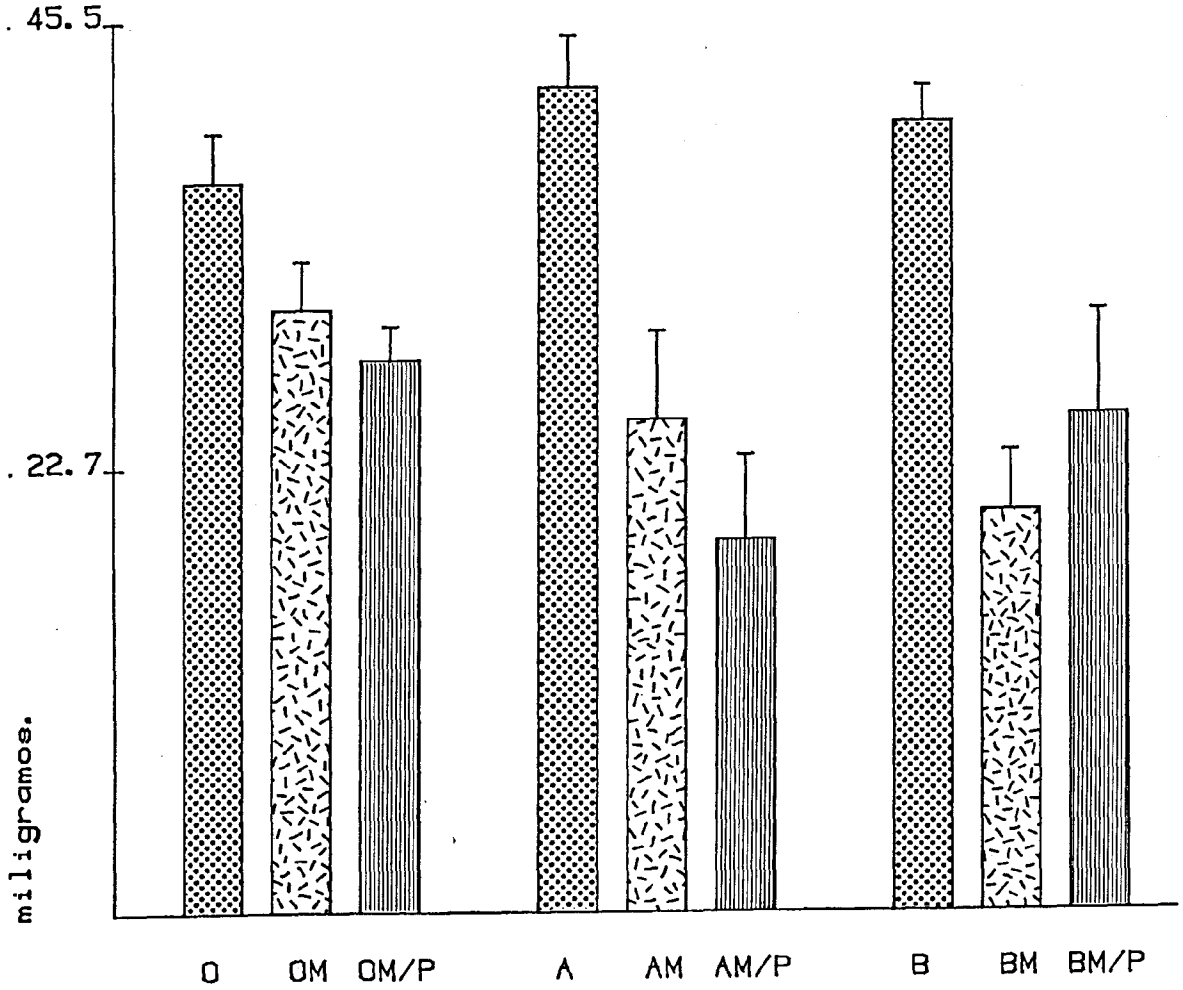


Fig. VI-III-12. Pesos Relativos de Gl. de Coagulación

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; OM/P; A; AM AM/P; B; BM; BM/P	8	76	6.46	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Intervalo de confianza para P = 0.05
O;OM/P	2.946	16	0.01	24.27	6.80 - 41.73
O;AM	2.352	16	0.05	32.41	3.20 - 61.61
O;AM/P	3.528	17	0.005	48.87	19.65 - 78.09
O;BM	14.160	16	0.001	73.47	62.47 - 84.47
A;AM	3.355	17	0.005	40.24	14.93 - 65.54
A;AM/P	4.563	18	0.001	54.79	21.56 - 80.08
B;BM	5.665	17	0.001	49.23	30.89 - 67.56
B;BM/P	2.761	17	0.02	35.99	8.62 - 65.25

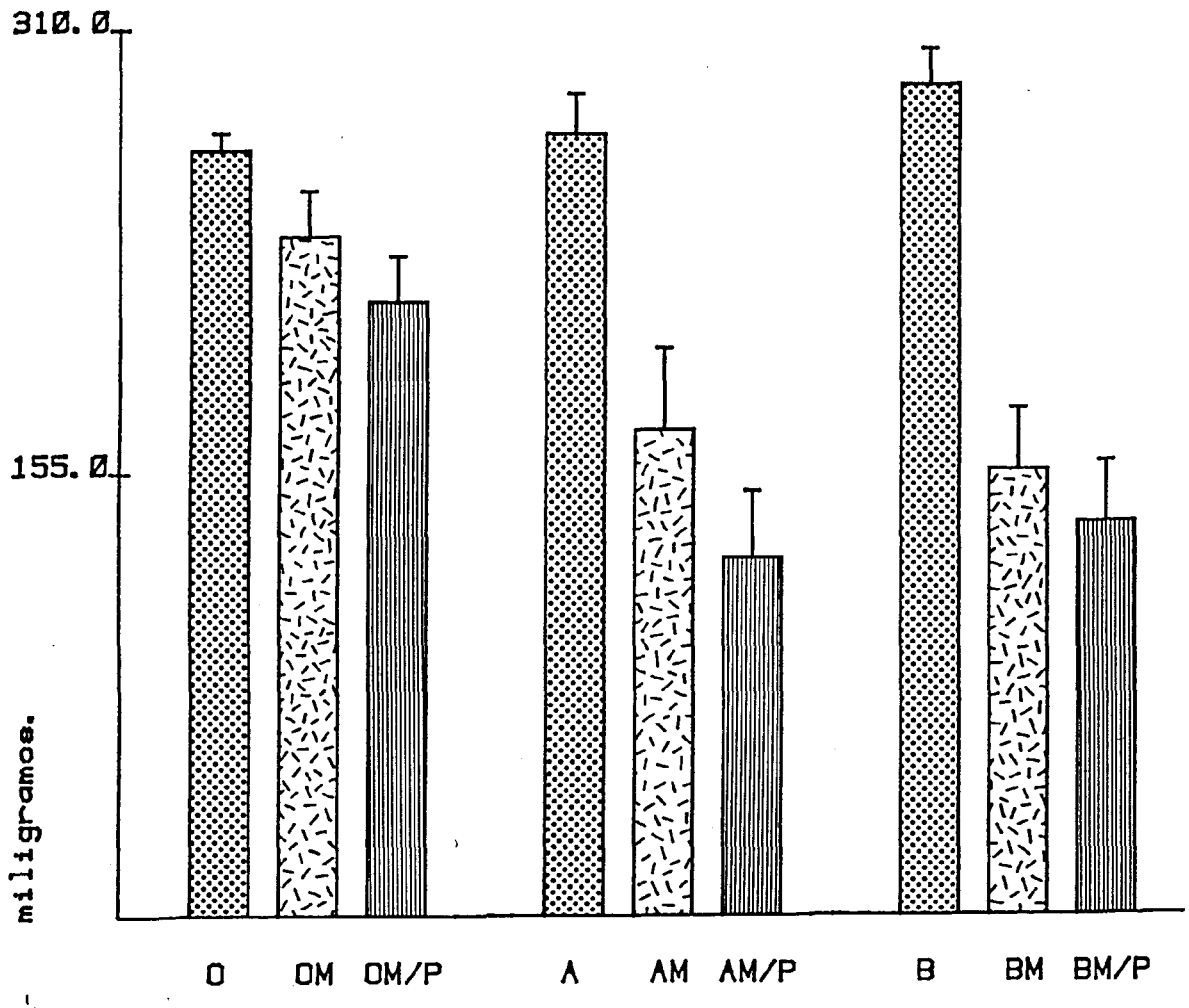


Fig.VI-III-13. Peso Absoluto de Próstatas.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; OM/P; A; AM; AM/P; B; BM; BM/P	8	78	10.74	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Limites interv. confianza P=0.05
O;OM/P	3.001	17	0.01	19.80	5.88 - 33.72
O;AM	3.217	17	0.01	36.43	12.54 - 60.32
O;AM/P	5.661	17	0.001	53.11	33.32 - 72.90
O;BM	5.008	16	0.001	41.61	23.99 - 59.22
O;BM/P	5.920	16	0.001	48.40	31.07 - 65.72
A;AM	3.173	17	0.01	37.78	12.66 - 62.90
A;AM/P	5.325	17	0.001	54.11	32.67 - 75.54
B;BM	5.391	16	0.001	46.22	28.04 - 64.39
B;BM/P	6.202	16	0.001	54.47	34.56 - 70.40

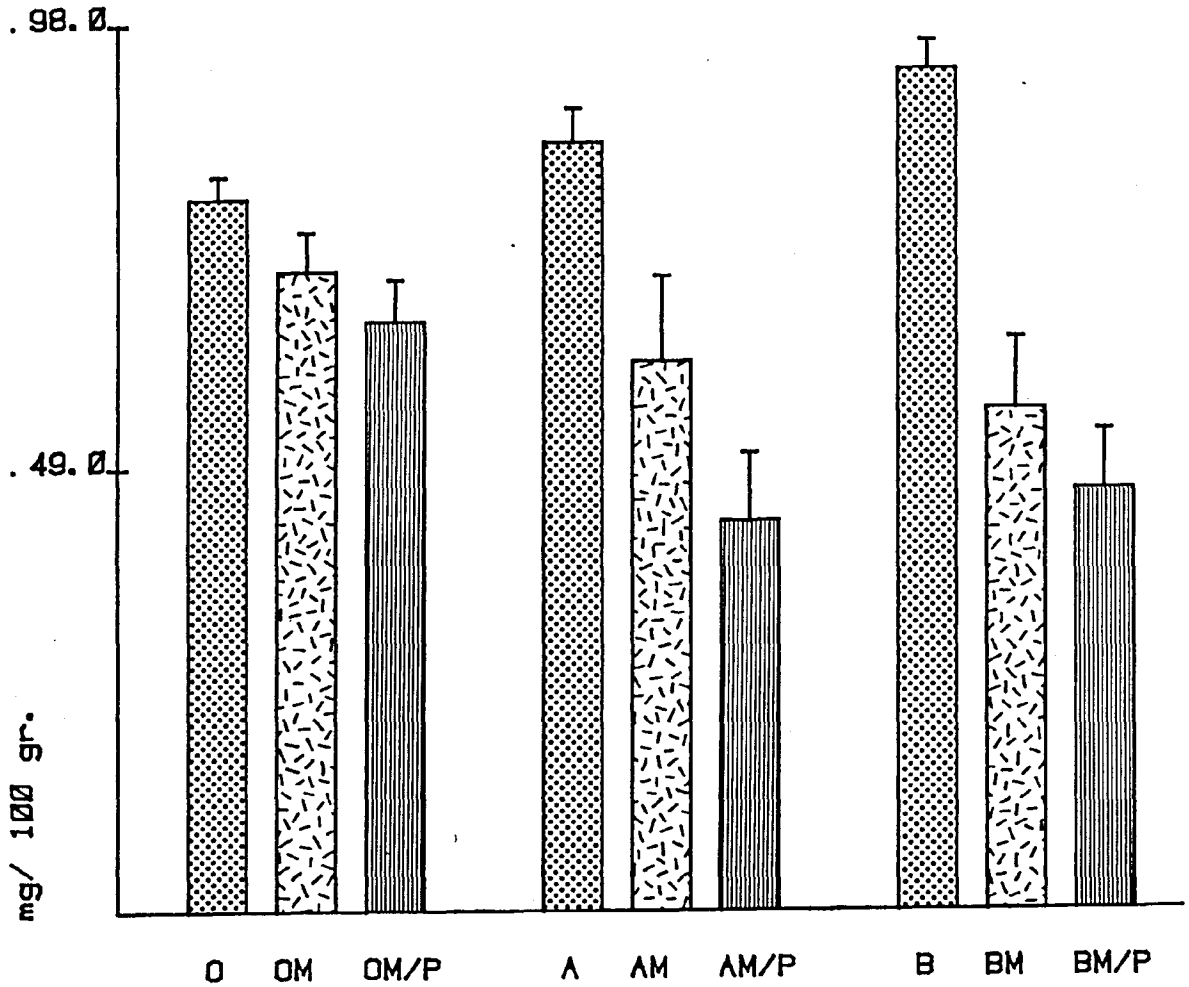


Fig.VI-III-14 Peso Relativo de Próstatas.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; OM/P; A; AM; AM/P; B; BM; BM/P	8	78	10.74	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O;B	3.524	16	0.005	15.39	6.13 - 24.64
O;OM/P	2.533	17	0.025	17.22	2.88 - 31.56
O;AM/P	4.320	17	0.001	45.15	23.10 - 67.20
O;BM	2.835	16	0.02	29.44	7.43 - 51.46
O;BM/P	4.686	16	0.001	40.72	22.30 - 59.14
A;AM	2.302	17	0.05	28.48	2.38 - 54.59
A;AM/P	4.824	17	0.001	49.18	27.69 - 70.68
B;BM	4.441	16	0.001	40.30	21.06 - 59.54
B;BM/P	6.338	16	0.001	48.76	32.45 - 65.07

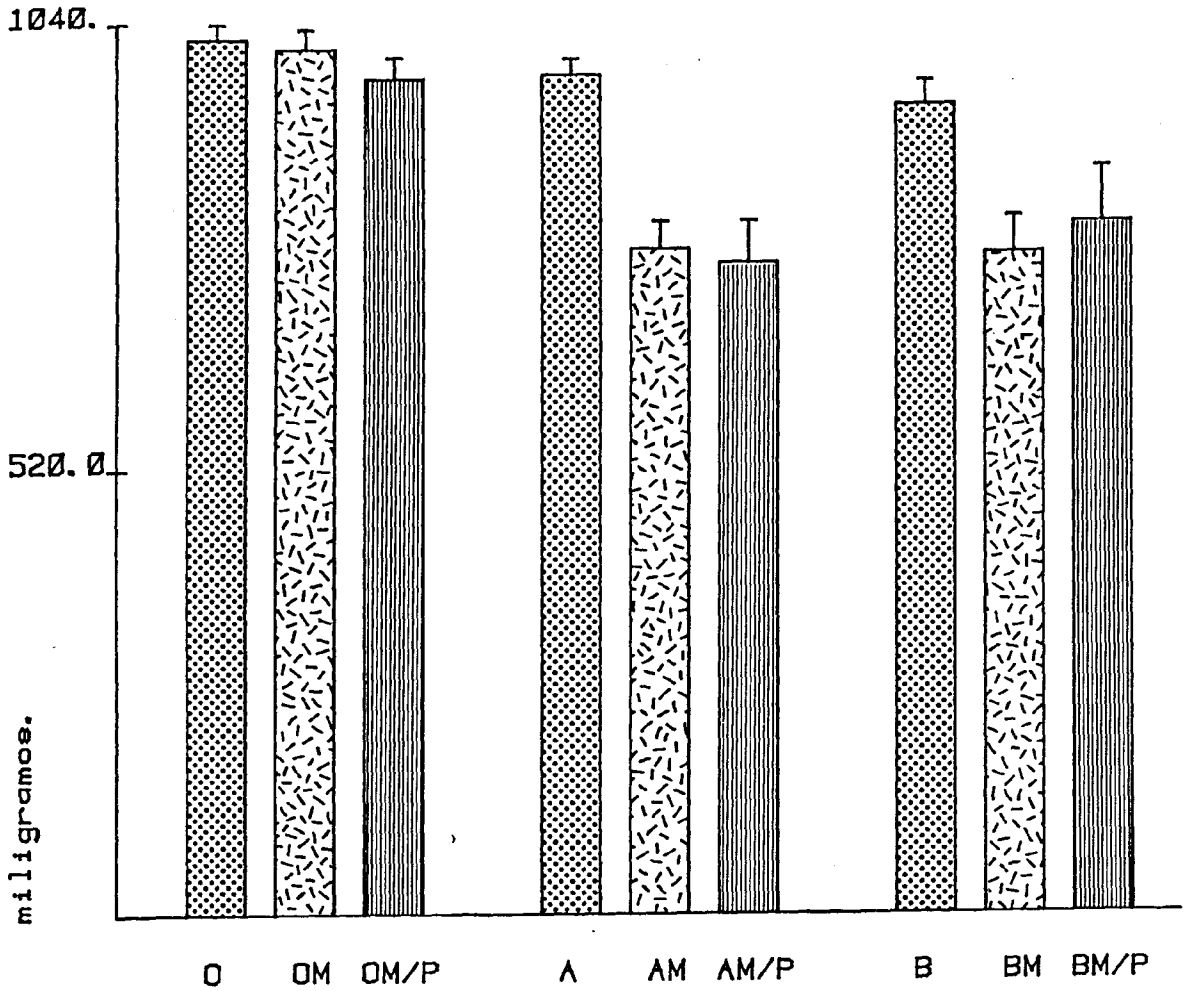
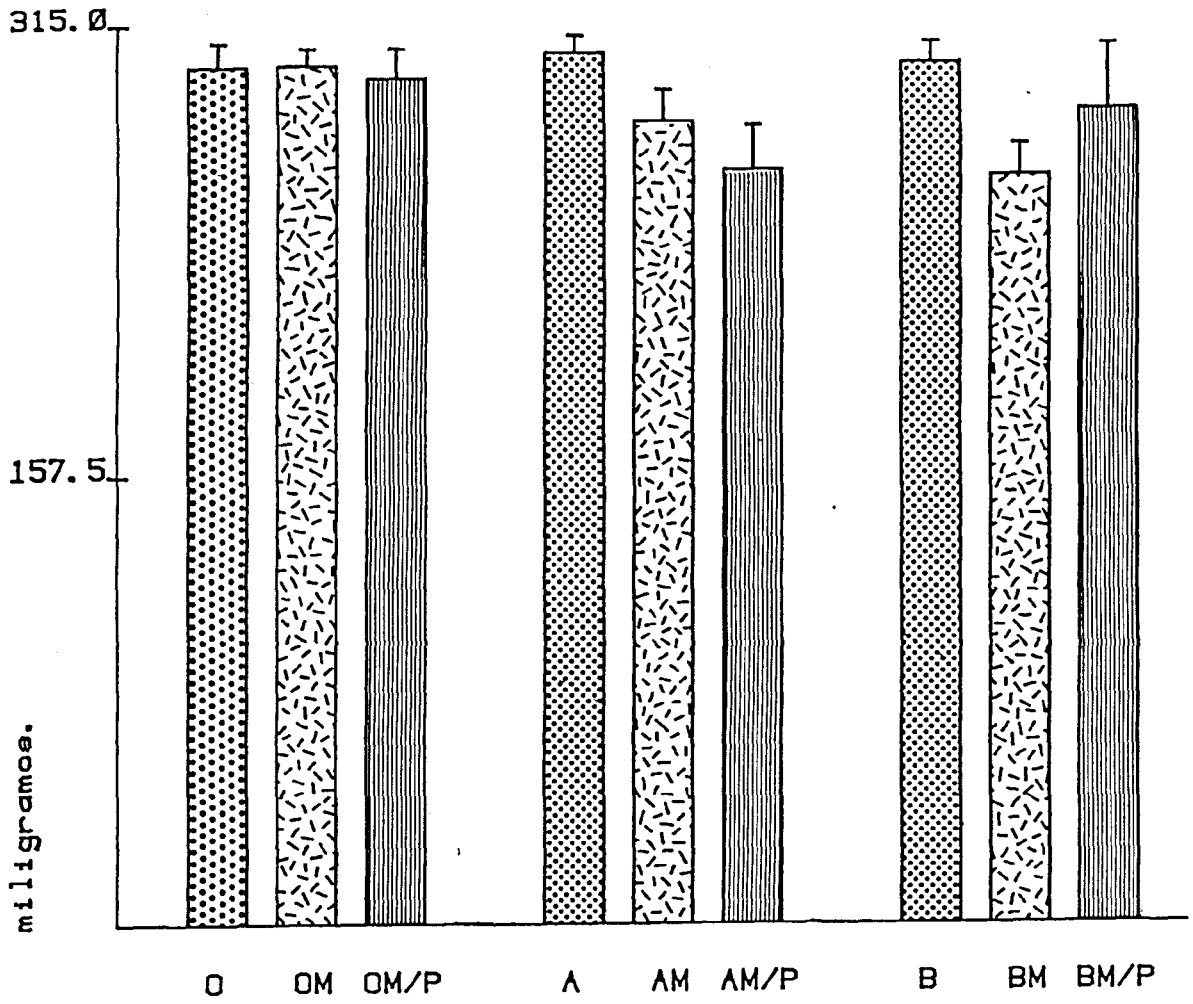


Fig. VI-III-15. Pesos Absolutos Epididimos + C. Deferentes

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; OM/P; A; AM; AM/P; B; BM; BM/P	8	78	8.24	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Limites interv. confianza P=0.05
O;B	2.228	17	0.05	7.44	0.39 - 14.49
O;AM	4.262	17	0.001	24.07	12.18 - 35.95
O;AM/P	4.781	17	0.001	25.63	14.32 - 36.94
O;BM	5.438	16	0.001	24.44	14.91 - 33.97
O;BM/P	3.212	16	0.001	20.84	7.08 - 34.59
A;AM	3.670	18	0.005	20.81	8.90 - 32.73
A;AM/P	4.152	18	0.001	22.44	11.09 - 33.08
B;BM	3.420	17	0.005	18.28	7.00 - 29.56



ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; OM/P; A; AM; AM/P; B; BM; BM/P	8	78	1.63	N.S.

Fig. VI-III-16. Pesos Relativos Epidídimos + C. Deferentes

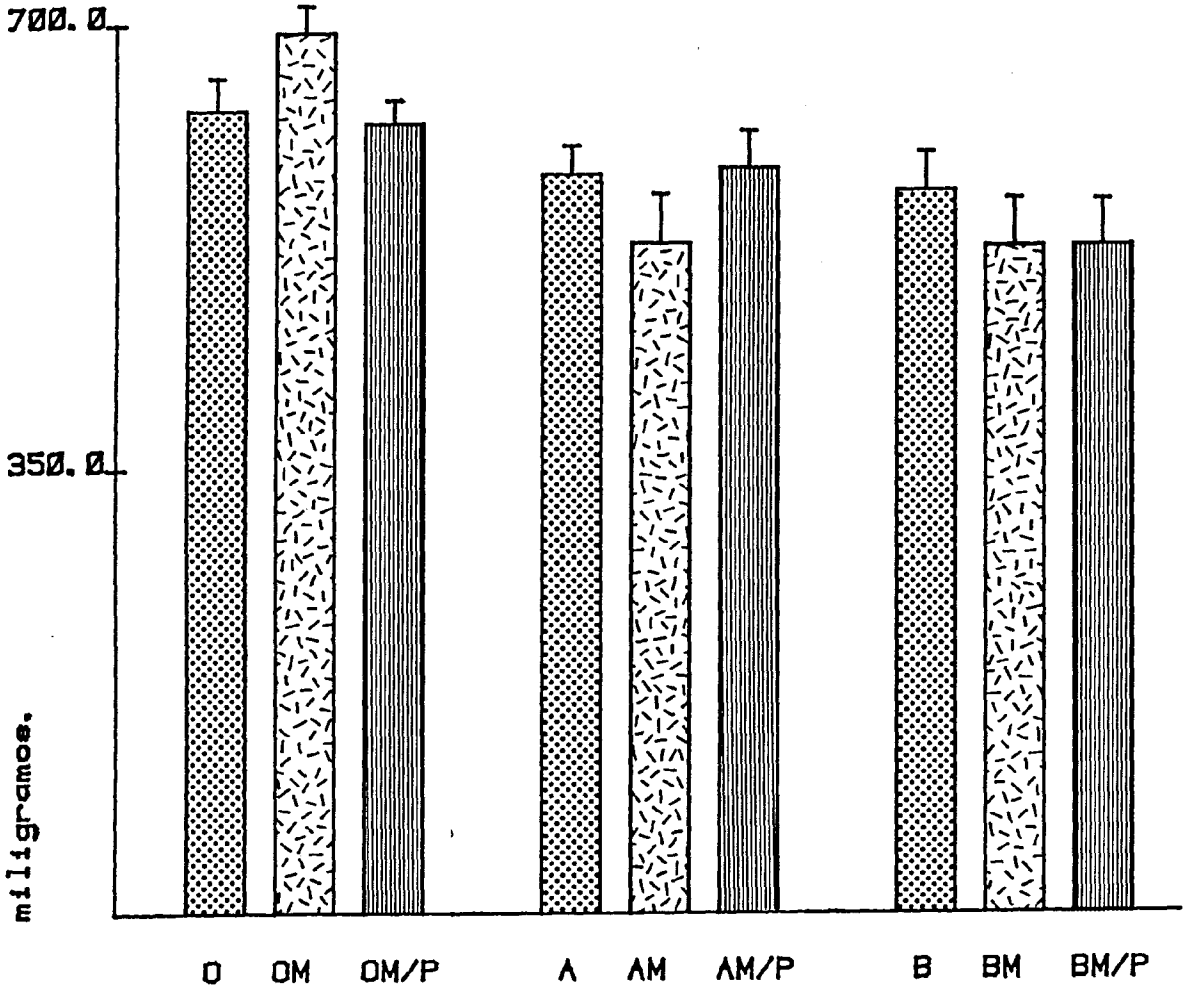


Fig.VI-III-17. Peso Absoluto de Bazos.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; OM/P; A; AM; AM/P; B; BM; BM/P	8	78	4.39	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-AM	2.215	17	0.05	16.51	0.78 - 32.23
O-BM	2.342	16	0.05	16.75	1.59 - 31.92
O-BM/P	2.400	16	0.05	16.70	1.94 - 31.26

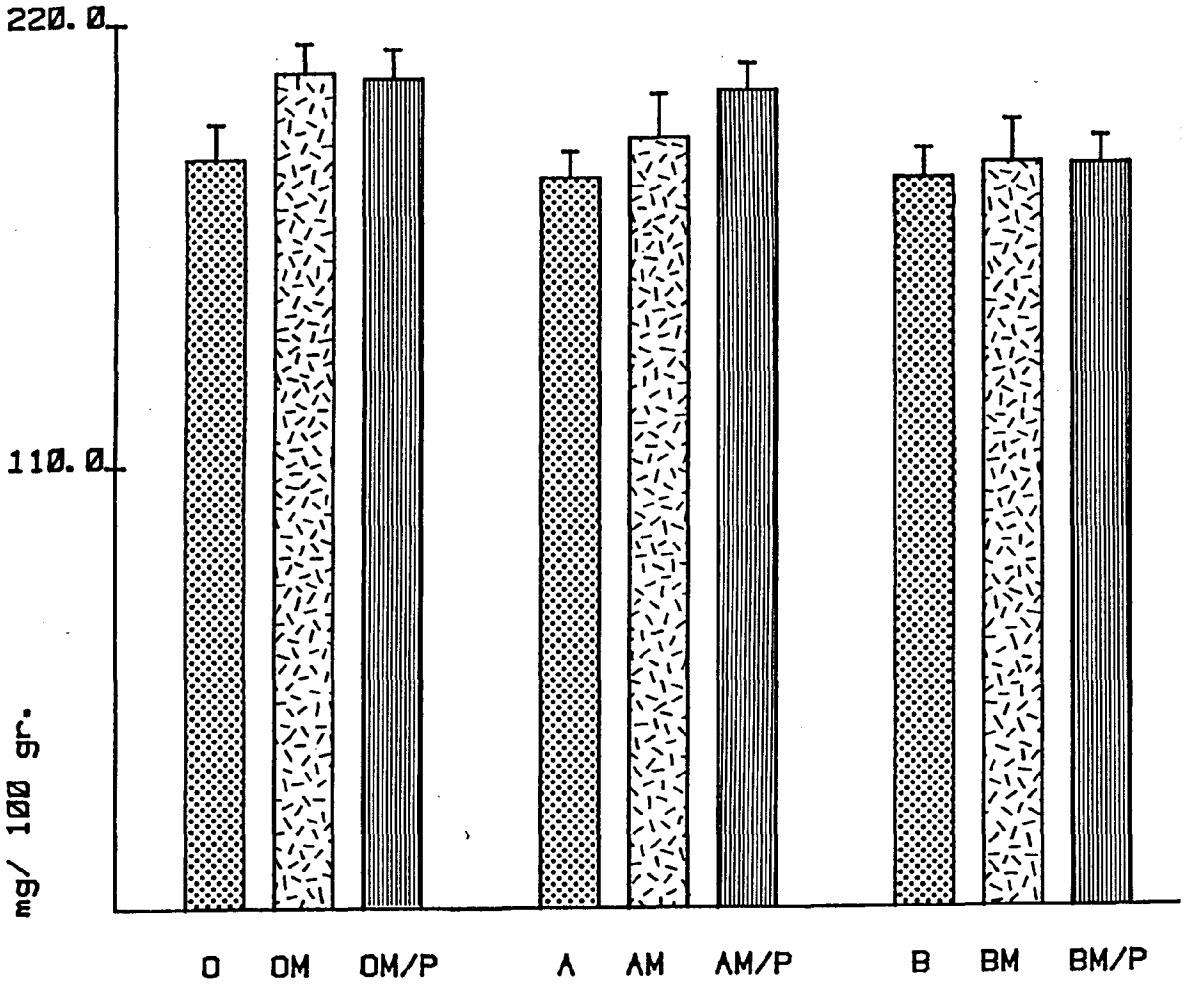


Fig.VI-III-18. Peso Relativo de Bazos.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; OM/P; A; AM; AM/P; B; BM; BM/P;	8	78	1.79	N.S.

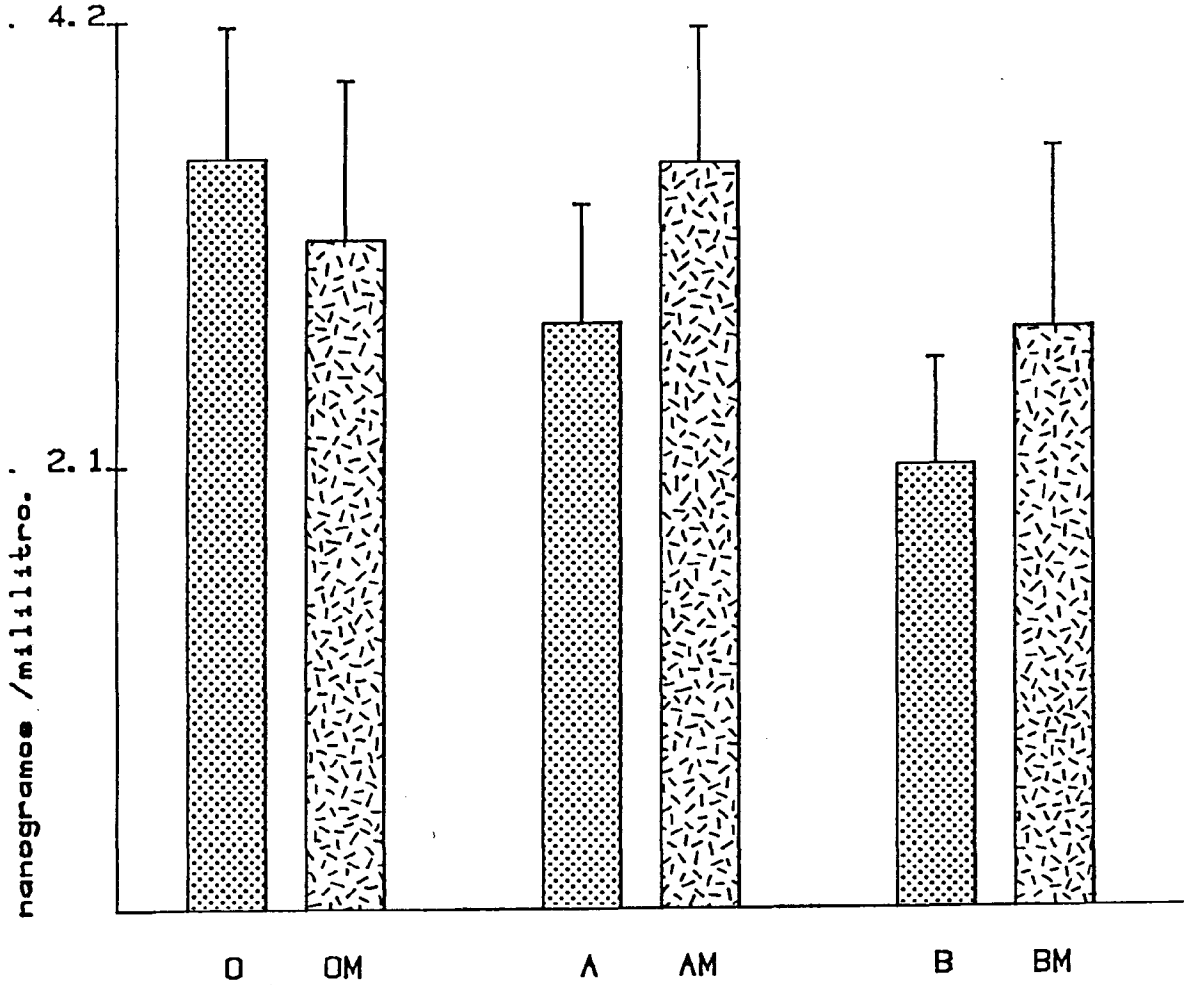


Fig. VI-III-19. Testosterona Sérica.

NIVELES SERICOS DE TESTOSTERONA ngr/ml	X ± ESM	(n)		X ± ESM	(n)
Grupo O	3.55 ± 0.62	(8)	Grupo OM	3.17 ± 0.75	(10)
Grupo A	2.77 ± 0.56	(9)	Grupo AM	3.53 ± 0.64	(9)
Grupo B	2.10 ± 0.76	(10)	Grupo BM	2.75 ± 0.86	(7)

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OM; A; AM; B; BM	5	47	0.71	N.S.

VI.4. RESULTADOS DE LA SERIE IV.

La tabla VI-IV-1 resume los resultados obtenidos en esta serie.

VI.4.1. Peso Corporal .- (Fig. VI-IV-2). La sección de los nervios vómeronasales, no supuso modificación alguna en el incremento de peso corporal (O vs VNX, P=N.S.). La ceguera sí que redujo el incremento ponderal, con respecto a los controles(O vs E, P<0.001).

En la asociación de ceguera+vomeronasalectomía, no aparecen más efectos que los descritos con la enucleación óptica (O vs Evnx, P<0.001; E vs Evnx, P=N.S.).

La asociación de anosmia+ceguera, mostró los mismos resultados que en las series anteriores, es decir, un menor incremento ponderal que los controles (O vs EA, P<0.001); la diferencia fue de casi un 55% del incremento de peso de los O. También fué inferior al de los E, VNX, Evnx y ESvnx, en todos los casos con una P<0.001.

No hallamos diferencias entre las E y las ESvnx.

VI.4.2. Peso de la Adenohipófisis .- (Figs. VI-IV-3 y VI-IV-4). Los animales VNX, no mostraron diferencias significativas con respecto a los animales intactos. Tampoco existieron diferencias significativas entre los grupos E, Evnx, ESvnx, pero sí entre ellos y los intactos (O vs E, P<0.005; O vs Evnx, P<0.001; O vs ESvnx, P< 0.001 en pesos absolutos); en cuanto a pesos relativos, estas diferencias se limitan a los ESvnx (P<0.005).

La asociación de ceguera y anosmia, provocó una marcada disminución de los pesos absolutos, estableciéndose diferencias significativas con todos los demás grupos con un nivel de P<0.001 ; en cuanto a los pesos relativos, estas diferencias se establecen sólo con los E (P<0.005), los VNX (P<0.01) y los O (P<0.001).

VI.4. 3. Peso de Adrenales .- (Figs. VI-IV-5 y VI-IV-6). Las adrenales de los animales ciegos y de los vómeronasalectomizados, fueron significativamente meno-

res, que las de los intactos, tanto en peso absoluto (O vs E, P<0.001; O vs VNX, P< 0.01), como en relativo (O vs E, P<0.05; O vs Evnx, P<0.01).

La asociación de ceguera y vomeronasalectomía, produjo también reducciones significativas con respecto a los controles, pero sólo a nivel de pesos absolutos (P 0.05).

No hallamos diferencias significativas entre los grupos E, Evnx, y ESvnx.

Los animales EA mostraron una reducción ponderal, con respecto a todos los demas grupos, en pesos relativos (EA vs O, E y VNX, P<0.001; EA vs Evnx, P<0.005 y EA vs ESvnx, P<0.01) , en cuanto a pesos absolutos, las diferencias se establecieron sólo con respecto a O (P<0.001), E (P<0.05), VNX (P<0.02) y ESvnx (P<0.02).

VI.4.4. Peso de Gónadas .- (Figs. VI-IV-7 y VI-IV-8). Ni la ceguera, ni la VNX, modificaron los pesos absolutos con respecto a los O, siendo los relativo superiores a éstos últimos, aunque sólo en el caso de los E, las diferencias fueron estadísticamente significativas (Ovs E, P 0.005). Cuando ambas maniobras se asociaron (Evnx), se mantuvieron las diferencias con respecto a los intactos (O vs Evnx, P<0.05 en p. abs. y rel.), pero no aparecieron frente a los E, y frente a los VNX, se limitaron a pesos absolutos (Evnx vs VNX, P<0.02).

Los ESvnx, como era previsible, no fueron distintos de los E.

Los animales con ceguera+anosmia, mostraron pesos absolutos inferiores a todos los demás grupos, con un nivel de P<0.001 . Sin embargo, al considerar los pesos relativos, las diferencias se limitan a las E (P<0.05) y a las Evnx (P<0.05).

VI.4.5. Peso de Vesículas Seminales .- (Figs. VI-IV-9 y VI-IV-10) . La vomeronasalectomía, careció de efectos sobre pesos absolutos y relativos, en relación a los intactos.

Los grupos E, Evnx y ESvnx, no mostraron diferencias entre si, pero en todos los casos, fueron inferiores a los controles en peso absoluto (P<0.001) y en relativo (O vs E, y O vs ESvnx, P<0.001; O vs Evnx, P<0.01)

En los animales EA, las v. seminales aparecieron prácticamente atrofiadas,

sus pesos absolutos y relativos fueron, por supuesto, significativamente más bajos que en todos los demas grupos, con una P<0.001 .

VI.4.6. Peso de las Glándulas de Coagulación .- (Figs. VI-IV-11 y VI-IV-12). Los resultados fueron prácticamente superponibles a los relatados para las v. seminales. La sección de los n. vómeronasales, no modificó los pesos absolutos y relativos, con respecto a los controles intactos.

No hallamos diferencias entre los grupos E, Evnx y ESvnx, que fueron en todos los casos inferiores a los controles, tanto en valores absolutos, como en relativos, siendo el nivel de P<0.001, con la excepción de ESvnx (P<0.005, en pesos absolutos).

La asociación de ceguera+anosmia, provocó la atrofia de estos órganos, que en todos los casos fueron significativamente más bajos, en pesos absolutos y relativos, que los controles, siendo la P<0.001 .

VI.4.7. Peso de las Próstatas Ventrales .- (Figs. VI-IV-13 y VI-IV-14). La ceguera, por sí sola, provocó una disminución significativa con relación a los animales intactos, tanto el peso absoluto (P<0.001), como en relativo (P<0.005).

Los animales ESvnx fueron semejantes a los E, estableciendo igualmente diferencias significativas con los controles, en peso absoluto (0.001), pero en peso relativo, pese a ser inferior a los controles, el nivel de significación fue de P=0.051..

No existieron diferencias entre los grupos E,Evnx, y ESvnx.

Los animales del grupo EA, al igual que en los casos anteriores, experimentaron reducciones de peso con respecto a los demás grupos, tanto en valores absolutos como en relativos, y en todos los casos con una P<0.001 .

VI.4.8. Peso de Epididimos y Conductos Deferentes .- (Figs. VI-IV-15 y VI-IV-16). La ceguera, por sí sola, redujo significativamente los pesos absolutos (P<0.005), pero no los relativos, con respecto a los controles.

La vomeronasalectomía, careció de efectos por sí sola; asociada con la la ceguera (Evnx), provocó la reducción de pesos absolutos (O vs Evnx, P 0.05), pero no de los relativos. No se establecieron diferencias entre los grupos E, Evnx y ESvnx.

Los pesos de las EA, fueron inferiores a los del resto de los grupos, en valores absolutos (P<0.001 en todos los casos) y relativos (EA vs O, E, y ESvnx, P<0.001; EA vs VNX, P<0.05; EA vs Evnx, P<0.005).

VI.4.9. Peso de los Bazos .- (Figs. VI-IV-17 y VI-IV-18). En cuanto a pesos absolutos, sólo la asociación de ceguera+anosmia, tuvo efectos en relación a todos los demas grupos, que mostraron pesos superiores (EA vs O, E y Evnx, P<0.001).

En cuanto a pesos relativos, el análisis de la varianza entre los seis grupos no mostró diferencias.

VI.4.10 Estudios histológicos.-

VI.4.10.1. Control de la vomeronasalectomía.- Las fotografías VI-34,35,36 y 37, corresponden a cortes frontales (8 micras) de cabezas enteras, decalcificadas y teñidas por el método de la plata reducida, de Cajal.

En la primera de ellas, puede verse, como en la parte superior y medial de ambos bulbos, se aprecian sendas formaciones ovoideas, que corresponden a los nervios vómeronasales. En la fig. IV-36 aparecen estas mismas estructuras con mayor detalle. En ambos casos se trata de una preparación sobre rata intacta.

En las fotografías IV-35 y IV-37, correspondientes a un animal con sección de los n. vómeronasales mediante electrocoagulación, puede verse como la imagen de estos troncos nerviosos ha desaparecido y su lugar se halla ocupado por tejido cicatricial con fibroblastos y algunos elementos vasculares, lo que indica que la operación fue correcta.

Este estudio se llevó a cabo sobre 13 animales seleccionados al azar de entre

los grupos VNX y Evnx apreciando en 11 de los casos sección completa de ambos nervios, mientras que en dos de ellos fue incompleta, quedando restos de alguno de los troncos. Así pues, la eficacia de nuestra técnica fue de un 84% .

VI.4.10.2. Alteraciones morfológicas en gónadas.- Todas las preparaciones histológicas de testículos que mostramos (Figs. IV- 19 a 33), corresponden a cortes transversales de 6 micras, teñidos con hematoxilina-eosina.

Las fotografías IV-19 y 20, corresponden a animales control (intactos). En la primera de ellas observamos el contorno regular de los túbulos y la homogeneidad de sus diámetros. En su interior encontramos espermatogonias en distintos estadíos de maduración. La fotografía IV-20, corresponde a una visión, a mayor aumento, de uno de los túbulos de la preparación anterior y puede apreciarse como la espermatogénesis se encuentra en el estadío VII u VIII (según la clasificación de DYM y CLERMONT, 1970), observándose los distintos tipos celulares característicos de estos estadíos: espermatogonias A, espermatocitos primarios preleptoténicos y paquiténicos, gran número de espermátides en las fases 7 y 19 (estadío VII) o 8 y 19 (estadío VIII) y cuerpos residuales.

Los efectos detectados sobre las gónadas de los animales ciegos anósmicos (EA), los hemos clasificado en tres grupos, atendiendo al grado de reducción experimentado por el diámetro y luz tubulares, alteraciones del contorno tubular, grado de afectación de la espermatogénesis y aumento en el número de células de Sertoli. Por orden creciente de afectación los tres grupos son:

1.- Pequeño grado de afectación. Aparecen reflejadas en las fotografías IV-21,22,23,24,25 y 26. En todas ellas observamos, en relación a los controles, una ligera disminución del tamaño de los túbulos seminíferos; una reducción en las distancias intertubulares así como irregularidades en el contorno de los mismos. El número de espermátides posiblemente esté reducido, aunque se encuentran las células correspondientes a las distintas fases de la espermiogénesis. En la fotografía IV-31, correspondiente a uno de los túbulos de las preparaciones anteriores,

visto a mayor aumento, pueden apreciarse con mayor claridad los estadíos madurativos de las espermatogonias y la disminución en el número de espermatozoos.

2.- Afectación de grado medio. Representado en las fotografías IV-27,28 y 29; en ellas puede apreciarse el contorno irregular de los túbulos, una mayor reducción de su diámetro en relación a las preparaciones anteriores, y una disminución de la luz tubular que prácticamente desaparece. Hay una clara afectación de la espermatogénesis en su 3ª fase (espermiogénesis), y la mayoria de los túbulos carecen totalmente de espermátides o se encuentran en fases anteriores a la 12 o 13; sólo alguno de ellos muestra espermátides aisladas en fases posteriores a éstas. En la mayoría de los túbulos podemos apreciar un aumento del número de células de Sertoli (fotografías IV-19 y 20), en relación a los controles, que ya era patente en las preparaciones del grupo anterior aunque con menor intensidad.

