

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



“ESTUDIO MORFOLOGICO COMPARATIVO DE LA GLANDULA
DE HARDER EN RATAS HIPOTIROIDEAS Y EUTIROIDEAS,
UN ESTUDIO MORFOLOGICO”

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
OSCAR KURT BITZER QUINTERO
DIRECTOR DE TESIS:
M. EN C. GENARO GABRIEL ORTIZ
GUADALAJARA, JAL. NOVIEMBRE DE 1993

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS PROFESIONAL

**"ESTUDIO MORFOLOGICO COMPARATIVO DE LA GLANOLA DE
HARDER EN RATAS HIPOTIROIDEAS Y EUTIROIDEAS, UN ESTUDIO
MORFOLOGICO"**

Oscar Kurt Bitzer Quintero.

DIRECTOR DE TESIS: M. en C. Genaro Gabriel Ortiz.

Guadalajara, Jal. Noviembre 1993.

CONTENIDO:

Resumen	pagina X
Introducción	1
Planteamiento del problema	13
Justificación	14
Hipótesis	15
Objetivos	16
Material y método	17
Resultados	19
Análisis estadístico	22
Microfotografías	24
Descripción gráfica macroscópica de la glándula de Harder	44
Discusión	46
Conclusiones	47
Bibliografía	48

RESUMEN

RESUMEN.

La glándula de Harder fué descubierta por primera vez por Johan Jacob Harder , un médico suizo nacido en 1656.

Esta glándula se ha considerado como un glándula exócrina de tipo lacrimal accesório, es un complejo tubulo-alveolar localizado en la parte posterior del globo ocular en reptiles, aves y mamíferos; es una glándula de naturaleza apócrina.

La glándula de Harder se relaciona fisiológicamente con elementos del sistema endócrino y reproductor ; dentro de las funciones específicas para el ojo (funciones exócrinas) de la glándula se puede decir que ayuda a la lubricación del párpado mediante sus secreciones , y junto con las glándulas TARSAL ayuda a prevenir una sobredescarga de lágrimas.

Endocrinamente la glándula de Harder juega un importante papel en la regulación de la producción de Melatonina por la glándula Pineal , por lo que se relaciona con la enzima NAT (N-acetil-transferasa) y con la enzima HIOMT (Hidroxi-indol-orto-metil-transferasa). en la producción de N-acetil-serotonina y de Melatonina por la Pineal actuando como **TRANSDUCTOR NEUROENDOCRINO** , o sea, convirtiendo un estímulo de tipo físico como la luz en la retina en una respuesta de tipo químico como la producción de Melatonina por la glándula Pineal.

La idea u objetivo general de éste trabajo es el de estudiar y analizar morfológicamente la glándula de Harder de ratas hipotiroideas y correlacionar los datos obtenidos con glándulas Harderianas de ratas eutiroideas de grupo control.

Para la realización de la investigación se utilizaron 3 grupos de ratas adultas (5 animales por grupo) de la cepa WISTAR, se controló la fecha de preñez por medio de citología vaginal y se mantuvieron en condiciones de biotério. A 2 de los grupos se les administró Propiltiouracilo (PTU) por vía de sonda gástrica con la finalidad de provocarles hipotiroidismo ; el tercer grupo quedó como grupo control.

Los estudios histológicos se realizaron en las glándulas Harderianas de las crías.; éstos productos se perfundieron con soluciones lavadoras (buffer de fosfatos y soluc. salina) y soluciones fijadoras (formaldehído al 4 %) por vía intracardiaca a los 0, 15, 30, y 60 días de edad, utilizando las crías de 5 ratas (madres) por cada fecha.

Posteriormente las glándulas harderianas extraídas se fijaron y se incluyeron en resinas poly-bed .

Finalmente se realizaron cortes semi-finos de los bloques de resina, se analizaron morfológicamente y se microfotografiaron.

los resultados mostraron un evidente retraso en el desarrollo de la glándula de Harder a los 0 y 15 días de edad, mientras que a los 30 y 60 días de desarrollo post-natal no se encontraron diferencias entre los sujetos hipotiroideos y los sujetos testigos; lo cuál sugiere que el animal al ser destetado y alimentado normalmente recupera su capacidad de captación de yodo y alcanza su patrón de desarrollo glandular normal.

En base a éstos resultados se puede concluir que las ratas hipotiroideas pesan menos y su talla es menor que la de las eutiroideas, sufriendo también las hipotiroideas una serie de " problemas " o desarreglos de tipo morfológico y funcional.

INTRODUCCION.

ESTUDIO MORFOLOGICO COMPARATIVO DE LA GLANDULA DE HARDER EN RATAS HIPOTIROIDEAS Y EUTIROIDEAS, UN ESTUDIO MORFOLOGICO.

INTRODUCCION:

La glándula de Harder fué descubierta y descrita por primera vez por Johan Jacob Harder, un médico y naturalista Suizo nacido en 1656.

Harder descubrió la glándula en 1694, experimentando en un Venado; y resulta absurdo que Meissner en 1900 reportara la ausencia de dicha glándula en la citada especie. Giacomini (1887) aseguró que las glándulas son rudimentarias en los monos, y Loewenthal (1910) las descubrió en antropoides y transitoriamente en el humano en periodo fetal, localizadas en el Fornix inferolateral (el Fornix es una estructura de asociación de relevos sinápticos , perteneciente al Mesencéfalo). La glándula de Harder ha sido considerada como una glándula mixta de tipo lacrimonasal, es un complejo tubo-alveolar que poseen los animales, es de naturaleza apócrina (11).

Anatómicamente existen diferencias de estructura y localización de las glándulas según la especie: la rata y el ratón desarrollan glándulas de tipo mucoso, como lo aseguró Loewenthal en 1933. En el conejo las glándulas están separadas y se comunican a la superficie exterior mediante conductos, en el cobayo las glándulas son grandes , como las Meibomianas, en las aves las glándulas Harderianas están separadas y localizadas en la porción nasal, asociadas a la membrana ocular; son excepcionalmente grandes en el León marino, y poseen una abundante secreción que actúa como protección contra el agua de mar (24).

En los reptiles las glándulas Harderianas siempre están presentes ; los cocodrilos presentan glándulas Harderianas y glándulas Lacrimales en posición naso/ventral, y con conductos simples; en las serpientes no existen glándulas Lacrimales , pero las Harderianas son grandes y segretan " aceite " dentro del saco conjuntival. A partir de las esquinas de éstos sacos conjuntivales la secreción se vierte dentro de la nariz por un solo conducto naso/lagrimal, y se abre dentro del órgano Vomero/Nasal de Jacobson, desde aquí se introduce a la boca actuando como secreción salivatoria accesoria para la lubricación de las fauces durante la alimentación y la deglución.

Los quelonios presentan un conducto simple en cada una de sus glándulas y no tienen conducto naso/lagrimal (24). En los Anfibios existe una membrana ocular pasiva que forma parte de l párpado inferior, a diferencia de algunos peces Teleosteos (esqueleto de hueso verdadero), y de la membrana ocular de los vertebrados. La lubricación del ojo en los Anfibios se efectúa por el desarrollo de las glándulas Harderianas en el margen del párpado superior, las glándulas nasales se hipertrofian para formar las grandes glándulas Harderianas , que ocupan un gran espacio en la mitad nasal de la órbita, estas son temporalmente las precursoras de las glándulas Lacrimales en éstos animales (24). En los Peces no existe aparato lagrimal, pero existen 4 diferentes tipos de secreciones provenientes de las glándulas Harderianas:

- A.- Secreciones para el ojo.
- B.- Secreciones para la nariz.
- C.- Secreciones para el órgano Vomero/nasal de Jacobson.
- D.- Secreciones accesorias para las glándulas salivales.

EVOLUCION DE LA GLANDULA DE HARDER:

Al adaptarse los animales a la vida terrestre tuvieron que desarrollar un mecanismo de mantenimiento para la humedad en la cornea. Las glándulas Lacrimales fueron las primeras en desarrollarse en los Anfibios, las glándulas Harderianas y las Lacrimales parecen haberse desarrollado de igual manera en el proceso evolutivo, poseen aberturas desde el párpado inferior hacia la nariz , lo que hace pensar que la secreción de éstas glándulas no tiene como única función el lubricar la Cornea, sino que además ayudan a mantener la humedad de las fosas nasales (22).

MORFOLOGIA DE LA GLANDULA DE HARDER:

La glándula de Harder ha sido considerada como una glándula exócrina de tipo Lacrimal accesório. (15).

Esta glándula es un complejo tubulo-alveolar localizado en la parte posterior del globo ocular en aquellos animales que poseen un tercer párpado , es una glándula de naturaleza apócrina.

En el conejo presenta macroscópicamente 2 lóbulos, denominados lóbulo rojo y lóbulo blanco,. En el análisis químico de la glándula se encontraron diferencias de contenido lipídico ente los lóbulos blanco y rojo, el principal componente del lóbulo rojo es el " eter-diacil-glicerol "; el contenido de este lípido es bajo en el plasma sanguíneo y en otros tejidos, pero ha sido encontrado en el hígado de algunos peces Condrosteos como los tiburones, en éstos animales, el eter-diacil-glicerol puede reemplazar a los triglicéridos del Hígado, se piensa también que los ésteres de Colesterol pueden ayudar en el proceso de cicatrización (22).

En el Hamster hay grandes diferencias en la glándula Harderiana, como lo indica la presencia del pigmento negro parduzco proveniente de las glándulas de la hembra (1). Las glándulas del Hamster macho poseen tipos o estadios celulares diferentes a los que posee la hembra (34).

Examinando electromicroscópicamente glándulas Harderianas de ratas adultas e infantiles se han encontrado 2 tipos principales de células (34):

- 1.- Células acinares.
- 2.- Células mioepiteliales.

CELULAS ACINARES:

La maduración de las células acinares está representada por 4 tipos de células I, II, III, y IV. Estas células muestran un incremento gradual en el tamaño de sus vesículas según la edad del animal. Estas vesículas se desarrollan a partir de membranas y pequeñas vesiculitas generadas en el aparato de Golgi. Las células de tipo I y II se presentan en las ratas, ratones, y cobayos jóvenes o infantiles, y los tipos II, III, y IV se presentan en animales adultos (34).

Los 4 tipos de células no son formas estrictamente separadas unas de otras , ya que hay una continua transición entre ellas (23).

Las células acinares de ratas adultas e infantiles son piramidales y presentan núcleos basales. En las ratas jóvenes los acinos están formados por células de tipo I y II, y en los adultos de tipo II, III, y IV.

Ahora describiremos la estructura sub-microscópica de cada uno de éstos tipos celulares:

CELULAS TIPO I.

Estas son células poco diferenciadas, contienen un pequeño número de vesículas o gotas secretorias rodeadas por una gruesa membrana , entre y estrechamente asociadas a las vesículas existe un gran número de mitocondrias, la base del citoplasma es clara, finamente granular, y en él se observan ribosomas , finas vesículas y gránulos. Las finas vesículas están acomodadas en grupos de 2 a 6. Este tipo de vesículas se presenta en animales jóvenes (23).

CELULAS TIPO II.

Las células tipo II aparecen en las glándulas acinares de las ratas inmaduras (infantiles), y en ellas se observan grandes vesículas o gotas secretorias. Las vesículas grandes son menos numerosas y siempre son más grandes que en las células tipo I. Se calcula que el diámetro de una vesícula grande en las células I y II es de alrededor de 1.05 micras. Como ya se ha mencionado, ocurren también en la glándula infantil formas o pasos de transición entre las células I y II (23).

FORMAS TRANSICIONALES.

En estas células intermedias, el número de vesículas o gotas secretorias es más grande que en las células inmaduras de tipo I (23). Existe también un incremento gradual en el número de vesículas en el aparato de Golgi, dando la impresión de que la alta densidad electrónica de la célula tipo II es el resultado de un sobredesarrollo de éste aparato de Golgi. Por otra parte, las grandes vesículas parecen desarrollarse a partir del aparato de Golgi, siendo su primer estadio una pequeña membrana, la cual va aumentando gradualmente de tamaño.