3.- Afectación severa. Está representada en las fotografías IV-30 y 33. En ellas puede apreciarse que las alteraciones en cuanto a diámetro y contorno tubulares son mayores que las de los dos grupos anteriores. Los túbulos seminíferos adquieren una morfología cordonal al desaparecer su luz, apreciándose sólo epitelio germinativo. Hay un paro madurativo a nivel de los espermatocitos y no aparecen formas celulares en fases posteriores a ésta, motivo por el cual no tiene lugar la espermiogénesis. El número de células de Sertoli es aún mayor que en las preparaciones de los grupos anteriores.

	HIPOFISIS	TESTICULOS	VESICULAS SEMINALES	GLANDULAS COAGULACION	EPIDIDIMOS + DEFERENTES	PROSTATAS	BAZO	ADRENALES
Grupo O [18]	7.90 ± 0.22	3129.7 ± 33.88	624.32 ± 23.75	121.59 ± 4.17	889.78 ± 14.07	325.55 ± 12.01	633.02 ± 18.15	37.76 ± 1.16 [16]
	2.40 ± 0.06	957.2 ± 18.38	190.57 ± 7.24	37.15 ± 1.35	272.02 ± 5.78	107.50 ± 10.41	189.93 ± 5.10	11.43 ± 0.31 [16]
Grupo E [18]	6.83 ± 0.21 [16]	3093.1 ± 34.53	413.72 ± 36.50	79.85 ± 5.93	831.61 ± 13.29	216.79 ± 12.00	644.82 ± 25.07	30.87 ± 1.07 [16]
	2.30 ± 0.06 [16]	1044.1 ± 15.94	138.22 ± 11.26	26.72 ± 1.81	278.90 ± 5.33	72.96 ± 3.89	217.07 ± 7.91	10.39 ± 0.24 [16]
Grupo VNX [11]	7.61 ± 0.35 [10]	3195.4 ± 57.48	658.73 ± 31.19	118.14 ± 5.36	858.38 ± 29.03	343.92 ± 16.99	665.40 ± 33.37	32.17 ± 1.45 [9]
	2.36 ± 0.07 [10]	992.2 ± 21.26	203.62 ± 8.35	36.59 ± 1.62	266.17 ± 8.27	106.84 ± 5.59	206.14 ± 9.78	10.00 ± 0.29 [9]
Grupo Evnx [10]	6.33 ± 0.35	2979.8 ± 67.60	406.35 ± 61.10	80.47 ± 11.53	821.16 ± 33.75	222.44 ± 21.28	597.16 ± 26.08	31.74 ± 2.83 [9]
	2.15 ± 0.12	1018.9 ± 21.17	138.05 ± 19.84	27.33 ± 3.73	280.58 ± 10.71	75.89 ± 6.97	204.10 ± 8.37	10.72 ± 0.82 [9]
Grupo ESvnx [14]	6.22 ± 0.30	2949.6 ± 62.08	434.00 ± 30.95	85.12 ± 6.49	817.79 ± 10.39	245.69 ± 14.55	589.84 ± 24.50	33.49 ± 1.81 [13]
	2.06 ± 0.09	975.1 ± 20.35	144.32 ± 9.80	28.37 ± 2.19	273.38 ± 5.57	81.98 ± 4.87	196.51 ± 7.22	11.28 ± 0.71 [13]
Grupo EA [12]	3.57 ± 0.32	1607.5 ± 200.5	33.44 ± 15.23	8.89 ± 3.45	322.11 ± 58.93	41.65 ± 11.48	418.71 ± 20.81	27.49 ± 1.03
	1.80 ± 0.15	802.7 ± 89.75	16.78 ± 7.59	4.46 ± 1.72	160.45 ± 27.32	20.84 ± 5.56	213.07 ± 6.76	14.12 ± 0.58

Tabla VI-IV-1. Listado general de datos de la Serie IV. Se indican media ± error estandard. Para cada órgano, el recuadro superior corresponde al peso absoluto (mg.), y el inferior al relativo (mg/100gr de peso corporal). El número de casos se indica en el recuadro de cada grupo, salvo las excepciones, que se indican enlos recuadros correspondientes.

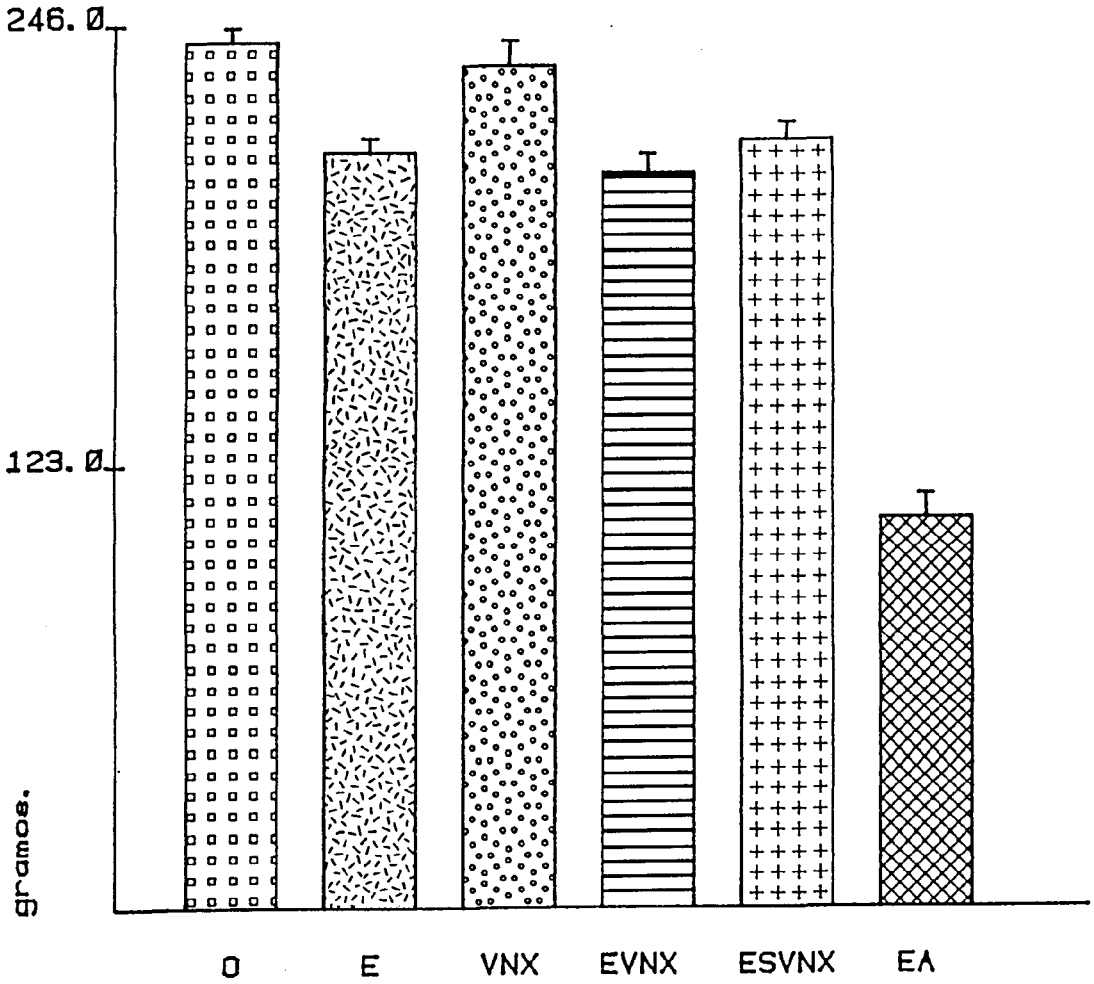


Fig.VI-IV-2. Incremento de peso corporal.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; VNX; Evnx; ESvnx; EA	5	77	73.68	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.01
O-E	5.062	34	0.001	12.85	7.69 - 18.01
O-Evnx	5.136	26	0.001	15.04	9.02 - 21.06
O-ESvnx	3.988	30	0.001	11.20	5.47 - 16.94
O-EA	17.035	28	0.001	54.78	48.19 - 61.36
E-EA	13.501	28	0.001	48.11	40.81 - 55.41
VNX-Evnx	3.252	19	0.005	12.56	4.48 - 20.65
VNX-EA	12.584	21	0.001	53.46	44.62 - 62.29
Evnx-EA	11.060	20	0.001	46.77	37.96 - 55.58
ESvnx-EA	12.666	24	0.001	49.07	41.07 - 57.07

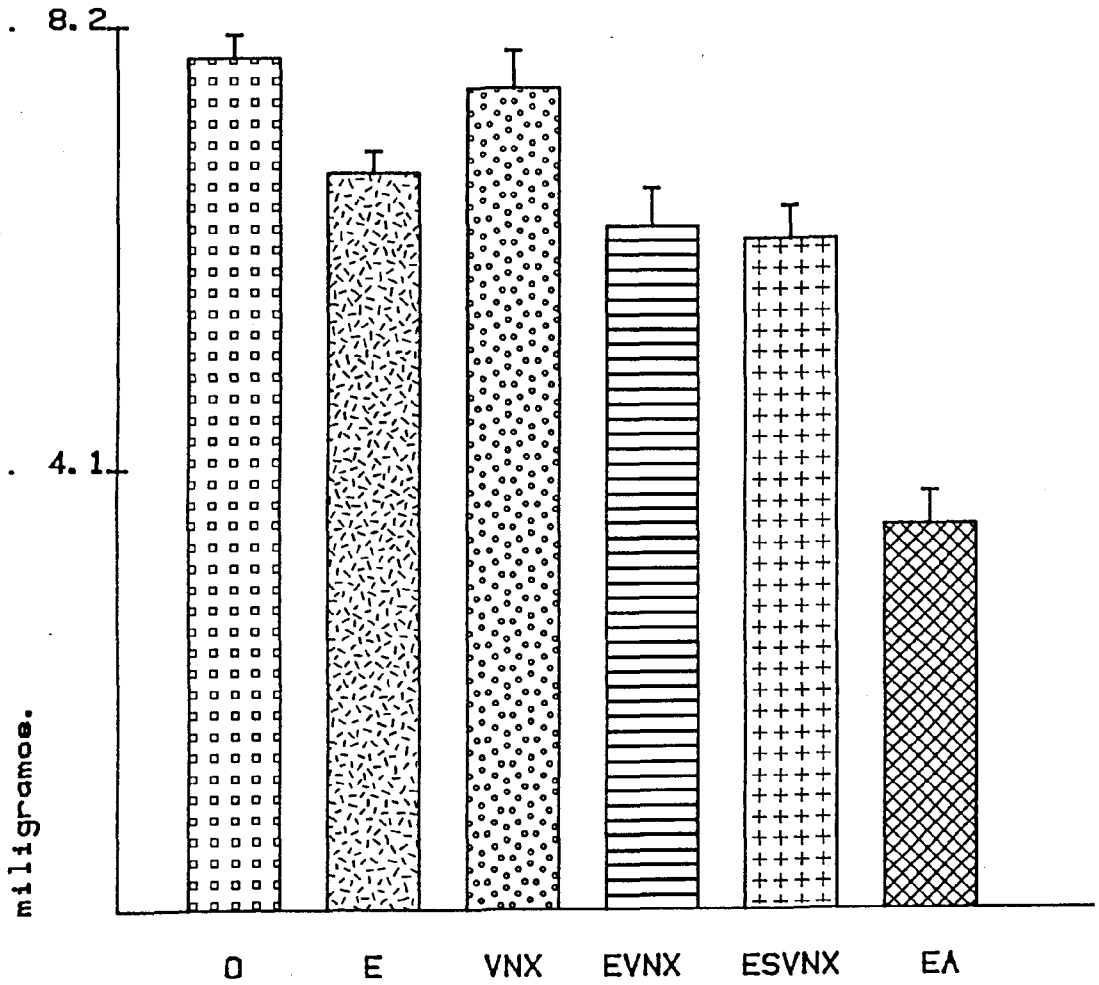


Fig. VI-IV-3. Peso Absoluto de Adenohipófisis.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; VNX; EVNX; ESvnx; EA;	5	74	28.42	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	3.473	32	0.005	13.54	5.60 - 21.49
O-Evnx	3.929	26	0.001	19.87	9.48 - 30.27
O-ESvnx	4.574	30	0.001	21.26	11.77 - 30.76
O-EA	11.321	28	0.001	54.81	44.89 - 64.73
E-EA	8.749	26	0.001	47.63	36.52 - 58.94
VNX-Evnx	2.561	18	0.02	16.82	3.02 - 30.62
VNX-EA	8.392	20	0.001	53.09	39.89 - 66.82
Evnx-EA	5.686	20	0.001	43.60	27.60 - 59.60
ESvnx-EA	5.937	24	0.001	42.60	27.79 - 57.41

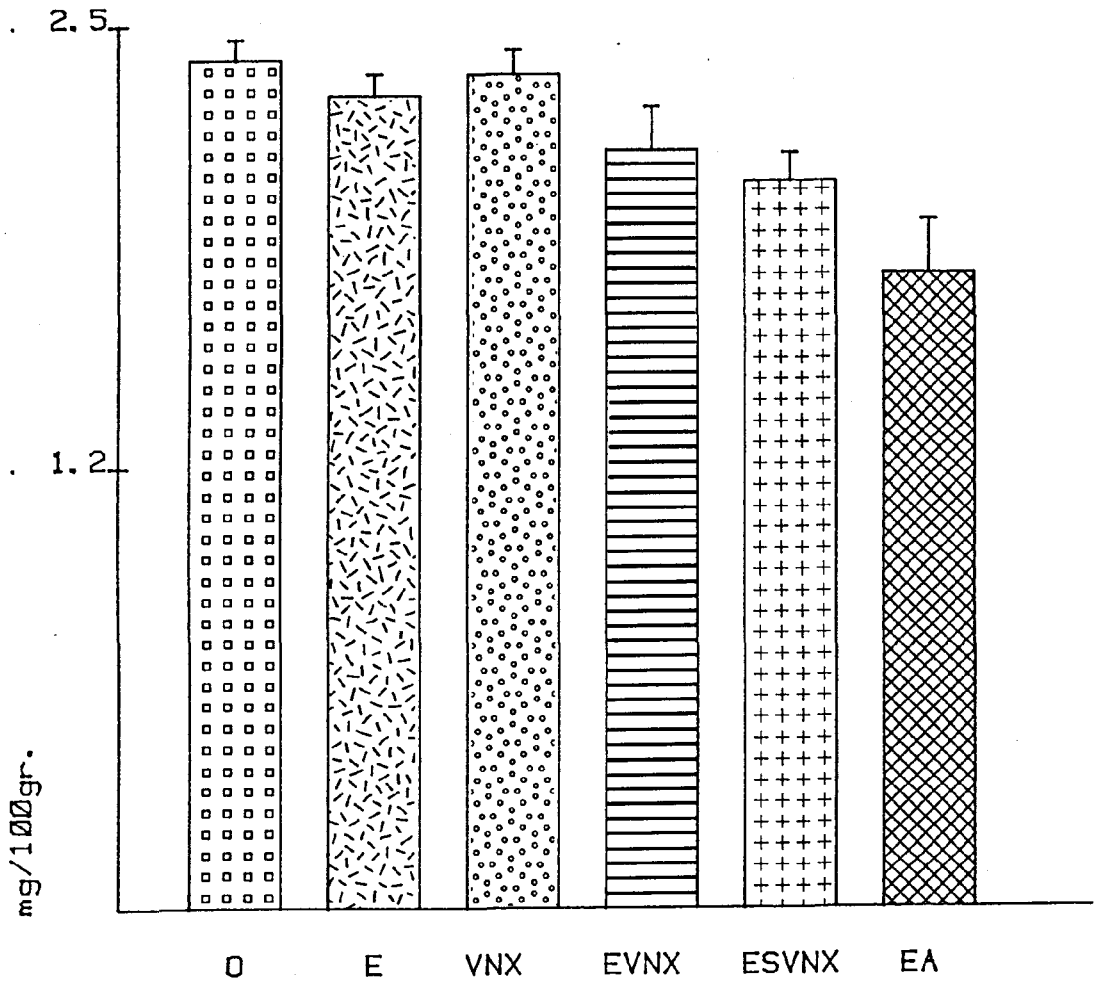


Fig. VI-IV-4. Peso Relativo de Adenohipófisis

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; VNX; EVNX; ESvnx; EA;	5	74	5.81	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.01
O-ESvnx	3.210	30	0.005	14.17	5.15 - 23.18
O-EA	4.149	28	0.001	25.00	12.66 - 37.34
E-ESvnx	2.224	28	0.05	10.43	0.83 - 20.04
E-EA	3.338	26	0.005	21.74	8.35 - 35.12
VNX-EA	3.133	20	0.01	23.73	7.93 - 39.52

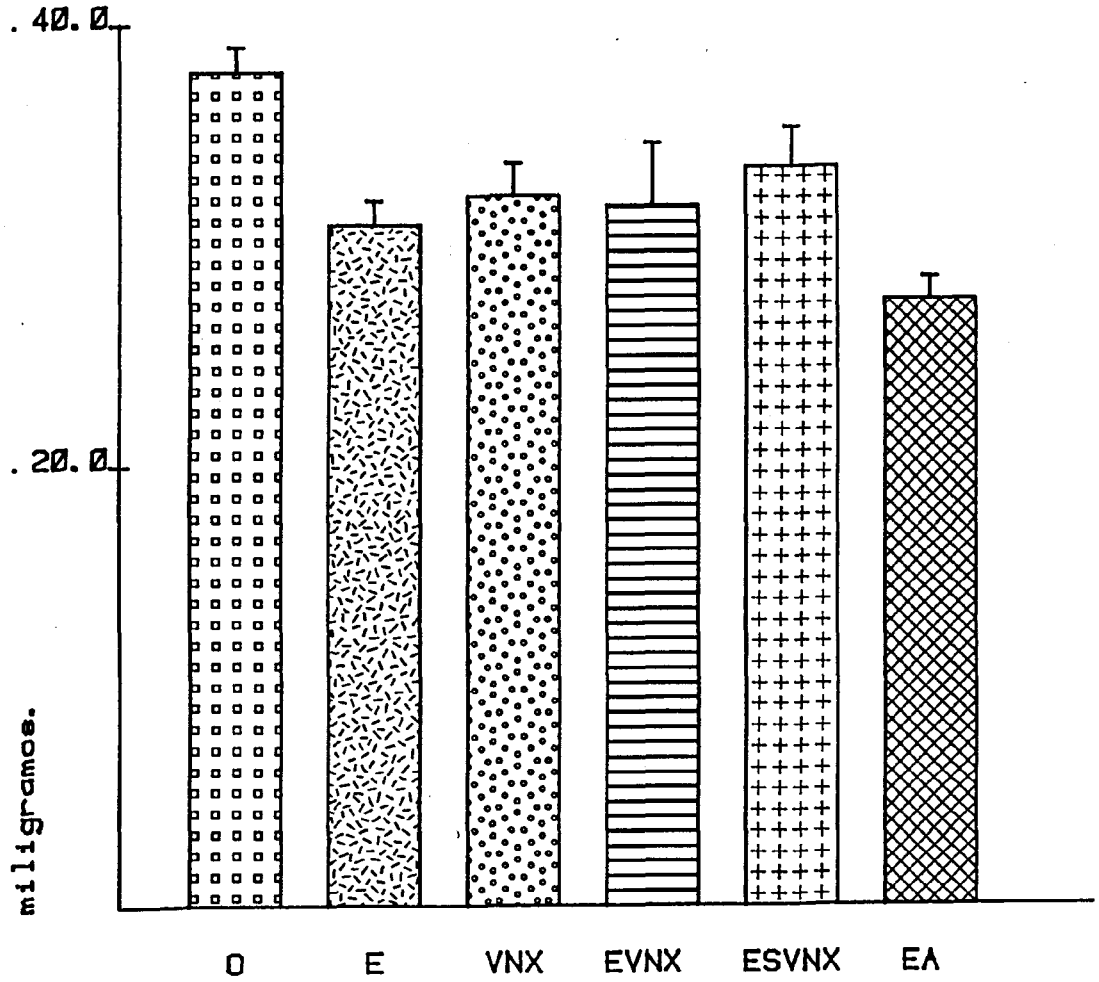


Fig. VI-IV-5 Peso Absoluto de Adrenales.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; VNX; EVNX; ESvnx; EA;	5	70	5.49	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	4.287	30	0.001	18.24	9.55 - 26.93
O-VNX	2.951	23	0.01	14.80	4.42 - 25.18
O-Evnx	2.310	23	0.05	15.94	1.66 - 30.22
O-EA	6.369	26	0.001	27.19	18.42 - 35.97
E-EA	2.162	26	0.05	10.94	0.54 - 21.35
VNX-EA	2.712	19	0.02	14.54	3.32 - 25.77
ESvnx-EA	2.728	23	0.02	17.91	4.33 - 31.49

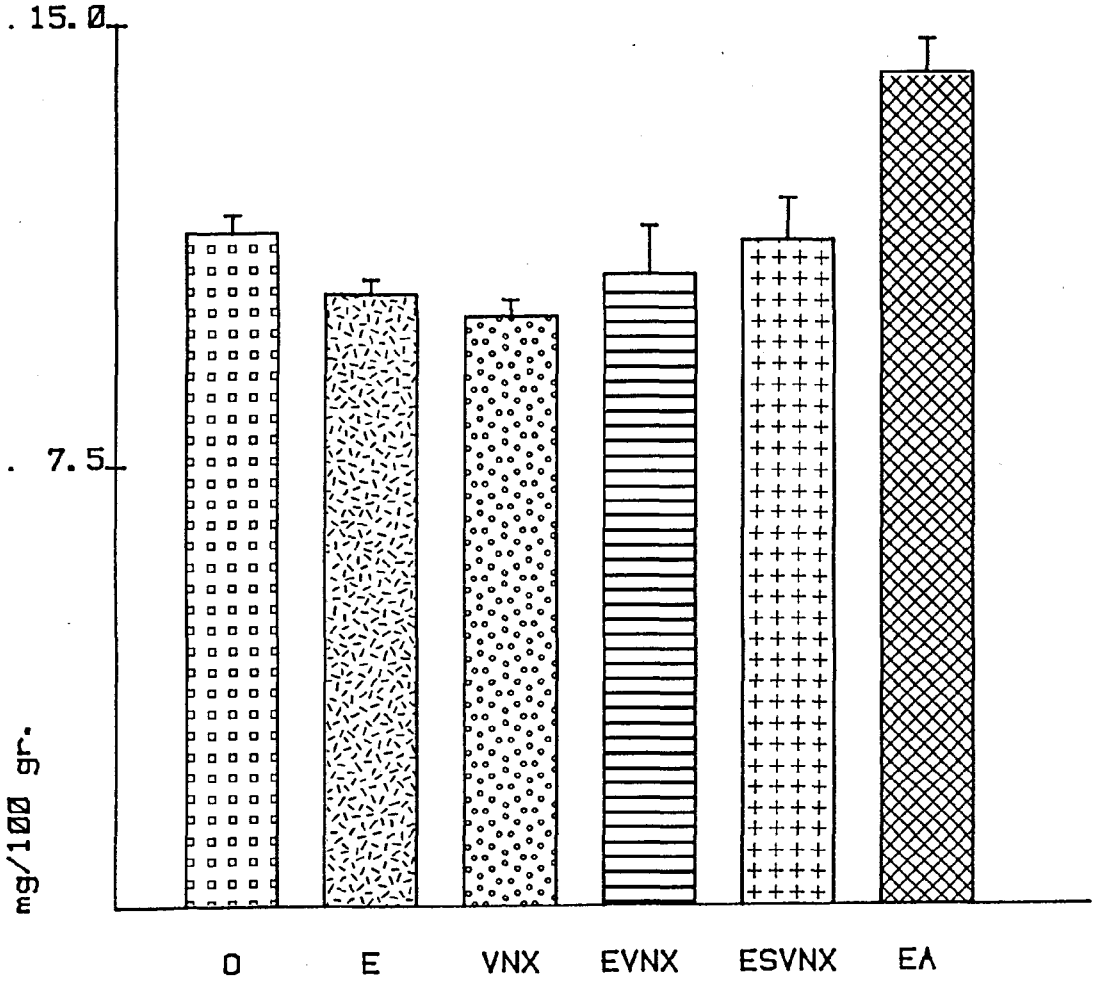


Fig. VI-IV-6. Peso Relativo de Adrenales.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; VNX; EVNX; ESvnx; EA;	5	70	5.49	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	2.094	31	0.01	9.09	0.24 - 17.95
O-VNX	2.992	23	0.01	12.51	3.80 - 21.16
O-EA	4.312	26	0.001	19.05	9.97 - 28.13
E-EA	5.611	27	0.001	26.41	16.75 - 36.07
VNX-EA	5.690	19	0.001	29.17	18.44 - 39 90
Evnx-EA	3.473	19	0.005	24.07	9.57 - 38.58
ESvnx-EA	3.057	23	0.01	20.11	6.50 - 33.72

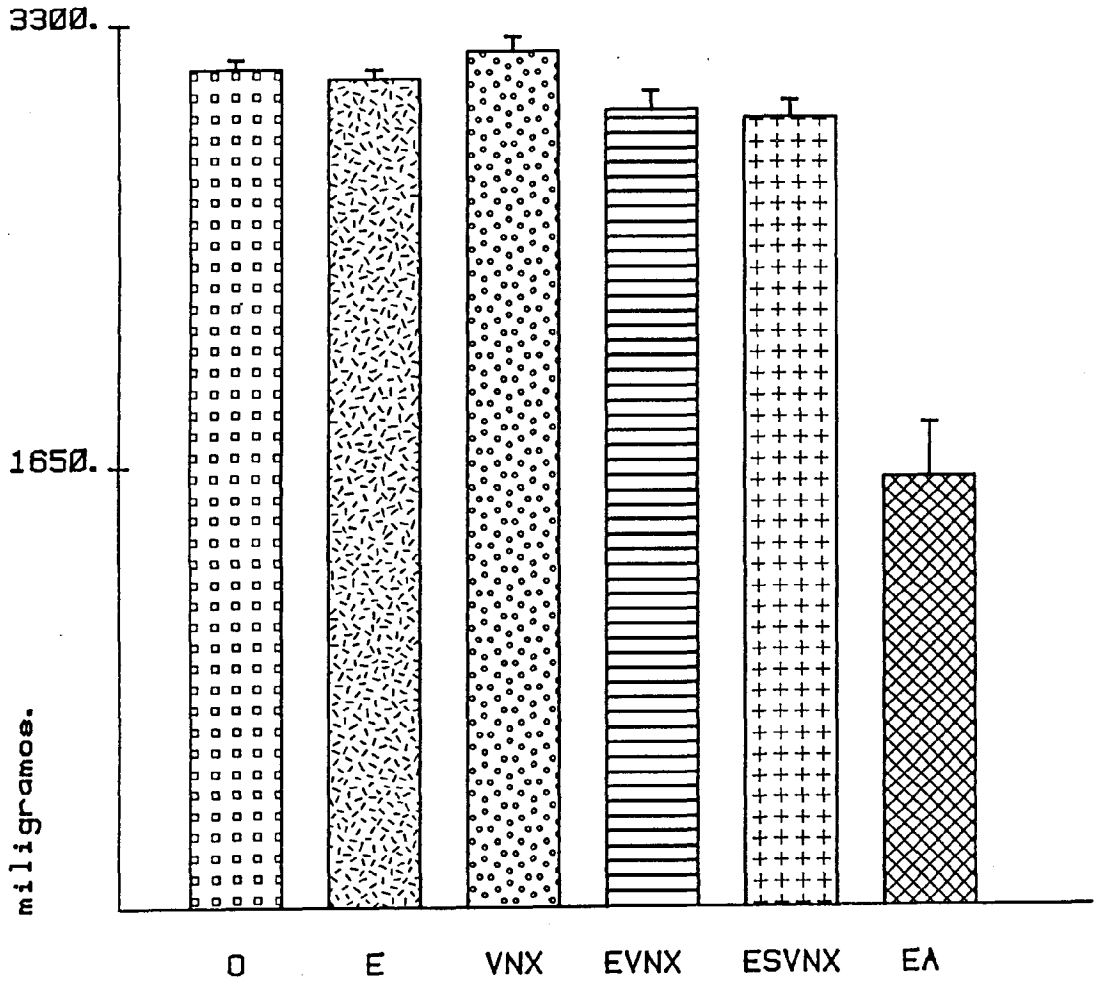


Fig.VI-IV-7. Peso Absoluto de Testículos.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; VNX; EVNX; ESvnx; EA;	5	77	46.61	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-Evnx	2.221	26	0.05	4.79	0.36 - 9.23
O-ESvnx	2.693	30	0.02	5.74	1.39 - 10.10
O-EA	9.086	28	0.001	48.64	31.68 - 59.61
E-ESvnx	2.144	30	0.05	4.65	0.22 - 9.09
E-EA	8.861	28	0.001	48.04	36.94 - 59.15
VNX-Evnx	2.445	19	0.025	6.76	0.97 - 12.45
VNX-EA	7.321	21	0.001	49.70	35.58 - 63.82
Evnx-EA	5.992	20	0.001	46.06	30.02 - 62.09
ESvnx-EA	6.822	24	0.001	45.51	31.74 - 59.72

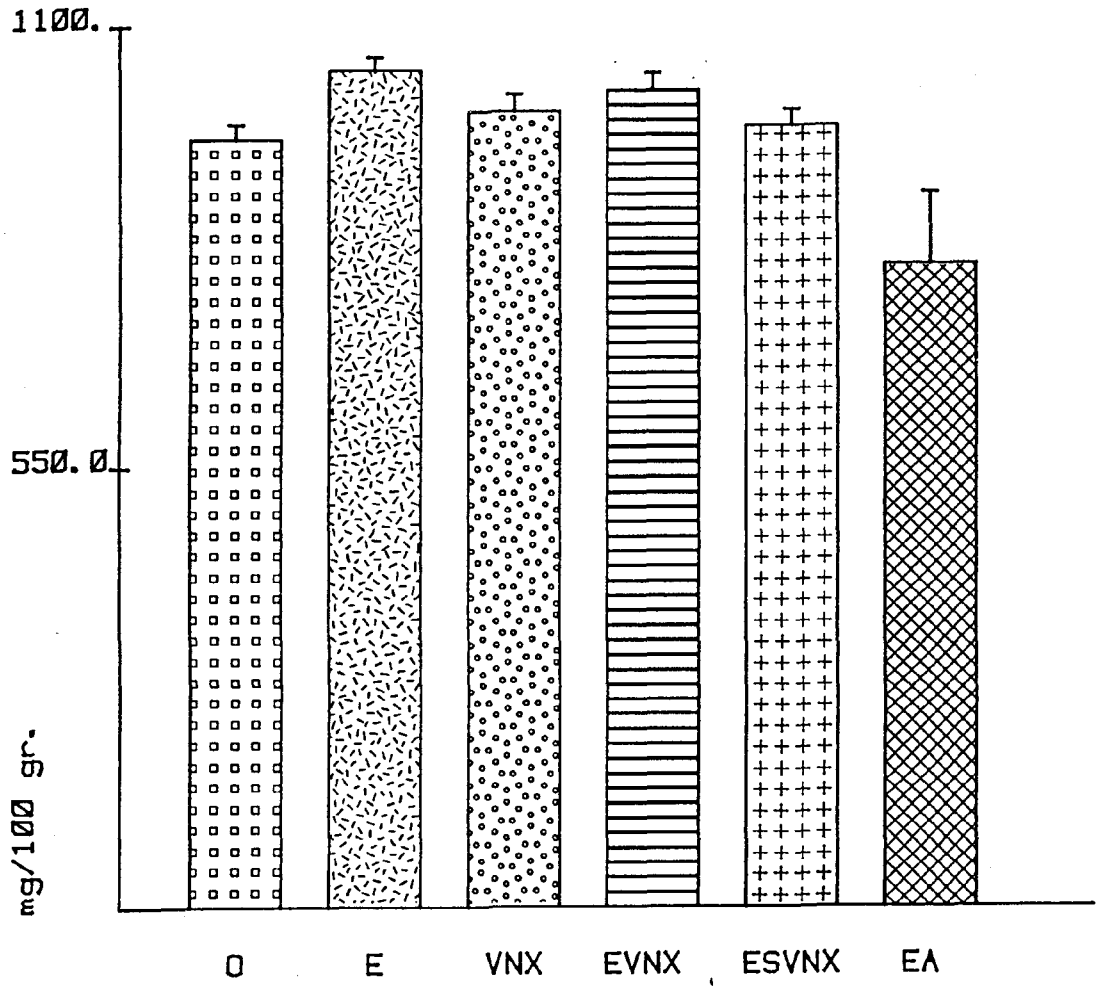


Fig. VI-IV-8. Peso Relativo de Testículos.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; VNX; EVNX; ESvnx; EA;	5	77	5.10	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	3.575	34	0.005	8.33	3.59 - 13.07
O-Evnx	2.080	26	0.05	5.99	0.07 - 11.91
E-ESvnx	2.710	30	0.02	6.60	1.63 - 11.59
E-EA	3.207	28	0.05	23.11	8.32 - 37.87
Evnx-EA	2.147	20	0.05	21.22	0.67 - 41.83

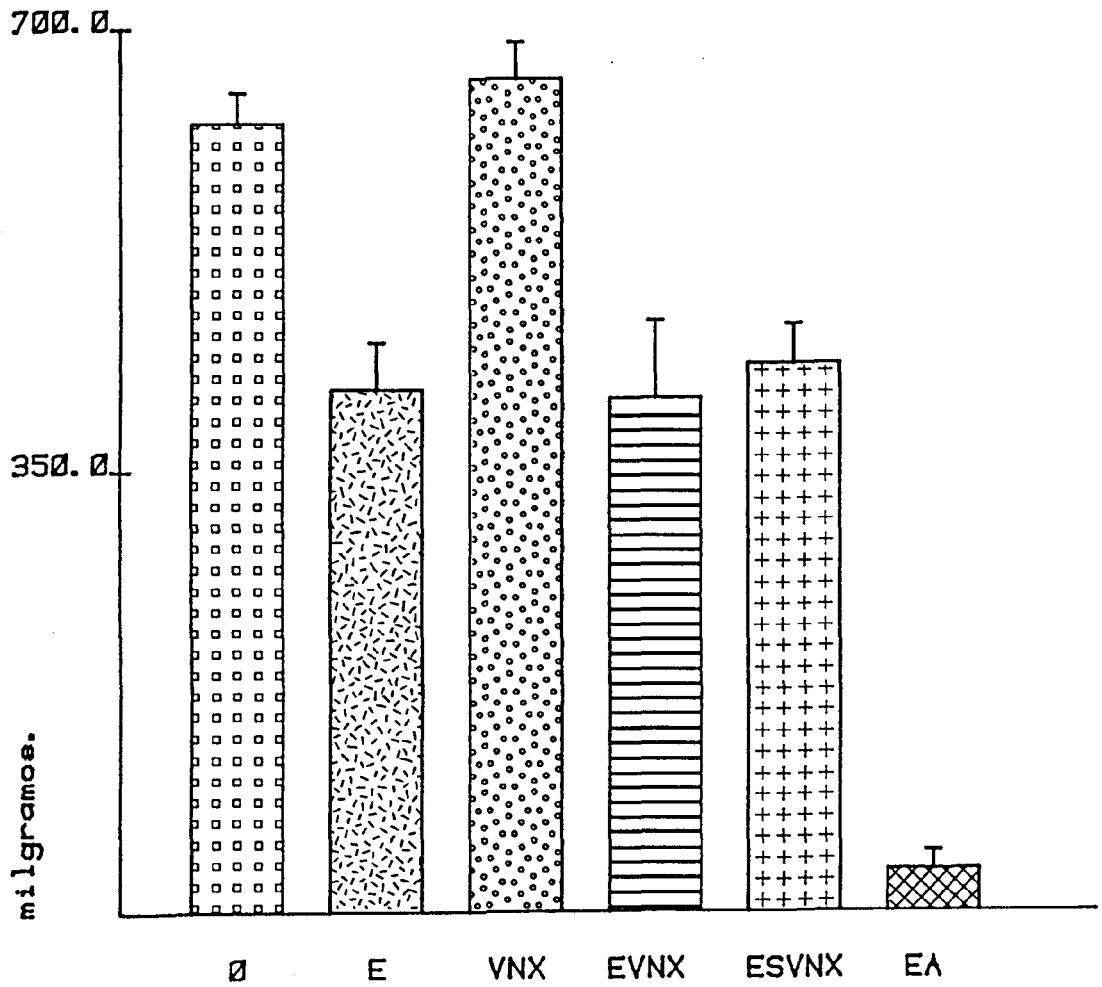


Fig. VI-IV-9. Peso Absoluto de Vesículas Seminales.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; VNX; EVNX; ESvnx; EA;	5	77	39.41	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	4.835	34	0.001	33.73	19.95 - 47.91
O-Evnx	3.951	26	0.001	34.91	16.75 - 53.07
O-ESvnx	4.965	30	0.001	30.34	17.94 - 43.02
O-EA	18.610	28	0.001	94.64	84.22 -105.06
E-EA	8.153	28	0.001	91.91	68.82 -115.00
VNX-Evnx	3.782	19	0.005	38.31	17.11 - 59.51
VNX-EA	18.501	21	0.001	94.92	84.25 -105.59
Evnx-EA	6.432	20	0.001	91.77	62.01 -121.53
ESvnx-EA	11.015	24	0.001	92.29	75.00 -109.58

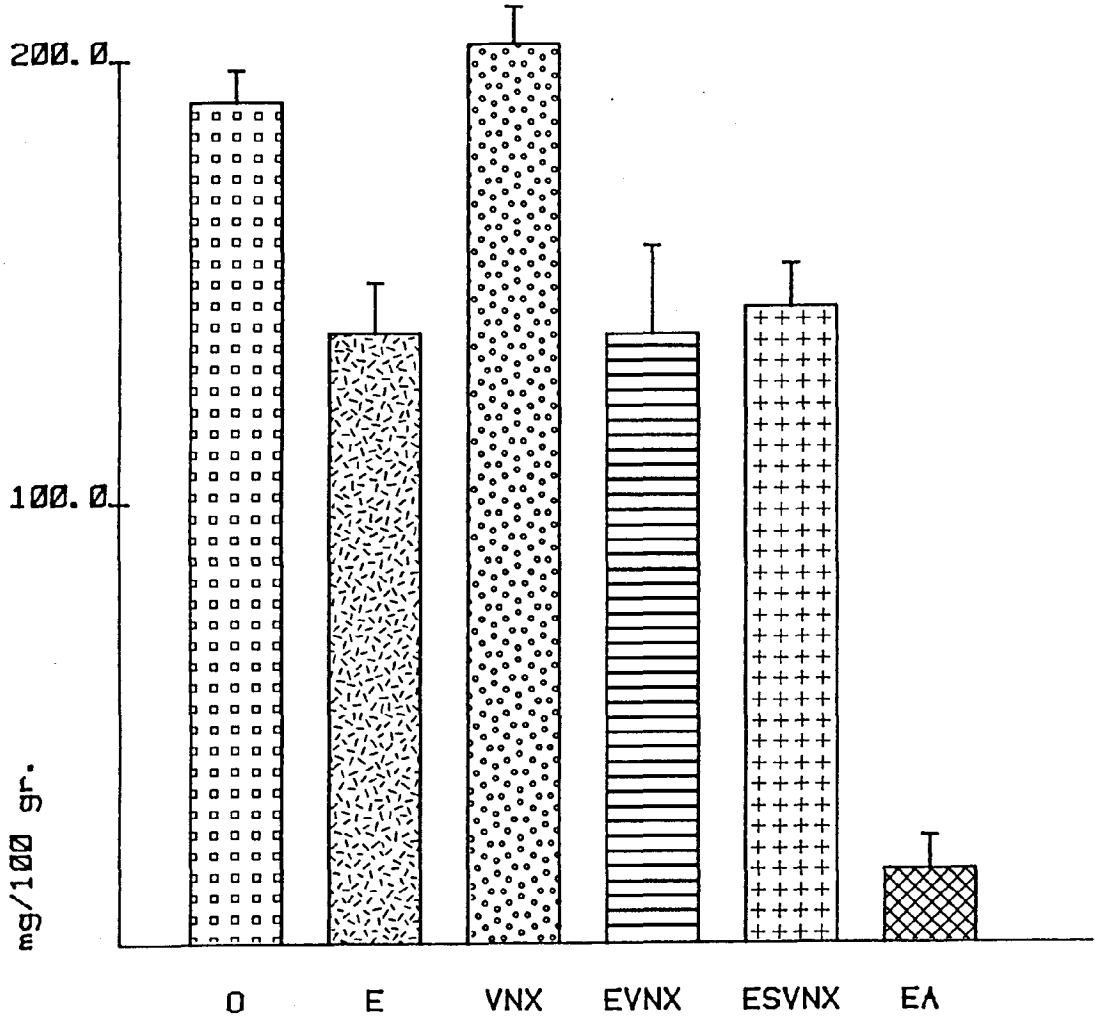


Fig. VI-IV-10. Peso Relativo de Vesículas Seminales.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; VNX; EVNX; ESvnx; EA;	5	77	34.13	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	3.908	34	0.001	27.47	13.18 - 41.75
O-Evnx	2.992	26	0.01	27.45	8.62 - 46.49
O-ESvnx	3.880	30	0.001	24.26	11.49 - 37.04
O-EA	16.039	28	0.001	91.19	79.54 -102.84
E-EA	8.000	28	0.001	87.35	65.36 -110.35
VNX-Evnx	3.151	19	0.01	32.20	10.81 - 53.59
VNX-EA	16.596	21	0.001	91.75	80.26 -103.25
Evnx-EA	6.105	20	0.001	87.84	57.83 -117.85
ESvnx-EA	10.024	24	0.001	88.37	60.17 -106.56

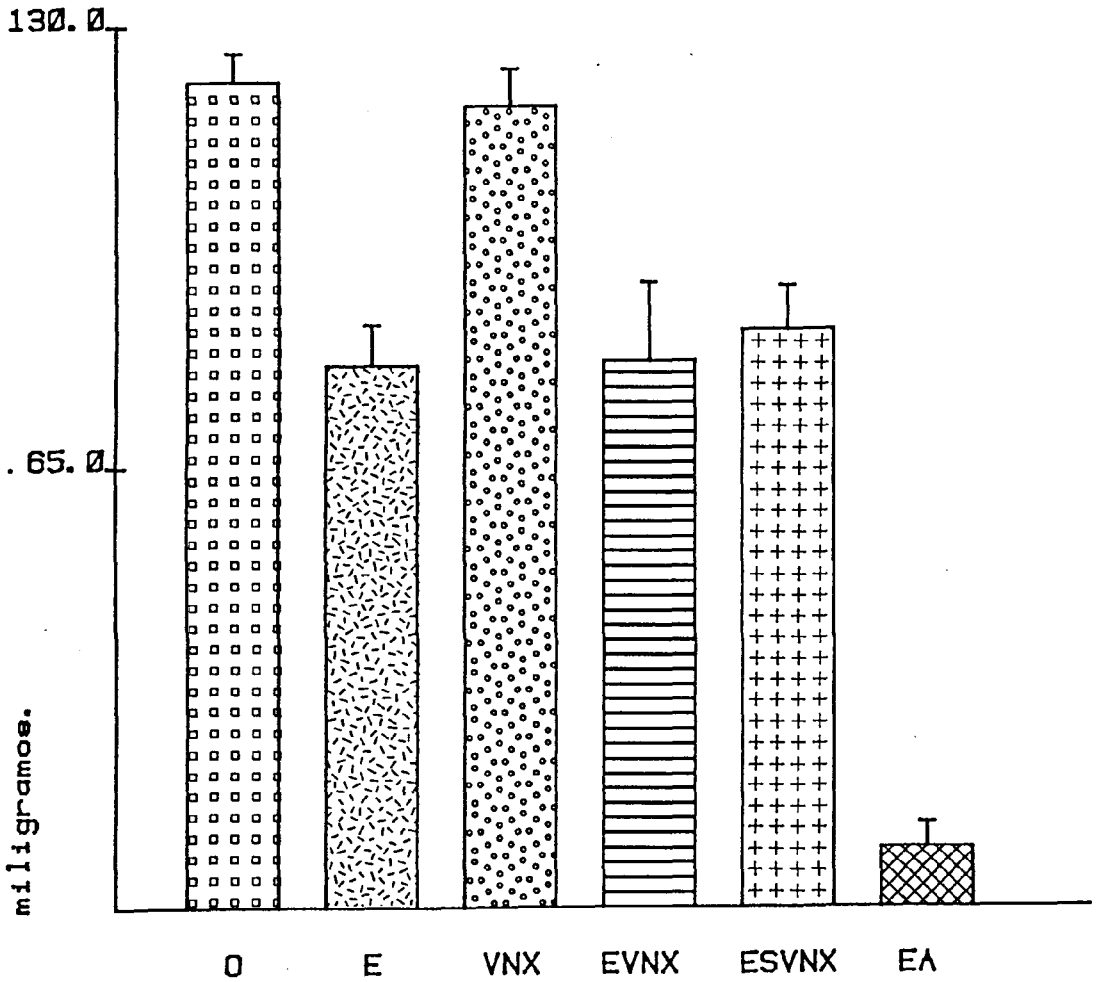


Fig. VI-IV-11. Peso Absoluto Glandulae de Coagulación.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; E; VNX; EVNX; ESvnx; EA;	5	77	40.42	0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	5.748	34	0.001	34.32	22.19 - 46.46
O-Evnx	4.040	26	0.001	33.81	16.61 - 51.02
O-ESvnx	4.914	30	0.001	29.90	17.52 - 42.45
O-EA	19.232	28	0.001	92.68	82.81 -102.56
E-EA	9.060	28	0.001	88.86	68.77 -108.95
VNX-Evnx	3.055	19	0.01	31.88	10.04 - 53.73
VNX-EA	17.422	21	0.001	92.47	81.43 -103.51
Evnx-EA	6.422	20	0.001	88.95	60.06 -117.84
ESvnx-EA	9.873	24	0.001	89.55	70.83 -108.27