El aumento adicional en el tamaño de las vesículas se debe a la incorporación en ellas de pequeñas vesicúllitas; el límite o frontera de las vesículas grandes parece ser una línea ininterrumpida consistente en una serie de semi-círculos sugiriendo que las membranas y las finas vesículas del aparato de Golgi se van incorporando a las grandes vesículas.

CELULAS TIPO III Y IV.

De la célula tipo II, que se caracteriza por contener un denso lecho de citoplasma y pocas vesículas, hay una transición gradual hacia células más maduras y cuyo citoplasma es más claro, también ocurre un incremento en el tamaño de las vesículas grandes, siendo éste su tamaño promedio de 1.37 micras.

Las células de tipo III contienen menos vesículas grandes que las tipo IV, en éstas el citoplasma está totalmente ocupado por las vesículas, y solo está representado, el citoplasma, por pequeños cordones entre dichas vesículas. Las membranas limitrofes de las células de tipo IV muestran un adelgazamiento gradual y a veces están fenestradas. Las células de tipo III y IV ya son capaces de sintetizar pigmento, a diferencia de las tipo I y II que todavía son inmaduras (23).

PROCESO DE MADURACION DE LAS CELULAS ACINARES.

El incremento gradual en el número y diámetro de las vesículas grandes, y el paso en el aclaramiento en el lecho del citoplasma son los principales rasgos de maduración acinar, se incrementa el número de células acinares que se llenan de vesículas grandes, las cuáles se desprenden de la terminación apical de las células y entran al lúmen acinar (23).

DESARROLLO DE LAS VESICULAS GRANDES O CELULAS SECRETORIAS.

Considerando la relación inversa entre el aclaramiento del lecho del citoplasma de las células tipo III y IV y el incremento en el número y diámetro de las vesículas grandes, se podría sugerir que la génesis de dichas vesículas está relacionada con la desaparición gradual del sobredesarrollo del aparato de Golgi. Los primeros pasos de este proceso son perceptibles en las células de ratas infantiles, las vesículas grandes aparecen en el aparato de Golgi como pequeñas membranas, que después aumentan de tamaño incorporando más y más membranas y finas vesículas desde dicho aparato de Golgi, este segundo paso de desarrollo de las vesículas grandes ocurre en células de tipo II, III, y IV; pero es raramente observable debido a la pronunciada densidad del lecho del citoplasma (23).

CELULAS MIOEPITELIALES.

La presencia de células Mioepiteliales en la glándula de Harder no es de sorprender, ya que la glándula se relaciona Filogenéticamente y Ontogénicamente a las glándulas Lacrimales que poseen células Mioepiteliales .

El significado fisiológico de las células Mioepiteliales en la glándula de Harder es el de ser elementos contráctiles para la expulsión de productos de secreción (10).

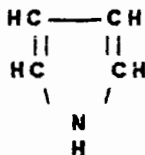
PIGMENTO DE LA GLANDULA DE HARDER.

El pigmento fue estudiado por Derrien y Turchini en 1924 (13), ellos efectuaron disecciones de cabezas de ratas y notaron que el color rojo fluorescente de la glándula se debe al pigmento, una porfirina sintetizada ahí, la Harderiporfirina; la cuál por su solubilidad recuerda a la cáscara de huevo. Thomas describió la presencia de Protoporfirina en muestras de glándula de Harder , lo que fue confirmado por Chick en 1940 (13). McElroy describió la presencia de 2 tipos de Porfirinas en las ratas, la porción principal es un porfirina sintetizada ahí, en la misma glándula, la fracción menor es Coproporfirina, un pigmento derivado de los ácidos biliares , que ayuda a darle coloración a las heces fecales (24).

Figge encontró que los ratones con alta susceptibilidad al Sarcoma Sheffield RD/3 presentaban un color fluorescente mas fuerte que los ratones con baja susceptibilidad, como también demostró que la cantidad de Porfirina se incrementaba al ir aumentando el estadio del tumor. En 1946 Bittner y Watson (8) descubrieron una Protoporfirina en la glándula de Harder de ratones de varias edades; y Kennedy (24) encontró que al incubar homogeneizados de glándula de Harder con Porfobilinogeno, derivado de los ácidos biliares, se producía Uroporfirina III, una fracción porfirínica que ayuda a darle coloración a la orina, lo cuál indica que las glándulas son capaces de sintetizar su propio pigmento. Tomio y Grinstein reportaron en 1968 que el contenido de Porfirinas de las glándulas Harderianas de ratas adultas normales es de casi 15 microgramos/100 mg. de peso vivo, constituido por:

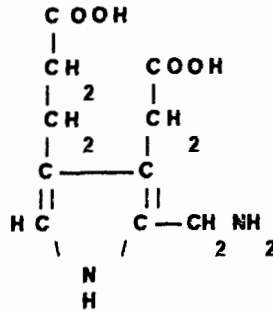
- A.- Protoporfirina IX.- 87 %.
- B.- Coproporfirina III.-11 %.
- C.- Porfirina Tricarboxilica.- 02 %.

PORFIRINAS.



PIRROL: Núcleo pentatónico nitrogenado.

El precursor biológico de las porfirinas es un monopirrol con cadenas laterales de ácidos acético y propiónico, el Porfobilinógeno.



PORFIBILINOGENO.

Dentro del grupo de las Porphirinas se encuentran las Uroporphirinas, derivados de los ácidos biliares que se presentan en la orina, aunque no se encuentran exclusivamente en ésta; son Porphirinas tetraacéticas y tetrapropiónicas; de los isómeros posibles de las Uroporphirinas solo se encuentran en la naturaleza la Uroporphirina I y la Uroporphirina III, la Uroporphirina I presenta sus sustituyentes químicos en sucesión alternada, en cambio este orden se invierte en la cuarta unidad pirrol de la Uroporphirina I (6).

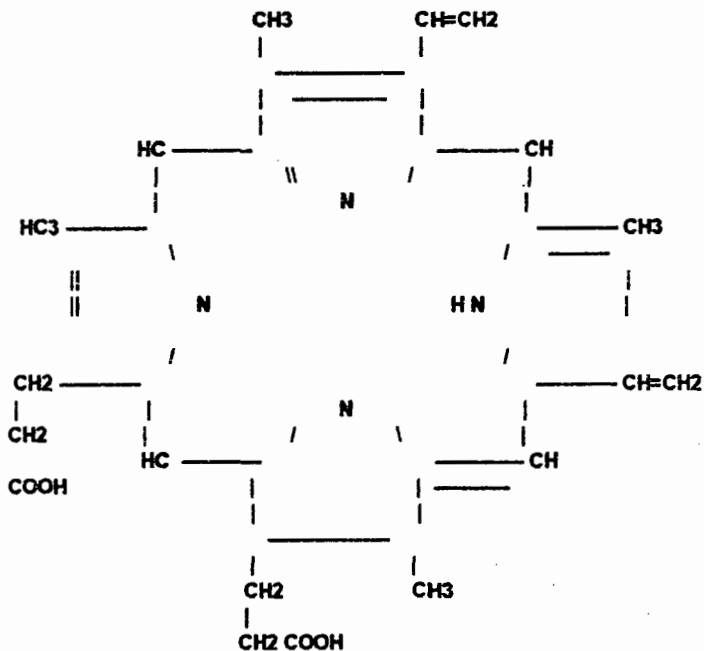
Si se descarboxilan las cadenas laterales de ácido acético de las Uroporphirinas, se producen Coproporphirinas, que también son tetraacéticas y tetrapropiónicas, estando presentes en la naturaleza las Coproporphirinas I y II.

Cabe considerar a la Mesoporphirina IX (Porphirina tetrametilica, dietilica y dipropiónica) derivada de la Coproporphirina III por descarboxilación de los 2 grupos de ácido Propiónico. La conversión de los 2 grupos Etilo de la Mesoporphirina IX en Hidroxietilo originan Hematoporphirina IX (Porphirina tetrametilica, Bis-hidroxietilica, y dipropiónica); la deshidratación de los grupos Hidroxietilo produce Protoporphirina IX (Porphirina tetrametilica, divinilica, y dipropiónica).

PROPIEDADES QUIMICAS DE LAS PORFIRINAS.

Por tener grupos Carboxilo (COOH), las Porphirinas corrientes forman sales con facilidad, de las cuáles las sales amónicas y las sódicas son las más solubles y las menos solubles respectivamente. Por los nitrogénos pirrólicos y los grupos carboxilo, las Porphirinas naturales son compuestos Anfotéricos (se comportan como ácidos o como bases) y cuyo punto isoeléctrico (pH en el cuál se encuentran equilibradas las cargas de un aminoácido) está en el pH de 3.0 a 4.5; por ello las Porphirinas en el pH fisiológico transportan cargas negativas uniéndose con facilidad a proteínas básicas (catiónicas en pH neutro) (27).

Los grupos Carboxilo de las Porphirinas se esterifican (se les agrega un radical Hidroxilo liberando agua) con facilidad. Casi todos los métodos de obtención de éstas sustancias a partir de fuentes naturales, previamente entran en la conversión a ésteres metilicos. Los átomos de nitrogeno con algunos metales, los cuáles ocupan posición central en el anillo porfirínico, en su estado natural el Cobre y el Zinc, se combinan con las Porphirinas, sin embargo, los compuestos férricos tienen más importancia de tipo biológico, por ejemplo, las Ferroporphirinas (hemes) se combinan con proteínas, con compuestos orgánicos más sencillos y en algunos casos también con gases (6).



MOLECULA DE PROTOPORFIRINA IX.

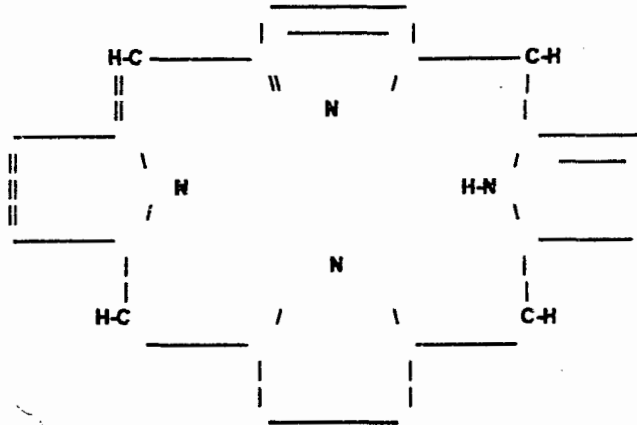
GRUPO VINILO: = CH₂GRUPO METILO: CH₃GRUPO PROPIONICO: CH₂
CH₂
COOH**PROPIEDADES FISICAS DE LAS PORFIRINAS.**

Las Porphirinas poseen espectros de absorción característicos, la absorción en el extremo ultravioleta del espectro es muy intensa, por lo cuál los compuestos son de color rojo vivo.

En general las Porphirinas son más fácilmente solubles en disolventes orgánicos que en agua. A causa del distinto número de grupos Carboxilo de las diversas Porphirinas pueden efectuarse extracciones diferenciales a partir de los disolventes orgánicos en fases acuosas de pH apropiado. Las Porphirinas y sus ésteres metílicos pueden separarse e identificarse por Cromatografía en papel (6).

BIOQUIMICA DEL PIGMENTO.

Bioquímicamente la Porphirina es un compuesto constituido por 4 moléculas pirrónicas enlazadas en un circuito cerrado, unidas por puentes metálicos (- C = con 3 valencias y la cuarta valencia compartida con un pirrol) (43).