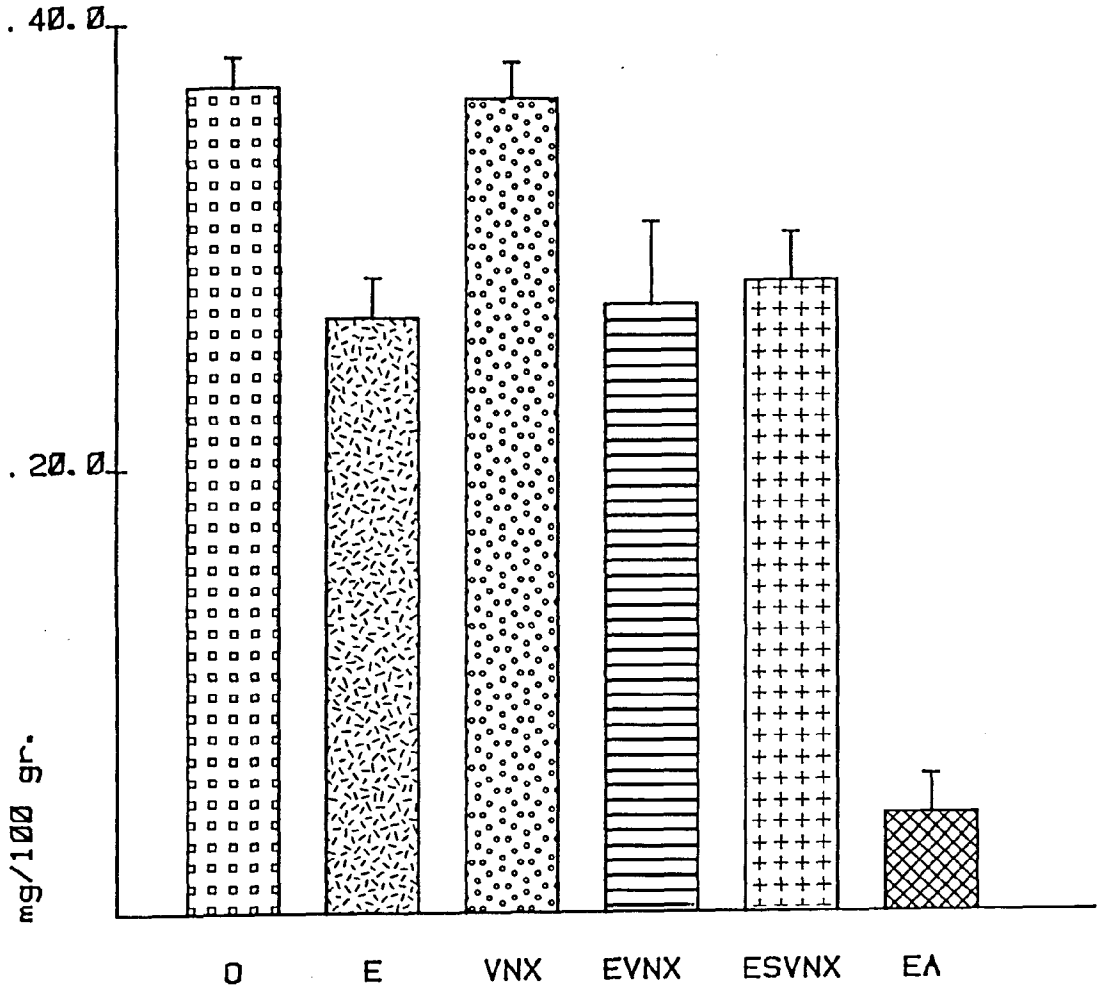


Fig. VI-IV-12. Peso Relativo Glandulas de Coagulación.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; E; VNX; EVNX; ESvnx; EA;	5	77	31.13	0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	4.607	34	0.001	28.07	15.69 - 40.45
O-Evnx	2.981	26	0.001	26.43	8.21 - 44.65
O-ESvnx	3.557	30	0.005	23.63	10.06 - 37.20
O-EA	15.072	28	0.001	87.29	76.03 - 99.95
E-EA	8.448	28	0.001	83.30	63.10 -103.50
VNX-Evnx	2.351	19	0.05	25.30	2.78 - 47.82
VNX-EA	13.544	21	0.001	87.81	74.32 -101.29
Evnx-EA	5.890	20	0.001	83.68	54.04 -113.31
ESvnx-EA	8.354	24	0.001	84.27	63.42 -105.10

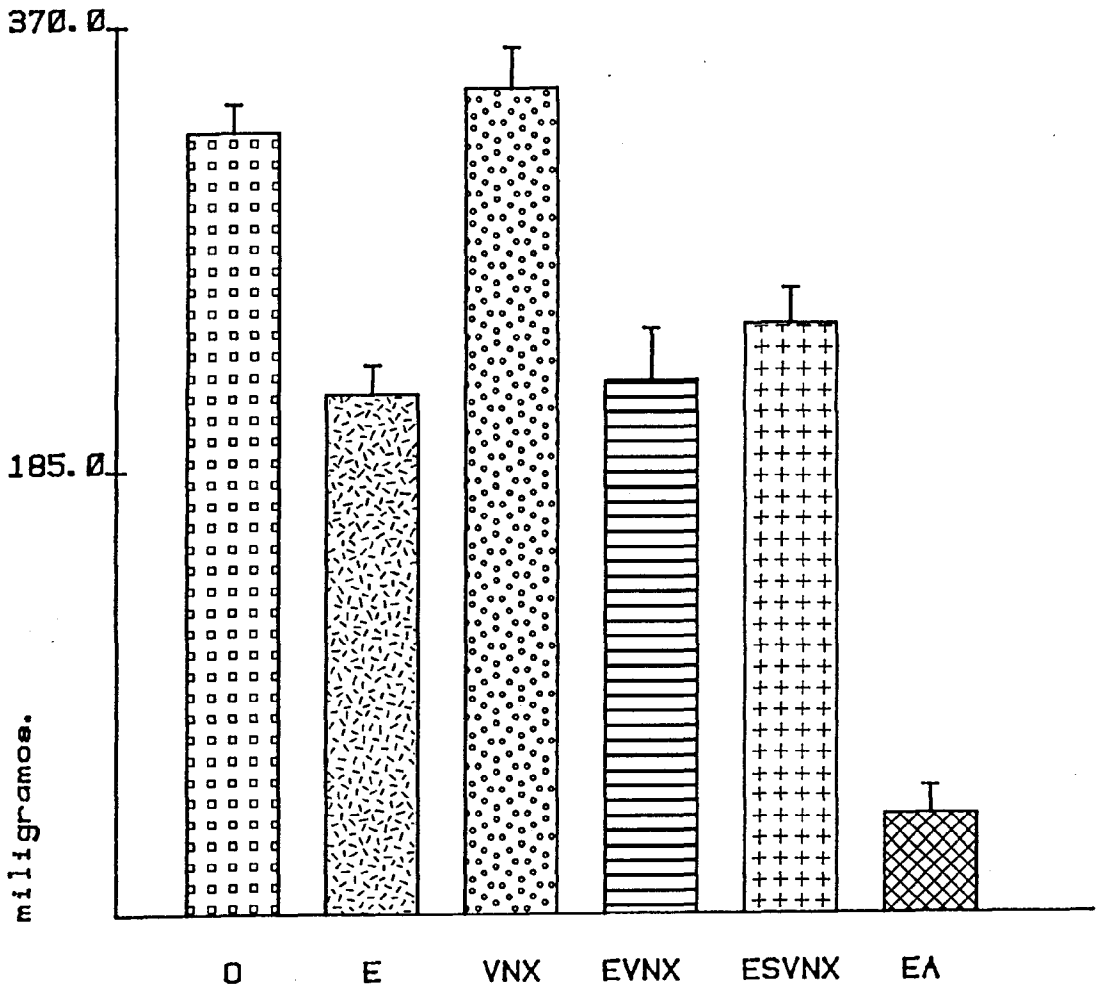


Fig. VI-IV-13. Peso Absoluto de Próstatas Ventrales.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; VNX; EVNX; ESvnx; EA;	5	77	52.3	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	6.405	34	0.001	33.40	22.80 - 44.00
O-Evnx	4.574	26	0.001	31.67	17.44 - 45.90
O-ESvnx	4.268	30	0.001	24.53	12.79 - 36.26
O-EA	16.249	28	0.001	87.20	76.21 - 98.19
E-EA	10.029	28	0.001	80.78	64.28 - 97.28
VNX-Evnx	4.499	19	0.001	35.32	18.89 - 51.75
VNX-EA	14.965	21	0.001	87.88	75.67 - 100.1
Evnx-EA	7.828	20	0.001	81.27	59.61 - 102.9
ESvnx-EA	10.742	24	0.001	83.04	76.00 - 99.00

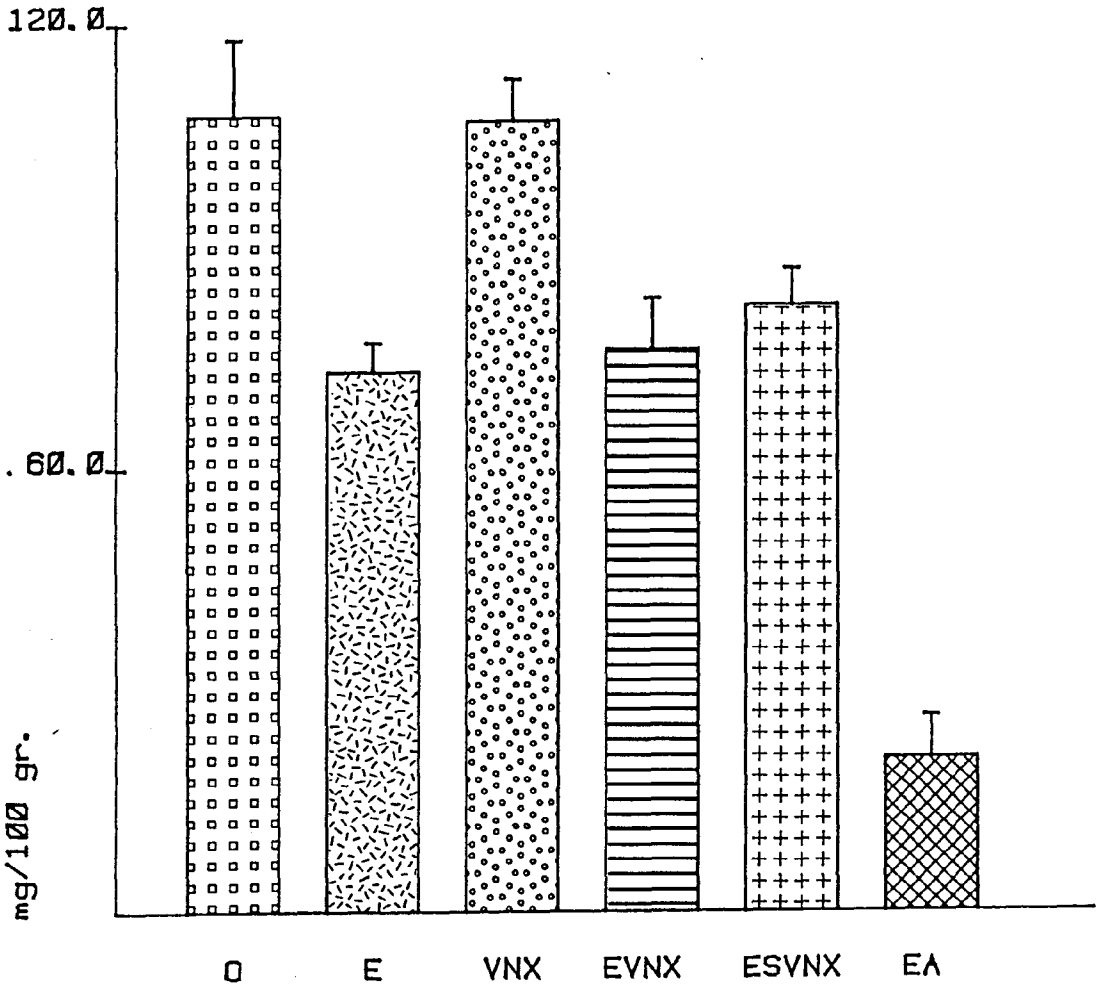


Fig. VI-IV-14. Peso Relativo de Próstatas Ventrales.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; VNX; EVNX; ESvnx; EA;	5	77	18.38	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	3.103	34	0.005	32.13	11.08 - 53.17
O-Evnx	2.106	26	0.05	29.40	0.71 - 58.10
O-ESvnx	2.024	30	N.S.	——	—— ——
O-EA	6.359	28	0.001	80.61	54.64 - 105.6
E-EA	7.885	28	0.001	71.43	52.88 - 89.99
VNX-Evnx	3.492	19	0.005	28.96	11.60 - 46.32
VNX-EA	10.824	21	0.001	80.49	65.02 - 95.95
Evnx-EA	6.219	20	0.001	72.53	48.21 - 96.86
ESvnx-EA	8.264	24	0.001	74.57	55.95 - 93.20

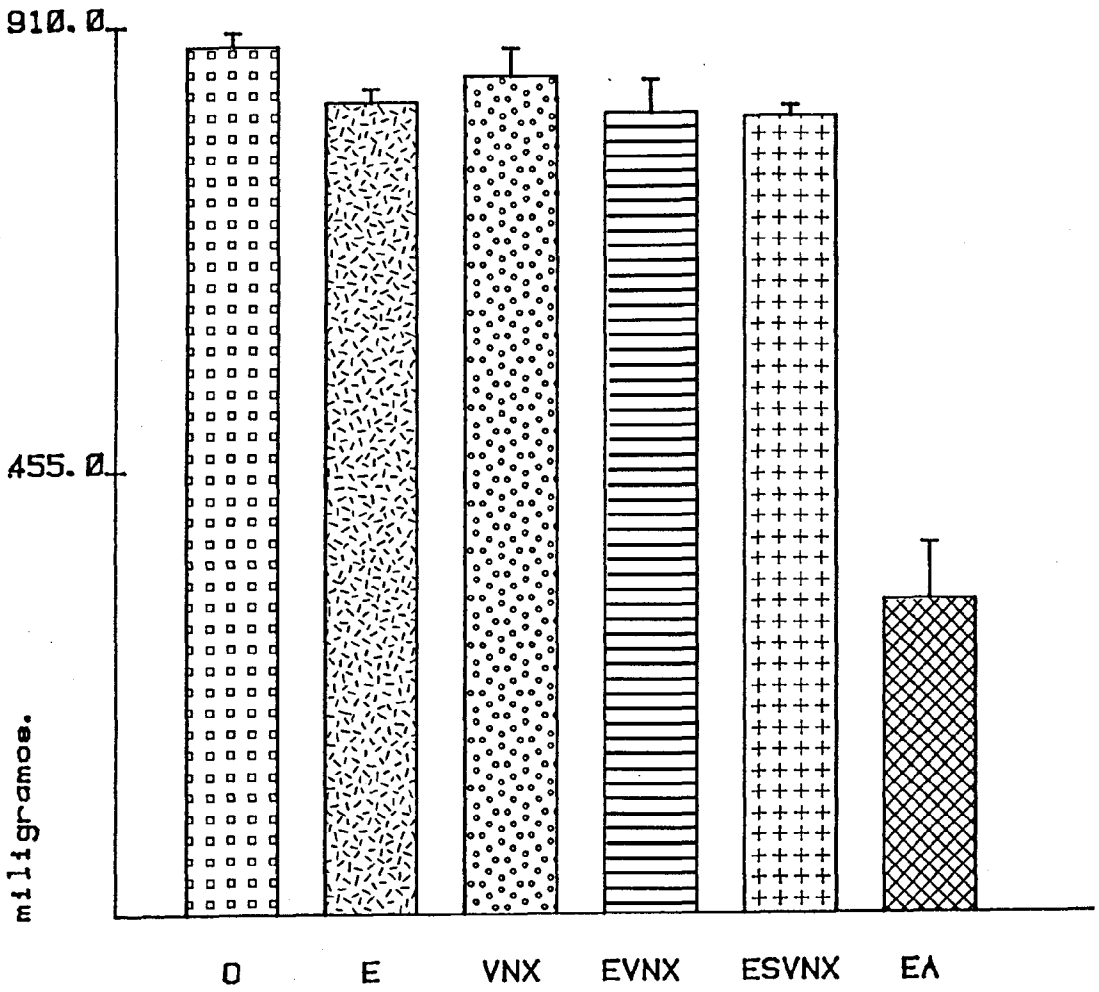


Fig. VI-IV-15. Peso Absoluto de Epidídimos + C. Deferentes.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; VNX; EVNX; ESvnx; EA;	5	77	56.35	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	3.004	34	0.005	6.53	2.11 - 10.95
O-Evnx	2.196	26	0.05	7.71	0.49 - 14.92
O-ESvnx	3.456	26	0.005	3.20	3.20 - 12.97
O-EA	11.187	28	0.001	63.79	52.11 - 75.47
E-EA	10.105	28	0.001	61.26	48.84 - 73.68
VNX-EA	7.930	21	0.001	62.47	46.09 - 78.85
Evnx-EA	6.959	20	0.001	60.77	42.55 - 78.99
ESvnx-EA	7.532	20	0.001	60.61	43.82 - 77.39

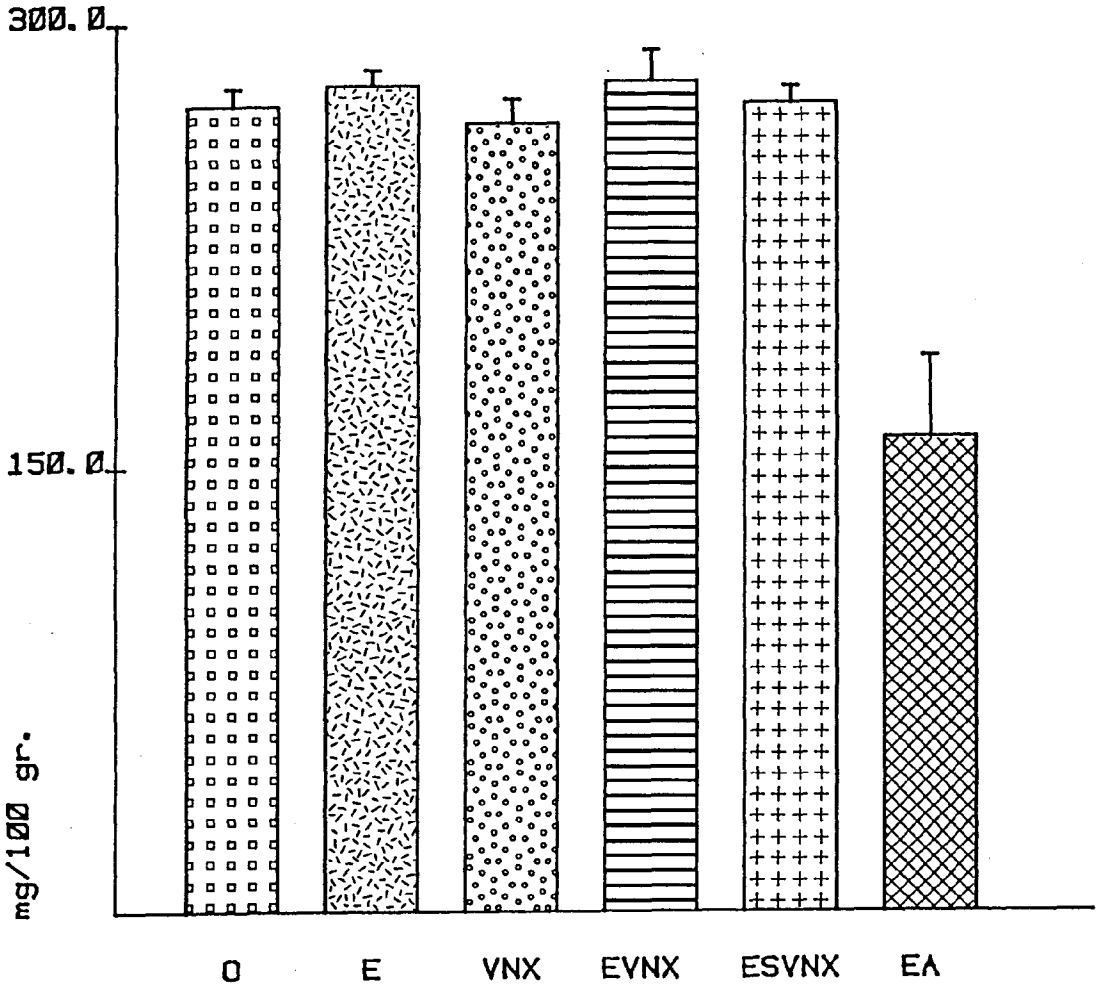


Fig. VI-IV-16. Peso Relativo de Epidídimos + C. Deferentes.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; VNX; EVNX; ESvnx; EA;	5	77	14.85	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P =0.05
O-EA	4.803	28	0.001	41.01	23.52 - 58.50
E-EA	5.135	28	0.001	42.47	25.53 - 59.40
VNX-EA	3.584	21	0.05	39.71	16.54 - 62.89
Evnx-EA	3.803	20	0.005	42.81	19.33 - 66.29
ESvnx-EA	4.357	24	0.001	41.30	21.74 - 60.87

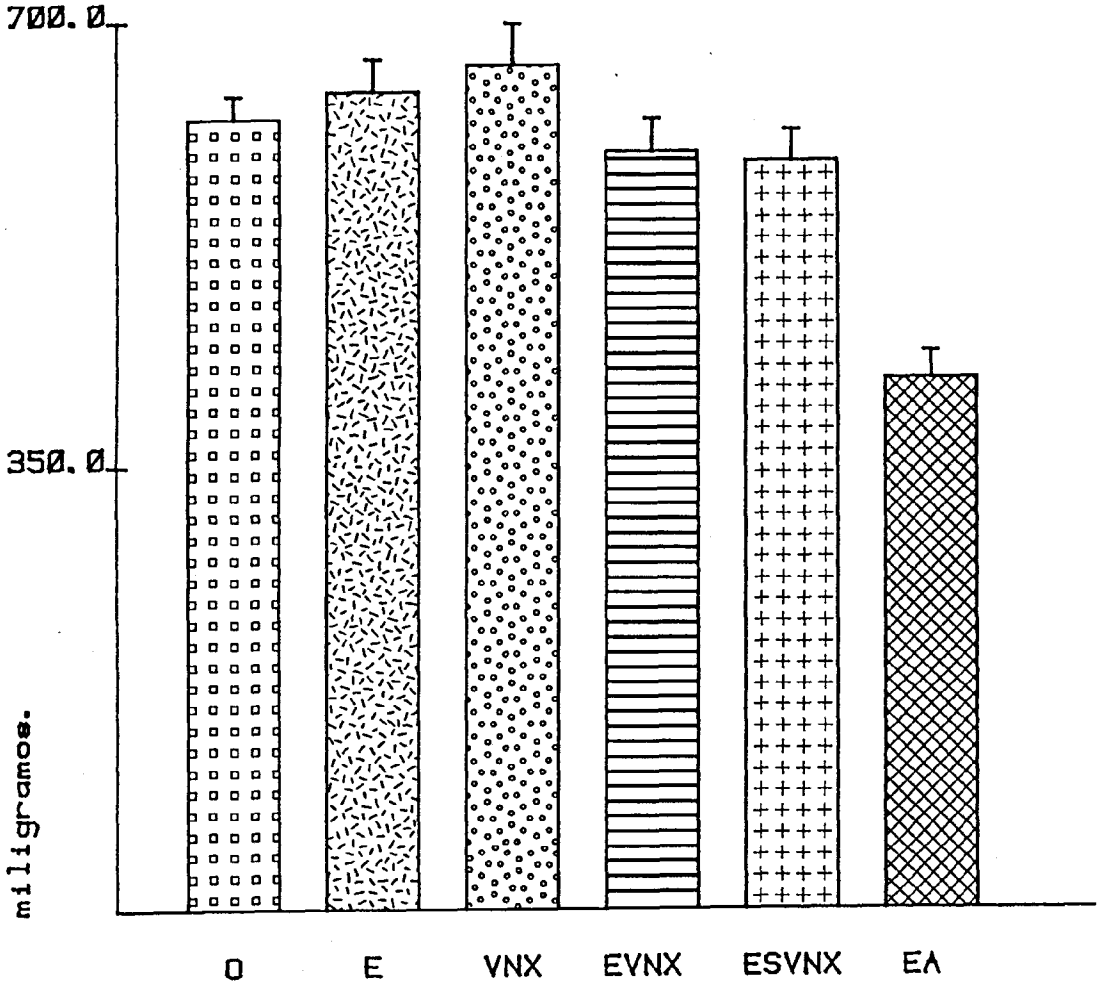
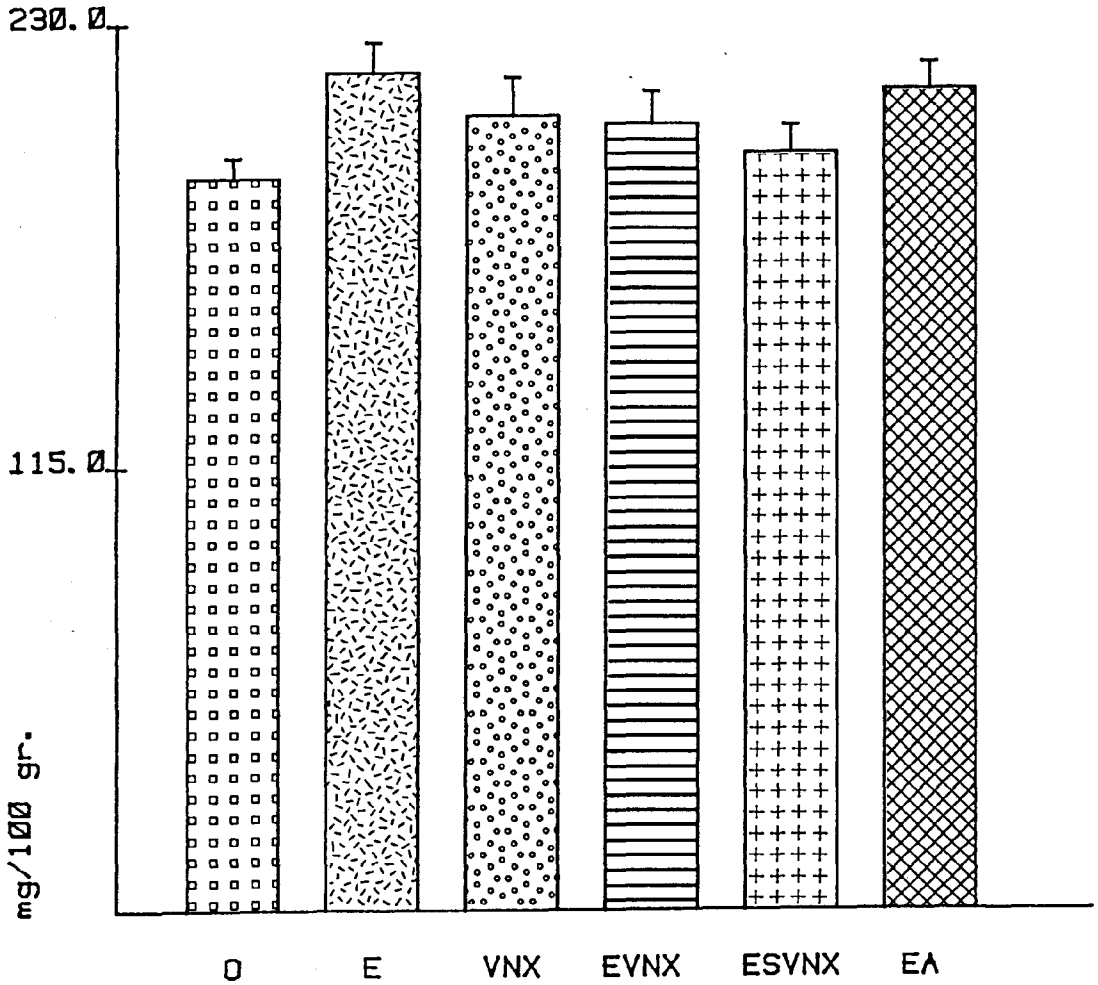


Fig. VI-IV-17. Peso Absoluto de Bazos.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; E; VNX; EVNX; ESvnx; EA;	5	77	11.74	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Limites interv. confianza P=0.05
O-EA	7.298	28	0.001	32.79	23.58 - 41.99
E-EA	6.425	28	0.001	35.06	23.88 - 46.24
VNX-EA	6.389	21	0.001	37.07	25.00 - 49.14
Evnx-EA	5.416	20	0.001	29.88	18.37 - 41.39
ESvnx-EA	5.222	24	0.001	29.01	40.47 - 17.54



ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; E; VNX; EVNX; ESvnx; EA;	5	77	2.19	0.01

Fig. VI-IV-18. Peso Relativo de Bazos.

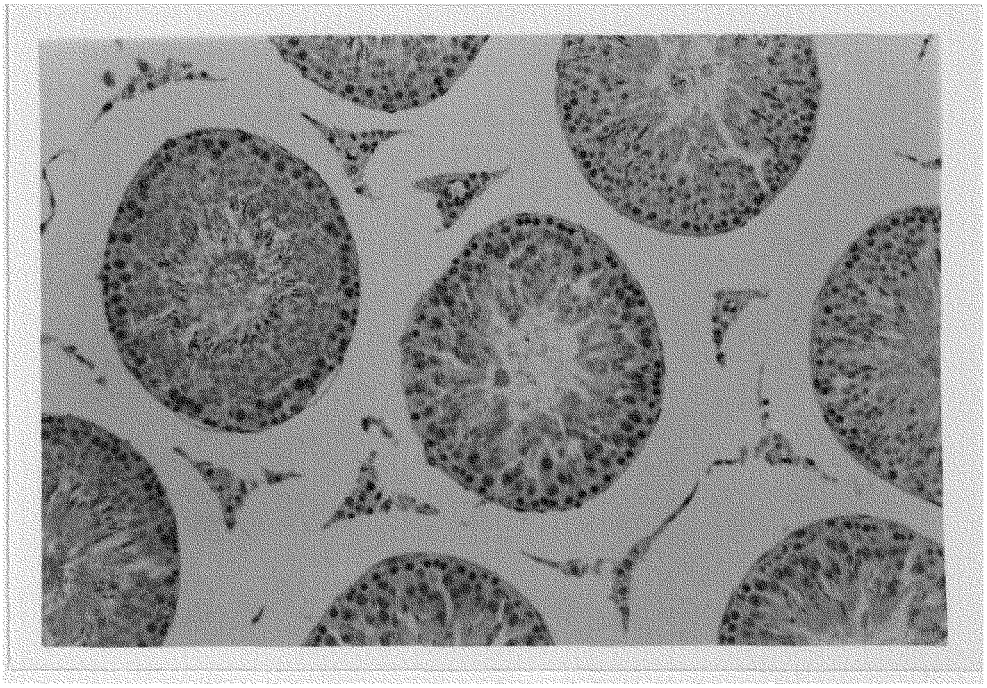


Fig. IV-19. Rata nº 905. Grupo O. (x 150)

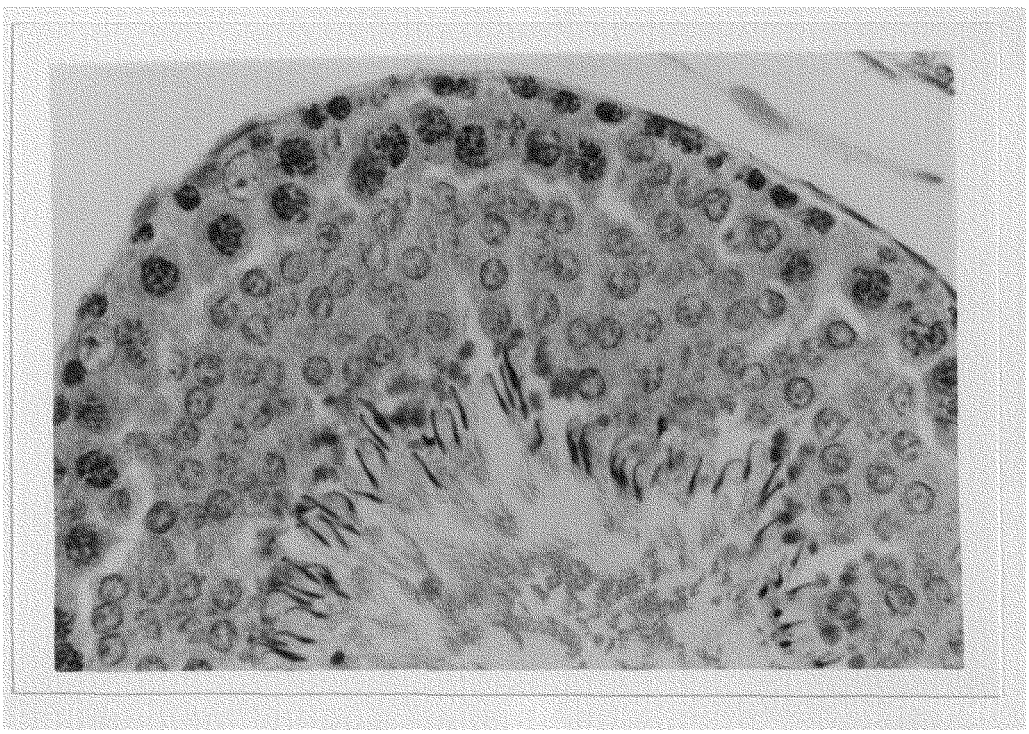
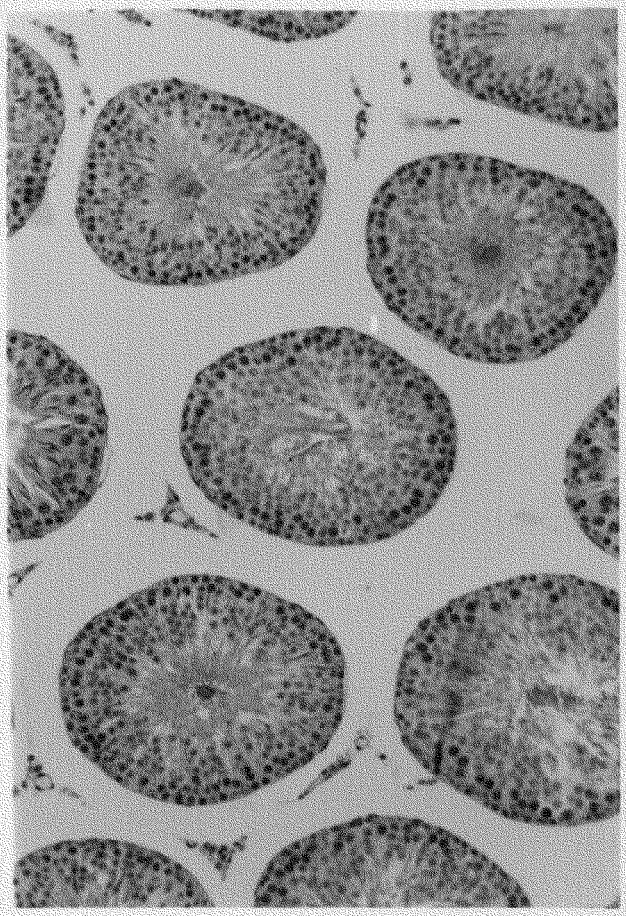
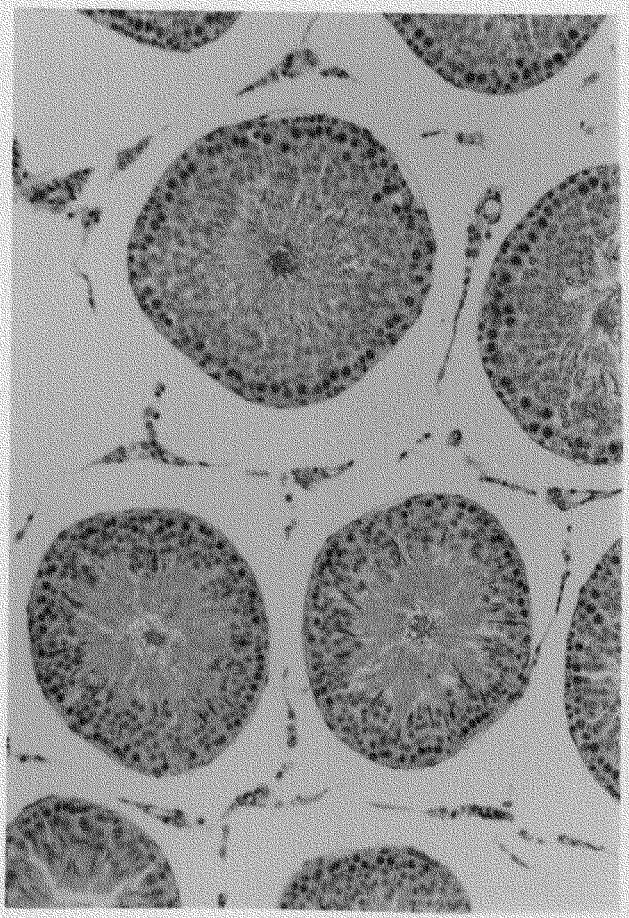
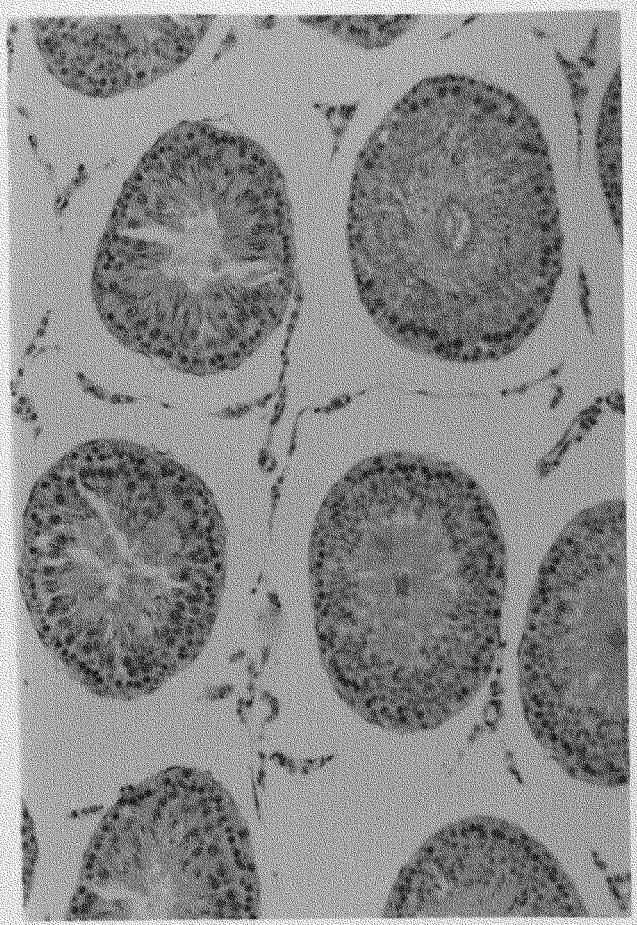


Fig. IV-20. Rata nº 905. Grupo O. (x 580)







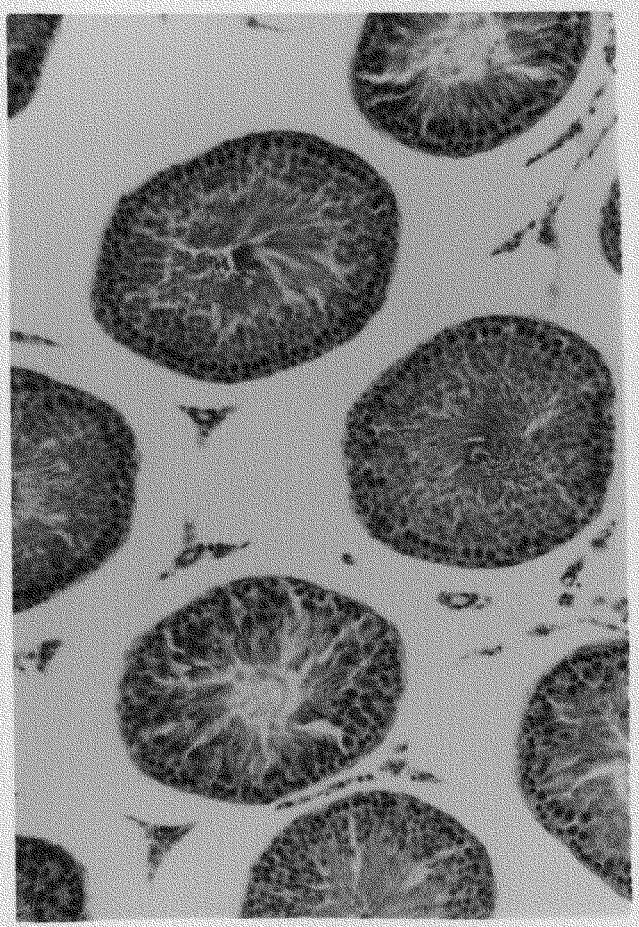


Fig. IV-21. Rata 993. Grupo EA. (x150)

Fig. IV-22. Rata 995. Grupo EA. (x150)

Fig. IV-23. Rata 1001. Grupo EA. (x150)

Fig. IV-24. Rata 997. Grupo EA. (x150)

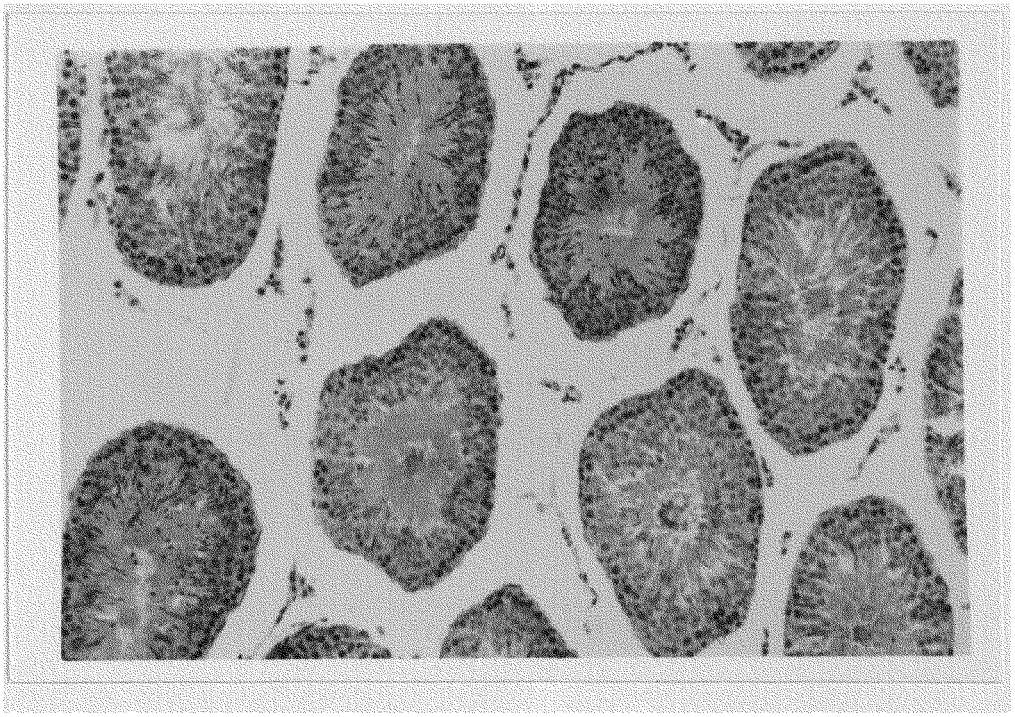


Fig. IV.25. Rata nº 1005. Grupo EA. (x 150)