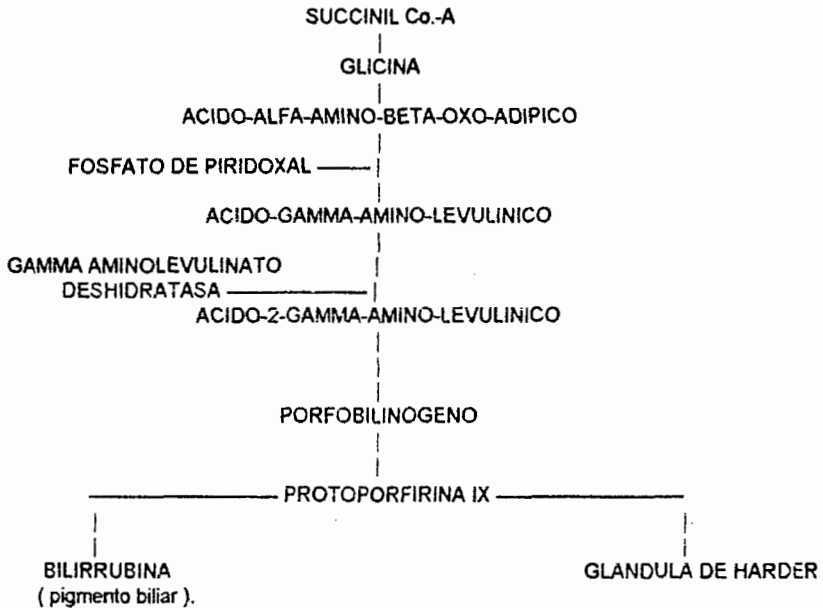


PORFINA.

Las Porphirinas derivan de la "Porphina", un Tetrapirrol cíclico que no posee cadenas laterales sustituyentes, las Porphirinas se designan y clasifican basándose en los sustituyentes que forman las cadenas laterales, por ejemplo; Etioporphirinas, Mesoporphirinas, Coproporphirinas, Uroporphirinas, Protoporphirinas, etc., siendo las más importantes la Protoporphirinas, que contienen 4 grupos Metilo, 2 grupos Vinilo, y 2 grupos de ácido Propiónico. Pueden describirse 15 Protoporphirinas isómeras, pero solo la Protoporphirina IX se encuentra en la naturaleza; se halla en la Hemoglobina y en la mayor parte de los Citocromos. Las Protoporphirinas forman complejos quelatos tetradentados con iones hierro, cobre, magnesio, zinc, níquel, y cobalto; en los que el metal se mantiene unido por 4 enlaces coordinados (27).

La biosíntesis de las Porphirinas, en la cuál la Glicina y la Succinil-Co A son los precursores principales, constituye un papel fundamental que desempeña el núcleo de Porphirina en la Hemoglobina, en la Clorofila y en los Citocromos. Los Tetrapirroles se constituyen a partir de 4 moléculas de un derivado monopirrólico, el Porphobilinogeno.

El Porfobilinogeno se biosintetiza y se convierte en Protoporfirina IX de la siguiente manera:



Este camino fue dilucidado en los tejidos animales principalmente gracias a estudios enzimáticos y con isótopos radioactivos trazadores realizados por el Dr. Shemin y colaboradores (11).

Primeramente la Glicina reacciona con la Succinil Co-A formando ácido-alfa-amino-beta-oxo-adipico ligado a la enzima, que después se descarboxila y rinde ácido gamma-amino-levulinico, reacción que es catalizada por una enzima que contiene fosfato de Piridoxal del reticulo endoplasmático de las células Hepáticas, entonces 2 moléculas de gamma-amino-levulinato se condensan entre sí para formar Porfobilinogeno gracias a la acción de la enzima gamma-amino-levulinato-deshidratasa (11). Tanto la Sintetasa como la Hidratasa son enzimas reguladoras, resultan inhibidas por el grupo "hemo", por la Hb., y por otras hemoproteínas; que son productos finales de ésta ruta biosintética. Después, 4 moléculas de Porfobilinogeno actúan como precursores del Tetrapirrol cíclico Protoporfirina, pasando por una compleja serie de reacciones ; el hierro no se incorpora hasta que se ha completado la molécula de Protoporfirina. La incorporación de hierro requiere de la presencia de Ferroquelatasa, una enzima que se localiza en las mitocondrias, y gracias a otra enzima, la Hemosintetasa, el hierro se une a la Protoporfirina y a la proteína Globina, formando así la Hemoglobina.

Se ha demostrado por medio de pruebas histoquímicas que dentro de las secreciones de la glándula de Harder se pueden encontrar:

- A.- Fosfolípidos.
- B.- Hierro.
- C.- Triglicéridos.
- D.- Colesterol y sus ésteres.
- E.- Fosfatasa ácida y alcalina.
- F.- Lipasa.
- G.- Proteínas.
- H.- Glucógeno (43).

FISIOLOGIA.

La glándula de Harder se relaciona fisiológicamente con varios elementos del sistema endócrino y reproductor. Dentro de las funciones específicas para el ojo (funciones exócrinas) de la glándulas de Harder se puede citar que dicha glándula ayuda a la lubricación del párpado por medio de sus secreciones. Y, junto con las glándulas TARSAL, ayuda a prevenir una sobredescarga de lágrimas (24).

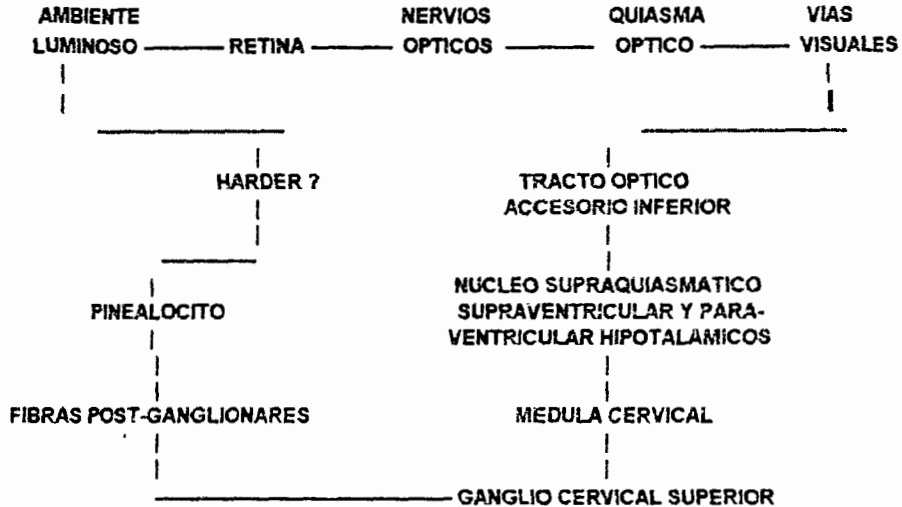
Endocrinamente la glándula de Harder juega un importante papel en la regulación de la producción de Melatonina por la glándula Pineal, por lo cual se relaciona con las enzimas N-acetil-transferasa (NAT) y con la enzima Hidroxi-indol-orto-metil-transferasa (HIOMT) en la producción de N-acetil-serotonina y de Melatonina (43).