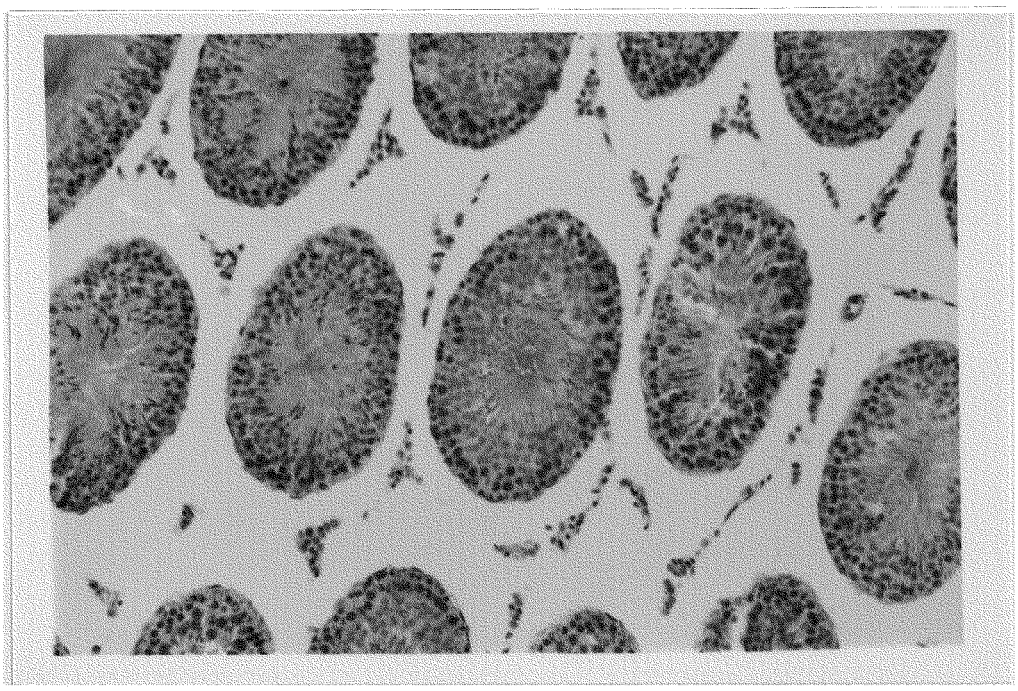
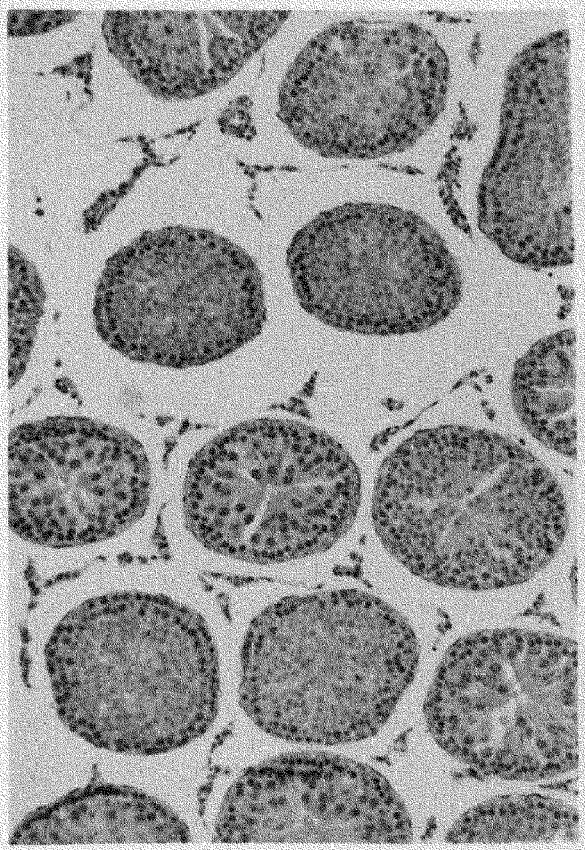
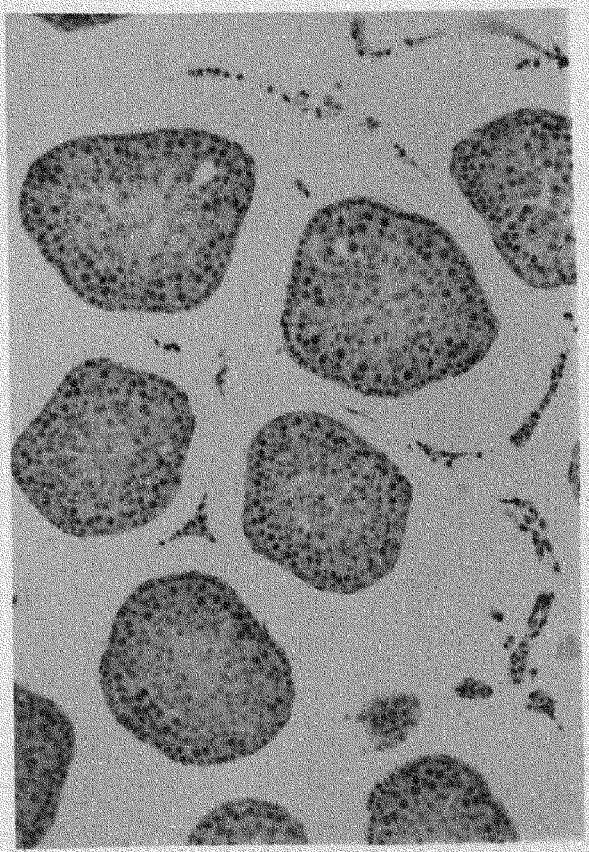
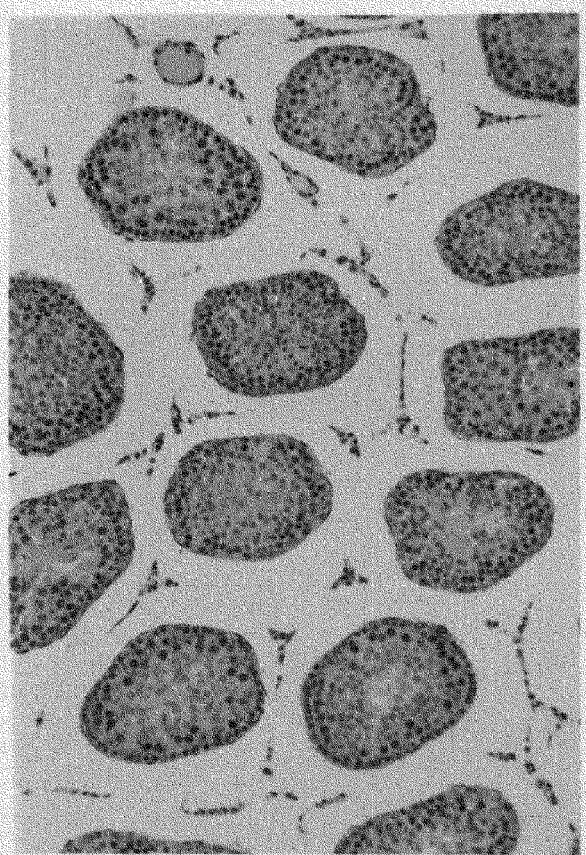


Fig. IV-26. Rata nº 1002. Grupo EA. (x 150)







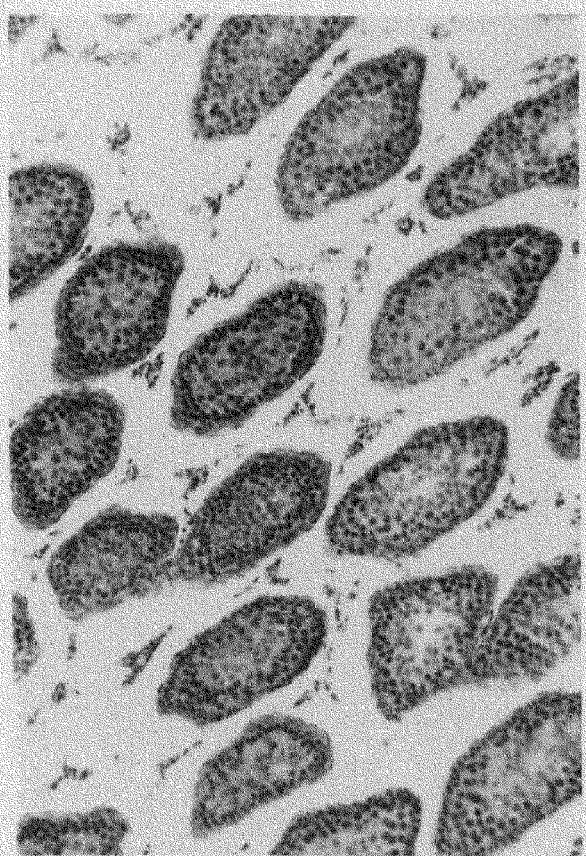


Fig. IV-27. Rata 1007. Grupo EA. (x150)

Fig. IV-28. Rata 1004. Grupo EA. (x150)

Fig. IV-29. Rata 1003. Grupo EA. (x150)

Fig. IV-30. Rata 1000. Grupo EA. (x150)

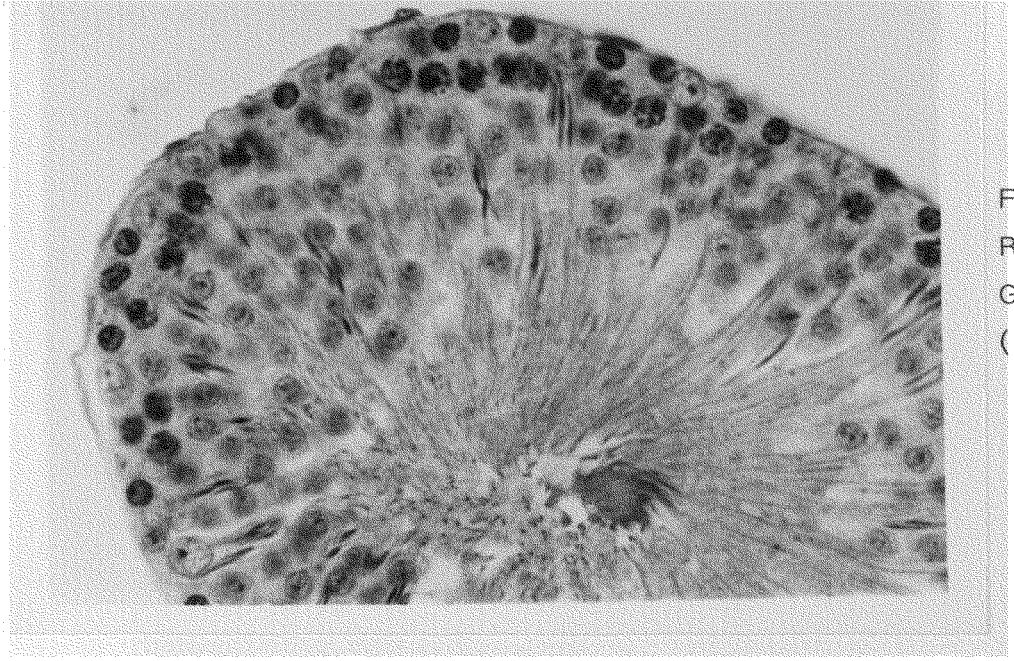


Fig. IV-31
Rata nº 997
Grupo EA
(x 580)

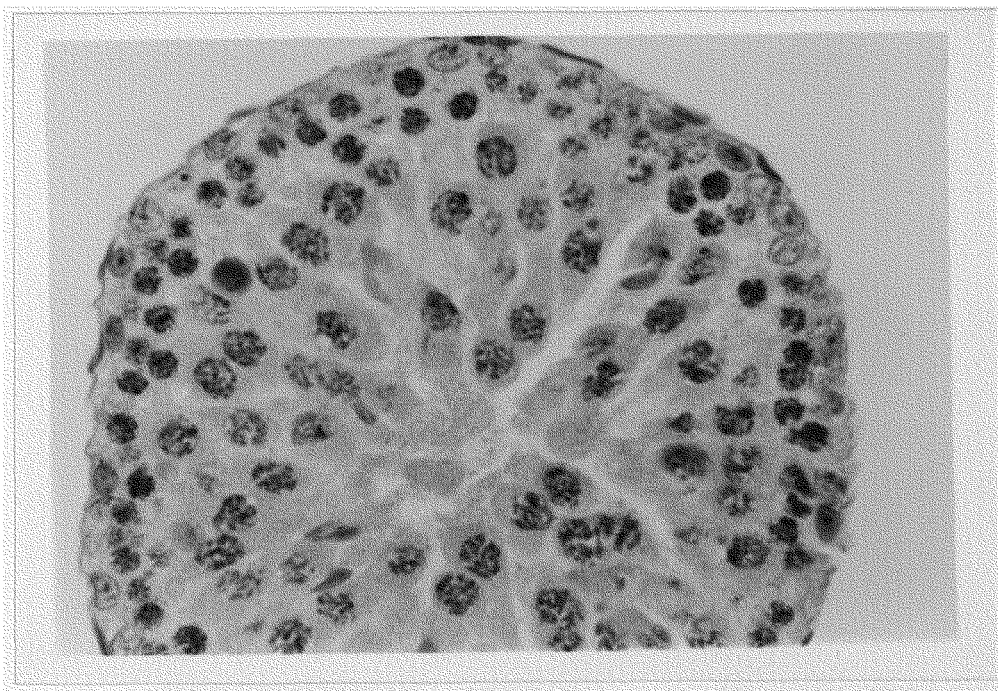


Fig. IV-32
Rata nº 1004
Grupo EA
(x 580)

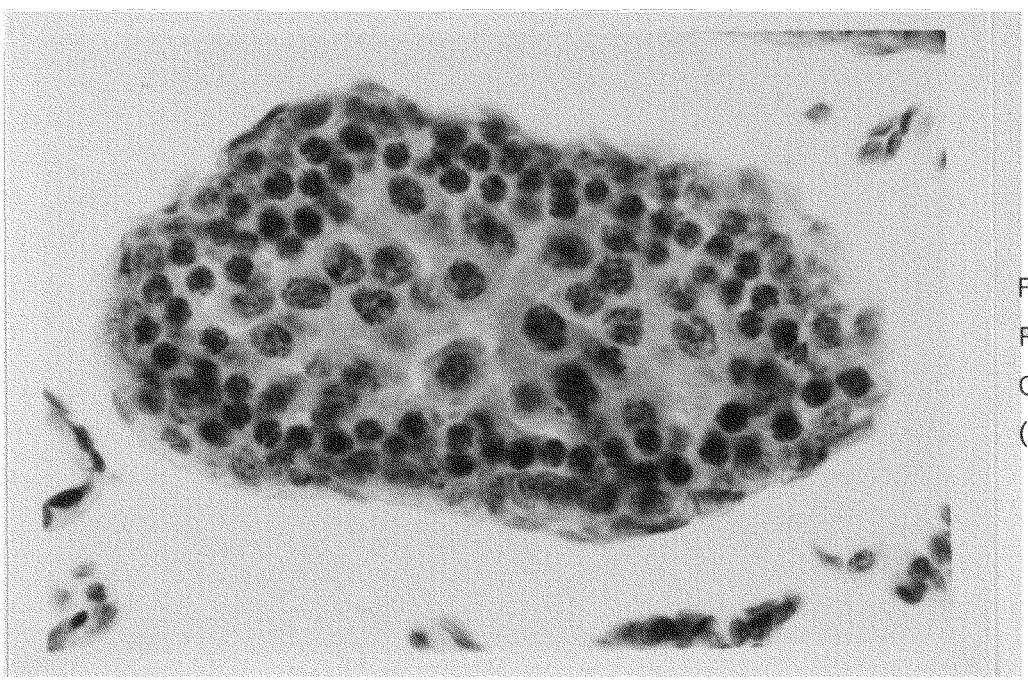


Fig. IV-33
Rata nº 1000
Grupo EA
(x 580)

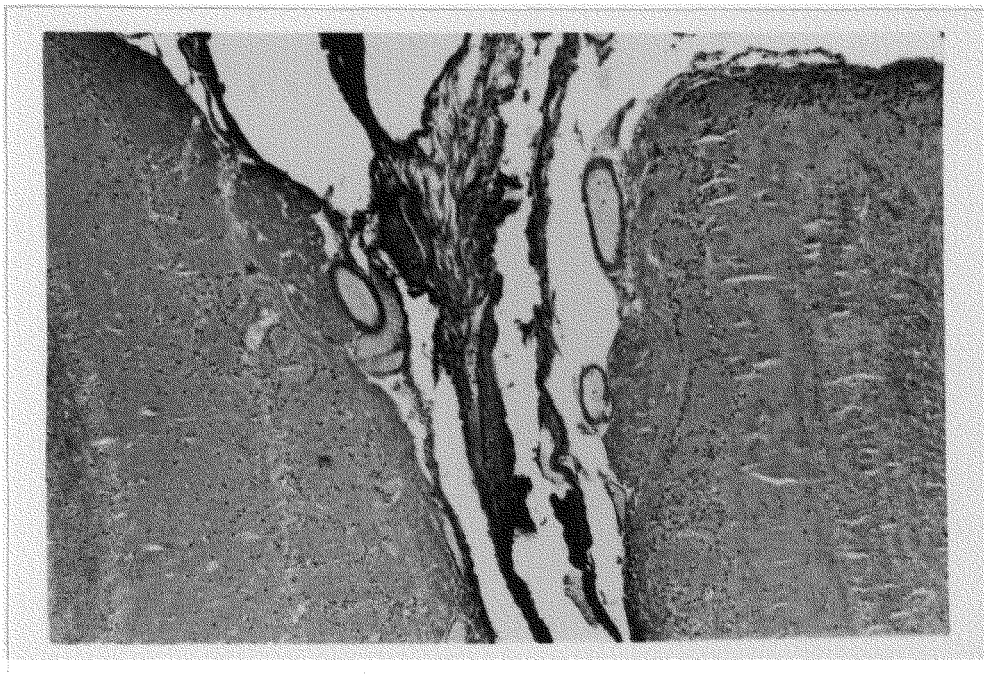


Fig. IV-34 (x 90)

Fig. IV-35 (x 90)

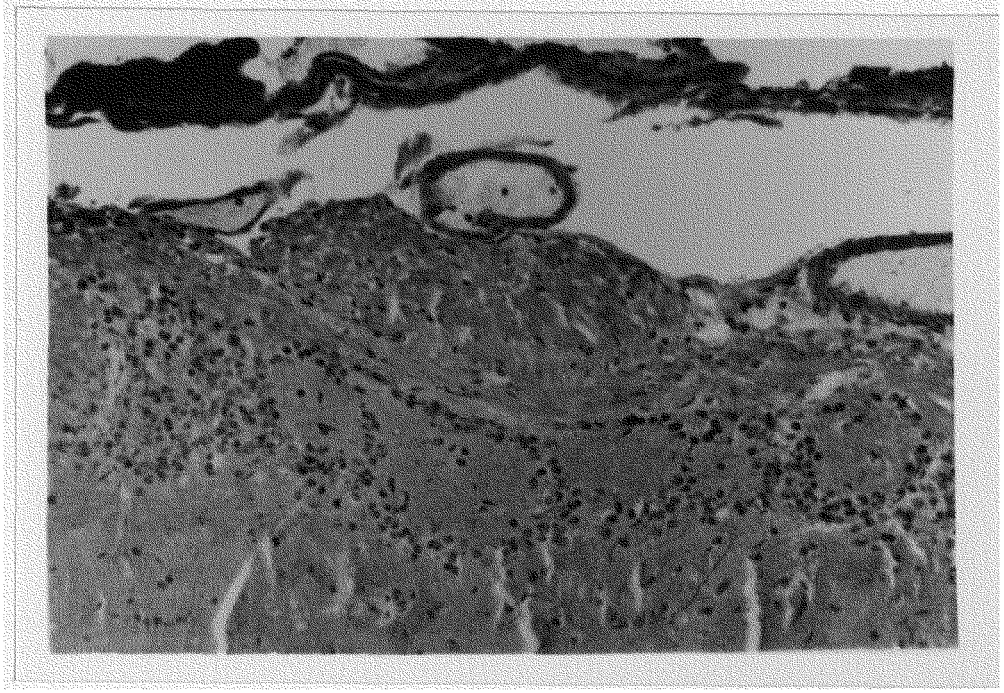


Fig. IV-36 (x 230)

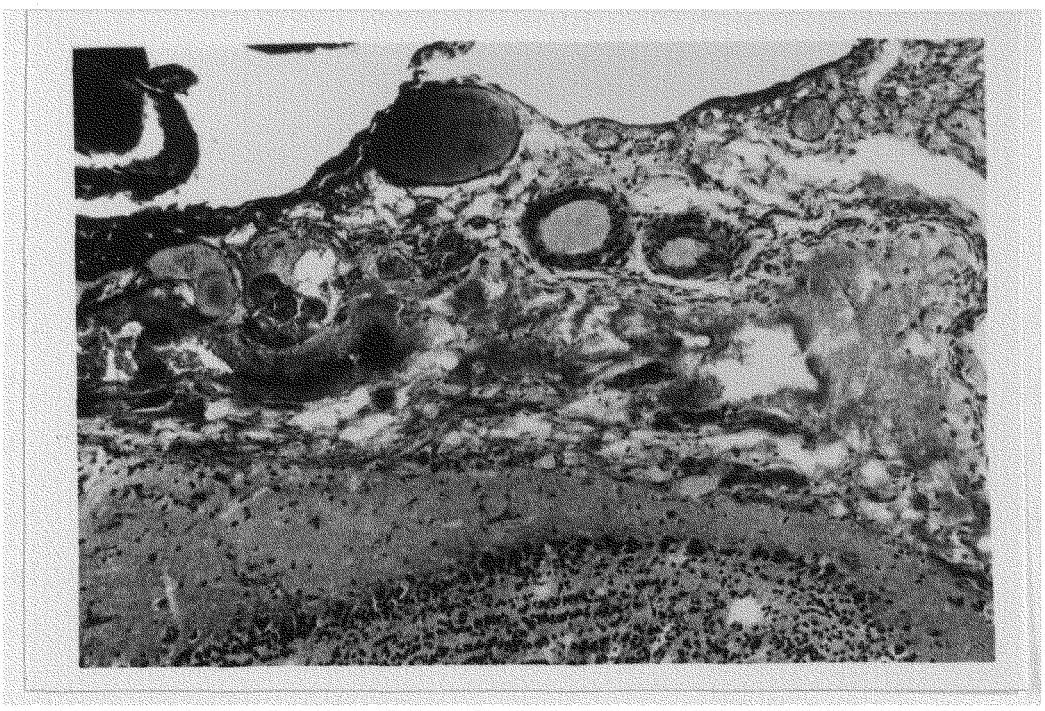


Fig. IV-37 (x 230)

VI.5. RESULTADOS DE LA SERIE V.

Los datos numéricos correspondientes a las variables estudiadas, se encuentran agrupados en las siguientes tablas: VI-V-1, los relativos a peso de órganos; VI-V-3, la evolución del peso corporal; VI-V-22, los niveles séricos de testosterona, y VI-V-2 los relacionados con la ingesta.

VI.5.1. Ingesta de alimentos.- (Fig. VI-V-2). Tal como indicabamos en la descripción de las series experimentales y en el apartado V.2.5 de Material y Métodos, la alimentación en los grupos OH, EH y EB fue idéntica, quedando definida por la ingesta media de éstas últimas (alimentadas "ad libitum"). Como quiera que la ingesta de las EB es significativamente inferior a la dieta estandard, los animales de los grupos OH y EH estaban sometidos a una subnutrición .

La eficiencia global de la alimentación (incremento de peso corporal/ 100 Kcal ingeridas), fue, en los grupos OH, E, EH y EB, significativamente inferior a los controles (O). En las EB, fue tambien inferior que en los animales ciegos alimentados "ad libitum" (E). No hallamos diferencias entre los grupos OH, EH y EB.

VI.5.2. Peso Corporal .- (Figs. VI-V-3 y 4). En la fig. VI-V-4, que muestra la evolución semanal de estos pesos, puede verse como, sólo a partir de la 2ª semana de experimento, comienzan a apreciarse diferencias importantes entre los distintos grupos, situándose las EB en valores significativamente inferiores a las O ($P<0.01$) y a las E (P 0.001); estas diferencias fueron acrecentándose en las semanas siguientes y ya en la 6ª se amplian al grupo EH ($P<0.02$).

La reducción de ingesta en los animales intactos (OH), fue capaz de reducir el peso corporal, con respecto a las alimentadas "ad libitum" (O), desde la 2ª semana, mientras que la ceguera sólo mostró efectos a partir de la 4ª semana. La asociación de ceguera y reducción de ingesta (EH) produjo una reducción

suplementaria de peso corporal, estableciéndose diferencias con respecto a las ciegas alimentadas "ad libitum" (E), apreciable desde la 2ª semana.

En la figura VI-V-5, están representados los incrementos de peso corporal experimentados durante las seis semanas, y puede verse como la ceguera (E) y la reducción de ingesta unida o no a ceguera (EH y OH), provocan un menor incremento ponderal que el de las intactas alimentadas "ad libitum" ($P<0.001$ en todos los casos).

Las ratas ciegas con dieta restringida (EH), mostraron incrementos ponderales menores que sus homólogas alimentadas "ad libitum" (E vs EH, $P<0.02$).

VI.5.3. Peso de Adenohipófisis .- (Figs. VI-V-6 y 7). La simple reducción de la ingesta (OH), indujo una reducción del peso absoluto ($P<0.001$) aunque no del relativo, con respecto a los controles (O). La ceguera, comportó una reducción del p. absoluto, análoga a la de los OH (E vs OH, P=N.S. E vs O, $P<0.001$), sin embargo, en cuanto a pesos relativos la reducción ponderal experimentada por las E, las sitúa en niveles significativamente inferiores tanto a los controles (O vs E, $P<0.02$) como a las OH ($P<0.01$).

Cuando se reduce la dieta a los animales ciegos (EH) éstos experimentan una mayor reducción en el peso absoluto hipofisario, con respecto a sus homólogos alimentados "ad libitum" (E vs EH, $P<0.05$), diferencia que no se extiende a los pesos relativos. Por supuesto, en ambos casos los valores fueron también significativamente más bajos que los O y los OH ($P<0.001$ en todos los casos).

Los animales ciegos bulbectomizados mostraron pesos absolutos y relativos inferiores al resto de los grupos ($P<0.001$, en todos los casos).

VI.5.4. Peso de Adrenales .- (Figs. VI-V-8 y 9). En cuanto a pesos absolutos, sólo hallamos una reducción significativa de los OH con respecto a los controles ($P<0.05$) y de los EB en relación tanto a los controles ($P<0.01$) como a los ciegos ($P<0.02$). El análisis de la varianza, no mostró diferencias significativas entre

los cinco grupos, en cuanto a pesos relativos.

VI.5.5. Peso de Testículos .- (Figs. VI-V-10 y 11). No hallamos diferencias entre los pesos absolutos de los grupos O, OH, E y EH, siendo los del grupo EB, inferiores a todos ellos (EB vs O, OH y EH, $P<0.001$; EB vs E, $P<0.05$). En cuanto a pesos relativos, destaca el hecho de que, al centrarse la mayor parte de los efectos de las maniobras experimentales sobre el peso corporal, reduciéndolo, tanto las OH, como las EH, mostraron valores significativamente superiores que el resto de los grupos, con niveles de significación de $P<0.01$ o 0.001. Los grupos OH y EH no presentaron diferencias entre sí, lo mismo que los O, E y EB.

VI.5.6. Peso de Vesículas Seminales .- (Figs. VI-V-12 y 13). La reducción de la ingesta (OH), provocó en los animales intactos una disminución del p. absoluto de sus v. seminales con respecto a los controles normoalimentados (O vs OH, $P<0.001$), pero no hubo diferencias en p. relativo.

La ceguera (E), también redujo los pesos absolutos y relativos, con respecto a los controles ($P<0.001$ en p. abs. y $P<0.005$ en p. rel.), mostrando valores análogos a los del grupo OH. Cuando a la deprivación de luz se une la reducción en la ingesta (EH), se experimenta una nueva reducción de peso que las sitúa en valores significativamente menores que las de las ciegas normoalimentadas (E) ($P<0.02$ en p. abs. y $P<0.05$ en p. rel.) y por supuesto también con referencia a las controles (O) ($P<0.001$) e intactas subalimentadas (OH) ($P<0.001$).

La asociación de ceguera+bulbectomía, provocó una marcada atrofia de estos órganos, que dieron pesos inferiores a los del resto de los grupos ($P<0.001$ en todos los casos.).

VI.5.7. Peso de las Glándulas de Coagulación .- (Figs. VI-V-14 y 15). La administración de la dieta de las EB, a los animales intactos (OH), redujo los

pesos absolutos (P<0.001) y relativos (P<0.01) de las g. de coagulación, con respecto a los alimentados "ad libitum" (O). Lo mismo ocurrió entre los animales enucleados, mostrando los de dieta restringida (EH) pesos menores que los normoalimentados (E) (P<0.001). Tanto las E, como las EH fueron también significativamente menores que las O (O vs E, P<0.001 en p. abs. y P<0.005 en p. rel; O vs EH, P<0.001 en p. abs. y rel.).

Las ratas EB, mostraban una notable atrofia de estos órganos, situándose sus pesos muy por debajo de los valores alcanzados en los demás grupos (P<0.001 en todos los casos).

VI.5.8. Peso de Próstatas Ventrales .- (Figs. VI-V-16 y 17). La reducción de la ingesta, aplicada a animales intactos, careció de efectos (O vs OH, P=N.S.), mientras que sobre los ciegos (EH), provocó un significativo descenso de los p. absolutos y relativos, tanto con respecto a los también ciegos alimentados "ad libitum", (E), como a los O y OH (P<0.001 en todos los casos). El peso de las próstatas en las EH, fué semejante al de las EB, siendo éstas últimas inferiores también al resto de los grupos (O, OH y E) con una P<0.001 .

VI.5.9. Peso de Epidídimos y C. Deferentes.- (Figs. VI-V-18 y 19). Mientras los p. absolutos de estos órganos no sufrieron variaciones en las OH, con respecto a las O, los p. relativos, debido a la reducción experimentada por los pesos corporales, fueron superiores a los controles (O vs OH, P<0.005). También entre los animales ciegos, el peso relativo fue mayor en las de dieta restringida (EH) que en las alimentadas "ad libitum" (E) (P<0.01) y en las controles (O) (P<0.05).

Los p. absolutos y relativos de las EB, fueron siempre inferiores a los del resto de los animales (E vs EB, P<0.05 en p. abs. P<0.005 en p. rel. en el resto de los caso P<0.001).

VI.5.10. Peso de Bazos .- (Figs. VI-V-20 y 21). En cuanto a p. absoluto,

la reducción de la ingesta, tanto en animales ciegos como intactos, provocó reducciones significativas (O vs OH, P<0.005; E vs EH, P<0.02; O vs EH, P<0.001). En las EB, el peso absoluto de los bazos fue inferior al de los controles (O) (P<0.005), pero no al resto de los grupos.

Todas las diferencias desaparecen al considerar pesos relativos (F. Snedecor=1.30 P=N.S.).

VI.5.11. Niveles séricos de Testosterona .- (Fig. VI-V-22). La concentración sérica de esta hormona, no sufrió cambios sensibles en los animales ciegos (E), con respecto a los controles (O). La reducción de la ingesta provocó, en los animales intactos, una disminución en los niveles de testosterona, en relación a los normoalimentados, pero sin que las diferencias fueran estadísticamente significativas (O vs OH, P=N.S.). En los animales ciegos, por el contrario, sí que se aprecian los efectos de la reducción de la ingesta, que se traducen en unos niveles de esteroide más bajos que en las alimentadas "ad libitum" (E vs EH, P<0.005) . En las EH los valores hallados fueron también inferiores a los de O (P<0.005).

En los animales ciegos bulbectomizados, la concentración de testosterona fué inferior a los controles (O) (P<0.001), ciegos (E) (P<0.001) e intactos con dieta restringida (OH) (P<0.005).

No hallamos diferencias entre los grupos EH y EB, ni entre OH y EH.

	HIPOFISIS	TESTICULOS	VESICULAS SEMINALES	GLANDULAS COAGULACION	EPIDIDIMOS + DEFERENTES	PROSTATAS	BAZO	ADRENALES
Grupo O [14]	7.78 ± 0.24	3041.8 ± 75.62 [13]	560.29 ± 19.23 [13]	110.21 ± 4.62 [13]	837.39 ± 24.58	201.85 ± 15.86	633.76 ± 31.65	31.55 ± 1.29 [13]
	2.49 ± 0.08	980.7 ± 20.28 [13]	179.57 ± 6.71 [13]	35.25 ± 1.34 [13]	268.45 ± 6.30	65.00 ± 5.01	201.85 ± 6.99	10.13 ± 0.29 [13]
Grupo OH [10]	6.44 ± 0.07 [9]	3186.5 ± 123.19	395.70 ± 26.68	71.85 ± 3.27	770.65 ± 33.18	165.73 ± 11.94	479.75 ± 33.37	26.90 ± 1.70
	2.57 ± 0.07 [9]	1275.3 ± 45.16	158.06 ± 9.83	29.13 ± 1.45	307.68 ± 9.82	66.00 ± 4.17	191.61 ± 10.69	10.72 ± 0.55
Grupo E [10]	6.12 ± 0.36	2830.8 ± 191.23 [9]	368.70 ± 39.35	74.77 ± 6.85	681.63 ± 46.00	198.36 ± 12.83	548.23 ± 21.76	31.67 ± 1.53
	2.17 ± 0.10	1006.3 ± 72.97 [9]	130.82 ± 13.72	26.53 ± 2.32	242.75 ± 15.45	70.21 ± 3.53	194.93 ± 4.67	11.25 ± 0.41
Grupo EH [12]	5.25 ± 0.18	3125.5 ± 46.70	249.90 ± 21.19	46.08 ± 3.09 [11]	746.26 ± 18.67	100.05 ± 10.00	486.05 ± 11.66	29.65 ± 0.97
	2.04 ± 0.06	1227.5 ± 31.86	96.98 ± 7.78	17.96 ± 1.03 [11]	292.63 ± 8.41	38.82 ± 3.68	190.34 ± 4.21	11.62 ± 0.40
Grupo EB [15]	3.88 ± 0.18	2284.1 ± 155.90 [14]	95.50 ± 27.12 [14]	19.42 ± 4.71 [14]	461.04 ± 48.28 [14]	68.76 ± 14.44 [14]	504.88 ± 27.00	26.11 ± 1.43 [14]
	1.62 ± 0.06	938.1 ± 50.47 [14]	37.54 ± 10.16 [14]	7.69 ± 1.75 [14]	188.15 ± 17.05 [14]	27.50 ± 5.31 [14]	209.79 ± 8.11	10.93 ± 0.49 [14]

Fig. VI-V-1. Resumen de los datos correspondientes a peso de órganos. Se indican: media (mgr) ± ESM, y número de casos. Para cada órgano, el recuadro superior corresponde a valores absolutos y el inferior a relativos (mgr/100 gr de peso corporal).

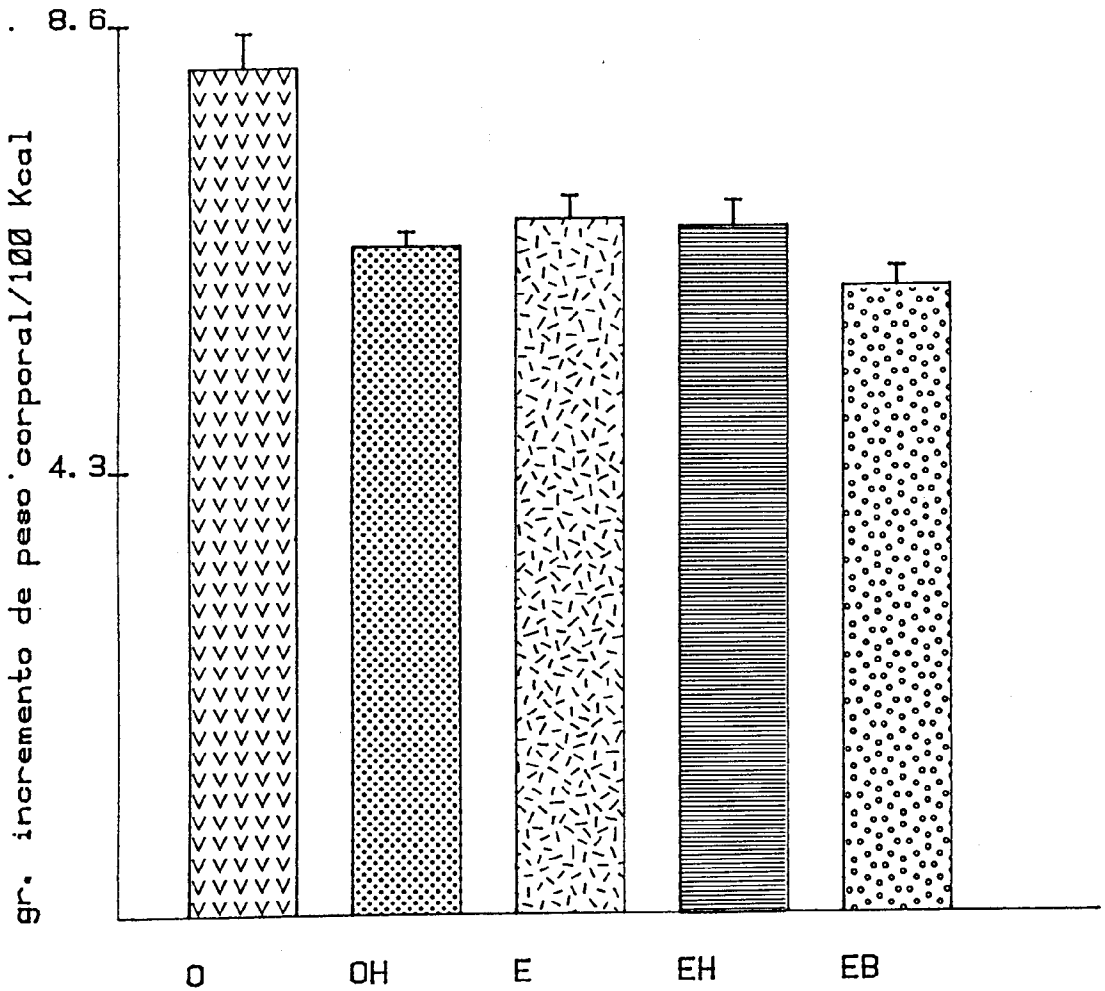


Fig. VI-V-2. Eficiencia Alimentaria Global

EFICIENCIA GLOBAL DE LA ALIMENTACION gr / 100 Kcal.							
Grupo	Media	E.S.M	Casos	Grupo	Media	E.S.M	Casos
O	8.19	0.33	13	OH	6.46	0.14	10
E	6.72	0.23	9	EH	6.65	0.23	12
EB	6.07	0.19	14				

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OH; E; EH; EB;	4	53	11.92	<0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-OH	4.252	21	0.001	21.12	10.79 - 31.45
O-E	3.244	20	0.005	17.94	6.40 - 29.48
O-EH	3.682	23	0.005	18.80	8.24 - 29.36
O-EB	5.564	25	0.001	25.88	16.30 - 35.46
E-EB	2.130	21	0.05	9.67	0.23 - 19.11

	PESO INICIAL	PESO 1ª SEMANA	PESO 2ª SEMANA	PESO 3ª SEMANA	PESO 4ª SEMANA	PESO 5ª SEMANA	PESO 6ª SEMANA (Final)
Grupo O [14]	80.24 ± 1.60	118.42 ± 3.47	158.57 ± 4.68	206.90 ± 6.00	254.70 ± 5.88	294.30 ± 5.50	316.38 ± 5.24
Grupo OH [10]	79.10 ± 2.27	117.50 ± 3.38	143.30 ± 3.67	175.50 ± 2.94	210.20 ± 5.10	235.40 ± 4.72	249.90 ± 4.76
Grupo E [10]	80.80 ± 2.37	124.20 ± 3.97	167.60 ± 5.58	197.40 ± 7.27	236.00 ± 6.41	262.60 ± 6.96	280.85 ± 7.47
Grupo EH [12]	80.41 ± 1.62	120.83 ± 2.80	150.30 ± 2.59	178.40 ± 4.40	207.50 ± 7.43	232.60 ± 4.64	257.25 ± 5.03
Grupo EB [15]	77.50 ± 1.22	112.00 ± 1.59	143.64 ± 2.87	171.20 ± 2.84	195.40 ± 2.19	220.95 ± 3.79	240.00 ± 4.97
ANOVA	$f_1 = 4$ $f_2 = 56$ $F = 0.67$ P = N.S.	$f_1 = 4$ $f_2 = 56$ $F = 1.85$ P = N.S.	$f_1 = 4$ $f_2 = 56$ $F = 6.36$ $P < 0.01$	$f_1 = 4$ $f_2 = 56$ $F = 10.89$ $P < 0.01$	$f_1 = 4$ $f_2 = 56$ $F = 21.39$ $P < 0.01$	$f_1 = 4$ $f_2 = 56$ $F = 38.15$ $P < 0.01$	$f_1 = 4$ $f_2 = 55$ $F = 34.92$ $P < 0.01$

Fig. VI-V-3. Evolución semanal de los pesos corporales. Se indican: media ± ESM, análisis de la varianza y número de casos.

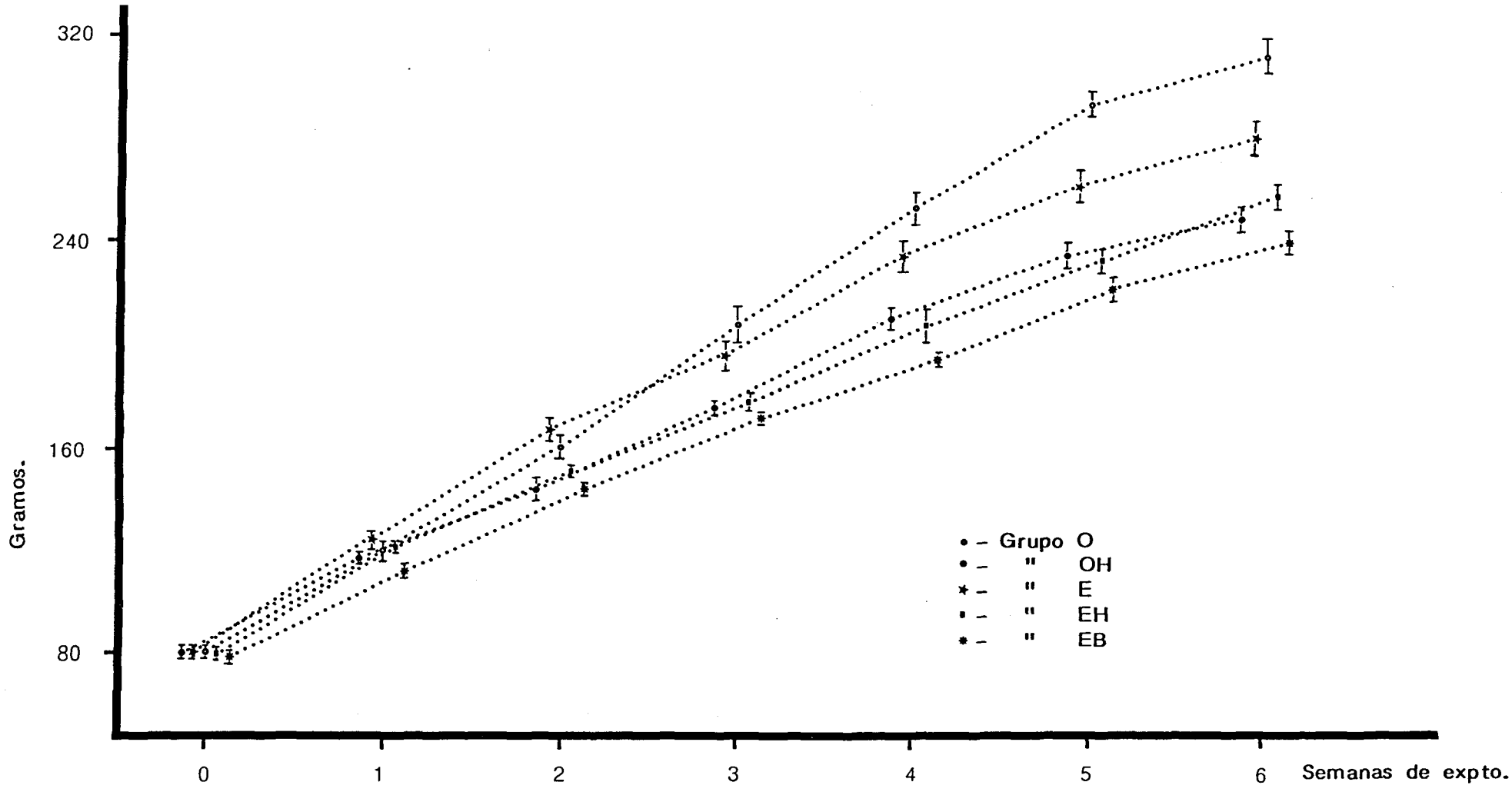


Fig. VI-V-4. Evolución semanal de los pesos corporales.

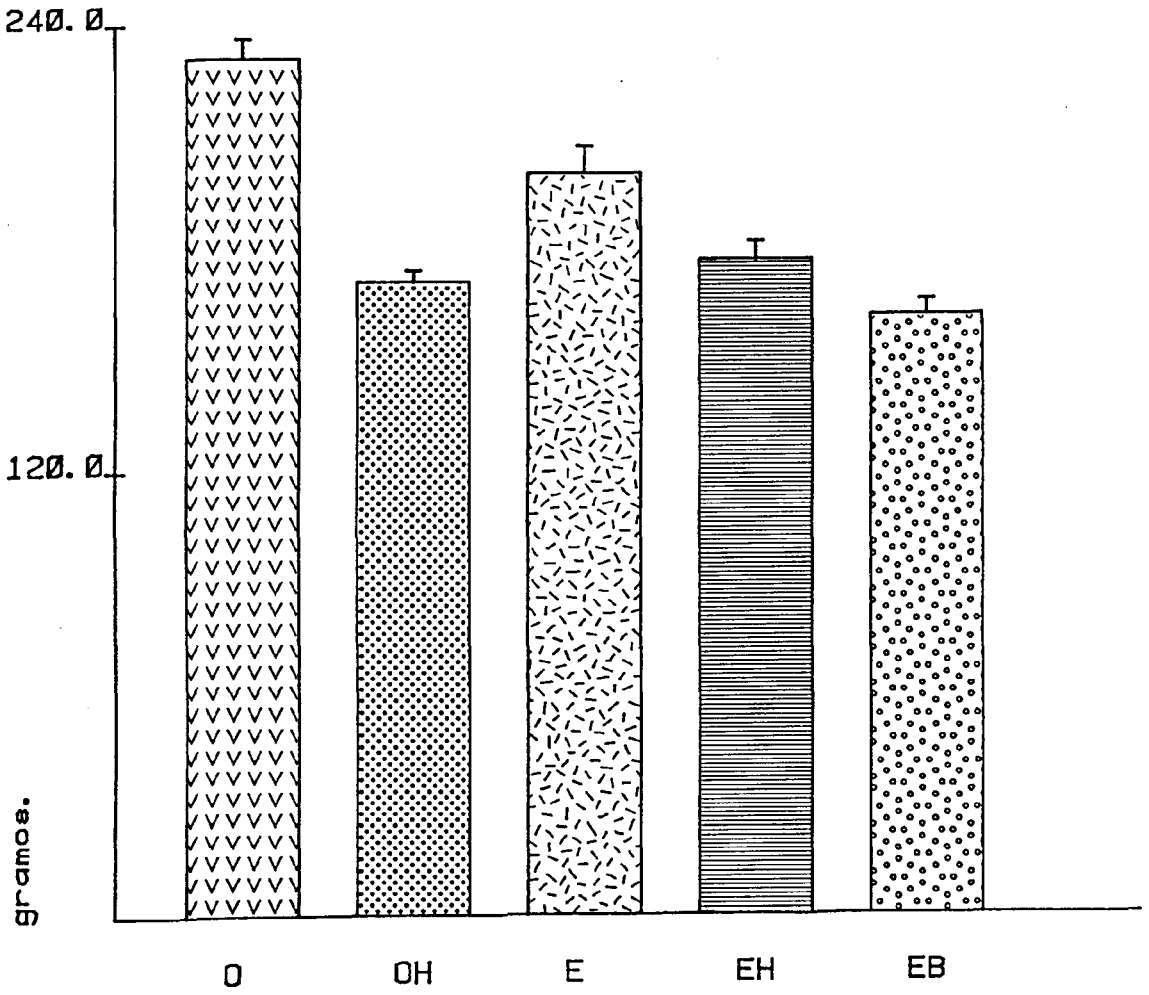


Fig. VI-V-5. Incremento de Peso

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de Libertad		"F" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; OH; E; EH; EB.	4	56	35.02	0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-OH	8.971	22	0.001	26.06	20.04 - 32.08
O-E	3.594	22	0.001	13.42	5.68 - 21.16
O-EH	7.623	24	0.001	23.45	17.01 - 29.80
O-EB	10.385	27	0.001	29.99	24.06 - 35.91
E-EH	2.820	20	0.02	11.58	3.01 - 20.15
E-EB	4.954	23	0.001	19.13	11.14 - 27.12
E-OH	3.800	18	0.005	14.60	6.53 - 22.67
EH-EB	2.415	25	0.02	8.54	1.25 - 15.82
El resto de las diferencias carecen de significación estadística.					

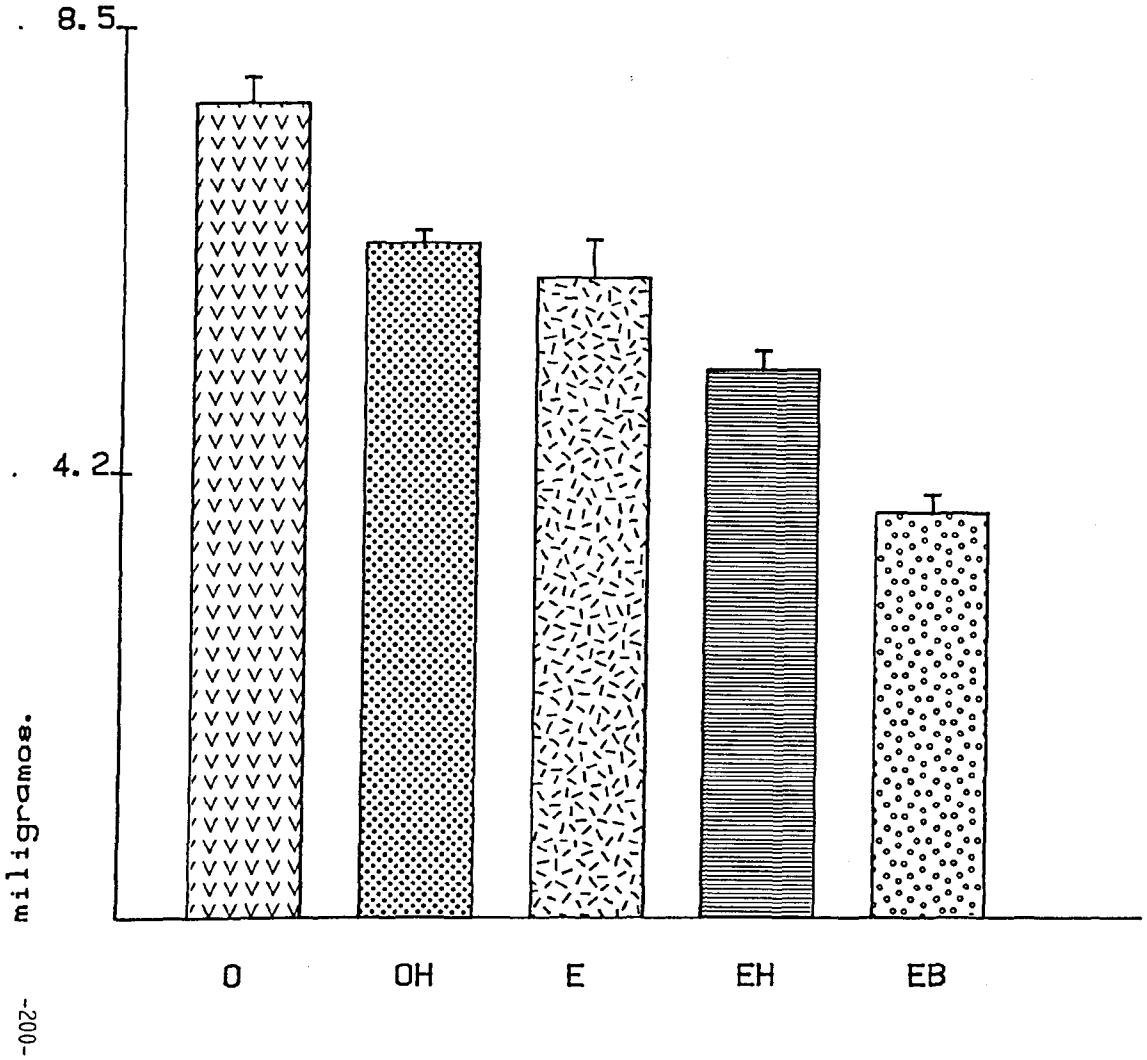


Fig. VI-V-6. Pesos Absolutos de Hipófisis

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de Libertad		"F" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; OH; E; EH; EB.	4	55	46.25	0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-OH	4.213	21	0.001	17.22	8.72 - 25.72
O-E	3.966	22	0.001	21.34	10.18 - 32.49
O-EH	8.079	24	0.001	32.52	24.21 - 40.83
O-EB	13.176	27	0.001	50.13	42.32 - 57.93
E-EH	2.237	20	0.05	14.21	0.96 - 27.47
E-EB	6.132	23	0.001	36.60	24.25 - 48.95
OH-EB	10.350	22	0.001	39.75	31.78 - 47.72
EH-EB	5.297	25	0.001	26.09	15.95 - 36.24
OH-EH	4.947	19	0.001	18.48	10.70 - 26.29
El resto de las diferencias carecen de significación estadística.					

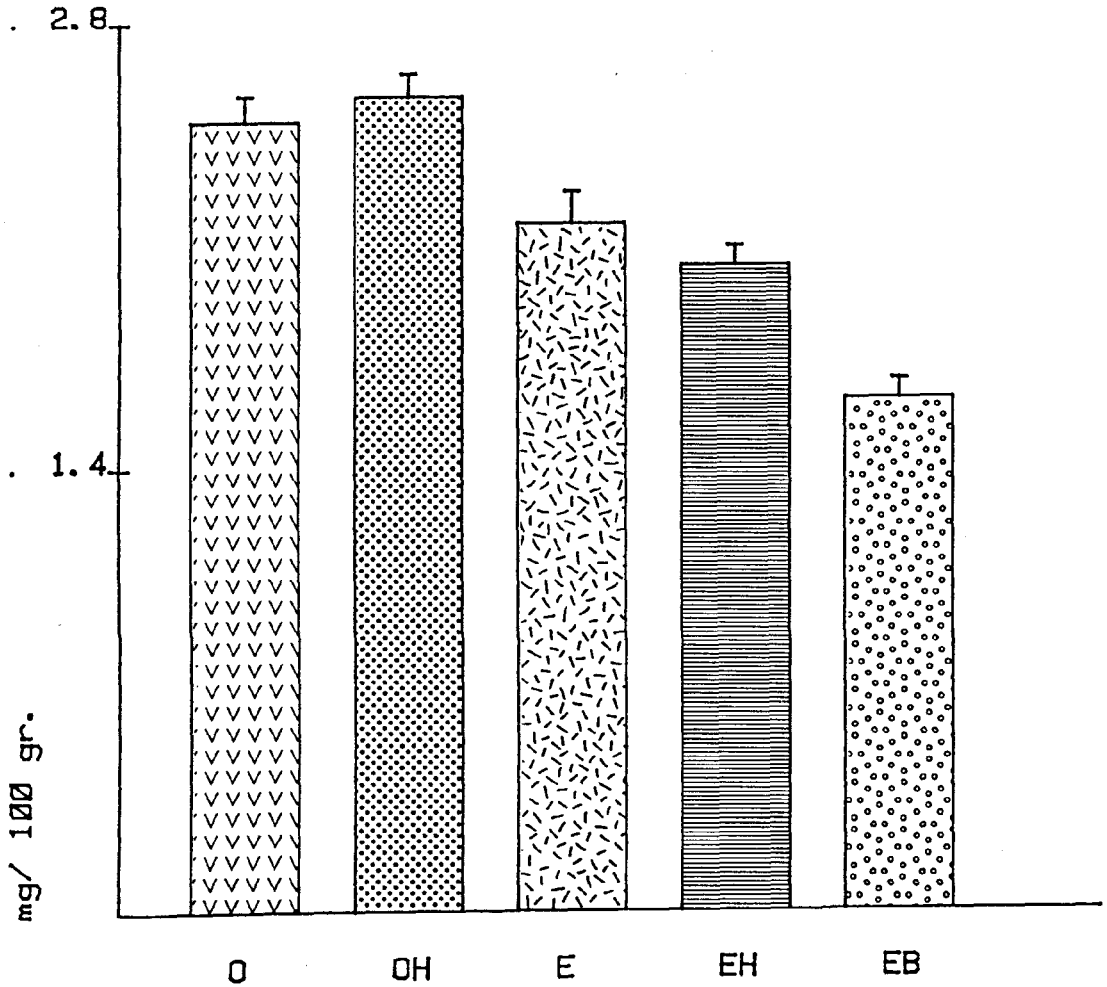


Fig. VI-V-7. Peso Relativo de Adenohipófisis.

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; OH; E; EH; EB	4	55	26.94	0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	2.565	22	0.02	12.85	2.46 - 23.24
O-EH	4.326	24	0.001	18.07	9.45 - 26.70
O-EB	8.846	27	0.001	34.94	26.84 -43.04
E-EB	4,965	23	0.001	25.34	14.78 - 35.90
OH-E	3.152	17	0.01	15.56	5.15 - 25.98
OH-EB	9.686	22	0.001	36.96	29.05 - 44.88
EH-EB	4.625	25	0.001	20.59	11.42 - 29.75
OH-EH	5.298	19	0.001	20.62	12.47 - 28.77

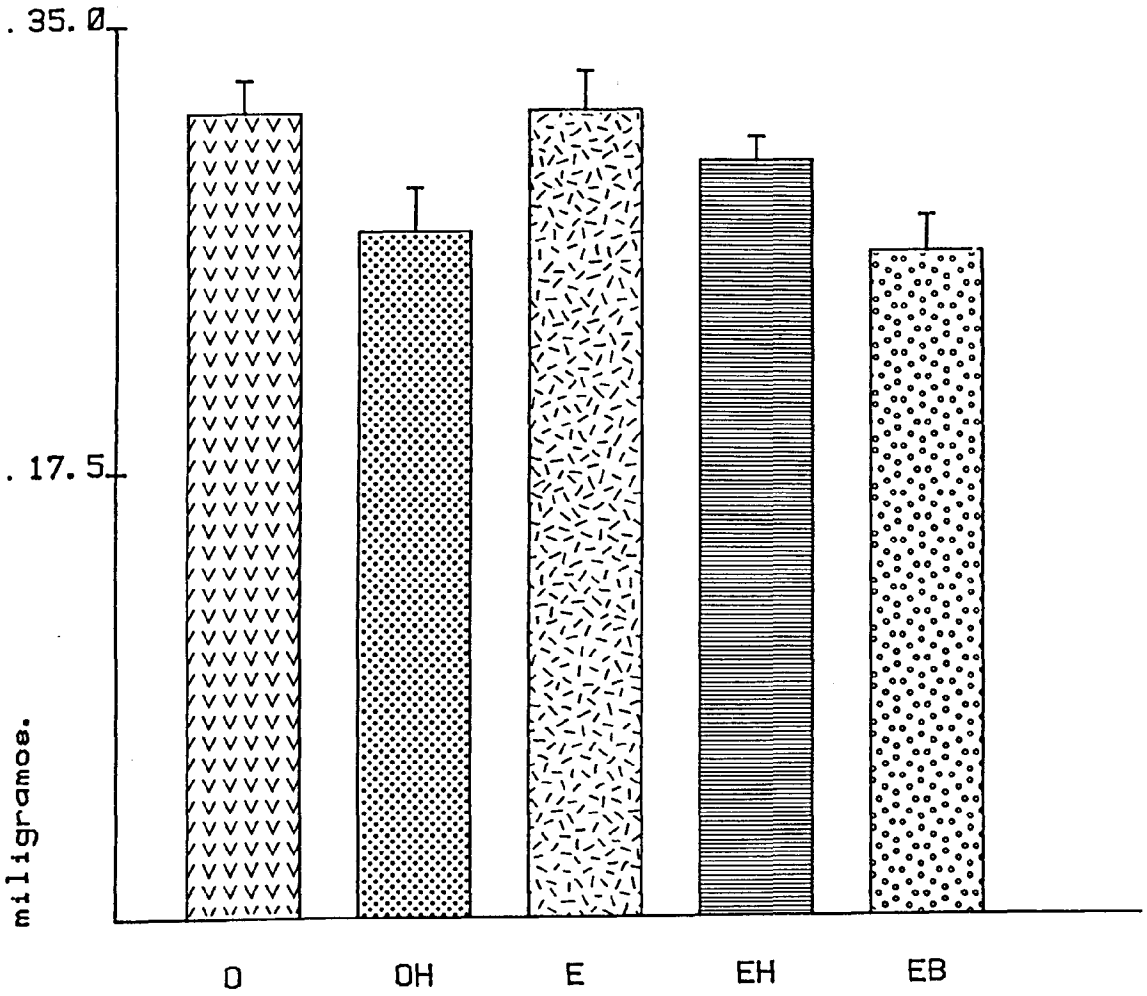


Fig. VI-V-8. Pesos Absolutos de Adrenales

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de Libertad		"F" SNEDECOR	P <
	Grupos	Muestras		
O; E; EB; EH; OH.	4	54	3.53	0.05

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-OH	2.224	21	0.05	14.73	0.95 - 28.51
O-EB	2.807	25	0.01	17.24	4.59 - 29.89
E-EB	2.602	22	0.02	17.53	3.56 - 31.54
El resto de las diferencias carecen de significación estadistica.					

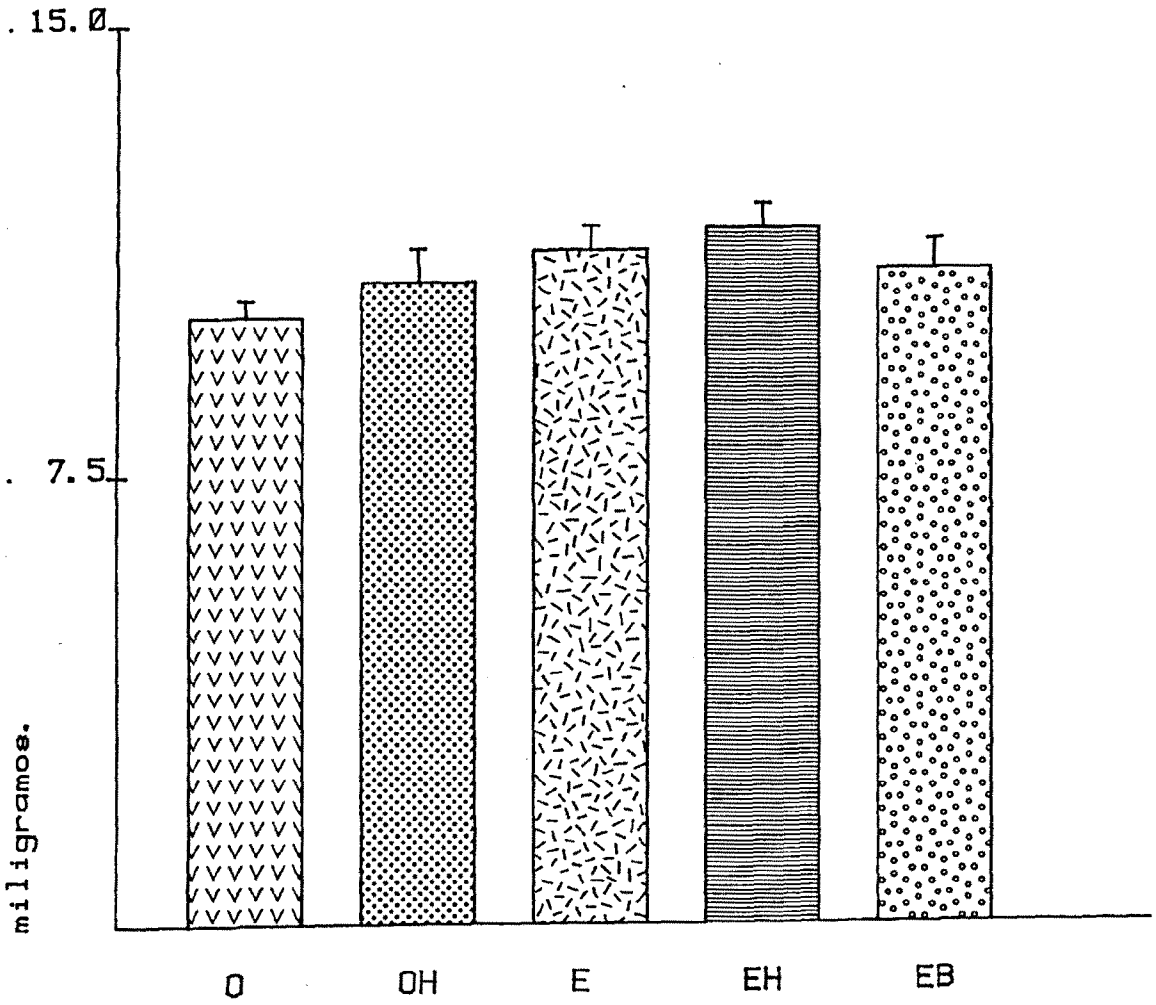


Fig. VI-V-9. Pesos Relativos de Adrenales

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de Libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OH; E; EH; EB.	4	54	1.73	N.S.

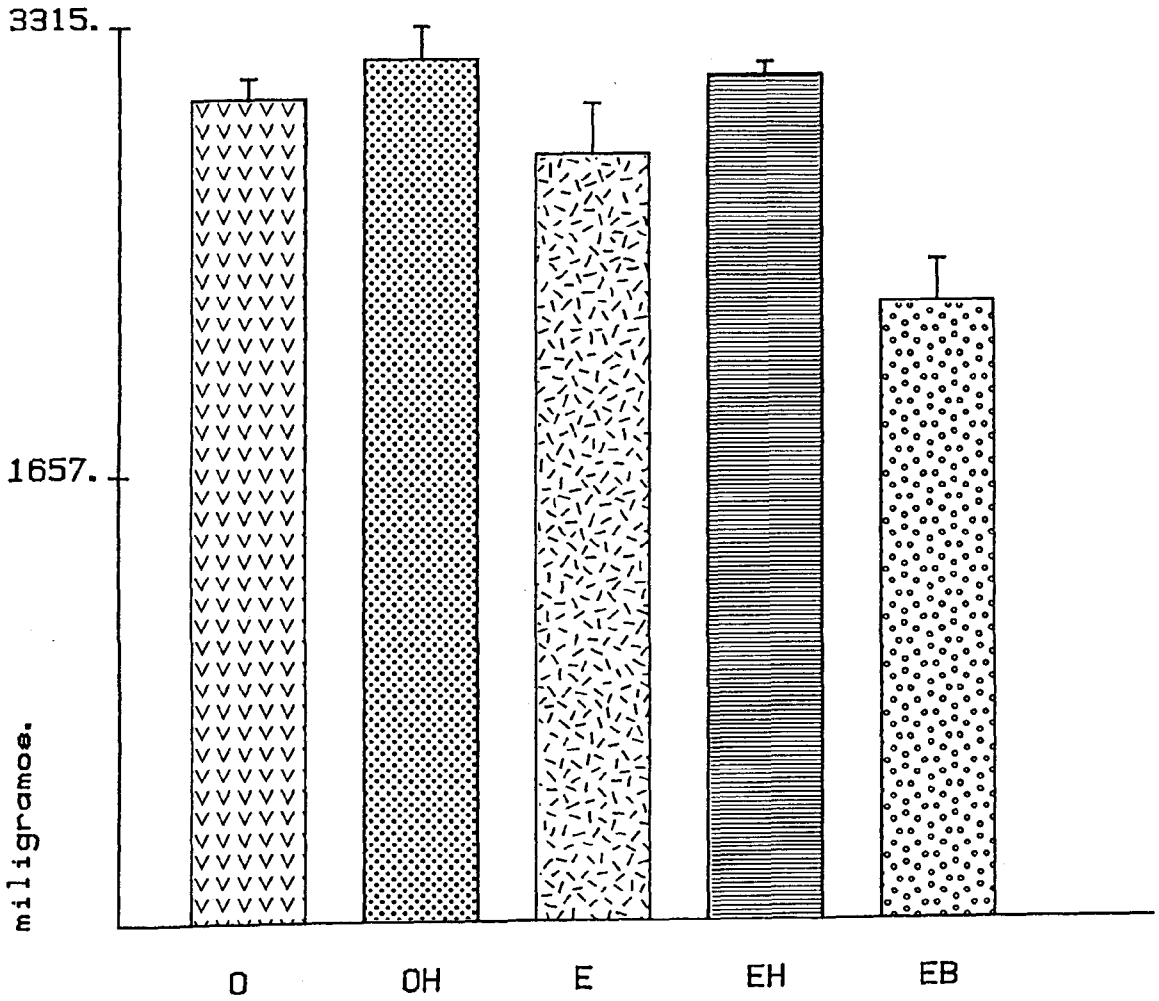


Fig. VI-V-10. Pesos Absolutos de Testículos

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de Libertad		"F" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; OH; E; EH; EB.	4	53	9.64	0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-EB	4.266	25	0.001	24.91	12.88 - 36.93
E-EB	2.204	21	0.05	19.29	1.09 - 37.49
OH-EB	4.247	22	0.001	28.31	14.50 - 42.14
EH-EB	4.824	24	0.001	26.91	15.40 - 38.42
El resto de las diferencias carecen de significación estadística.					

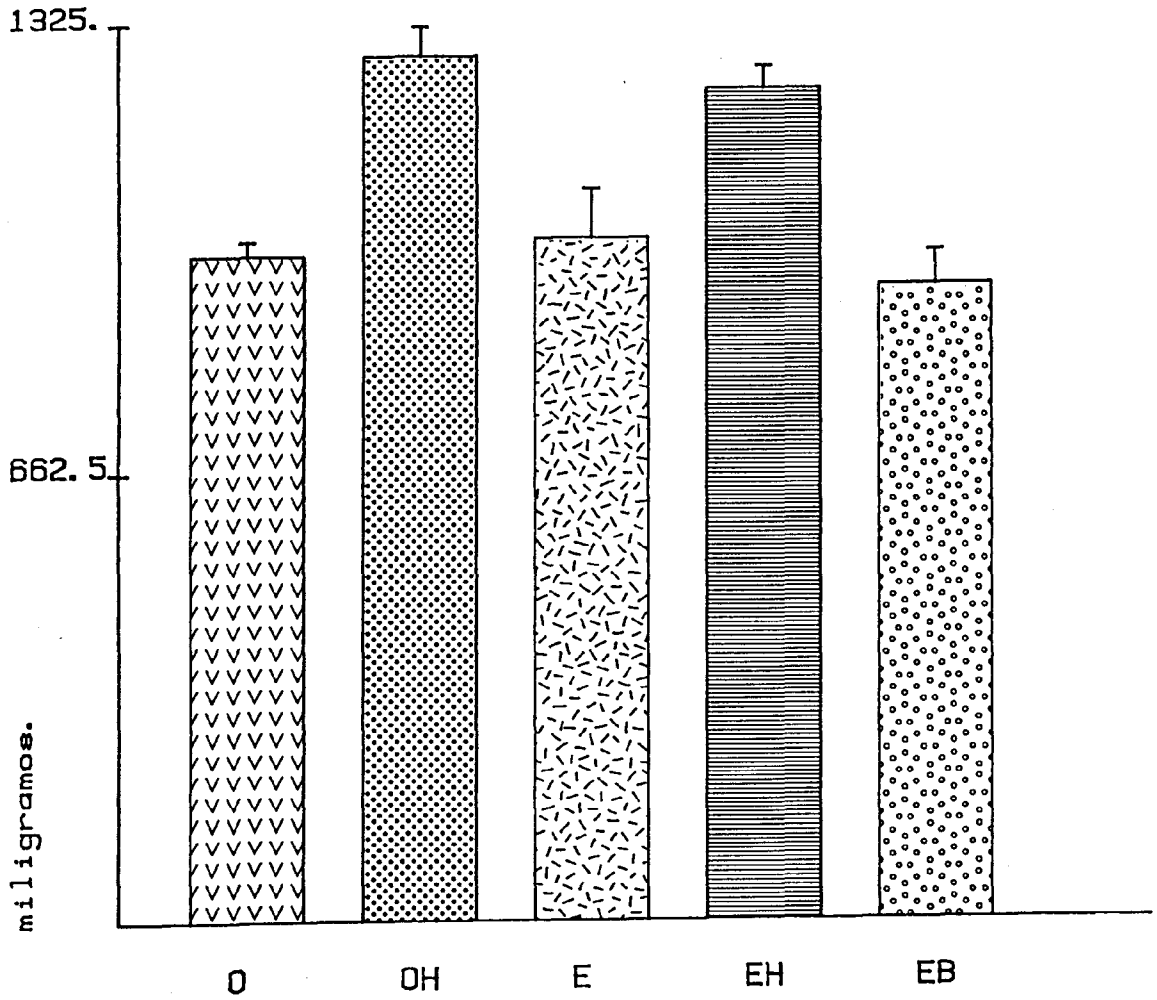


Fig. VI-V-11. Pesos Relativos de Testículos

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; OH; E; EH; EB.	4	53	11.87	0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-OH	6.457	21	0.001	23.14	15.68 - 30.59
O-EH	6.642	23	0.01	20.13	13.86 - 26.40
E-EH	3.033	19	0.01	17.99	5.58 - 30.40
E-OH	3.206	17	0.01	21.10	7.21 - 34.98
OH-EB	4.750	22	0.001	26.43	14.89 - 37.97
EH-EB	4.654	24	0.001	23.55	13.10 - 33.92
El resto de las diferencias carecen de significación estadística.					

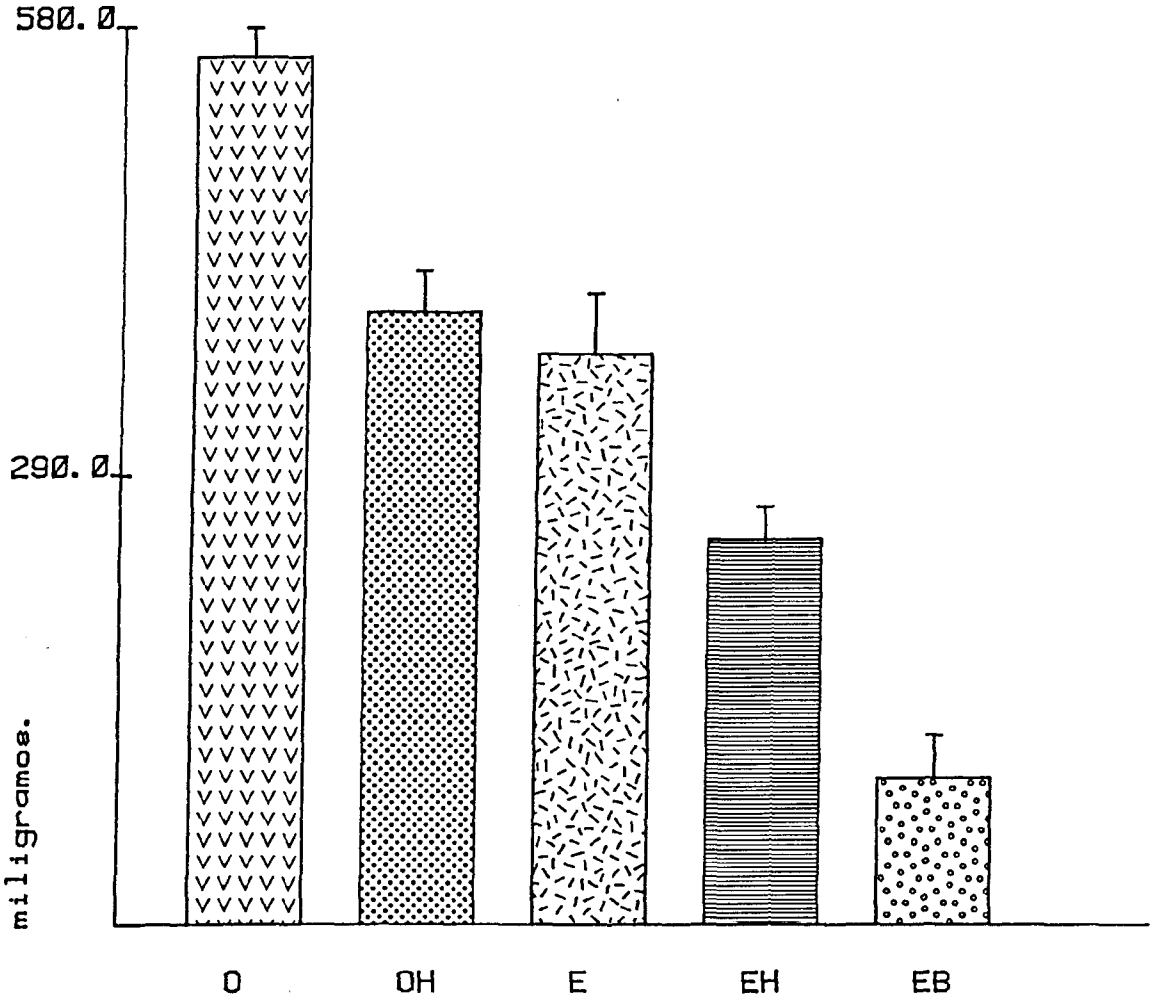


Fig. VI-V-12. Pesos Absolutos de V. Seminales

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de Libertad		"F" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; OH; E; EH; EB.	4	54	47.70	0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-OH	5.139	21	0.001	29.37	17.48 - 41.26
O-E	4.704	21	0.001	34.19	19.07 - 49.31
O-EH	10.872	23	0.001	55.39	44.86 - 65.94
O-EB	13.784	25	0.001	82.95	70.56 - 95.35
E-EH	2.785	20	0.02	32.22	8.08 - 56.35
E-EB	5.922	22	0.001	74.10	48.15 - 100.00
OH-EB	7.643	22	0.001	75.86	55.28 - 96.45
EH-EB	4.374	24	0.001	61.78	32.63 - 90.93
OH-EH	4.335	20	0.001	36.84	19.12 - 54.57
El resto de las diferencias carecen de significación estadística.					

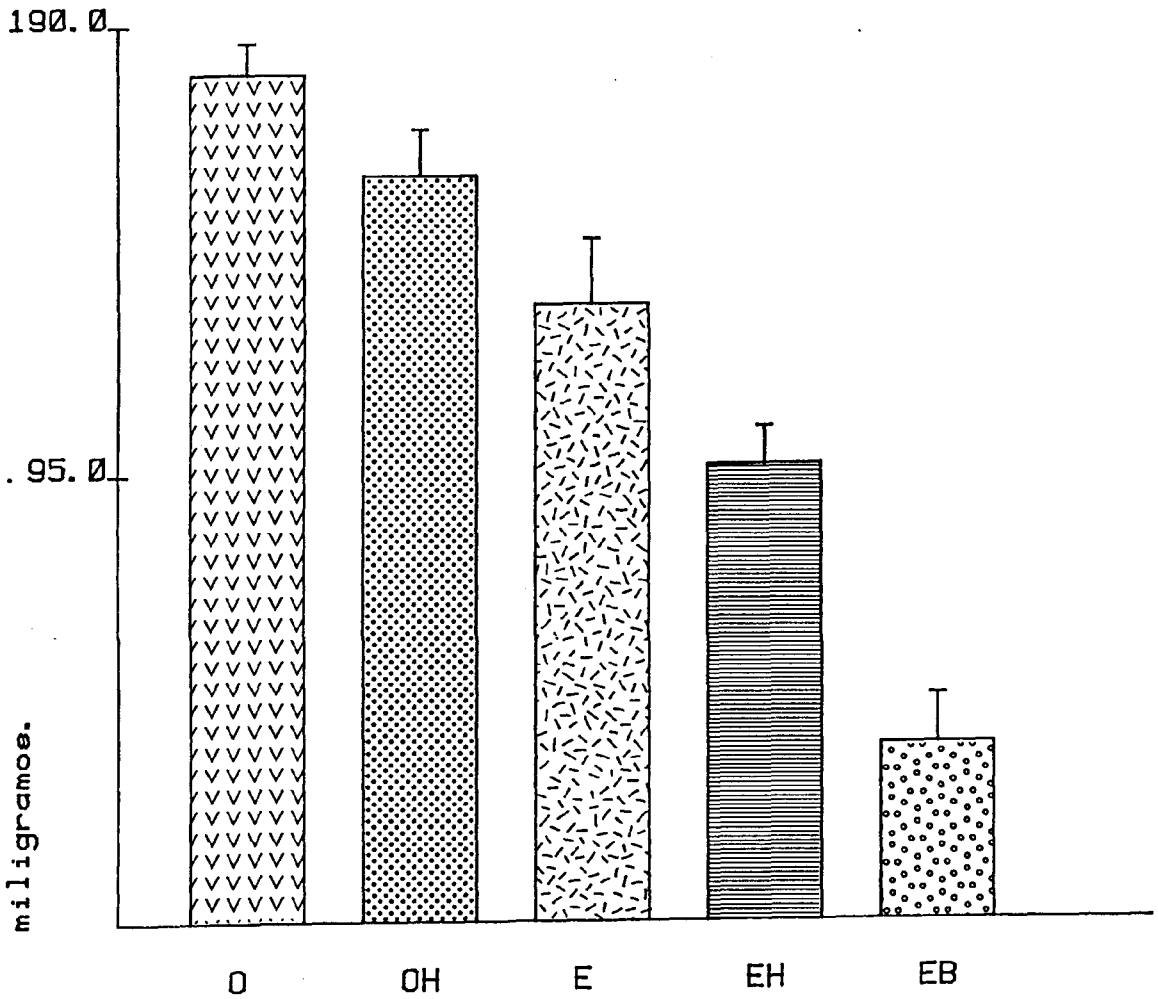


Fig. VI-V-13. Pesos Relativos de V. Seminales

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; OH; E; EH; EB.	4	54	37.00	0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	3.431	21	0.005	27.14	10.69 - 43.60
O-EH	8.072	23	0.001	45.99	34.21 - 57.78
O-EB	11.486	25	0.001	79.09	64.91 - 93.27
E-EH	2.238	20	0.05	25.86	1.76 - 49.47
E-EB	5.595	22	0.001	71.30	44.87 - 97.73
OH-EB	8.240	22	0.001	76.25	57.06 - 95.44
EH-EB	4.526	24	0.001	61.29	33.34 - 89.23
OH-EH	4.935	20	0.001	38.64	22.31 - 54.97
El resto de las diferencias carecen de significación estadística.					

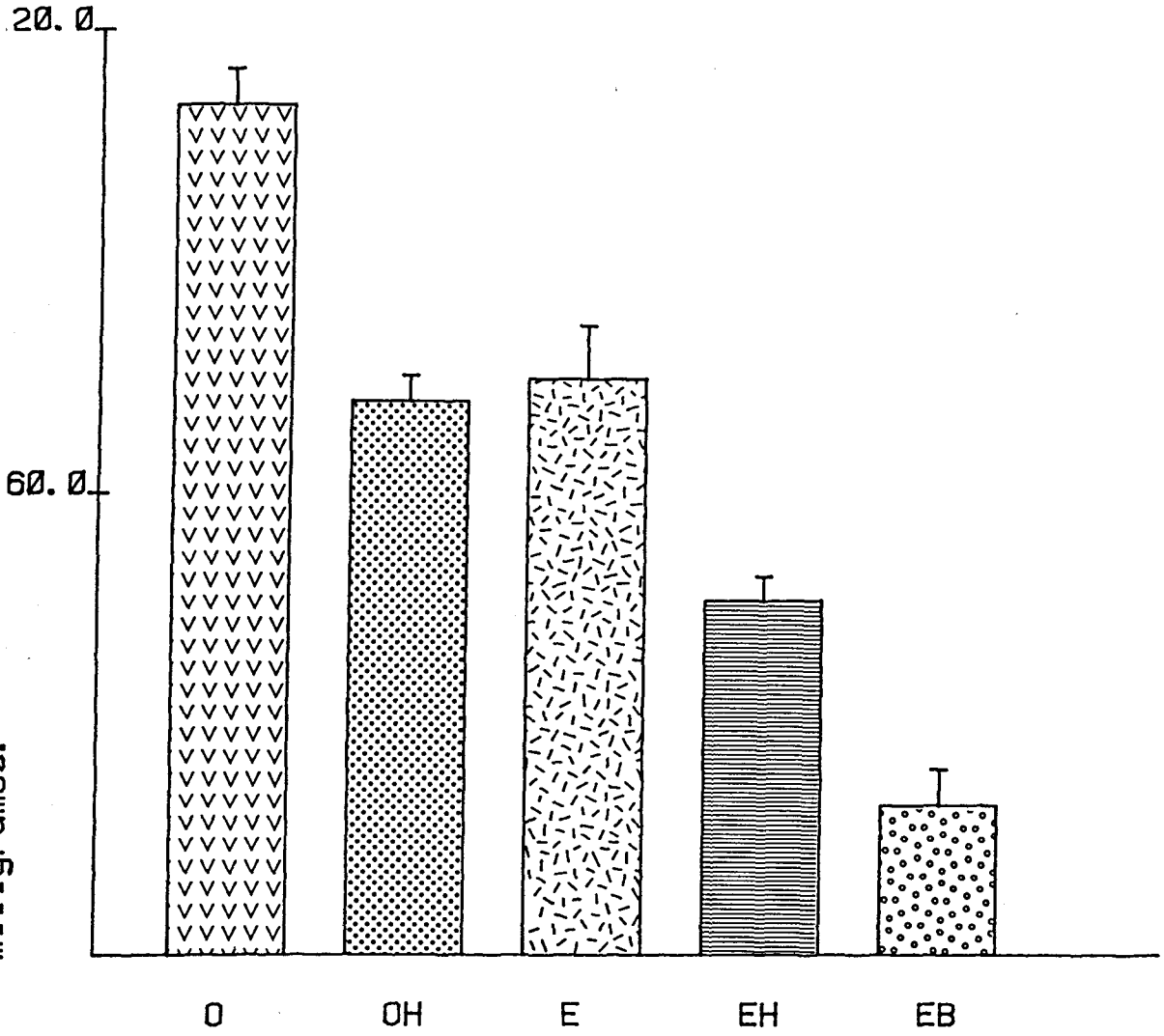


Fig. VI-V-14. Pesos Absolutos de Gl. de Coagulación

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de Libertad		"F" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; OH; E; EH; EB.	4	53	59.20	0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-OH	6.374	21	0.001	34.81	23.45 - 46.16
O-E	4.441	21	0.001	32.16	17.10 - 47.21
O-EH	11.081	22	0.001	58.19	47.30 - 69.08
O-EB	13.721	25	0.001	82.38	70.01 - 94.74
E-EH	3.940	19	0.001	38.37	17.99 - 58.75
E-EB	6.897	22	0.001	74.03	51.77 - 96.28
OH-EB	8.397	22	0.001	72.97	54.95 - 90.99
EH-EB	4.450	23	0.001	57.86	30.93 - 84.78
OH-EH	5.725	19	0.001	35.87	22.75 - 48.98
El resto de las diferencias carecen de significación estadística.					