La actividad de la HIOMT parece depender de las condiciones lumínicas, en ratas expuestas a la luz se reprime la actividad enzimática, el efecto está mediado por una vía que abarca retina, núcleos supraquiasmático, supraventricular, y paraventricular hipotalámicos, nervios simpáticos, médula cervical superior, glándula Pineal, y de alguna manera glándula de Harder.

Los estudios más importantes sobre la fisiología de la glándula se refieren a los efectos que, en condiciones de iluminación controlada, tiene sobre los mecanismos bioquímicos y funcionales del organismo, así como las relaciones que existen entre la glándula de Harder y la glándula Pineal (24).

En la última década se han acumulado datos fisiológicos y bioquímicos importantes que sugieren que la glándula de Harder actúa como un **Transductor Neuroendócrino** (convirtiendo un estímulo físico en un estímulo de tipo químico), que interviene en la regulación de Melatonina por la glándula Pineal (23,24).

TRACTO NEURAL RETINA-PINEAL-HARDER.



Llama la atención que en condiciones de luz continua se conserva el ciclo de variación de la actividad de la HIOMT (Hidroxi-indol-orto-metil-transferasa) y de los niveles de Serotonina en la glándula Pineal. Estos datos sugieren que la secreción de la glándula de Harder , aumentada por el estímulo lumínico continuo desempeña una función importante como elemento condicionante en la modificación del ciclo de síntesis de Melatonina por la glándula Pineal; por otro lado, en virtud de que la obscuridad continua no produce cambios en el patron de secreción de la glándula de Harder, se piensa que, en estas condiciones, no hay factor que modifique el patron original del ciclo de producción de Melatonina previamente establecido para integrar los hallazgos estructurales de la glándula de Harder con los datos bioquímicos de la glándula Pineal como resultado de las condiciones de iluminación ambiental , se postula que en condiciones de luz continua aumenta la liberación de secreción en la glándula de Harder, lo cual ha demostrado que esta glándula contiene Porphirinas que se liberan por el sistema de conductos excretores de la conjuntiva por absorción; los componentes activos de la secreción llegarían a la circulación sanguínea y actuarían a nivel de la glándula Pineal donde producirían inhibición de la actividad de la enzima HIOMT y posiblemente de la enzima NAT de la Serotonina. Esta activación podría ser directa sobre la glándula Pineal a través del ganglio cervical superior o por intermedio de bloqueo de elementos periféricos productores de Catecolaminas, con disminución de la liberación de éstas hacia la circulación (34).

En el Hamster dorado existe marcado " dimorfismo " sexual en la glándula de Harder; el macho posee 2 tipos diferentes de células, y la hembra un solo tipo.

CELULAS DEL MACHO.

Célula tipo I.- Es una columna simple conteniendo numerosas vacuolas llenas de lípidos.

Célula tipo II.- Es una célula más grande conteniendo grandes vacuolas.

CELULAS DE LA HEMBRA.

Célula tipo I.- Es igual a la tipo I de los machos, una columna simple conteniendo grandes vacuolas llenas de lípidos.

La castración en el Hamster dorado dió como resultado una significativa reducción en el peso de la glándula de Harder, la desaparición de las células tipo II, y la presencia de más granulos de Porfirina; los niveles de Coproporfirina y Protoporfirina se elevaron considerablemente (34).

Las células del macho sin castrar son de 2 tipos o presentan 2 diferentes estadios en el ciclo de secreción de la glándula. Estos 2 tipos celulares tienen una estructura diferente y las células tipo II dependen de los andrógenos para su aparición, estas mismas células de tipo II contienen probablemente un factor inhibitorio que suprime la producción de Porfirina por las células tipo I y por la glándula normal del macho.

Al suprimir la producción de andrógenos mediante la castración, la célula tipo II desaparece y se eleva considerablemente la producción de Porfirinas. Por otro lado, si los tipos I y II de la glándula del Hamster Dorado provienen de una misma célula primaria, entonces los andrógenos inducen la transición de la célula I a la célula II, y la extirpación de estas hormonas, los andrógenos, produce el cese de dicha transición, por lo que las células tipo I desaparecen gradualmente, y en este caso parecería que la habilidad de las células tipo I para cambiar a las tipo II es incompatible con la producción de Porfirina, y solo cuando están presentes las tipo I se produce la Porfirina (34).

Únicamente la Hipofisectomía provoca cambios en el peso de la glándula en un periodo de 3 semanas. Sin embargo, la administración de Tiourea o la remoción quirúrgica de la glándula, así como la Hipofisectomía causaron una considerable disminución en la concentración de Porfirinas; mientras que la ceguera bilateral provocó un aumento en el contenido de dichas Porfirinas; así mismo, después de la Ovariectomía o de la administración de Tiroxina. De ésta manera se observó que el peso de la glándula Harderiana está íntimamente relacionado con la actividad funcional de ésta (21).

La Ovariectomía en ratas hembras adultas también hace que disminuyan los contenidos de Porfirina en comparación con los animales intactos o de control. Los tratamientos de 5 días de duración con Testosterona, Progesterona, o Estradiol a ratas operadas no alteran el contenido o las concentraciones de dichas Porfirinas. La administración de Estradiol/Progesterona aumenta la concentración del pigmento (21).