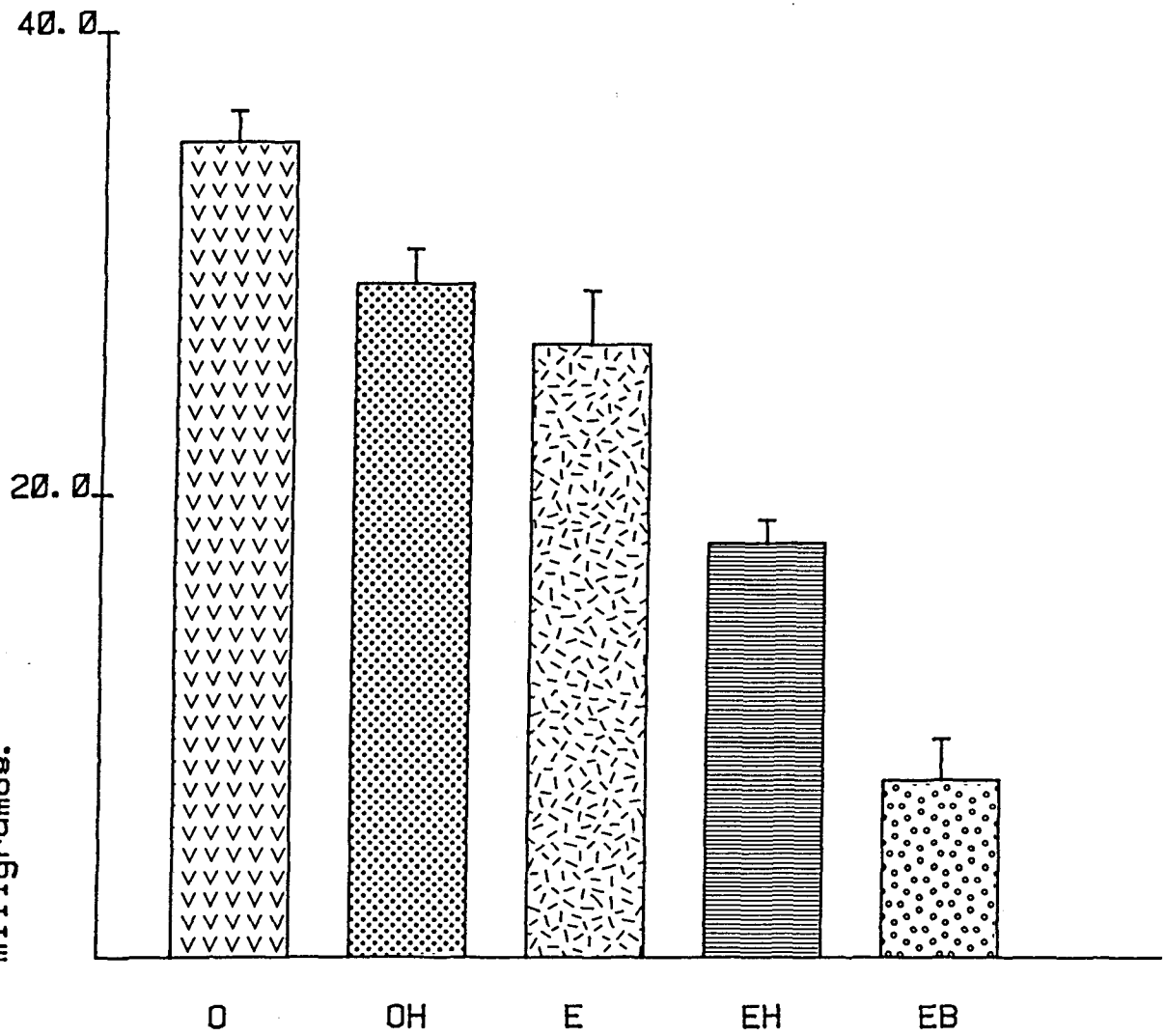


Fig. VI-V-15. Pesos Relativos de Gl. de Coagulación

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de Libertad		"F" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; OH; E; EH; EB.	4	53	48.79	0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-OH	3.086	21	0.01	17.36	5.66 - 29.06
O-E	3.439	21	0.005	24.74	9.78 - 39.70
O-EH	9.959	22	0.001	49.05	33.84 - 59.26
O-EB	17.220	25	0.001	78.18	68.83 - 87.54
E-EH	3.484	19	0.005	32.30	12.90 - 51.71
E-EB	6.607	22	0.001	71.01	48.72 - 93.31
OH-EB	8.878	22	0.001	73.60	56.41 - 90.79
EH-EB	4.699	23	0.001	57.18	32.01 - 82.36
OH-EH	6.361	19	0.001	38.35	25.73 - 50.96
El resto de las diferencias carecen de significación estadística.					

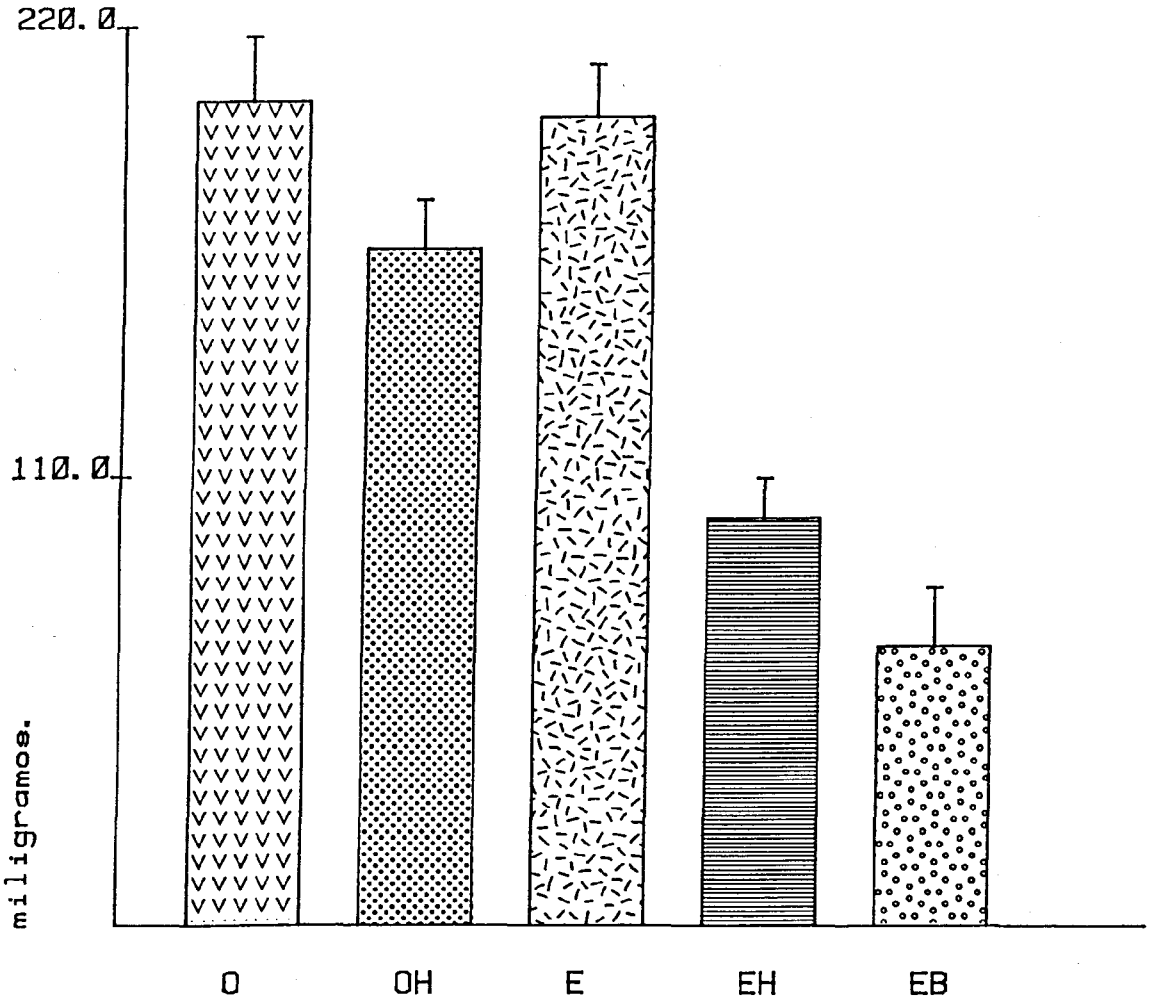


Fig. VI-V-16. Pesos Absolutos de Próstatas

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"f" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; OH; E; EH; EB.	4	55	20.26	0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t"	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-EH	5.220	24	0.001	50.43	30.49 - 70.37
O-EB	6.204	26	0.001	65.93	44.09 - 87.78
E-EH	6.136	20	0.001	49.56	32.71 - 66.41
E-EB	6.391	22	0.001	65.33	44.13 - 86.53
OH-EB	4.874	22	0.001	58.51	33.61 - 83.41
OH-EH	4.250	20	0.001	39.63	20.18 - 59.08
El resto de las diferencias carecen de significación estadistica.					

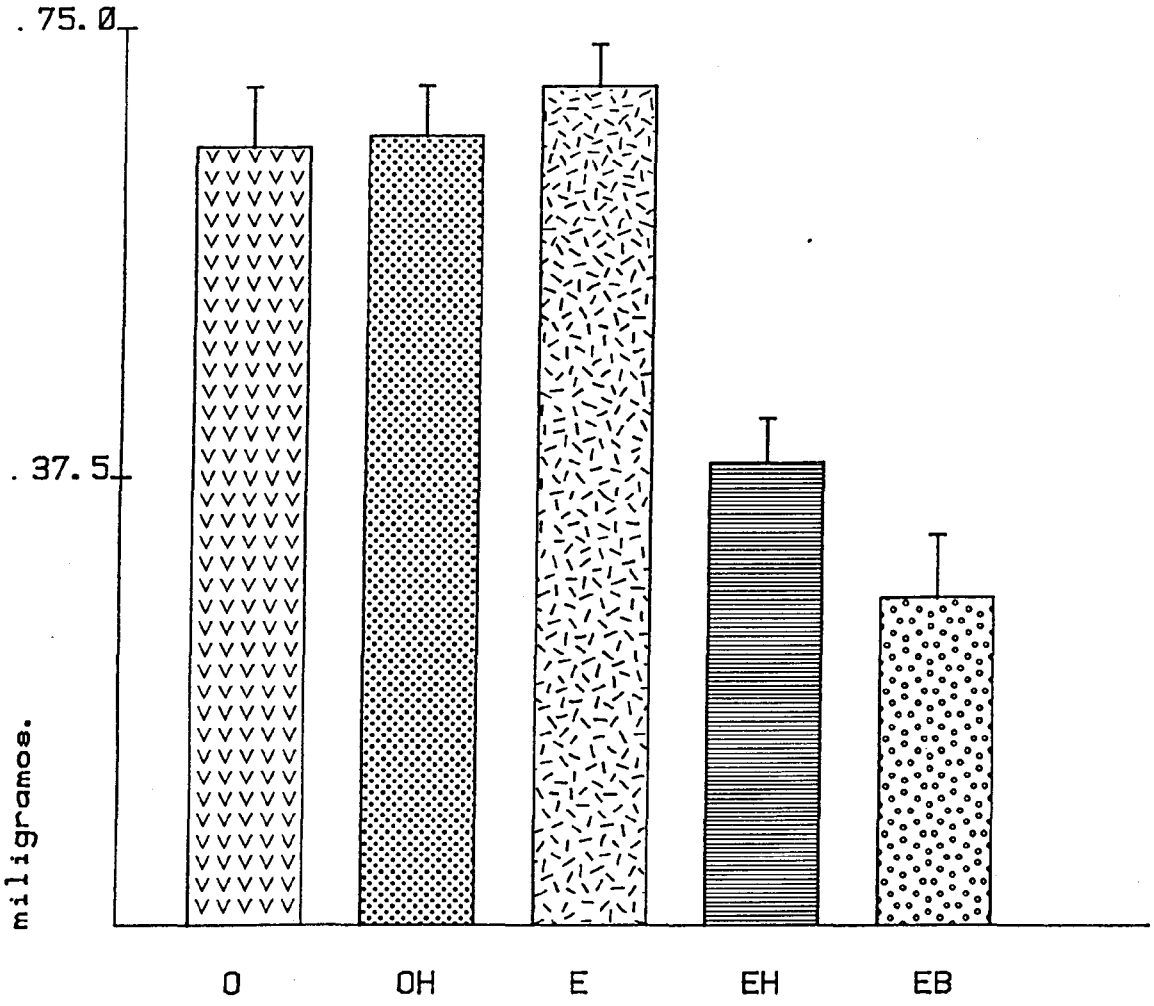


Fig. VI-V-17. Pesos Relativos de Próstatas

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; OH; E; EH; EB.	4	55	17.62	0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-EH	4.101	24	0.001	40.27	20.01 - 60.55
O-EB	5.196	26	0.001	58.38	35.29 - 81.48
E-EH	6.122	20	0.001	44.71	29.47 - 59.44
E-EB	6.118	22	0.001	60.83	40.21 - 81.45
OH-EB	5.328	22	0.001	58.33	35.63 - 81.04
OH-EH	4.930	20	0.001	48.18	23.76 - 58.61
El resto de las diferencias carecen de significación estadística.					

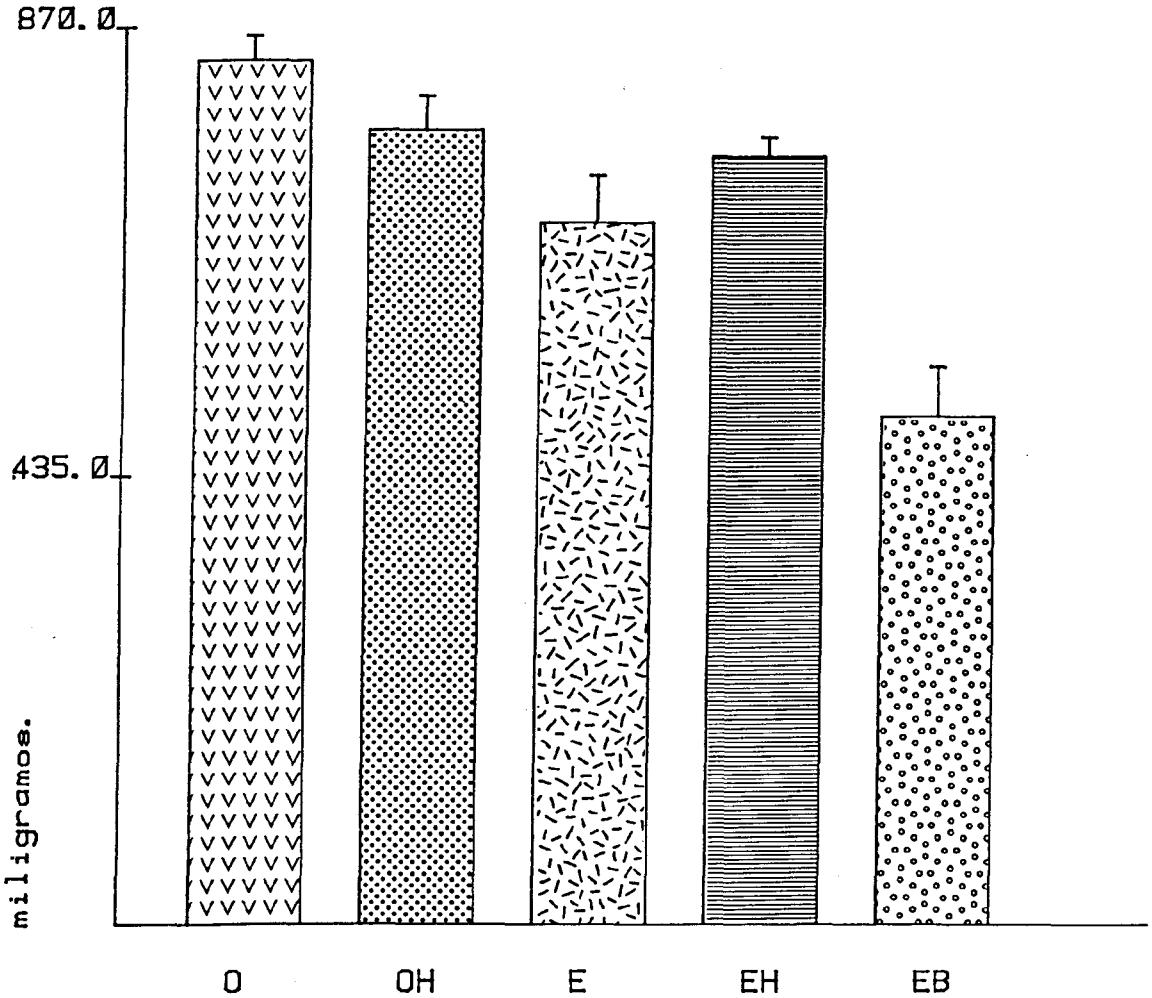


Fig. VI-V-18. Pesos Absolutos Epidídimos + C. Deferentes

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; OH; E; EH; EB.	4	55	18.04	0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-E	3.226	22	0.005	18.64	6.65 - 30.62
O-EH	2.869	24	0.01	10.87	3.05 - 18.69
O-EB	6.939	26	0.001	44.92	31.61 - 58.23
E-EB	3.179	22	0.005	32.30	11.23 - 53.38
OH-EB	4.838	22	0.001	40.13	22.93 - 57.33
EH-EB	5.175	24	0.001	38.20	22.97 - 53.44
El resto de las diferencias carecen de significación estadística.					

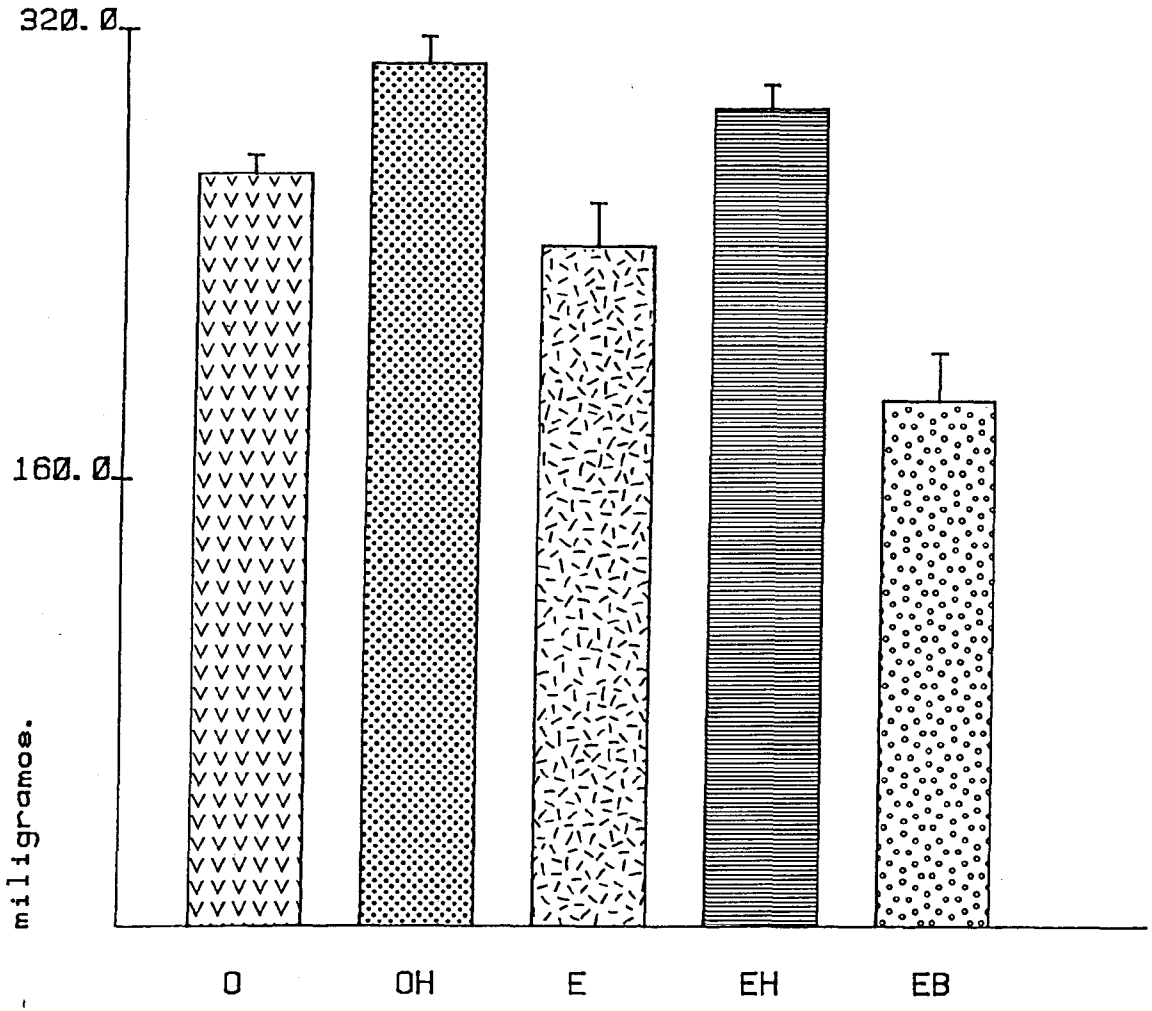


Fig. VI-V-19. Pesos Relativos Epidídimos + C. Deferentes

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de libertad		"F" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; OH; E; EH; EB.	4	55	13.64	0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
Grupos COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-OH	3.524	22	0.005	12.75	5.25 - 20.25
O-EH	2.340	24	0.05	8.26	0.97 - 15.95
O-EB	4.417	26	0.001	29.91	15.99 - 43.83
E-EH	2.969	20	0.01	17.04	5.07 - 29.02
E-EB	2.268	22	0.05	22.49	1.92 - 43.06
E-OH	3.548	18	0.005	21.10	8.60 - 33.60
OH-EB	5.456	22	0.001	38.85	24.08 - 53.61
EH-EB	5.215	24	0.001	35.70	21.57 - 49.83
El resto de las diferencias carecen de significación estadística.					

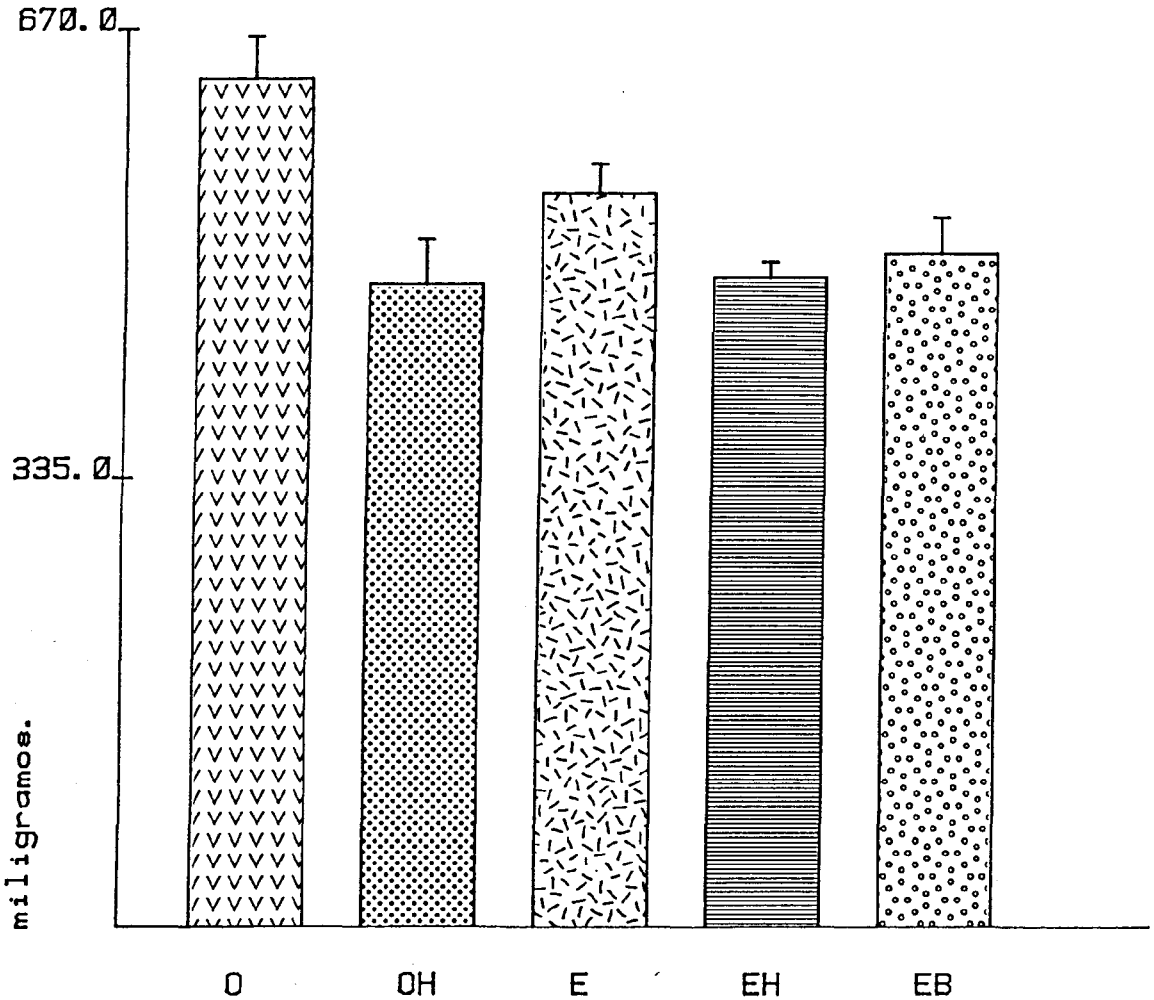


Fig. VI-V-20. Pesos Absolutos de Bazos

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de Libertad		"F" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; E; EB; EH; OH.	4	56	5.96	0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-OH	3.269	22	0.005	24.22	8.86 - 39.59
O-EH	4.094	24	0.001	23.23	11.52 - 34.94
O-EB	3.097	27	0.005	20.26	6.83 - 33.68
E-EH	2.648	20	0.02	11.35	2.41 - 20.30
El resto de las diferencias carecen de significación estadística.					

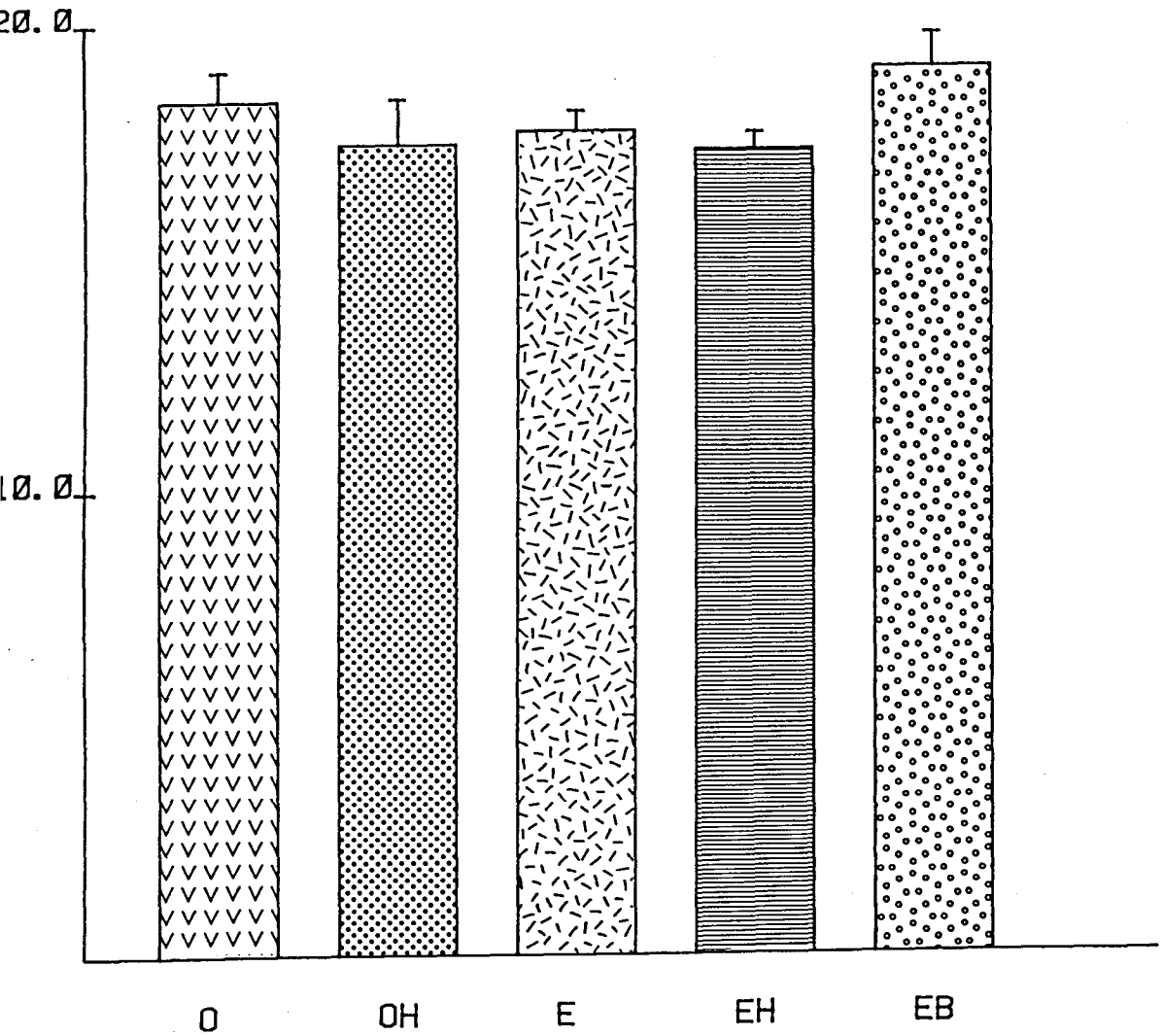


Fig. VI-V-21. Pesos Relativos de Bazos

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de Libertad		"F" SNEDECOR	P
	Grupos	Muestras		
O; OH; E; EH; EB.	4	56	1.30	N.S.

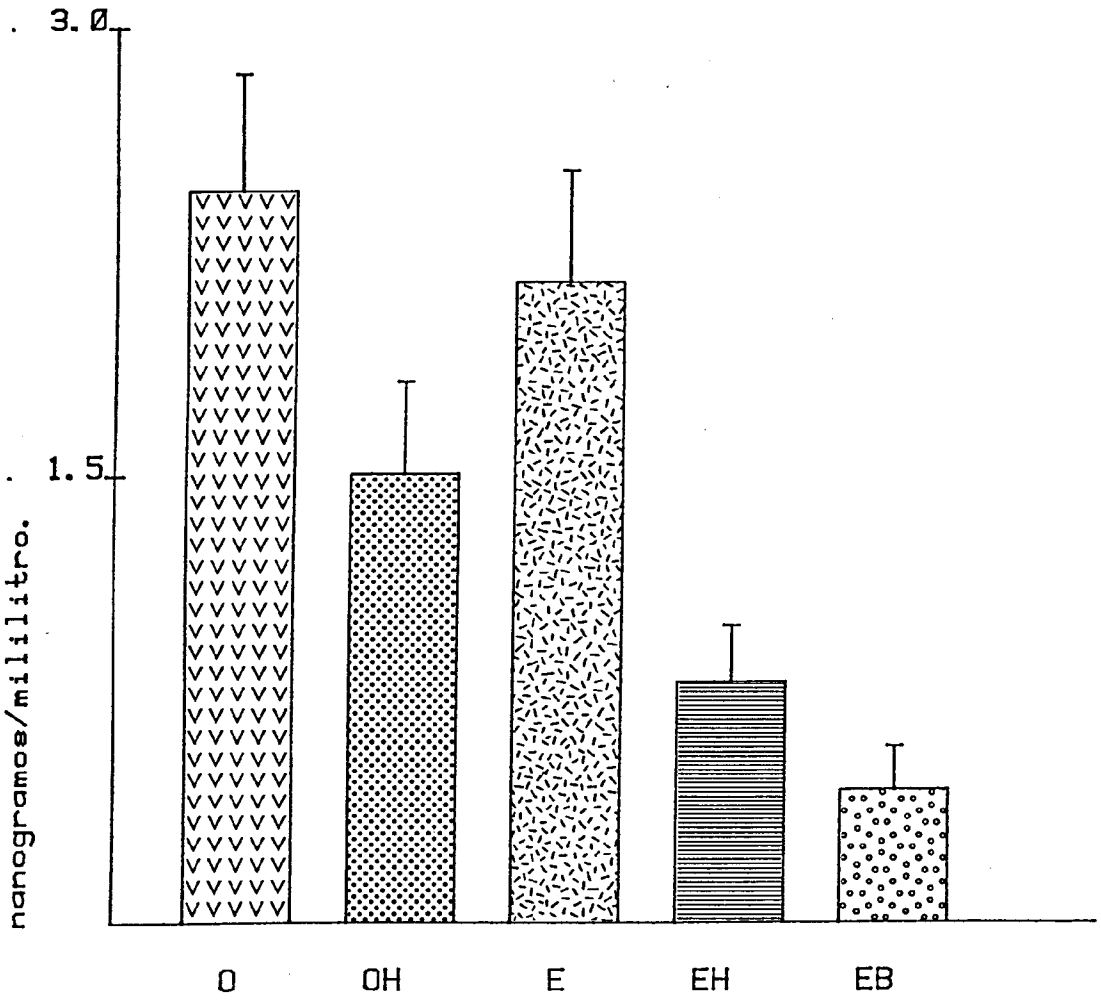


Fig. VI-V-22. Testosterona sérica.

Niveles séricos de Testosterona ngr/ml	$\bar{X} \pm$ ESM (n)		
Grupo O	2.45 ± 0.39 (10)	Grupo OH	1.51 ± 0.30 (7)
Grupo E	2.15 ± 0.37 (9)	Grupo EH	0.81 ± 0.19 (10)
Grupo EB	0.45 ± 0.14 (11)		

ANALISIS DE LA VARIANZA				
GRUPOS COMPARADOS	Grados de Libertad		"F" SNEDECOR	P<
	Grupos	Muestras		
O; OH; E; EH; EB	4	42	9.27	0.01

ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS DE MEDIAS MUESTRALES					
GRUPOS COMPARADOS	"t" Student	Grados Libertad	P<	% de diferencia	Límites interv. confianza P=0.05
O-EH	3.772	18	0.005	67.10	104.47 - 29.73
O-EB	4.973	19	0.001	81.80	116.22 - 47.37
OH-EB	3.533	16	0.005	70.40	112.65 - 28.16
E-EH	3.277	17	0.005	62.44	102.64 - 22.24
E-EB	4.533	18	0.001	79.22	115.93 - 42.50

VII. DISCUSION.

VII.1. DISCUSION DE LOS MODELOS EXPERIMENTALES UTILIZADOS.

VII.1.1. Anosmia periférica experimental.

Para cumplir el primero de los objetivos de nuestro trabajo, precisábamos manejar una preparación de animal anósmico que reuniera básicamente dos condiciones:

a) Respetar la integridad de los bulbos olfatorios y de las demás estructuras centrales de la vía olfatoria.

b) Cronicidad para permitir la realización de estudios de 6 semanas de duración, tiempo necesario para poder evaluar las acciones antigonadotróficas pineales, a través de las variaciones experimentadas por los pesos de los órganos del eje hipófisogonadal.

De los modelos de anosmia periférica habitualmente usados (ver aptdo. I.5, pgs. 36 a 40), descartamos:

- La anestesia de la mucosa nasal, por su escasa duración y por los posibles efectos sistémicos de los anestésicos empleados (ALBERTS, 1974).

- El legrado del neuroepitelio, por provocar una anosmia reversible a corto plazo por regeneración del mismo (ALBERTS, 1974).

- La irrigación nasal con solución de sulfato de zinc, probablemente el método más utilizado desde los trabajos de ALBERTS y GALEF (1971), fue desestimado por su escasa duración (5-6 días) que si bien puede paliarse con administraciones múltiples (THOR, CARTY , FLANNELLY, 1976; THOR, FLANNELLY, 1977), complica bastante un experimento de la duración prevista por nosotros; todo esto sin olvidar los inconvenientes de la toxicidad del SO_4Zn (ALBERTS, 1976; SING, TUCKER, HOFER, 1976 ; SHAFA, MEISAMI, MOUSAVI, 1980).

- La axotomía realizada mediante introducción de un bisturí fino entre la lámina cribosa y la superficie anterobasal de los bulbos, es una técnica que ha sido utilizada en numerosas especies animales y en todos los casos se ha

demostrado su reversibilidad. Así, en el ratón, la recuperación del neuroepitelio, degenerado tras la axotomia, se completa en una semana, mientras que los cambios degenerativos en los bulbos revierten en dos semanas(HARDING y Cols,1977);en la rata, la reinervación de los glomérulos se produce en 20-30 días (GRAZIADEI, MONTI -GRAZIADEI, 1980); y en los primates, a los 60-90 días la población de células del neuroepitelio se normaliza (GRAZIADEI y Cols, 1980; MONTI-GRAZIADEI y Cols, 1980). Se ha comprobado también, que la capacidad del neuroepitelio para la síntesis y transporte de carnosina, en el ratón, se recupera entre los días 8 y 45 (HARDING, WRIGHT, 1979). Todos estos datos desaconsejaron la utilización de ésta técnica para nuestros fines.

Ante estos hechos, optamos por diseñar nuestra propia técnica de anosmia periférica por desaferentación a nivel de la cavidad nasal, tal como describimos en las pgs. 59 y 62. Con posterioridad a nuestro estudio encontramos, en sendos trabajos de KAWANO, MARGOLIS (1982) y BAKER y Cols. (1983), descripciones de una técnica semejante a la nuestra aunque unilateral y resumida únicamente a sección de las vías aferentes y taponamiento con espongostan de la hemicavidad operada. La diferencia fundamental que aportaría nuestra técnica, con respecto a la de estos autores, es la cauterización, posteriormente a la sección quirúrgica, de la zona de mucosa situada inmediatemente por delante da la lámina cribosa. De esta forma completamos la destrucción de los islotes de mucosa y vías nerviosas que, por la anfractuosidad de la cavidad nasal, son dificilmente accesibles al bisturí; esto sin desdeñar tampoco el efecto hemostático de la maniobra.

A través de los controles histológicos que mostramos en las fotografias I-1 a 7, puede apreciarse como la técnica cumple las premisas fijadas al comienzo de ésta discusión (ver descripción de las preparaciones en pg 62). Los controles se realizaron sobre 14 ratas seleccionadas al azar entre las integrantes de los A o EA de las series I,III y IV. En 11 de las ratas, se apreció desaferenta

ción completa mientras que en tres casos quedaron pequeños restos de mucosa en las zonas laterales de la cavidad por lo que la desaferentación no fue total y se veían algunas fibras nerviosas ingresando en las superficies laterales de los bulbos. Con estos datos consideramos que la eficiencia de la técnica es aceptable.

Nos quedaría únicamente por discutir un punto: ¿es correcto definir la anosmia en base a criterios morfológicos, como hacemos en éste caso? Consideramos, en principio, que la anosmia es un concepto básicamente funcional y requeriría su constatación con test de olfación. Sin embargo la correcta realización de éste tipo de estudios requiere instalaciones y metodología altamente especificas sólo al alcance de laboratorios diseñados para estos fines. Por éste motivo se acepta el calificativo de anósmicos para animales en los que se demuestra histológicamente la interrupción de las vías olfatorias; sirvan como ejemplo los trabajos de: KLEIN, REITER, WELLER,1971; DONOFRIO, REITER, 1972; RONNE KLEIV, Mc CANN, 1975; BLASK, NODELMAN, 1980; TYLER, GORSKI, 1980; LEADEM, BLASK, 1982 b .; MORGAN, REITER, 1982; GALA, HAISENLEDER, PIEPER, 1983 y otros cuya enumeración resultaria prolija. Otro asunto es el significado que se le de a la anosmia dependiendo el nivel al cual se interrumpe la vía olfatoria, pero éste extremo ya fue desarrollado en el aptdo I-7 (pg. 40) y a él nos remitimos.

VII.1.2. Bloqueo selectivo del sistema vómeronasal.

Para estudiar la participación del sistema vomeronasal (SVN) en la potenciación de los efectos antigonadotróficos pineales, precisábamos un modelo de supresión selectiva para establecer comparciones con el anteriormente descrito de desaferentación total.

El bloqueo del SVN podría llevarse a cabo a tres niveles:

1.- Sobre el receptor, practicando la ablación del órgano de Jacobson según la técnica de MORA (1977), pero se trata de un procedimiento

laborioso y en muchos casos la ablación que se consigue no es total.

2.- Bulbos olfatorios accesorios, destruyéndolos mediante electrocoagulación estereotáxica. Planteaba para nosotros el inconveniente de que los atlas estereotáxicos que manejamos fueron confeccionados con animales adultos (250-300 gr.), mientras que los nuestros eran ratas prepúberes (80-90 gr), lo que nos obligaba a efectuar modificaciones de las coordenadas y realizar estudios prévios de la eficacia de las mismas.

3.- Nervios Vómeronasales. En la rata constituyen dos troncos nerviosos que siguen un trayecto muy constante entre ambas masas bulbares, siendo fácilmente seccionables por electrocoagulación mediante un electrodo situado en la línea média y descendido unos pocos milímetros por debajo de la cubierta craneal. (Ver descripción de la técnica en pg. 63). Optamos por esta forma de bloqueo, a nuestro juicio la más sencilla y eficaz, desarrollando la técnica antes mencionada, que es una modificación de la descrita por SANCHEZ CRIADO (1978).

En los controles histológicos que mostramos (ver fotografías IV-34 a 37) se aprecia, a las seis semanas de realizada la operación, la ausencia de los n. vómeronasales, fácilmente visibles en los controles.

Con éste diseño experimental podemos determinar si los efectos potenciadores de la actividad pineal, inducidos por desaferentación olfatoria, tienen su origen en la supresión del sistema vómeronasal. Pero si la vomeronasalectomía carece de efectos, no podremos asegurar que los obtenidos con la desaferentación global dependan de la supresión del sistema olfatorio principal, ya que también existen otras divisiones del sistema olfatorio, como el trigeminal, el de los nervios terminales y el del órgano de Masera, a tener en cuenta. Sin embargo, la mayoría de los autores aceptan la "simplificación" de los sistemas olfatorios a dos: principal y accesorio, ya que se desconocen acciones concretas tanto del s. trigeminal como del órgano de masera, y el sistema de los n. terminalis no ha sido siquiera descrito en la rata, pensándose que, en cualquier caso, el papel de estos dos sistemas no debe ser relevante en comparación al s. principal o al vómeronasal.

VII.1.3. Valoración de cambios en la sensibilidad a la Melatonina en animales bulbectomizados o desaferentados.-

REITER, KLEIN, DONOFRIO (1969) y REITER y Cols. (1971), demostraron que la bulbectomía olfatoria no modificaba la concentración pineal de la enzima HIOMT. Tampoco la NAT ni la concentración de Melatonina resultaban afectadas por la bulbectomía (REITER y Cols. 1971; KLEIN, REITER, WELLER, 1971). Estos resultados llevaron al grupo de Reiter a emitir la hipótesis de que la potenciación de la actividad pineal por bulbectomía debía llevarse a cabo por un aumento de la sensibilidad de los órganos diana a la Melatonina. BLASK, NODELMAN, 1979 y REITER y Cols. 1980), demostraron esta hipótesis administrando dosis idénticas de la hormona a ratas intactas o bulbectomizadas y observando como los efectos antigonadotróficos obtenidos en el segundo caso fueron notablemente superiores a los de las ratas intactas.

Para desarrollar el tercer objetivo de nuestro trabajo, planteamos un dispositivo experimental semejante al anteriormente descrito , es decir, administración de melatonina (50 microgramos/rata/día) a animales intactos, bulbectomizados o con anosmia periférica, valorando los efectos sobre peso corporal, hipofisario, gonadal y de glándulas sexuales accesorias, así como los niveles séricos de testosterona.

Como quiera que uno de los parámetros más afectados por el tratamiento con Melatonina es el peso corporal, consideramos que sería interesante estudiar, simultaneamente, una modificación del modelo de BLASK y NODELMAN (1979), en el sentido de igualar las dosis de Melatonina pero no en valor absoluto sino proporcional al peso corporal de cada animal (50 microgramos/100 gr de peso corporal/ día), modificando las dosis a lo largo del experimento a medida que varía el peso de los animales. De esta manera, cubrimos la eventualidad de que la mayor respuesta a la Melatonina en los animales anósmicos, sea debida a que estos animales, a partir de la segunda semana de experimento, cuando es ya manifiesta una reducción de peso corporal, estén recibiendo dosis relativas de

Melatonina mayores que las intactas.

VII.1.4. Demostración de la mediación Pineal de los efectos de la asociación de ceguera+anosmia periférica .-

Para la consecución del segundo objetivo de nuesto trabajo, resulta obvio que el modelo experimental mas adecuado es el estudio de los efectos de la pinealectomía sobre animales ciegos desaferentados (anósmicos), valorando las diferencias con respecto a aquellos a los que no se practica la ablación de la pineal.

La descripción de la técnica de la pinealectomía aparece en las pg. 61 por lo que consideramos que este apartado no precisa de más discusión.

VII.1.5. Estudio del papel de la reducción de ingesta, en los efectos de la asociación de anosmia+ceguera.-

Como decíamos en la pg. 45 de la introducción, la subnutrición es un factor potenciador de la actividad antigonadotrófica pineal (SORRENTINO, REITER, SCHALCH, 1971; HERBERT, 1980; HERBERT, REITER, 1981; SANCHEZ BARCELO, 1982; SANCHEZ BARCELO y Cols, 1982b). Por otra parte, uno de los efectos de la asociación de ceguera y bulbectomía o anosmia periférica es la reducción de la ingesta de alimentos (ver resultados serie I). Pensamos, en consecuencia, que ésta reducción de ingesta podría justificar parte de los efectos antigonadotróficos.

El modelo experimental utilizado para verificar ésta hipótesis, fue someter a animales intacto o ciegos al mismo volumen de ingesta que los animales ciegos bulbectomizados (igual al de los ciegos+anosmia periférica), valorando su incidencia sobre diversos parámetros. Para ello, al comenzar el experimento, destinamos para el grupo EB los animales nacidos en los primeros días, lo que nos permite medir su ingesta diária y aplicarla, en días sucesivos, a los animales de los restantes grupos a medida que van alcanzando su misma edad.

Se trata pues de un modelo que tiene cierta semejanza con el de SORRENTINO, REITER, SCHALCH (1971), pero que aporta una novedad con respecto a éste y a otros modelos utilizados para valorar los efectos de la subnutrición sobre el eje hipófiso-gonadal (CAMPBELL y Cols. 1977; HERBERT, 1980; BLASK y Cols. 1980), puesto que mientras éstos autores definen el grado de subnutrición a que someten a los animales, de forma aleatoria o al menos no justificada (reducción de la dieta al 50%, ayuno absoluto seguido de dieta 1/4 de la estandard, reducción sólo del aporte protéico, etc.), en nuestro caso, el nivel de ingesta aplicado tiene una significación biológica concreta , ya que es el correspondiente a animales con unas características funcionales perfectamente definidas.

VII.2. DISCUSION DE LOS RESULTADOS.

VII.2.1. ¿Actúa la anosmia periférica como un factor potenciador de los efectos derivados de la actividad pineal?

Sobre diversos parámetros influenciados por la actividad pineal hemos estudiado si los efectos de la deprivación de luz resultaban potenciados por la supresión de la sensibilidad olfatoria mediante desaferentación de los bulbos (anosmia periférica), de igual forma que lo son por la bulbectomía. Vamos ahora a comentar los resultados para cada uno de estos parámetros.

VII.2.1.1. Ingesta de alimentos .-

En la serie I, apreciamos cómo mientras los efectos de la ceguera, bulbectomía o anosmia periférica, eran prácticamente nulos cuando éstas maniobras se llevaban a cabo por separado, la asociación de ceguera+bulbectomia o desaferentación reduce significativamente la ingesta diaria de alimentos. Este dato fue ya descrito por REITER y Cols. (1971) en ratas adultas ciegas bulbectomizadas aunque, por no realizar los controles de ingesta en cada animal sino por grupos, no estaba analizado estadísticamente. Los trabajos posteriores dedicados al estudio de la relación pineal-olfación pasaron por alto el estudio de éste parámetro.

A nuestro juicio, los resultados que acabamos de comentar

encaja con la idea de la pineal como un sincronizador de numerosas funciones del organismo, entre ellas la que ahora comentamos, con las variaciones del medio ambiente. En el caso de la ingesta, la hipótesis más plausible, a la vista de nuestros resultados y de los datos procedentes de otros autores que analizaremos a continuación, es que, al igual que en los efectos sobre el eje hipófiso-gonadal, los estímulos olfatorios actúan reduciendo la sensibilidad del hipotálamo a la melatonina, siendo los niveles de ésta hormona dependientes del "input" lumínico casi exclusivamente. En los animales situados en su entorno natural, la ingesta de alimentos muestra ritmos circanuales, siendo mayor la cantidad de comida ingerida durante la primavera y menor durante el invierno. Este ritmo está sincronizado con las variaciones circanuales de los niveles de iluminación y de densidad de olores; asi, las fases de ingesta elevada coinciden con fotoperiodos largos (menor síntesis de melatonina) y un aumento de la comunicación olfatoria (menor sensibilidad a la melatonina), lo contrario ocurre durante el invierno, reduciéndose los niveles de ingesta.

En apoyo a estas ideas hay numerosos datos: NARANG, SING y TURNER, demostraron ya en 1967 que la melatonina reduce la ingesta en las ratas. Se pensó incluso que tales efectos de la melatonina podrian ser secundarios a las variaciones inducidas sobre los niveles de algunos péptidos hipotalámicos con funciones neurotransmisoras (LHRH), sin embargo, recientemente LING, CHU y LEU (1983) han demostrado que la administración intratecal de LHRH o LH no modifica la ingesta de las ratas. Existen también unos estudios de MIRO y Cols. 1982 describiendo en el hamster en ambiente natural, hiperfagia tras la bulbectomía, con independencia de la época del año en que se practicara la intervención. Concluían que el control de la ingesta dependería básicamente de los bulbos olfatorios, que ejercerían una inhibición tónica sobre el hipotálamo ventromedial. En la rata, el efecto inhibidor de las estructuras bulbares debe ser menos intenso ya que, salvo unos primeros estudios de LA RUE y LE MAGNEN (1970), que describieron cómo la bulbectomía prolonga la hiperfagia inducida por lesión del hipotálamo ventromedial, lo que estaria en línea con los hallazgos del grupo de Miro en el hamster,

estudios posteriores de los mismos autores (LA RUE, LE MAGNEN, 1972), también sobre ratas, demostraban que la bulbectomía, si bien modificaba los patrones de ingesta, no alteraba la cantidad de comida ingerida cada día. En experimentos llevados a cabo sin ablación de los bulbos, provocando la anosmia mediante irrigación nasal con SO_4Zn, tampoco se han descrito alteraciones en la ingesta (CAIN, 1974a). En nuestros animales, no hemos hallado alteraciones de la ingesta en los bulbectomizados, desaferentados o enucleados por separado, lo que debe interpretarse como una peculiaridad del animal experimental utilizado, la rata albina, que por su adaptación a un medio artificial muy estable, requiere la actuación simultánea de varios estímulos convergentes para, a través de una potenciación, dar lugar a respuestas claras.

La comida ingerida por el animal va destinada a dos finalidades concretas: primero el crecimiento y segundo el metabolismo de mantenimiento (metabolismo basal, locomoción, termorregulación, etc.). Cuando, como ocurre en el caso de las ratas ciegas anósmicas, el incremento de peso experimentado por cada 100 Kcal. consumidas es menor que en los controles (ver EGA en pg.93) podría pensarse que se ha incrementado el metabolismo de mantenimiento debido a un incremento de la actividad motora dedicada a la búsqueda de alimentos, dificultada por la doble deprivación sensorial; otra posibilidad sería algún defecto en la utilización de la comida. La respuesta a éstas cuestiones pasaría por medir la actividad motora y el consumo de O_2 en estos animales, pero nadie hasta ahora ha realizado tales estudios.

VI.2.1.2. Peso Corporal .-

Es éste un parámetro muy influenciado por la actividad pineal. La simple exposición de ratas intacta a luz contínua, con el consiguiente bloqueo funcional de la glándula, incrementa sus pesos corporales, en relación a las mantenidas en fotoperiodo LD 14/10 (SANCHEZ BARCELO, 1982); también la pinealectomía provoca un claro aumento de peso corporal (ALONSO, 1976), mientras que la administración de melatonina actúa en sentido opuesto.

Las formas en que la actividad pineal incide sobre el peso cor-

poral podrían ser tres, no excluyentes entre si:

- Inhibiendo la liberación de GH. A favor de esta hipótesis estarían los trabajos de SORRENTINO y Cols. (1971), describiendo una reducción de la GH plasmática en ratas ciegas bulbectomizadas; más recientemente, RICHARDSON y Cols. (1981) demostraron que la melatonina es capaz de promover la liberación de Somatostatina en hipotálamos de rata (in vitro).

- Reduciendo la ingesta de alimentos. En efecto, la melatonina provoca una reducción de la cantidad de comida ingerida diáriamente (NARANG, SING, TURNER, 1967) y, según nuestros própios resultados, tal efecto aparece tambien en las ratas ciegas bulbectomizadas o con anosmia periférica (ver pg.92).

- Como efecto secundario a los cambios inducidos sobre los órganos del eje hipófiso-gonadal. La reducción de los niveles de testosterona, consecuencia de la actividad pineal, supondría una pérdida de la acción anabolizante de ésta hormona. REITER, en una de sus últimas revisiones (1983) proponía esta hipótesis que podriamos llamar "de las acciones secundarias" para explicar la influencia de la pineal sobre numerosos sistemas endocrinos no directamente relacionados con la reproducción, hipótesis que no ha sido directamente estudiada por ningún autor pero a favor de la cual hay numerosos datos, como los hallados en nuestro Dptº (SANCHEZ-BARCELO , 1982) mostrando que la administración de melatonina a animales castrados, no modifica su peso corporal como ocurre en los intactos.

La ceguera en la rata, que como sabemos es un animal poco fotosensible, induce cambios poco importantes sobre el peso corporal. En nuestros animales (Serie I, pgs. 94 y 95), vimos cómo el incremento ponderal experimentado por las ratas ciegas fue ligeramente inferior al de las controles, estableciéndose diferencias significativas sólo tras 6 semanas de deprivación de luz; sin embargo, cuando a la ceguera se asoció la bulbectomía (EB) o la anosmia periférica (EA), ya a partir de la primera semana se apreciaba cómo el peso corporal de estos animales se hacía claramente inferior al de los intactos o a los que les habia sido practicada alguna de las tres operaciones por separado (enucleación, bulbectomía o desafe-

tación); las diferencias se iban acentuando a medida que transcurría el tiempo.

Estos resultados, pueden ser interpretados como que los efectos de la ceguera sobre le peso corporal resultan potenciados por la anosmia. Podemos afirmar que se trata de acciones mediadas, al menos en parte, por la pineal ya que la pinealectomia previene parte de la reducción ponderal apreciada en las ratas ciegas con anosmia periférica (ver pg. 118).

El comportamiento de los animales bulbectomizados fue idéntico al de los anósmicos por desaferentación, lo que demuestra que el efecto potenciador, obtenido por la ablación de los bulbos olfatorios, es una consecuencia de la deprivación sensorial originada.

Los resultados obtenidos en nuestros experimentos sobre ratas ciegas anósmicas (por desaferentación), fueron análogos a los obtenidos por SORRENTINO y Cols. 1971; REITER y Cols. 1971; NELSON, ZUCKER, 1981; LEADEM, BLASK 1982 b, en animales ciegos bulbectomizados. Sin embargo, mientras en los trabajos de LEADEM y BLASK (1982 b), la pinealectomía prevenía totalmente los efectos de la asociación de ceguera + bulbectomía, en los nuestros y en los del resto de los autores anteriormente citados, sólo lo hace en forma parcial.

VI.2.1.3. Adenohipófisis .-

De entre todos los parámetros controlados en nuestro estudio, el único en el que hallamos diferencias entre la bulbectomía y la anosmia periférica fue el peso adenohipofisario. En efecto, tanto en valores absolutos como relativos, el peso hipofisario de las ratas ciegas desaferentadas fue mayor que en las ciegas bulbectomizadas, siendo en ambos casos inferior al mostrado por los controles y lo mismo ocurrió, aunque sólo a nivel de peso relativo, entre los animales que habían sido únicamente bulbectomizados o desaferentados (sin ceguera), teniendo también los primeros una mayor respuesta a la melatonina exógena.

Antes de analizar las posibles causas de estas diferencias, veremos que, en principio, la reducción del peso hipofisario en nuestras ratas ciegas

bulbectomizadas, concuerda con los resultados publicados por BLASK, NODELMAN, (1979) y LEADEM, BLASK, (1981, 1982 a), tras los que concluían que, al menos en parte, la reducción del peso hipofisario se debería a una reducción de la población celular de la glándula, según deducían de la disminución de su contenido en DNA; ésta reducción se haría, posiblemente, a expensas de las células lactotropas, explicándose así la hipoprolactinemia que suelen mostrar estos animales, considerada como la causa directa de la atrofia gonadal pineal-dependiente; éste último extremo, demostrado en el hamster (BENSON, MATTHEWS, 1980; CHEN, REITER, 1980), no parece ser cierto en la rata (SANCHEZ BARCELO 1982; LEADEM , BLASK, 1982 b).

En nuestra opinión, estos cambios ponderales hipofisarios, son secundarios a los efectos de la actividad pineal sobre hipotálamo y/o gónadas, con la consiguiente inducción de respuestas adaptativas en todo el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas. Basamos nuestra opinión en dos puntos:

- Salvo en animales recién nacidos, no se han descrito acciones directas de las hormonas pineales . Sí se han descrito, por el contrario, sobre hipotálamo, demostrándose receptores específicos para la melatonina en los núcleos mediobasales (CARDINALI, VACAS, BOYER, 1978), y también en las gónadas (COHEN y Cols. 1978). Recientemente, MORGAN Y REITER,(1982), describieron en ratas ciegas bulbectomizadas, una reducción de la síntesis protéica en la eminencia média hipotalámica, compatible con una reducción en la síntesis de hormonas hipófisotropas.

- En machos castrados, la asociación de ceguera + bulbectomía no modifica el peso hipofisario (RONNEKLEIV, Mc CANN, 1975). Tampoco la administración de melatonina a ratas castradas (pinealectomizadas o no) en luz continua, modificaba los niveles séricos de PRL.

En cuanto al origen de las diferencias cuantitativas entre los efectos de la bulbectomía y la anosmia periférica, pensamos que pueden ser debidas a lesiones inespecíficas provocadas durante el acto quirúrgico; en éste sentido, EDWARDS y Cols.(1977) describieron lesiones de vías catecolaminérgicas adyacen-

tes a los pedúnculos olfatorios, en animales bulbectomizados.

Otra peculiaridas del comportamiento hipofisario es que la pinealectomía no previene totalmente los efectos de la asociación de ceguera + bulbectomía (MORGAN, REITER, 1982; LEADEM, BLASK,1982b; SORRENTINO y Cols. 1971) y lo mismo ocurrió en nuestros animales con anosmia y ceguera. SHAFA, MEISAMI y MOUSAVI (1980), demostraron que la anosmia periférica, con SO_4Zn, o central, por bulbotomía, en la rata, retrasa el crecimiento cerebral. Aunque sus experimentos se realizaron sobre ratas de 4 días, y en nuestros animales la anosmia se obtiene por técnicas distintas y a los 28 días, parece lógico aceptar que también en nuestras ratas la deprivación sensorial provoque una reducción global del peso de todas las estructuras cerebrales (por causas desconocidas); por eso, la pinealectomía en los animales ciegos anósmicos, previene la reducción ponderal derivada de las acciones pineales, pero se conserva una diferencia con respecto a los controles, como consecuencia de los efectos directos de la anosmia sobre el desarrollo cerebral.

En resumen, podríamos concluir que la anosmia, tanto periférica como central, actúa sobre la hipófisis a través de dos mecanismos:

- De un retardo inespecífico en el desarrollo de todo el cerebro.
- Potenciando los efectos derivados de la actividad pineal, inducida por deprivación de luz.

* En el caso de la anosmia central (bulbectomía) habría que añadir los efectos de las lesiones inespecíficas derivadas de la ablación de los bulbos olfatorios.

VI.2.1.4. Adrenales .-

Nuestros resultados, en cuanto a la incidencia de la actividad pineal, potenciada por los déficits olfatorios, sobre la función adrenal juzgada a partir de los cambios ponderales experimentados, se han caracterizado por ser variables y contradictorios. Asi, mientras en peso absoluto la asociación de ceguera+bulbectomia o desaferentación siempre mostró valores inferiores a los controles, en peso relativo los resultados van desde una ausencia de efectos (series III y V) a

un aumento ponderal (series I y IV) o reducción (serie II). La pinealectomía prevenia, aunque sólo parcialmente, los efectos de la anosmia+ceguera en cuanto a variaciones de peso absoluto, pero no modificó la respuesta en cuanto a pesos relativos.

Esta misma variabilidad aparece en numerosos trabajos (NIR, 1978, revisión; VAUGHAN y Cols. 1980). REITER (1983, revisión) analizaba el carac ter contradictorio de éste tipo de estudios llegando a una conclusión a la que nos adherimos plenamente: "Hasta ahora, el estudio de la interacción pineal-adrenales no se ha realizado en casi ningún caso, con diseños experimentales específicos para tal fin, sino como datos colaterales en modelos destinados básicamente al estudio de los efectos sobre funciones reproductoras, lo que justifica la ausencia de datos concluyentes".

VI.2.1.5. Sistema reproductor .-

Quizás los efectos más claros de la actividad pineal sean los que se refieren al control de las funciones reproductoras. Los efectos derivados de la hiperactividad pineal inducida por ceguera en la rata son de poca entidad, dadas las peculiaridades del sistema reproductor de ésta especie , seleccionada artificialmente, durante años, hasta conseguir una alta capacidad reproductora. Por ésta razón, REITER, KLEIN y DONOFRIO (1969) asociaron, a la supresión de la luz, otra depri vación sensorial (la anosmia por bulbectomia) con la intención de potenciar los efec tos obtenidos con la ceguera, y así ocurrió. Estudios posteriores (REITER y Cols. 1971,1980; BLASK, NODELMAN, 1980; BLASK, NODELMAN, LEADEM, 1980; NELSON, ZUCKER, 1981) confirmaron que la asociación de bulbectomía y ceguera o exposición a fotoperiodos cortos, da lugar a una reducción notable de los pesos de gónadas, vesículas seminales, g. de coagulación y próstatas ventrales, y de los niveles séricos de testosterona, FSH, LH, PRL, es decir, a unos potentes efectos antigonadotróficos cuya mediación pineal es clara, ya que pueden prevenirse mediante pinealectomía, y cuyo mecanismo parece ser un aumento de la sensibilidad hipotalámica a la melatonina, inducida por la bulbectomía. Nuestros resultados en animales con ceguera+ anosmia periférica o bulbectomía, fueron semejantes entre sí y a los anteriormente

descritos, por lo que parece también fuera de dudas que los efectos potenciadores de la bulbectomía, son debidos a la pérdida de la sensibilidad olfatoria, inherente a la ablación de los bulbos y no a la pérdida de algunas de las funciones no olfatorias de los bulbos.

Sobre nuestros resultados, aparte de las diferencias entre los valores de testosterona hallados en las series I y III, que discutiremos en el aptd. VII.2.2, queremos comentar los referentes a cambios morfológicos en las gónadas. Nos ha llamado especialmente la atención el hecho de que el aspecto histológico de los testículos, en las ratas ciegas anósmicas haya sido muy variable, contrastando con la uniformidad de otros parámetros (ver figs. IV-19 a 23 y descripción de las mismas en pgs. 163 y 164). En efecto, siguiendo los criterios de DYM, CLERMONT (1970) y SHARPE, (1983), pudimos establecer tres grupos de animales caracterizados por distintos grados de alteración en la espermatogénesis, que oscilaban entre una ligera afectación, hasta un paro madurativo a nivel de espermatocitos. Estos resultados coinciden con los de NELSON, ZUCKER (1981) que concluian: "...la bulbectomía no reduce, de manera sistemática, la espermatogénesis en ratas ciegas o expuestas a días cortos".

No encontramos una explicación convincente para éste hecho ya que, si en un principio, pensamos que podrian ser el reflejo del grado de anosmia logrado en cada uno de los animales, es decir, que los animales con una afectación severa de la espermatogénesis se correspondieran con desaferentaciones totales de los bulbos, mientras que las desaferentaciones incompletas se traducirían en una menor afectación gonadal. Sin embargo, tras realizar los controles histológicos de la desaferentación, comprobamos que no se cumplía la correlación antes mencionada ya que en la mayoría de los casos fue completa y, no obstante, pudimos constatar en estos casos concretos, distintos grados de atrofia testicular.

VII.2.2. Respuesta a la Melatonina en animales bulbectomizados o desaferentados .-

Como veíamos en la discusión del método experimental (pg.222), todo

parece indicar que la acción potenciadora de la bulbectomía olfatoria, sobre los efectos antigonadotróficos pineales, se debe a una sensibilización de los órganos diana de la melatonina (BLASK, NODELMAN, 1979,1980; REITER y Cols. 1980). Los resultados habidos en nuestra primera serie experimental demostraban que los efectos obtenidos en animales bulbectomizados, eran debidos a la deprivación sensorial ocasionada por la ablación del bulbo y, consecuentemente, reproducibles mediante desaferentación (anosmia periférica). Faltaba, no obstante, demostrar si también en el caso de la anosmia periférica (A), se induce un aumento en la sensibilidad a las hormonas pineales y éste fue el objetivo que nos propusimos alcanzar en la serie experimental III. Nuestros resultados mostraron que los mecanismos de potenciación de la actividad pineal, probablemente sean los mismos en la bulbectomía que en la anosmia periférica, ya que la administración de dosis de melatonina idénticas (50 microgramos/rata/día) o proporcionales al peso corporal (50 microgramos/100 gr. de peso corporal/día), careció de efectos en las ratas intactas o en todo caso fueron menores que en las A o en las bulbectomizadas (B), donde redujo los pesos relativos de hipófisis, v. seminales, g. de coagulación y próstatas ventrales, asi como el peso corporal. Estos resultados coinciden con los de BLASK y NODELMAN (1979,1980) en animales B.

De los resultados obtenidos en nuestras ratas deaferentadas o bulbectomizadas, tratadas con melatonina exógena, destacamos la ausencia de modificaciones en los niveles séricos de testosterona. Estos resultados contrastan con los obtenidos en otras series experimentales (I y IV) con la asociación de ceguera + desaferentación o bulbectomía, en las que apreciamos una marcada reducción de la testosterona sérica; en estos animales (EA y EB) la bulbectomía (y presumiblemente también la desaferentación) actúan como sensibilizadores a los efectos antigonadotróficos de la melatonina endógena liberada en respuesta a la deprivación de luz. Así pues hay diferencias entre la respuesta a la melatonina endógena o exógena. La explicación a estas diferencias, podría estar en los distintos sitios de acción de las hormonas pineales. En efecto, tal como exponíamos en la pg. 12 de la introducción, en el animal adulto la melatonina podría actuar básicamente a nivel hipotalámico (KAMBERI, MIKAL,

PORTER, 1970; CARDINALI, VACAS, BOYER, 1978; REITER y Cols. 1981) desencadenando respuestas antigonadotróficas a partir de una reducción de la LHRH; o a nivel periférico, sobre receptores gonadales (COHEN y Cols. 1978) reduciendo, por diversos mecanismos, la síntesis de testosterona, con la consiguiente atrofia de las glándulas sexuales accesorias (DEBELJUK y Cols. 1971; PEAT, KINSON, 1971; ELLIS, 1972; Mc PHEE, COLE, RICE, 1975). Dentro de las acciones periféricas, ALONSO y Cols.(1978) propusieron que estas podrían consistir realmente en un efecto antiandrogénico de la melatonina, bloqueando la respuesta de los órganos testosterona dependientes, lo que justificaria la coexistencia de una atrofia de v. seminales, g. de coagulación y próstatas ventrales, con niveles normales de testosterona, tal como ocurre en nuestros resultados. Estudios de SANCHEZ BARCELO y Cols. (1982); COS y Cols.(1982) y THIEBLOT y Cols. (1983) apoyan las teorías de ALONSO y Cols.(1976). Asi pues, pensamos que los resultados de la serie III, que estamos comentando, encajarian con un predominio de las acciones periféricas frente a las centrales, mientras que en la serie I, los efectos centrales primarían sobre los periféricos. No conocemos cuales son las causas que condicionan el que predomine uno u otro patron de actuación de las hormonas pineales, pero una hipótesis a comprobar seria que los niveles circulantes de mealtonina, sean el factor primordial, correspondiéndose las acciones periféricas con los niveles más altos. En nuestro departamento hemos observado, que éste predominio de las acciones periféricas, suele aparecer en modelos experimentales en los que hay un aporte exógeno de melatonina, y aunque no hemos podido comparar los niveles séricos alcanzados en estos casos, frente a los de la hiperactividad pineal inducida por diversas maniobras, seria posible que sean superiores en el primer caso.

La utilización de dos pautas distintas de dosificación de la melatonina (ver pg. 65 a 67 y aptdo. VII.1.3 de ésta discusión), nos confirmó que la mayor intensidad de los efectos antigonadales en los animales anósmicos, con dosis fijas de melatonina, no eran una consecuencia de que recibieran más cantidad de la misma por cada 100 gr. de peso corporal, al pesar menos que los controles, puesto que cuando se estandarizaban las dosis en base a los pesos corporales, los resultados eran prácticamente los mismos.

La cantidad total de melatonina recibida durante las 6 semanas, por los animales de los grupos AM/P, BM/P o OM/P (dosis proporcional al peso), fue prácticamente el doble que la de los AM,BM o OM (dosis fija), como puede verse en la fig. V-9 (pg. 67), pero no llegaron a establecerse diferencias entre loa grupos homólogos dependiendo de la pauta de administración. Sin embargo, en los animales intactos se precisan dosis altas (OM/P) para reducir ligeramente los pesos de los órganos testosterona-dependientes, en relación a los controles, mientras que en los anósmicos (A y B), ya con dosis bajas se producen efectos significativos y prácticamente maximales, confirmando asi la hipótesis de una elevación en la sensibilidad a la melatonina.

VII.2.3. Lugar de convergencia entre la actividad pineal y la olfatoria.-

Los resultados de nuestras primeras series experimentales, ya comentados, avalan la hipótesis de que la anosmia potencia los efectos de la actividad pineal. A la hora de buscar las bases de ésta interacción pineal-olfación, excluimos la idea de una acción directa de las señales olfatorias sobre la glándula pineal, ya que no se ha logrado describir cambio alguno en su actividad sintética, en respuesta a la bulbectomía (REITER, KLEIN, DONOFRIO, 1969; KLEIN, REITER, WELLER, 1971; REITER y Cols. 1971), mientras que la ablación de los bulbos olfatorios reduce la síntesis protéica en el hipotálamo (MORGAN, REITER, 1982), y aunque GUERILLOT y Cols. (1982) hacen referencia a una posible conexión neural entre la pineal y el sistema olfatorio, en base a sus hallazgos tras la inyección de HRP en la pineal, su descripción se circunscribe a un sólo caso y en nuestra opinión (y también en la de los propios autores), el dato no es suficientemente fiable. y las conexiones de la pineal con el SNC parecen reducirse a la habénula y al núcleo paraventricular hipotalámico (SEMM, VOLLRATH, 1978; BUIJS, PEVET, 1980; KORF, WAGNER, 1980; DAFNEY, 1980).

Parece pues lógico pensar, que la interacción pineal- sistema olfatorio se lleve a cabo sobre hipotálamo. En el hipotálamo mediobasal existen receptores para la melatonina (CARDINALI, VACAS, BOYER,1978) y se ha demostrado que la desa

ferentación anterior del hipotálamo impide los efectos antigonadotróficos de la melatonina (REITER y Cols. 1981). Por otra parte, el bulbo olfatorio proyecta también sus aferencias sobre diversas áreas hipotalámicas, a través del fascículo medio del cerebro anterior y de la stria terminalis (ver fig. I-7, pg. 23). Mediante estas proyecciones, los bulbos ejercen funciones moduladoras, no bien conocidas, que se extienden también a otras estructuras telencefálicas y que resultarian modificadas por los "inputs" olfatorios, ya que han podido demostrarse cambios profundos en la concentración de algunos neurotransmisores bulbares (dopamina y NE) por manipulaciones del neuroepitelio nasal (KAWANO, MARGOLIS, 1982; BAKER y Cols. 1983). Gran parte de las aferencias bulbares llegan al hipotálamo mediobasal, donde también llegan las hormonas pineales actuando sobre receptores específicos.

En resumen, pensamos que la melatonina pineal, actuando sobre el hipotálamo, modifica la síntesis y/o liberación de péptidos hipofisotropos, dando lugar a efectos antigonadotróficos; las aferencias olfatorias modularían la respuesta hipotalámica a las hormonas pineales.

En el apartado siguiente de ésta discusión, revisaremos las bases morfofuncionales que sustentan éste efecto modulador de las aferencias bulbares, matizando su origen en la división principal o accesoria del sistema olfatorio.

VII.2.4. Participación del sistema vómeronasal, en la potenciación por anosmia, de los efectos de la actividad pineal .-

Los trabajos de SANCHEZ CRIADO (1977); MORA (1977) y GALLEGO, SANCHEZ CRIADO, MORA, (1982), llevados a cabo sobre ratas hembras, demostrando el papel del sistema olfatorio vómeronasal (SVN), como mediador del mensaje feromonal, nos movieron a estudiar la posibilidad de que su bloqueo, por sección intracraneal de los nérvios vómeronasales (NVN), actuase como potenciador de los efectos antigonadotróficos pineales, lo que implicaría a su vez que tal efecto potenciador se debería a la supresión de mensajes feromonales.

Sin embargo, nuestros resultados en la serie IV, mostraron que el bloqueo

del SVN, carece de efectos y sólo la supresión global de todas las aferencias olfatorias, es capaz de potenciar los efectos de la deprivación de luz.

No hemos hallado otros trabajos específicos que justifiquen o se opongan a nuestros resultados, sin embargo, hay suficientes datos indirectos, tanto morfológicos como estudios de conducta, que apoyarían nuestras conclusiones:

- Existencia de proyecciones al hipotálamo ventromedial, tanto desde el bulbo olfatorio principal, como desde el accesorio.

- Necesidad del bloqueo de ambos sistemas olfatorios, para la supresión de algunas conductas relacionadas con la reproducción.

Ampliando lo expuesto anteriormente, SCALIA y WINANS (1975), estudiaron las proyecciones de ambos sistemas olfatorios a la amígdala, concluyendo que el accesorio se proyecta a los núcleos amigdalares medial y cortical posteromedial, mientras que el b. olfatorio principal se proyecta a los núcleos amigdalinos corticales anteriores y posterolaterales. Desde estos núcleos amigdalinos, salen aferencias hacia el hipotálamo, vía stria terminalis. El componente dorsal de la stría terminalis surge de la porción caudal de los núcleos amigdalinos medial y cortical, terminando en la periferia del hipotálamo ventromedial; por su parte, la porción rostral de los núcleos amigdalinos medial y cortical, se proyectan también al HVM, a través del componente medial de la stria terminalis (DE OLMOS, 1972). Estudios degenerativos han demostrado que la stría terminalis se proyecta también a las áreas próptica y anterior del hipotálamo (HEIMER, NAUTA, 1969; DE OLMOS, 1972).

GUEVARA-AGUILAR y Cols. (1982), inyectando HRP en los bulbos olfatorios de la rata, encontraba neuronas marcadas en los núcleos amigdalares corticales y mediales, hipotálamo ventromedial, locus ceruleus y tubérculos olfatorios, entre otros lugares.

Las conexiones de la amígdala con el hipotálamo ventromedial, centro básico en la regulación de la secreción hipofisaria (BLAKWELL, GUILLEMIN, 1973; SCHALLY y Cols, 1973), pueden justificar la influencia de las aferencias bulbares sobre la conducta reproductora y en apoyo de ésta idea estarían también los trabajos de STUMPF, (1972), PFAFF y KEINER, (1973), demostrando la fijación selectiva

del estradiol tritiado, administrado vía sc, en los núcleos amigdalinos corticales y mediales, así como en el HVM, región preóptica medial y núcleo arquato.

POWERS y WINANS (1975), describían la importancia del sistema olfatorio en los procesos reproductores de los mamíferos, pero concluían la necesidad de practicar la desaferentación de ambos sistemas olfatorios, para abolir totalmente el comportamiento maternal en el hamster. La desaferentación del sistema accesorio puede producir un severo deterioro sexual, mientras que la eliminación de los dos sistemas elimina completamente la conducta de cópula en el hamster macho (WINANS, POWERS, 1975).

TYLER y GORSKI (1980), concluían que el bulbo olfatorio accesorio puede no ser un componente crítico del sistema olfatorio, en la respuesta lordótica al benzoato de estradiol en las ratas hembra, contrariamente a los datos previamente descritos por EDWARDS y WARNER (1972).

Resumiendo, a la vista de estos datos y de nuestros resultados en las series experimentales I y IV, podiamos concluir que las señales olfatorias, a través del sistema olfatorio principal o del principal más el accesorio, probablemente ejercen sobre el HMB algún tipo de inhibición tónica de la respuesta a las hormonas pineales (melatonina básicamente). La supresión de ésta influencia inhibitoria, unido al incremento en la síntesis de melatonina inducida por la ceguera, daría lugar a los potentes efectos antigonadotróficos apreciados en las ratas ciegas desaferentadas o bulbectomizadas.

VII.2.5. Papel de la reducción de la ingesta, en los efectos antigonadotróficos de la asociación de ceguera + anosmia .-

Habíamos visto, en nuestra primera serie experimental, como existe un control de las hormonas pineales, modulado por aferencias olfatorias, sobre la ingesta de alimentos; pero lo que abordábamos en la serie V y vamos ahora a discutir, es si una reducción en la ingesta, semejante a la que se produce mediante la asociación de ceguera+bulbectomía, es capaz per se o unida a ceguera, de provocar efectos antigonadotróficos.

Con las diferencias expuestas al hacer la discusión del método experimental (pg. 223), existían ya estudios semejantes a los nuestros. HERBERT (1980), demostró como una dieta hipoprotéica (29% de la estandard) administrada durante 50 días a ratas prepúberes, es capaz de producir un importante bloqueo en la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, que se traduce en: reducción del peso corporal, reducción de los niveles séricos de FSH,LH, PRL y testosterona, y atrofia de gónadas y glándulas sexuales accesorias. Estudios previos en ratas adultas (CAMPBELL y Cols. 1977), habían obtenido resultados semejantes. En otra línea de trabajo, SORRENTINO, REITER, SCHALCH (1971), demostraban que la subnutrición, se comporta como un factor potenciador de los efectos antigonadotróficos pineales, ya que la asociación de ceguera + reducción en la ingesta, provocaba una reducción en los pesos de los órganos del eje hipófiso-gonadal, muy superior al obtenido con las dos maniobras por separado y la pinealectomía prevenía tales efectos. En hembras, WALKER y BETHEA (1977), describían un incremento de la hipertrofia ovárica compensadora, en ratas subnutridas, al exponerlas a luz continua o pinealectomía.

Aunque hay algunos datos a favor de una incidencia directa de la subnutrición sobre la función pineal, como un mayor consumo de O_2 en las pineales de ratas hipoalimentadas, en relación a las alimentadas "ad libitum" (WALKER, Mc MAHON, PIVORUM, 1978); tampoco se han encontrado elevaciones en la concentración de melatonina en ratas subalimentadas (HERBERT, REITER, 1981), ni alteraciones en el ritmo de metabolización de la misma (LYNCH y Cols. 1975), por lo que es dificilmente sostenible una hipótesis basada en efectos directos de la subnutrición sobre la pineal. En el trabajo de CAMPBELL y Cols. (1977), citado anteriormente, se demostraba que la administración de LHRH elevaba los niveles de FSH, LH y PRL, deprimidos por la subnutrición, lo que indicaba claramente al hipotálamo como sitio de acción del déficit alimentario. Por otra parte, BLASK y Cols. (1980) demostraron que las acciones antigonadotróficas de la melatonina exógena, eran más intensas en ratas subalimentadas que en las normoalimentadas, confirmando así, que al igual de lo que ocurre con la anosmia, la reducción en la ingesta sensibiliza a los órganos diana a la melatonina (básicamente el hipotálamo).

De nuestros resultados, destacamos que la reducción de la ingesta en un 15% (tal fue el valor indicado por el grupo EB), fue escasamente efectiva en los animales intactos, mientras que en los ciegos (EH), redujo el peso de próstatas, vesiculas seminales y glándulas de coagulación, y los niveles séricos de testosterona; resultados semejantes a los obtenidos por SORRENTINO, REITER, SCHALCH, (1971) o HERBERT (1980), aunque con reducciones de ingesta mucho más severas que las nuestras (50% en el primer caso y 30% en el segundo). En el caso de los pesos de órganos, los valores alcanzados en el grupo EH, se situaron en un valor intermedio entre el de los animales ciegos alimentados "ad libitum" y el de las EB. También los niveles de testosterona sérica, se situaron entre los de las E y EB, aunque las diferencias entre EH y EB no fueron estadisticamente significativas.

A nuestro juicio, estos datos hablan a favor de que, tal como suponiamos, al menos parte de los efectos antigonadotróficos obtenidos al asociar anosmia y ceguera, pueden ser secundarios a la reducción de ingesta experimentada por estos animales.

VIII. CONCLUSIONES.

CONCLUSIONES

1.- La supresión de la sensibilidad olfatoria, mediante desaferentación bulbar (anosmia periférica), potencia los efectos antigonadotróficos inducidos por la deprivación de luz, de forma idéntica a como lo hace la bulbectomía olfatoria.

2.- Los efectos de la asociación de ceguera y desaferentación bulbar se concretan en:

- Reducción del peso corporal.
- Reducción de los pesos absolutos y relativos de adenohipófisis, vesículas seminales, glándulas de coagulación y próstatas ventrales.
- Reducción del peso absoluto de gónadas, que mostraron en todos los casos alteraciones en la espermatogénesis, aunque en grado variable de unos animales a otros.
- Reducción de los niveles séricos de Testosterona.
- Ausencia de modificaciones en los pesos relativos de órganos ajenos a la esfera reproductora, como el bazo; y efectos poco intensos sobre epidídimos y conductos deferentes que, formando parte del aparato reproductor, no son órganos testosterona dependientes.

3.- Los efectos de la asociación de ceguera y anosmia periférica sobre los órganos testosterona-dependientes están mediados por la pineal, ya que no aparecen en los animales previamente pinealectomizados.

4.- La anosmia periférica incrementa la respuesta del eje hipófiso-gonadal a la administración de melatonina, de manera análoga a como lo hace la bulbectomía olfatoria.

5.- La melatonina exógena mostró, tanto en los animales bulbectomizados como en los desaferentados, efectos claramente antiandrogénicos, ya que producia una reducción significativa de los pesos de las vesiculas seminales, glándulas de coagulación y próstatas, en presencia de niveles normales de testosterona sérica.

6.- De los puntos anteriores puede deducirse que la anosmia periférica, actúa como un factor potenciador de los efectos antigonadales dependientes de la actividad pineal. Potenciación que se llevaría a cabo, probablemente, a traves de un aumento de la sensibilidad a la melatonina en los órganos diana.

7.- Los efectos de la bulbectomía olfatoria, potenciando las acciones pineales, son debidos a la pérdida de la sensibilidad olfatoria (anosmia) inherente a la ablación bulbar y no a la supresión de alguna de las funciones no sensoriales de éstas estructuras.

8.- La supresión selectiva del sistema olfatorio accesorio o vómeronasal, encargado de la transmisión de señales feromonales, no influye sobre las acciones pineales. Los efectos potenciadores sólo se inducen por el bloqueo simultáneo de los dos sistemas olfatorios; en cualquier caso, la posibilidad de que el bloqueo selectivo del sistema olfatorio principal fuese suficiente para potenciar las acciones pineales, no fue estudiada y por lo tanto no puede excluirse.

9.- La asociación de ceguera + bulbectomia (EB) o desaferentación bulbar (EA), reduce el consumo diário de comida en relación tanto a los animales intactos como a los ciegos (E).

10.- Esta reducción de la ingesta, podria ser responsable parcial de los efectos antigonadotróficos hallados en los animales EB o EA, ya que la aplicación

a ratas ciegas de una dieta igual a la consumida por las EB, provoca una reducción de los niveles séricos de testosterona y de los pesos de las próstatas y glándulas sexuales accesorias; situándose, los valores de estos parámetros, equidistantes entre los hallados en los animales ciegos alimentados "ad libitum" y en los EB.

11.- Como corolario de las conclusiones anteriormente citadas, defendemos la hipótesis de que le objetivo básico de la glándula pineal es el control de la función reproductora de los mamíferos, en base a diversas señales procedentes del medio ambiente, parte de las cuales llegarían al hipotálamo y otras, quizas sólo la luz, a la propia pineal. Así, señales olfatorias procedentes del medio, a través de los sistemas olfatorios, mantendrían una inhibición tónica de la respuesta hipotalámica a las hormonas pineales; la intensidad de éste bloqueo variaría según ritmos circanuales coincidentes con las variaciones anuales de la luz ambiental o de la temperatura. Las fases de inactividad sexual de los animales con reproducción estacional coincidirían con la mínima intensidad del bloqueo (por reducción de la densidad de olores ambientales) y concentraciones altas de melatonina (por fotoperiodos cortos); lo contrario ocurriría durante las fases de actividad sexual.

Otras señales procedentes del medio, como la temperatura o la disponibilidad de alimentos participarían también en éste control pineal de la reproducción.

IX. BIBLIOGRAFIA.

BIBLIOGRAFIA

- ADEY, W.R. (1970). Higher olfactory centres. Symposium on taste and smell in vertebrates. G.E. W. Wolstenholme & J. Knight (Eds.). Ciba Foundation. London: Churchill.

- ADRIAN, E.D. (1950). The electrical activity of the mammalian olfactory bulb. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology, 2: 377-383 (Citado por CAIN, D.P. 1974 a)

- ALBERTS, J.R. (1974). Producing and interpreting experimental olfactory deficits. Physiology and Behaviour, 12: 657-670.

- ALBERTS, J.R. (1976). Olfactory contributions to behavioral development in rodents. En: Mammalian olfaction reproductive processes and behavior. R.L. Doty Edt. Acad. Press. N.Y.

- ALBERTS, J.R; GALEF, B.G. (1971). Acute anosmia in the rat: A behavioral test of a peripherally induced olfactory deficit. Physiology and Behavior, 6: 619-621).

- ALONSO, R. (1976). Estudio cuantitativo de los efectos de la pinealectomía y la administración de melatonina, en diferentes niveles del eje gonadal de la rata. Tesis Doctoral. Universidad de La Laguna.

- ALONSO, R; PRIETO, L; HERNANDEZ, C; MAS, M. (1978). Antiandrogenic effects of the pineal gland and melatonin in castrated and intact prepubertal male rats. Journal of Endocrinology, 79: 77-83.

- ARANEDA, S; BOBILLIER, P; BUDA, M; PUJOL, J.F. (1980 a). Retrograde axonal transport of (^{3}H) serotonin in the olfactory bulb. I. Biochemical Study. Brain Research, 196: 405-415.

- ARANEDA, S; FONT, C; PUJOL, J.F; BOBILLIER, P. (1981). Is the retrograde axonal transport of (^{3}H) 5HT a specific process of serotoninergic neurons? Journal de Physiologie, 77: 233-235.

- ARANEDA, S; GAMRANI, H; FONT, C; CALAS, A; PUJOL, J.F; BOBILLIER, P. (1980 b). Retrograde axonal transport following injections of (^{3}H) serotonin into the olfactory bulbs. II. Radioautographic study. Brain Research, 196: 417-427.

- ARSTILLA, A.V. (1967). Electron microscopies studies on the structure and histochemistry of the pineal gland of the rat. Neuroendocrinology, suppl. 2: 1-101.

- ASTIC, L; CATTARELLI, M. (1982). Metabolic mapping of functional activity in the rat olfactory system after a bilateral transection of the lateral olfactory tract. Brain Research, 245: 17-25.

- AXELROD, J.R; WURTMAN, R.J; SNYDER, S.H. (1965). Control of H.I.O.M.T. activity in the rat pineal gland by environmental lighting. Journal of Biological Chemistry, 240: 949-954.

- BAKER, H; KAWANO, T; MARGOLIS, F.L; JOH, T.H. (1983). Transneuronal regulation of tyrosine hydroxylase expression in olfactory bulb of mouse and rat. The Journal of Neuroscience, 3,1: 69-78.

- BALEMANS, M.G.M; PEVET, P; Van BENTHEM, J; HALDAR-MISRA, C; SMITH, I; HENDRIKS, K. (1983). Day/night rhythmicity in the methylating capacities for different 5-Hydroxyindoles in the pineal, the retina and the Harderian gland of the golden hamster (mesocricetus auratus) during the annual seasons. Journal of Neural Transmission, 56: 53-72.

- BALEMANS, M.G.M; PEVET, P; LEGERSTEE, W.C; NEVO, E. (1980). Melatonin and 5-Metoxy-tryptophol synthesis in the pineal, the retina and the Harderian gland in the mole rat (spalax ehrenbergi) and in the pineal of the mouse "eyeless". Journal of Neural Transmission, 49: 247-255.

- BARDASANO, J.L. (1978). La glándula pineal. Ediciones H. Blume. Madrid.

- BARTKE, A; CROFT, B.T; DALTERIO, S. (1975). Prolactin restores plasma testosterone levels and stimulates testicular growth in hamsters exposed to short daylenght. Endocrinology, 97: 1601-1604.

- BENNET, M.H. (1971). A reversible nasal block for the rat. Physiology and Behavior,7: 269-270.

- BENSON, B; MATTHEWS, M.J. (1980). Possible role of prolactin and pineal prolactin-regulating substances in pineal-mediated gonadal atrophy in hamsters. Hormone Research, 12: 137-148.

- BERNSTON, W.E; DESJARDINS, C. (1974). Circulating LH and FSH levels and testicular function in hamster during light deprivation and subsequent photoperiodic stimulation. Endocrinology,95:195-205.

- BEX, F; BARTKE, A; GOLDMAN, B.D; DALTERIO, S. (1978). Prolactin growth hormone, luteinizing hormone receptors and seasonal changes in testicular activity in the golden hamster. Endocrinology, 103: 2069-2080

- BLACKWELL, R.E; GUILLEMIN, R. (1973). Hypothalamic control of adenohypophyseal secretions. Annual Review of Physiology, 35: 357-370.

- BLASK, D.E; NODELMAN, J.L. (1979). Antigonadotrophic and prolactin-inhibitory effects of melatonin in anosmic male rats. Neuroendocrinology, 29: 406-412.

- BLASK, D.E; NODELMAN, J.L. (1980). An interaction between the pineal gland and olfactory deprivation in potentiating the effects of melatonin on gonads, accesory sex organs, and prolactin in malerats. Journal of Neuroscience Research, 5:129-136.

- BLASK, D.E; NODELMAN, J.L; LEADEM, C.A. (1980). Preliminary evidence that dopamine receptor antagonist blocks the prolactin-inhibitory effects of melatonin in anosmic male rats. Experientia, 36: 1008-1009.

- BLASK, D.E; NODELMAN, J.L; LEADEM, C.A; RICHARDSON, B.A. (1980). Influence of exogenously administered melatonin on the reproductive system and prolactin levels in underfeed male rats. Biology of Reproduction, 22,3: 507-512.

- BOECKMAN, D. (1980). Morphologycal investigation of the deep pineal of the rat. Cell and Tissue Research, 210: 283-294.