En la Rata hembra, la luz y la obscuridad continua durante 35 días disminuyen el pigmento de la glándula en comparación con Ratas expuestas a 12 hrs. de obscuridad por 12 hrs. de luz; este efecto ocurre en ausencia de los ojos y de los ovarios, y sugiere que una parte de los efectos de la luz sobre las porfirinas es directa en relación con la producción del pigmento, la Porfirina (15). La Ovariectomía provoca diferentes efectos en la Rata y en el Hamster hembra (39); en una Rata de 40 días de nacida y 8 días después de ovariectomizada, los contenidos de Porfirina son menores que en animales intactos. En el hamster los contenidos de Porfirina siguen sin cambio durante 3 semanas posteriores a la Ovariectomía. La administración de Estradiol no altera los niveles de Porfirina en ambas especies, Rata y Hamster. En los hamsters machos la Testosterona tiene un efecto inhibitorio en la producción de pigmento por la glándula de Harder; en la rata hembra los tratamientos con Testosterona no producen alteración en la producción de Porfirinas. Ni la Ovariectomía ni los tratamientos con Testosterona alteraron el peso de la glándula de las hembras.

Las hormonas Tiroideas son de extrema importancia en el desarrollo y buen funcionamiento del sistema nervioso; ya que, como lo describe Legrand, al provocar Hipotiroidismo artificialmente, se produce toda una serie de " desarreglos " en el citado sistema nervioso (37).

El Hipotiroidismo puede ser inducido de 3 diferentes maneras:

- A.- Por administración cotidiana de PROPILTIOURACILO (PTU) a la madre gestante (37).
- B.- Por Radiotiroidectomía (administración de yodo 125 o 131) (37).
- C.- Por Tiroidectomía o ablación quirúrgica de la glándula Tiroidea (37).

La Tiroides de ratas tratadas con propiltiouracilo (PTU), o sea, los animales hipotiroideos, presentan esta glándula atrófica, en comparación con los sujetos eutiroideos; el epitelio de los folículos es más espeso y el colóide menos abundante. Las células tiroideas de la rata adulta hipotiroidea son de forma angulosa e irregular (37).

Las células de la adenohipofisis de la rata adulta hipotiroidea muestran una importante desgranulación e hipertrofia del aparato de Golgi (14). Las ratas blancas hipotiroideas de 18 días de edad también muestran una marcada diferencia en su peso total en comparación con los sujetos testigo, siendo el peso de los testigos de 22 gr., mientras que el peso de los sujetos hipotiroideos es de apenas 17 gr. (37).

El hipotiroidismo afecta diferentes áreas o zonas del sistema nervioso central, en el Cerebelo por ejemplo, una falla en los niveles de hormonas tiroideas provoca que la migración de las células granulares externas se retrarde hasta después de los 10 días de edad, y la capa granular externa persiste aún a los 28 días en la rata. A los 14 días de edad los perikariones de las células de Purkinje conservan un aspecto inmaduro, los Glomérulos cerebelosos están ausentes y no aparecen hasta los 18/21 días después del nacimiento (14). Así mismo, se retarda también el desarrollo histológico del Cerebelo y aparece una disminución en el número total de sinapsis. La administración de Tiroxina corrige todas esas anomalías histológicas del animal hipotiroideo, un exceso de hormona entraña una ligera aceleración de la maduración (14).

Rebierre y cols. describen un retraso en los procesos de maduración cerebral y cerebelar en la rata hipotiroidea de 21 días de edad, el animal carente de hormonas tiroideas presenta una disminución de aproximadamente 2/3 de la densidad sináptica normal, el número de sinapsis está visiblemente alterado. Además, en el cerebelo de las ratas hipotiroideas se ve aumentada la proliferación de Astrocitos, su densidad está aumentada y la superficie de la capa molecular está ocupada por Gf1a (33).

Cuando se administra Tiroxina a ratas recién nacidas se observa un aumento en la aparición de porfirinas (se acelera la síntesis de éstas); y ocurre lo contrario cuando se administra Cortisol (39).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En base a lo antes descrito, actualmente se plantea el problema de encontrar en que forma se encuentran involucradas las hormonas en la glándula de Harder, y en particular las Tiroideas. La cuestión se centra en dilucidar de que manera se relaciona la glándula Harderiana con las secreciones de la Tiroides bajo hipotiroidismo inducido.

Además, en un futuro, tratar de entender un poco más el complejo proceso que se lleva a cabo en la formación de secreciones de la glándula Pineal, los factores liberadores RH del hipotálamo, la regulación de hormonas de la adenohipófisis, y su relación con la glándula de Harder.

JUSTIFICACION.

JUSTIFICACION.

El estudio morfológico de la glándula de Harder puede contribuir a una mejor comprensión de los complejos procesos de desarrollo filogenético y ontogénico del sistema nervioso de los animales. Así mismo, estos estudios podrán ampliar en conocimiento de los Neurotransductores en los procesos reproductivos y de producción.

El impacto práctico en el estudio de la morfología y la bioquímica de la glándula de Harder no es a corto plazo, ya que se trata de un estudio a nivel experimental por lo pronto, y difícilmente aplicable a la práctica Veterinaria en el campo. En un futuro puede ayudar a entender procesos de reproducción (en las aves ponedoras por ejemplo) y su impacto económico y de producción.

HIPOTESIS.

HIPOTESIS.**HIPOTESIS NULA (H_0).**

En condiciones de hipotiroidismo inducido no existen alteraciones en la morfología de la glándula de Harder.

HIPOTESIS ALTERNATIVA (H_1).

El desarrollo ontogénico de la glándula de Harder está determinado por varios factores, entre los cuales juegan un importante papel las hormonas, en particular las hormonas tiroideas, por lo que en condiciones de hipotiroidismo inducido es de esperar que se encuentren alteraciones en la morfología de la glándula.

OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar y comprobar los cambios morfológicos de la glándula de Harder en ratas hipotiroideas y correlacionar los datos obtenidos con ratas eutiroideas.