- BOGAN, N; BRECHA, N; GALL, C; KARTEN, H.J. (1982). Distribution of enkephalin-like immunoreactivity in the rat main olfactory bulb. Neuroscience, 7,4: 895-906.

- BOJSEN-MOLLER, F. (1975). Demostration of terminalis, olfactory, trigeminal and perivascular nerves en the rat nasal septum. Journal of Comparative Neurology, 159: 245-256.

- BRAINARD, G.C; PETTERBORG, L.J; RICHARDSON, B.A; REITER, R.J. (1982). Pineal melatonin in syrian hamster: Circadian and seasonal rhythms in animal maintained under laboratory and natural conditions. Neuroendocrinology, 35: 342-348.

- BUBENIK, G.A. (1983). Shift of seasonal cycle in white-tailed deer by oral administration of melatonin. The Journal of Experimental Zoology, 225: 155-156.

- BUIJS, R.M; PEVET, P. (1980). Vasopressin and oxytocin containing fibers in the pineal gland and subcommisural organ of the rat. Cell and Tissue Research, 205: 11-17.

- BURD, G.D; DAVIS, B.J; MACRIDES, F; GRILLO, M; MARGOLIS, F.K. (1982). Carnosine in primary efferents of the olfactory system: An autoradiographic and biochemical study. The Journal of Neurosciences, 2,2: 244-255.

- CAIN, D.P. (1974 a). The role of the olfactory bulbs in limbic mechanisms. Psychological Bulletin 81, 10: 654-671.

- CAIN, D.P. (1974 b). Olfactory bulbectomy: Neural structures involved in irritability and aggression in the male rat. Journal of Comparative and Physiological Psychology, 85: 213-220.

- CAIN, D.P; BINDRA, D. (1972). Responses of amygdala single units to odors in the rat. Experimental Neurology, 35: 98-110.

- CAIN,C.R;SIMMONDS, M.A. (1982). GABA-mediated changes in excitability of the rat lateral olfactory tract in vitro. Journal of Physiology, 332: 487-499.

- CAMPBELL, G.A; KURCZ, M; MARSHALL, S; MEITES, J. (1977). Effects of starvation in rats on serum levels of follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, thyrotropin, growth hormone and prolactin; response to LH-releasing hormone and thyrotropin releasing hormone. Endocrinology, 100: 580-587.

- CARDINALI, D.P; ROSNER,J.M. (1971). Retinal localization of the hydroxyindole-o-methyltransferase (HIOMT) in the rat. Endocrinology, 89: 301-303.

- CARDINALI, D.P; VACAS, M.I; BOYER, E.E. (1978). High affinity binding of melatonin in bovine medial basal hypothalamus. IRCS Medical Sciences 6: 357.

- CATTARELLI, M. (1982 a). Transmission and integration of biologically meaningfull olfactory information after bilateral transection of the lateral olfactory tract in the rat. Behavioural Brain Research 6: 313-337.

- CATTARELLI, M. (1982 b). The role of the medial olfactory pathways in olfaction: Behavioral and electrophysiological data. Behavioural Brain Research 6: 339-364.

- CHEN, H.J; REITER, R.J. (1980). The combination of twice daily luteinizing hormone-releasing factor administration and renal pituitary homografts restores normal reproductive organ size in male hamsters with pineal-mediated gonadal atrophy. Endocrinology, 106: 1382-1385.

- COHEN, M; ROSELLE, D; CHABNER, B; SCHMIDT, T.J; LIPPMAN, M. (1978). Evidence for a cytoplasmic melatonin receptor. Nature, 274: 894-895.

- CORNWELL-JONES, C.A. (1980). Intracerebral 6-Hydroxydopamine reverses conspecific odor preference of male albino rats. Association for Chemoreception Sciences, Sarasota,Fla. (Citado por LEONARD,1981).

- COS, S; MEDIAVILLA, M.D; SILOS, I; SANCHEZ BARCELO, E.j. (1983). Efectos de la exposición prolongada al frio, sobre la función pineal. Endocrinologia 30,4: 152.

- COS, S. (1983). Influencia del frio como factor potenciador de la respuesta antigonadotrófica de la glándula pineal. Tesina de Licenciatura. Facultad de Medicina de Santander.

- DAFNEY, N. (1980). Two photic pathways contribute to pineal evoked responses. Life Sciences, 26: 737-742.

- DAVIS, B.J; HOFFMANN, G.E; MACRIDES, F. (1980). Somatostatin and LHRH perikarya and axons are present in the olfactory system in the hamster. Association for Chemoreception Sciences. Sarasota, Fla. (Citado por LEONARD, 1981).

- DEBELJUK, L; VILCHEZ, J.A; SCHNITMAN, M.A; PAULUCCI, O.A; FEDER, V.M. (1971). Further evidence for a peripheral action of melatonin. Endocrinology, 89: 1117-1119.

- DE CASTRO, F. (1920). Algunas observaciones sobre la histogénesis de la neuroglia en el bulbo olfatorio. Trabajos del Laboratorio de Investigaciones Biológicas. Univ. Madrid, 18: 83-108.

- DEVOR, M; MURPHY, M. (1973). The effect of peripheral olfactory blockade on the social behavior of the male golden hamster. Behavioral Biology 9: 31-42.

- DEVOR,M. (1976). Fiber trajectories of olfactory bulb efferents in the hamster. Journal of Comparative Neurology, 166: 31-48.

- DE OLMOS, J.S. (1972). The amigdaloid projection field in the rat as studied with the cupric-silver method. En: The Neurobiology of the Aygdala. B.E. Elecfheriuou ed. Plenum Press, NY 145-204. (Citado por SCALIA & WINANS, 1975).

- DE OLMOS, J; HARDY, H; HEIMER, L. (1978). The afferent connections of the main and the accessory olfactory bulb formations in the rat: an experimental HRP-study. Journal of Comparative Neurology, 181: 213-244.

- DONOFRIO, R.J; REITER, R.J. (1972). Depressed pituitary Prolactin levels in blinded anosmic female rats: Role of the pineal gland. Journal of Reproduction and Fertility, 31: 159-162.

- DYM, M; CLERMONT, Y. (1970). Role of spermatogonia in the repair of thr sminiferous epithelium following X-irradiation of the rat testis. American Journal of Anatomy, 128: 265-282.

- EDWARDS, D.A; SCHLOSBERG, A.J; Mc MASTER, S.E; HARRY, J.A. (1977). Olfactory damageand brain catecholamines in the rat. Brain Research, 121: 121-130.

- EDWARDS, D.A; WARNER, P. (1972). Olfactory bulb removal facilitates the hormonal induction of sexual receptivity in the female rat. Hormones and Behavior, 3: 321-332.

- EICHELMAN, B; THOA, N.B; BUGBEE, N.M; NG, K.Y. (1972).Amine and adrenal enzyme levels in aggressive bulbectomized rats. Physiology and Behavior, 9: 483-485.

- ELLIS, L.C. (1972). Inhibition of rat testicular androgen synthesis in vitro by melatonin and serotonin. Endocrinology, 90: 17-28.

- EVERETT, J.W. (1961). The mammalian female reproductive cycle and its controlling mechanisms. En: Sex and internal secretions 1: 497-555. Young W.C. Ed. Williams & Wilkins. Baltimore.

- FALLON, J.H; MOORE, R.Y. (1978a). Catecholamine innervation of the basal forebrain. III. Olfactory bulb, anterior olfactory nuclei, olfactory tubercle and piriform cortex. Journal of Comparative Neurology, 180: 533-544.

- FALLON, J.H; MOORE, R.Y. (1978b). The catecholamine innervation of the basal forebrain. IV. Topography of dopamine cell projections to the basal forebrain and striatum. Journal of Comparative Neurology, 180: 545-580.

- FARBMAN, A.I; MARGOLIS, F.L. (1980). Olfactory marker protein during ontogeny: immunohistochemical localization. Developmental Biology, 74: 205-215.

- FINK,J.S;SMITH,G.P. (1980). Mesolimbic and mesocortical dopaminergic neurons are necessary for normal exploratory behavior in rats. Neuroscience Letters, 17: 61-65.

- FONT, C; ARANEDA, S; PUJOL, J.F; BOBILLIER, P. (1982). Biochemical and autoradiographic investigations of the retrograde axonal transport of labeled material following (^{3}H) norepinephrine injection in the olfactory bulb. Neurochemistry International, 4: 569-575.

- GALA, R.R; HAISENLEDER, D.J; PIEPER, D.R. (1983). Influence of blinding, olfactory bulbectomy and pinealectomy on plasma prolactin levels in the neonatally androgenized female rats. Neuroendocrinology, 37: 9-13.

- GALLEGO, A; SANCHEZ CRIADO, J.E; MORA, O.A. (1982). Role of the vomeronasal system in pheromonalreception in the rat. En: Determination of behavior by chemical stimuli. J.E. Steiner & J.R. Ganchrow Edt. IRL Press.

- GERVAIS, R; PAGER, J. (1982). Functional changes in waking and sleeping rats after lesions in the olfactory pathways. Physiology and Behavior, 29: 7-15.

- GESTELAND, R.C; YANCEY, R.A; FARBMAN, A.I. (1980). Olfactory marker protein during ontogeny: immunohistochemical localization. Developmental Biology, 74: 205-215.

- GETCHELL, T.V. (1977). Analysis of intracellular recordings from salamander olfactory epithelium. Brain Research, 123:275-286.

- GETCHELL, T.V; GETCHELL, M.L. (1982). Physilogy of vertebrate olfactory chemorreception. En: Fragance Chemistry, pg. 1-25. Acad. Press Inc.

- GODFREY, D.A; ROSS, C.D; HERRMANN, A.D; MATSHINSKY, F.M. (1980). Distribution and derivation of cholinergic elements in the rat olfactory bulb. Neuroscience, 5: 273-292.

- GONZALEZ-STRADA, M.T; FREEMAN, W.T. (1980). Effects of carnosine on olfactory bulb EEG, evoked potentials and DC potentials. Brain Research, 202: 373-386.

- GORDON, C.R; KRIEGER, N.R. (1983). Localization of choline acetyltransferase in laminae of the rat olfactory tubercle. Journal of Neurochemistry, 40: 78-83.

- GRAZIADEI, P.P.C. (1971). The olfactory mucosa of vertebrates. En: Handbook of sensory physiollogy, cap. II,pg. 27-58. Lloid & Berder Edts. Springer-Verlag.

- GRAZIADEI, P.P.C; MONTI GRAZIADEI, G.A. (1980). Neurogenesis and neuron regeneration in the olfactory system of mammals. III. Deafferentation and reinnervation of the olfactory bulb following section of the fila olfactoria in rat. Journal of Neurocytology, 9: 145-162.

- GUERILLOT, C; PFISTER, A; MULLER, J; DA LAGE, C. (1982). Recherche de l'origine des fibres nerveus extraorthosympathiques innervant l'epiphyse de rat (étude du transport retrograde de la peroxidase de raifort. Reprod. Nutr. Dévelop. 22,2: 371-378.

- GUEVARA-AGUILAR, R; SOLANO-FLORES, L.P; DONATI-ALBARRAN, O.A; AGUILAR-BATURONI, H.U.(1982). Differential projections from locus coeruleus to olfactory bulb and olfactory tubercle: an HRP study. Brain Research Bulletin, 8: 711-719.

- HALASZ, N; JOHANSON, O; HOKFELT, T; LJUNGDAHL, A; GOLDSTEIN, M. (1981). Immunohistochemical identifications of two types of dopamine neuron in the rat olfactory bulb as seen by serial sectioning. Journal of Neurocytology, 10: 251-259.

- HALASZ, N; LUNGDAHL, A; HOKFELT, T; JOHANSON, O; GOLDSTEIN, M; PARK, D; BIBERFELD, P. (1977). Transmitter histochemistry of the rat olfactory bulb inmunohistochemical localization of monoamine synthesizing enzimes. Support for intrabulbar, periglomerular dopamine neurons. Brain Research, 126: 455-474.

- HARDING, J; GRAZIADEI, P.P.C; MONTI GRAZIADEI, G.A; MARGOLIS, F.L. (1977). Denervation of the primary olfactory pathway of mice. IV. Biochemical and morphological evidence for neuronal replacement following nerve section. Brain Research, 132: 11-28.

- HARDING, J; MARGOLIS, F.L. (1976). Denervation in the primary olfactory pathway of mice. III. Effect on enzymes of carnosine metabolism. Brain Research, 110: 351-360.

- HARDING, J; WRIGHT, J.W. (1979). Reversible effects of olfactory nerve section on behavior and biochemistry in mice. Brain Research Bulletin, 4: 17-22.

- HEIMER, L; NAUTA, W.J.H. (1969). The hypothalamic distribution of the stria terminalis in the rat. Brain Research, 13: 284-297.

- HERBERT, D.C. (1980). Growth patterns and hormonal profile of male rats with protein-calorie malnutition. The Anatomical Record,197: 339-354.

- HERBERT,D.C; REITER,R.J. (1981). Influence of protein calorie malnutrition on the circadian rhythm of pineal melatonin in the rat. Proc. Soc. Expt. Biol and Med. 166: 360-363.

- HEWING, M. (1980). Cerebrospinal fluid-contacting area in the pineal recess of the vole (microtus agrestis), guinea pig (cavia cobaya) and rhesus monkey (macacca mulatta). Cell and Tissue Research, 209: 473-484.

- HIRSCH, J.D; MARGOLIS, F.L. (1979). L-(^{3}H) carnosin binding in the olfactory bulb. II. Biochemical and biological studies. Brain Research. 174: 81-94.

- HOFMANN, K. (1974). Testicular involution in short photoperiod inhibited by melatonin. Naturwissenschaften, 61: 364-365.

- HOFFMAN, J.C; KORDON, C; BENOIT, J. (1968). Effect of different photoperiods and blinding on ovarian and testicular functions in normal and testosterone-treated rats. General Comparative Endocrinology, 10: 109-118.

- HOFFMANN, R.A; REITER, R.J. (1965 a). Pineal gland influence on gonads of male hamsters. Science 148: 1609-1611.

- HOFFMANN, R.A; REITER, R.J. (1965 b). Rapid pinealectomy in hamsters and other small rodents. Anatomical Record, 153: 19-22.

- HOLLOWAY, W.R; GROTA, L.J; BROWN, G.M. (1980). Determination of immunoreactive melatonin in the colon of the rat by immunocytochemistry. Journal of Histochemistry and Cytochemistry,28: 255-262.

- HORST, H.J; BUCK, A; ADAM, K.U. (1982). Orally administered melatonin stimulates the 3 alpha/beta Hydroxysteroid oxidoreductase but not the 5 alpha-reductase in the ventral prostate and seminal vesicles of pinealectomized rats. Experientia, 38: 968-970.

- ILLNEROVA, H; VANECEK, J. (1980). Pineal rhythm in N-acetyltransferase activity in rats under different artificial photoperiods and in natural daylight in the course of a year. Neuroendocrinology, 31: 316-320.

- JAFFE, E.H; CUELLO, A.C. (1980). The distribution of catecholamines, glutamate decarboxylase and choline-acetyltransferase in layers of the rat olfactory bulb. Brain Research, 186: 232-237.

- JENNES, L; STUMPF, W.E. (1980). LHRH-systems in the brain of golden hamster. Cell and Tissue Research, 209: 239-256.

- KACHI, T. (1979). Demostration of circadian rhythm in granular vesicle number in pinealocytes of myce, and the effect of light: semiquantitative electron microscopie study. Journal of Anatomy 129: 603-614.

- KAMBERI, MICAL, R.S; PORTER, J.C. (1970). Effect of anterior pituitary perfusion and intraventricular injection of catecholamines and indoleamines on LH release. Endocrinology, 87: 1-12.

- KAO, L.W; WEISZ, J. (1977). Release of gonadotrophin releasing hormone from isolated, perifused medial basal hypothalamus by melatonin. Endocrinology, 100: 1723-1726.

- KAPLAN, M.D; HINDS, J.W. (1977). Neurogenesis in the adult rat: Electron microscopic analysis of light autoradiographs. Science, 197: 1092-1094.

- KAPPERS, J.A. (1978). The pineal gland of vertebrates including man. Progress in Brain Research, vol. 52. Eds: Elsevier/North-Holland Biomedical Press.

- KAUER, J.S. (1983). Surface morphology of olfactory receptors. Journal of Submicroscopic Cytology, 15,1: 167.171.

- KAUER, J.S; MOULTON, D.G. (1974). Journal of Physiology, 243:717-737.(Citado por GETCHELL & GETCHELL, 1982).

- KAWANO, T; MARGOLIS, F.L. (1982). Transsynaptic regulation of olfactory bulb catecholamines in mice and rats. Journal of Neurochemistry, 39: 342-348.

- KLEIN, D.C. (1979). Circadian rhythms in the pineal gland. En: Endocrine Rhythms, D.T. Krieger ed. Raven Press. N.Y.

- KLEIN, D.C; MOORE, R.Y. (1979). Pineal N-acetyltransferase and hydroxyindole-O-methyltransferase: Control by the retino hypothalamic tract and the suprachiasmatic nucleus. Brain Research, 174: 245-262.

- KLEIN, D.C; REITER, R.J; WELLER, J.L. (1971). Pineal N.acetyltransferase activity in blinded and anosmic male rats. Endocrinology, 89: 1020-1023.

- KLEIN, D.C; WELLER, J.L. (1970). Indole metabolism in the pineal gland: a circadian rhythm in N-acetyltransferase. Science, 169: 1093-1095.

- KORF, H.W; WAGNER, U. (1980). Evidence for a nervous connection between the brain and the pineal organ in the guinea pig. Cell and Tissue Research, 209: 505-510.

- KRATZING, J.E. (1971). The fine structure of the sensory epithelium of the vomeronasal organ in suckling rats. Australian Journal of Biological Sciences 24: 787-796.

- KREIDER, M.S; KNIGHT, P; WINOKUR, A; KRIEGER, N.G. (1982). TRH concentration in rat olfactory bulb is undiminished by deafferentation. Brain Research, 241: 351-354.

- KREIDER, M.S; WINOKUR, A; KRIEGER, N.R. (1981). The olfactory bulb is rich in TRH inmunoactivity. Brain Research, 217: 69-77.

- KRIEGER, N.R; MEGILL, J.R; STERLING, P. (1981). GABA uptake by granule cells of the rat olfactory tubercle. Neuroscience Abstr. 7: 200.

- KRSTIC, R; GOLAZ, J. (1977). Ultrastructural and X-ray microprobe comparison of gerbil and human acervuli. Experientia, 33: 507-508.

- LADEWIG, J; HART, B.L. (1980). Flehmen and vomeronasal organ function in male goats. Physiology and Behavior, 241: 1061-1071.

- LA RUE, C.G; LE MAGNEN, J. (1970). Effect of removal of olfactory bulbs upon hyperphagia and obesity induced in rats by V.M.H. lesion. Physiology and Behavior, 5: 509-613.

- LA RUE, C.G; LE MAGNEN, J. (1972). The olfactory control of meal pattern in rats. Physiology and Behavior, 9: 817-821.

- LEADEM, C.A; BLASK, D.E. (1981). Evidence for an inhibitory influence of the pineal on prolactin in the female rats. Neuroendocrinology, 33: 268. (Citado por MORGAN & REITER, 1982).

- LEADEM, C.A; BLASK, D.E. (1982a). Pineal gland inhibition of prolactin cell activity is independent of gonadal regression. Neuroendocrinology, 35: 133-138.

- LEADEM, C.A; BLASK, D.E. (1982 b). A comparative study of the effects of the pineal gland and prolactin synthesis, storage and release in male and female blind-anosmic rats. Biology of Reproduction, 26: 413-421.

- LEONARD, C.M. (1981).Some speculations concerning neurological mechanisms for early olfactory recognition. Development of perception, I: 383-410. Acad. Press Inc. N.Y.

- LEONARD, C.M. (1972). Effects of neonatal (day 10) olfactory bulb lesions on social behavior of female golden hamster (mesocricetus auratus). Journal of Comparative and Physiological Psychology, 80: 208-215.

- LIN, M.T; CHU, P.C; LEU, S.Y. (1983). Effects of TSH, TRH, LH and LHRH on thermoregulation and food and water intake in the rat. Neuroendocrinology, 37: 206-211.

- LINDQUIST, N.G; LYDEN,A; NARFSTROM, K; SAMAAN, H. (1983). Accumulation of taurine in the nasal mucosa and the olfactory bulb. Experientia, 39: 797-799.

- LOESCHE, J; STEWARD, O. (1977). Behavioral correlates of denervation and reinnervation of the rat: recovery of alteration performance following unilateral entorhinal cortex lesions. Brain Research Bulletin, 2: 31-39.

- LONG, C.I; TAPP, J.T. (1970). Significance of olfactory tracts in mediating response to odors in the rat. Journal of Comparative and Physiological Psychology, 72: 435-443.

- LYNCH, H.J; OZAKI, Y; SHAKAL, D; WURTMAN, R.J. (1975). Melatonin excretion of man and rats: Effect of time of day, sleep, pinealectomy and food consumption. International Journal of Biometeorology, 19: 267-279.

- Mac LEOD, P. (1971). Structure and function of higher olfactory centers. En: Handbook of sensory physiology. Vol. IV, pp 182-204. Lloyd M. Beider ed. Springer Verlag.

- Mac LEOD, N.K; STRAUGHAN, D.W. (1979). Responses of olfactory bulb neurones to the dipeptide carnosine. Experimental Brain Research, 34: 183-188.

- MACRIDES, F; DAVIS, B.J; YOUNGS, W.M; NADI, N.S; MARGOLIS, F.L. (1981). Cholinergic and catecholaminergic afferents to the olfactory bulb in the hamster: A neuroanatomical biochemical and histochemical investigation. Journal of Comparative Neurology, 203: 495-514.

- MANDEL, P; PASANTES-MORALES, H; URBAN, P.F. (1976). Transmitters in the visual process. Pg. 89. S.L. Bouting Ed. Pergamon Press, N.Y.

- MARGOLIS, F.L. (1972). A brain protein unique to the olfactory bulb. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 69: 1221-1224.

- MARGOLIS, F.L. (1974). Carnosine in the primary olfactory pathway. Science, 184: 909-911.

- MARGOLIS, F.L. (1980). Carnosine: An olfactory neuropeptide. En: The role of peptides in neuronal function, pp. 545-572. Baker J.L & Smith T. Eds. Dekker, N.Y.

- MARGOLIS, F.L; GRILLO, M; BROWN, C.E; WILLIAM, T.H; PITCHER, R.G; ELGAR, G.J. (1979).Enzymatic and inmunologycal evidence for two forms of carnosinase in the mouse. Biochimica et Biophysica Acta, 570: 311-323.

- MARTIN, J.E; ENGEL, J.N; KLEIN, D.C. (1977). Inhibition of the in vitro pituitary response to luteinizyng hormone by melatonin, serotonin and 5-methoxytryptamine. Endocrinology, 100:675-680.

- MARTIN, J.E; Mc KELLAR, S; KLEIN, D.C. (1980). Melatonin inhibition of the in vivo pituitary response to luteinizing hormone releasing hormone in the neonatal rat. Neuroendocrinology,31:13-17.

- MATSUSHIMA, S; REITER, R.J. (1977). Fine structural features of adrenergic nerve fibers and endings in the pineal gland of the rat, ground squirrel and chinchilla. American Journal of Anatomy, 148: 463-478.

- MATTEWS, M.J; BENSON, B; RICHARDSON, D.L. (1978). Partial maintenance of testis and accesory of testis and accesory organs in blinded hamsters by homoplastic anterior pituitary grafts or exogenous prolactin. Life Sciences, 23: 1131-1137.

- Mc PHEE, A; COLE, F; RICE, B.E. (1975). Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 40:688 (Citado por COHEN y Cols. 1978).

- MEDIAVILLA, M.D; SANCHEZ BARCELO, E.J; ALONSO, R.A; VATICON, M.D. (1982). Influencia de la pineal an las variaciones de prolactina inducidas por la administracion prolongada de melatonina y/o bromocriptina a ratas macho. Endocrinologia, 29,3: 101.

- MEREDITH, R; O'CONNELL, R.J. (1979). Efferent control of stimulus access to the hamster vomeronasal organ. Journal of Physiology, 286: 301-316.

- MINNEMAN, K.P; WURTMAN, R.J. (1975). Effects of pineal compounds on mammals. Life Sciences, 17: 1189.1200.

- MIRAGALL, F; MONTI GRAZIADEI, G.A. (1982). Experimental studies on the olfactory marker protein. II. Appearance on the olfactory marker protein during differentiation of the olfactory sensory neurons of mouse: an immunohistochemical and autoradiographic study. Brain Research,239:246-256.

- MIRO, J.L; CANGUILHEM, B; SCHMITT, P; KOCH, A. (1982). Hyperphagia and obesity after olfactory bulbectomy performed at different times of the year in the european hamster. Physiology and Behavior, 29: 681-685.

- MOGUILEVSKY, J.A; FAIGON, M.R, SCACCHI, P; CARDINALI, D.P. (1979). Effects of melatonin and superior cervical gangliectomy on luteinizing hormone and release induced by estradiol-progesterome in castrated rats. Neuroendocrinology, 29: 163-168.

- MOLLER, M; VAN DEURS, B, WESTERGAARD, E. (1978). Vascular permeability to proteins and peptides in the mouse pineal gland. Cell and Tissue Research, 195: 11-15.

- MONTI GRAZIADEI, G.A; KARLAN, M.S; BERNSTEIN, J.J; GRAZIADEI, P.P.C. (1980). Reinnervation of the olfactory bulb after section of the olfactory nerve in monkey. Brain Research, 189: 343-354.

- MONTI GRAZIADEI, G.A; MARGOLIS, F.L; HARDING, J.W; GRAZIADEI, P.P.C. (1977). Immunocytochemistry of the olfactory marker protein. Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 25: 1131-1136.

- MOORE, R.Y. (1979). The retinohypothalamic tract, suprachiasmatic hypothalamic nucleus and central neural mechanisms of circadian rhythm regulation. En: Biological rhythms and their central mechanism, pp. 343-354. M. Suda, O Hayaishi, Nakagawa Eds. Elsevier/North Holland. Amsterdam.

- MORA, O. (1977).Datos a cerca de la fisiologia del órgano vómeronasal (Organo de Jacobson) en la rata. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad Complutense. Madrid.

- MORGAN, W.W; REITER, R.J. (1982). Reduced dopamine synthesis and protein levels in the median eminence of blinded anosmic female rats: relation to the pineal. En: The pineal and its hormones, pp. 243-252. Alan R. Liss Inc. N.Y.

- MUKAI, S; MATSUSHIMA, S. (1980). Effect of continuous darkness on diurnal rhythms in small vesicles in sympathetic nerve ending of the mouse pineal. Quantitative electron microscopic observations. Journal of Neural Transmission, 47: 131-143.

- NADI, N.S; HEAD, R; GRILLO, M; HEMPSTEAD, J; GRANNOT-REISFELD, N; MARGOLIS, F.L. (1981). Chemical deafferentation of the olfactory bulb: Plasticity of the levels of tyrosine hydroxylase, dopamine and norepinephrine. Brain Research, 213: 365-371.

- NARANG, G.D; SING, D.V; TURNER, C.W. (1967). Effect of melatonin on thyroid hormone secretion rate and feed consumption of female rats. Proc. Soc. Exptal. Biol. Med. 125: 184-188.

- NELSON, R.J; ZUCKER, I. (1981). Photoperiodic control of reproduction in olfactory-bulbectomized rats. Neuroendocrinology, 32: 266-271.

- NIR, I. (1978). Non-reproductive systems and the pineal gland. Journal of Neural Transmission. Suppl. 13: 225-244.

- ORBACH, J; KLING, A. (1966). Effect of sensory deprivation on onset puberty, mating, fertility and gonadal weights in rats. Brain Research, 3: 141. (Citado por REITER, KLEIN, DONOFRIO, 1969).

- ORMOND, D.L; VAN HARTESVELDT, C. (1979). Functional development of dopamine receptors in the cat forebrain. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 10: 855-860.

- OTTOSON, D. (1956). Acta Physiologica Scandinava, 35,122:1-83 (Citado por GETCHELL & GETCHELL,1982).

- OZAKI, Y; LYNCH, H.J; WURTMAN, R.J. (1976). Melatonin in rat pineal, plasma and urine: 24-hour rhytmicity and effect of clorpromazine. Endocrinology, 98: 1418-1424.

- PAVEL, S. (1973). Arginine vasotocin release into cerebrospinal fluid of cats induced by melatonin. Nature, 246: 183-184.

- PEAT, F; KINSON, G.A. (1971). Testicular steroidogenesis in vitro in the rat in response to blinding, pinealectomy and additions of melatonin. Steroids, 17: 251-263.

- PETTERBORG, L.J; REITER, R.J; BRAINARD, G.C. (1981). Ovarian response of pinealectomized and intact white-footed mice kept under naturally short photoperiods. Experientia, 37: 247-248.

- PEVET, P; HALDAR-MISRA, C. (1982). Effect of orally administered melatonin on reproductive function of the golden hamster. Experientia, 38: 1493-1494.

- PFAFF, D.W; KEINER, M. (1973). Atlas of estradiol-concentrating cells in the central nervous system of the female rat. Journal of Comparative Neurology, 15: 121.158.

- PHILLIPS, H.S; HOSTETTER, G; KERDELHUE, B; KOZLOWSKI, G.P. (1980). Immunocytochemical localization of LH-RH in central olfactory pathways of the hamster. Brain Research, 193: 574-579.

- PIEPER, D.R; GALA, R.R. (1979 a). Influence of the pineal gland, olfactory bulbs and photoperiod on surges of plasma prolactin in the female rat. Journal of Endocrinology,82:279-285.

- PIEPER, D.R; GALA, R.R. (1979 b). Lack of an effect of the pineal gland, olfactory bulbectomy and short photoperiod on the afternoom prolactin surge of the ovariectomized, estrogen treated rat. Biology of Reproduction, 21: 1067-1072.

- POHORECKY, L.A; LARIN, F; WURTMAN, R.J. (1969). Mechanism of change in brain norepinephrine levels following olfactory bulb lesions. Life Sciences, 8: 1309-1317.

- POWERS, J.B; WINANS, S.S. (1975). Vomeronasal organ: critical role in mediating sexual behavior of the male hamster. Science, 187: 961-963.

- QUAY, W.B; MA, Y.H. (1976). Demostrations of gastrointestinal hydroxindole-O-methyltransferase. I.R.C.S. Medical Sciences, 4: 563.

- QUAY, W.B. (1980). Greather pineal volume at higher latitudes in rodentia: exponential relationship and its biological interpretation. General and Comparative Endocrinology, 41: 340-348.

- RAISMAN, G. (1972). An experimental study of the proyection of the amigdala to the accesory olfactory bulb and its relationship to the concept of a dual olfactory system.Experimental Brain Research, 14: 395-408.

- RAMON Y CAJAL, S. (1911). Textura del sistema nervioso del hombre y los vertebrados. Tomado de la edición del C.S.I.C (1972): Histologie du systeme nerveus de l'homme & des vertebres.

- RAMON Y CAJAL, S; DE CASTRO, F. (1933). Elementos de técnica micrográfica del sistema nervioso. Tipografia Artística Alameda. Madrid.

- REITER, R.J; JOHNSON, L.Y. (1974). Pineal regulation of immunoreactive LH nad PRL in light deprived female hamsters. Fertility and Sterility, 25: 958-964.

- REITER, R.J. (1976). Photoperiod and mammalian reproduction. En: Progress in Animal Biometeorology, Vol. 1, part.II, pp. 28-33. H.D. Johnson Ed. Swets and Zeitlinger. Amsterdam.

- REITER, R.J. (1976). The effect of pineal grafts pinealectomy and denervation of the pineal gland on the reproductive organs of male hamsters. Neuroendocrinology, 2: 138-146.

- REITER, R.J. (1980). The pineal and its hormones in the control of reproduction in mammals. Endocrine Rewievs 1,2: 109-131.

- REITER, R.J. (1982). Neuroendocrine effects of the pineal gland and of melatonin. Frontiers in Neuroendocrinology, Vol. 7 pp. 287-316. Ganong & Martini Edts. Raven Press, N.Y.

- REITER, R.J. (1983). The pineal gland: an intermediary between the environment and the endocrine system. Psychoneuroendocrinology, 8,1: 31-40.

- REITER, R.J; DINH, D.T; DE LOS SANTOS, R; GUERRA, J.C. (1981). Hypothalamic cuts suggest a brain site for the antigonadotrophic action of melatonin in the syrian hamster. Neuroscience Letters, 23: 315-318.

- REITER, R.J; JOHNSON, L.Y. (1974). Elevated pituitary LH and depressed pituitary prolactin levels in female hamsters with pineal-induced gonadal atrophy and the effects of chronic treatment with synthetic LRF. Neuroendocrinology, 14: 310-322.

- REITER, R.J; KLEIN, D.C; DONOFRIO, R.J. (1969). Preliminary observations on the reproductive effects of the pineal gland in blinded anosmic male rats. Journal of Reproduction and Fertility,19:563-565.

- REITER, R.J; PETTERBORG, L.J; TRAKULRUNGSI, CH; TRAKULRUNGSI, W.K. (1980). Surgical removal of the olfactory bulbs increases sensitivity of the reproductive system of female rats to the inhibitory effects of late afternoon melatonin injections. Journal of Experimental Zoology, 212: 47-52.

- REITER, R.J; SORRENTINO, S.D; HOFFMAN, J.C; RUBIN, P.H. (1968). Pineal, neural and photic control of reproductive organ size in early androgen-treated male rats. Neuroendocrinology, 3: 246-255.

- REITER, R.J; SORRENTINO, S; RALPH, CH.L; LYNCH, H.J; MULL, D; JARROW, E. (1971). Some endocrine effects of blinding and anosmia in adult male rats with observations on pineal melatonin. Endocrinology, 88: 895-900.

- REITER, R.J; WELSH, M.G; VAUGHAN, M.K. (1976). Aged-related changes in the intact and sympathetically denervated gerbil pineal glands. American Journal of Anatomy, 146: 427-432.

- REPPERT, S.M; KLEIN, D.C. (1980). Mammalian pineal gland : basic and clinical aspects. En: The endocrine functions of the brain, pp. 327-371. M.Motta Ed. Raven Pres.

- RICHARDSON, SB; HOLLANDER, C.S; PRASAD, J.A; HIROOKA, Y. (1981). Somatostatin release from rat hypothalamus in vitro: effects of melatonin and serotonin. Endocrinology, 109: 602-606.

- ROCHEL, S; MARGOLIS, F.L.(1982). Carnosine release from olfactory bulb synaptosomes is calcium dependent and depolarization stimulated. Journal of Neurochemistry, 38: 1505-1514.

- RODOLFO-MASERA, T. (1943). Su l´esistenza di un particolare organo olfattivo nel setto nasale della cavia e di altri roditori. Archo Ital. Anat. Embriol. 48: 157-212.

- ROLLAG, M.D; O'CALLAGHAN,P.L; NISWENDER, G.D. (1978). Dynamics of photoinduced alterations in pineal blood flow. Journal of Endocrinology, 76: 547-548.

- ROMIJN, H.J. (1975). The ultrastructure of the rabbit pineal gland after sympathectomy, parasympathectomy, continuous illumination and continuous darkness. Journal of Neural Transmission, 36: 183-194.

- RONNEKLEIV, O.K; Mc CANN, S.M. (1975). Effects of pinealectomy, anosmia and blinding alone or in combination on gonadotropin secretion and pituitary and target gland weight in intact and castrated male rats. Neuroendocrinology, 19: 97-114.

- ROUTTEMBERG, A. (1971). Stimulus processing and response execution: A neurobiological theory. Physiology and Behavior, 6: 589-596.

- SANCHEZ BARCELO, E.J. (1982). Interacciones melatonina-vasopresina-prolactina en los efectos antigonadotróficos de la pineal. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Santander.

- SANCHEZ BARCELO, E.J; MEDIAVILLA, M.D; ALONSO, R.A; CACICEDO, L. (1982 a). Participación de la pineal en la respuesta del eje hipofiso-gonadal a la administración de melatonina en ratas macho adultas en luz continia. Endocrinologia, 29,3: 100.

- SANCHEZ BARCELO, E.J; MEDIAVILLA, M.D; ALONSO, R.A; SANCHEZ FRANCO, F. (1982 b). Efectos de la cequera y/o subnutrición sobre le contenido pineal de AVP. Resúmenes XIX Congreso Nacional de la S.E.C.F.

- SANCHEZ CRIADO, J.E. (1977). Papel del sistema olfatorio accesorio en la transmisión del mensaje feromonal. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad Complutense. Madrid.

- SANCHEZ CRIADO, J.E. (1978). Técnica de vomeronasalectomía intracraneal en la rata. Archivos de la Facultad de Medicina de Madrid. Vol. XXXIV, 4: 223-231.

- SANCHEZ CRIADO, J.E; GALLEGO, A. (1977). Efecto de la lesión del bulbo olfatorio accesorio en la función reproductora de la rata hembra. Endocrinología, 24: 22.

- SCALIA, F; WINANS, S.S. (1975). The differential projections of the olfactory bulb and accesory olfactory bulb in mammals. Journal of Comparative Neurologi, 179: 341-350.

- SCHALLY, A.V; ARIMURA, A; KASTIN, A.F. (1973). Hypothalamic regulatory hormones. Science, 179: 341-350.

- SEMM, P; VOLLRATH, L. (1978). Electrophysiology properties of single cells of the guinea pig epiphysis cerebri. Pfluggers Archiv , Suppl. Vol. 373, R-55 art. 188.

- SHAFA, F; MEISAMI, E; MOUSAVI, R. (1980). Retarding effect of early anosmia on growth of the body, brain, olfactory bulbs, and cerebellum and its implications for the development of the olfactory system in the rat. Experimental Neurology, 67: 215-233.

- SHARPE, R.M. (1983). Local control of testicular function. Quarterly Journal of Experimental Physiology, 68: 265-287.

- SHEPHERD, G.M. (1972). Synaptic organization of the mammalian olfactory bulb. Physiological Review, 52: 864-917.

- SHEPHERD, G.M. (1979). The synaptic organization of the brain. Oxford University Press. N.Y.

- SING, P.J; TUCKER, M; HOFER, M. (1976). Effects of nasal Zn SO_4 irrigation and olfactory bulbectomy on rat pups. Physiology and Behavior, 17: 373-382.

- SMITH, C.G. (1938). Changes in the olfactory mucosa and the olfactory nerves following intranasal treatment with one per cent zinc sulphate. Canadian Medical Association Journal. (Citado por ALBERTS, 1974).

- SMITH, I. (1983). Indoles of pineal origin: Biochemical and physiological status. Psychoneuroendocrinology, 8,1: 41-60.

- SMULDERS, A.P; WRIGHT, M. (1980). Role of choroid plexus in transport of melatonin between blood and brain. Brain Research, 191: 555-558.

- SORRENTINO, S; REITER, R.J. (1970). Pineal induced alteration estrous cycles in blinded hamsters. General and Comparative Endocrinology, 15: 39-42.

- SORRENTINO, S; REITER, R.J; SCHALCH, D.S. (1971). Interactions of the pineal gland, blinding and underfeeding on reproductive organ size and radioimmunoassayable growth hormone. Neuroendocrinology, 7: 105-115.

- SORRENTINO, S; REITER, R.J; SCHALCH, D.S; DONOFRIO, R.J. (1971). Role of the pineal gland in growht restraint of adulte male rats by light and smell deprivation. Neuroendocrinology, 8:116-124.

- STEWART, W.B; KAUER, J.S; SEPHERD, G.M. (1979). Functional organization of rat olfactory bulb analized by the 2-deoxyglucose method. Journal of Comparative Neurology, 185: 715-734.

- STUMPF, W.E. (1972). Estrogen,androgen and glucocorticosteroid concentrating neurons in the amygdala, studied by dry autoradiography. En: The Neurobiology of the Amigdala, pp. 763-744. B.E. Eleftherion Ed. Plenum. N.Y.

- SUZUKY, N. (1982). Responses of olfactory receptor cells to electrical and chemical stimulation. En: Chemorecepción in fishes. Hara T.J. Eds. Elsevier Amsterdam.

- TALBOT, J.A; REITER, R.J. (1973-74). Influence of melatonin, 5-methoxytryptophol and pinealectomy on pituitary and plasma gonadotrophin and prolactin levels in castrated adult male rats. Neuroendocrinology, 13: 164-172.

- TAMARKIN, L; WESTROM, W.K; HAMIL, A.I; GOLDMAN, B.D. (1976). Effect of melatonin on the reproductive systems of male and female syrian hamster: A diurnal rhythm in sensitivity to melatonin. Endocrinology, 99: 1534-1541.

- TAYLOR, R.L; ALBUQUERQUE, L.C; BURT, D.C. (1980). Muscarinic receptors in pineal. Life Sciences, 26: 2195-2200.

- THIEBLOT, P; JARRIGE, J.F; DE LA JOLINIERE, J.B; BOUCHER, D. (1983). Lack of inhibition by melatonin of testosterone production by perifused rat Leydig cells. Abstracts XIV Acta Endocrinologica Congress, pg. 12.

- THOR, D.H; CARTY, R.W; FLANNELLY, K.J. (1976). Prolonged peripheral anosmia in the rat by multiple intranasal applications of zinc sulfate solution. Bulletin of the Psychonomic Society,7,1:41-43.

- THOR, D.H; FLANNELLY, K.J. (1977). Anosmia and toxicity of topical intranasal zinc. Physiological Psychology, 5,2: 261-269.

- TONOSAKI, K; SHIBUYA, T. (1979). Action of some drugs on gecko olfactory bulb mitral cell responses to odor stimulation. Brain Research 167: 180-184.

- TUREK, F.W; DESJARDINS, C; MENAKER, M. (1975). Melatonin: antigonadal and progonadal effects in male golden hamsters. Science, 190: 280-282.

- TYLER, J.L; GORSKY, R.A. (1980). Bulbectomy and sensitivity to estrogen: anatomical and functional specificity. Physiology and Behavior, 24: 593-600.

- UNGERSTEDT, U. (1971). Stereotaxic mapping of monoamine pathways in the rat brain. Acta Physiologica Scandinavica. Suppl. 367: 1-44.

- VACAS, M.I; CARDINALI, D.P. (1979). Diurnal changes in melatonin binding sites of hamster and rat brains. Correlation with neuroendocrine responsiveness to melatonin. Neuroscience Letters,15:259-263.

- VACAS, M.I; CARDINALI, D.P. (1980). Binding sites for melatonin in bovine pineal gland. Hormone Research, 13: 121-131.

- VALENSTEIN, E.S. (1973). Brain Control. New York: Wiley-Interscience. (Citado por LEONARD,1981).

- VANECEK, J; ILLNEROVA, H. (1982). Effect of photoperiod on the growth of reproductive organs and on pineal neonatally with testosterone propionate. Biology of Reproduction, 27:517-522.

- VAUGHAN, G.M; ALLEN, J.P; VAUGHAN, M.K; SILER-KHODR, T.M. (1980). Influence of pinealectomy on corticotropin (ACTH). Experientia, 36: 364-366.

- VLAHAKES, G.H; WURTMAN, R.J. (1972). A Mg^{++} dependent hydroxyindole-O-methyltransferase in the rat harderian gland. Biochimica et Biophysica Acta,261: 194-198.

- WALKER, R.F; BETHEA, C.L. (1977). Gonadal function in underfeed rats: I. Effect of pineal gland and constant light on maduration and fecundity. Biology of Reproduction, 17: 623-629.

- WALKER, J.C; TUCKER, D; SMITH, J.C. (1979). Odor sensitivity mediated by the trigeminal nerve in the pigeon. Chemical senses and Flavour, 4,2: 107-116.

- WEINDL, A. (1973). Neuroendocrine aspects of circunventricular organs. Frontiers in Neuroendocrinology, Vol.año 1973. Ganong and Martini Eds. Oxford Univ. Press. London.

- WESTRUM, L.E. (1975). Electron microscopy of synaptic structures in olfactory cortex of early postnatal rats. Journal of Neurocytology, 4: 713-732.

- WHITE, L.E. (1965). Olfactory bulb projections of the rat. Anatomical Record, 152: 465-480.

- WINANS, S.S; POWERS, J.B. (1975). Sexual behavior and attraction to vaginal odor in male hamsters after olfactory and vomeronasal deafferentation. Neuroscience Abstr. 1,7

- WITHYACHUMNARNKUL, B; KNIGGE, K.M. (1980). Melatonin concentration in cerebrospinal fluid, peripheral plasma and plasma of the confluens sinum of the rat. Neuroendocrinology, 30:322-388.

- WURTMAN, R.J. (1975). The effect of light on man and other mammals. Annual Review of Physiology, 37: 467-483.

- WYSOCKI, C.J; BEAUCHAMP, G.K; WELLINGTON, J.L; ERISMAN, S; BARTH, M.L. (1981). Acces of low volatile stimuli to an clerance rates from the mammalian vomeronasal organ. Association for Chemoreception Sciences, Sarasota, Fla. (Citado por LEONARD, 1981).