OBJETIVOS PARTICULARES.**1.- DETERMINAR LA SOMATOMETRIA.**

- 1.1.- Peso completo del animal.
- 1.2.- Medida completa del animal.
- 1.3.- Peso de la glándula de Harder con el globo ocular.
- 1.4.- Peso de la glándula de Harder.
- 1.5.- Medida de la glándula de Harder.

2.- ANALIZAR Y DESCRIBIR LA HISTOLOGIA DE LA GLANDULA.

- 2.1.- Análisis gráfico de fotografías.
- 2.2.- Descripción morfológica de las estructuras

MATERIAL Y METODO.

MATERIAL Y METODO.

Se utilizaron ratas adultas de la cepa de sexo femenino de la cepa WISTAR, controlandose la fecha de preñez con citología vaginal y estableciendo el día primero de gestación cuando resulte positivo el hallazgo de espermatozoides. Todos los animales se encontraron en condiciones óptimas de Bioterio, esto es, periodo controlado de luz/obscuridad de 12 por 12 hrs., temperatura controlada, alimentación con Nutri-cubos Chow Purina y agua bi-distilada Ad-libitum.

Se formaron 3 grupos de 5 ratas cada uno, tomándose como grupo control uno de ellos. los otros 2 grupos de ratas gestantes fueron sometidos a una infusión de Propiltiouracilo (PTU) directamente dentro del estomago por vía sonda oral de 50 mg./kg. de peso vivo por día para provocarles hipotiroidismo de acuerdo a la siguiente tabla.

GRUPO I.

Testigo (sol. buffer fosfatos). 5 ratas cargadas.

GRUPO II.

PTU de los 16 días de gestación hasta el nacimiento. 5 ratas cargadas.

GRUPO III.

PTU de los 18 días de gestación hasta el nacimiento. 5 ratas cargadas.

NOTA: Aplicar PTU a los 16 y 18 días de gestación se debe a que en la rata esas 2 fechas son de extrema importancia en el proceso de génesis cerebral.

PROPILTIOURACILO.

El Propiltiouracilo (PTU) se encuentra clasificado dentro de los inhibidores de la síntesis de Tiroxina. Las drogas de ésta categoría no impiden la captación de yodo, pero bloquean la formación de aminoácidos yodados. (18).

El estudio histológico se realizó en las glándulas Harderianas de los productos.

Los productos de las ratas fueron perfundidos por vía intracardiaca a los 0, 15, 30, y 60 días de desarrollo post-natal, utilizando una N (número) de 5 animales por cada fecha. Previa anestesia con inhalación de Cloroformo, se realizó la toracotomía, el abordaje cardiaco, la introducción de un cateter al ventrículo izquierdo y un corte a nivel de la aurícula derecha para dejar pasar las soluciones A y B.

SOLUCION A.

Solución Buffer de fosfatos al 0.1 M,
Heparina . 1000 U.I. /1000 ml. de solución.
El pH será de 7.3 - 7.4.

SOLUCION B.

Solución Buffer de fosfatos al 0.1 M.
Formaldehido al 4 %.
El pH será de 7.3 - 7.4.

El método de perfusión utilizado fué el de Feria-Velazco y Karnovsky, con una presión de 1.4 mts.; la solución A fué infundida por espacio de 2-4 min., la soluc. B por espacio de 10-15 min. (17). Después de ésto se realizó la extracción del globo ocular junto con la glándula de Harder y se sometió al siguiente proceso:

- 1.- Postfijación en solución B por espacio de 1.30 hrs.
- 2.- Pesado de la glándula de Harder con el globo ocular.
- 3.- Pesado de la glándula sola.
- 4.- Medida de la glándula.
- 5.- Postfijación en Tetraóxido de Osmio a una concentración de 1 N. por espacio de 90 min.
- 6.- Lavado de las muestras con solución lavadora por espacio de 90 min.
- 7.- En el proceso de deshidratación se utilizo Etanol en concentraciones crecientes (70, 80, 90 %, cada uno por 10 min., y absoluto 2 tiempos de 20 min. cada uno).
- 8.- Oxido de Propileno, 2 tiempos de 10 min. cada uno.
- 9.- Oxido de Propileno + resina Poly-bed a una concentración de 1:1 durante toda una noche.
- 10.- Inclusión (al día siguiente) en resina polybed.
- 11.- Los bloques permanecieron en la estufa a 60 grados centígrados por espacio de 24 hrs.

Posteriormente se hicieron cortes semi-finos de los bloques y se contrastaron con Azul de Toluidina; las fases obtenidas se analizaron y se fotografiaron con un microscopio " Reichert " (Microstar IV) con sistema de microfotografía.

Los resultados se analizaron estadísticamente por métodos inferenciales , semi-paramétricos (U de Man Witney) y paramétricos (T de Student).

RESULTADOS.

RESULTADOS.

PESO CORPORAL TOTAL

Los sujetos del grupo testigo sacrificados a los 0 días de edad presentaron un peso corporal de 4.86 (+ 0.196) gr., en comparación con los del grupo experimental de 16 d. de PTU que pesaron un 32.09 % menos, o sea, 3.3 (+ 0.189) gr; los animales del grupo experimental de 18 d. pesaron un 17.8 % menos que los del grupo testigo, esto traducido a gramos nos da un dato de 4.02 (+ 0.431) gr.

A los 15 días de edad los animales del grupo testigo pesaron 26.7 (+ 3.97) gr.. Los sujetos del grupo experimental de 16 d. mostraron un decremento del 13.85 % en el peso corporal total, las ratas pesaron 24.61 (+ 3.457) gr.; a diferencia de los animales del grupo experimental de 18 d. en los que el porcentaje de decremento fué de 15.13 %, estos animales pesaron 24.57 (+ 2.9) gr..

A los 30 días de edad los animales sacrificados del grupo experimental de 16 d. presentaron un peso corporal de 77.36 (+ 5.052) gr., representando un 10.83 % más que el peso de los testigos sacrificados a la misma edad, el peso de los testigos fue de 69.8 (+ 3.326) gr. Ahora, los sujetos del grupo experimental de 18 d. de PTU incrementaron su peso en un 12.03 % (+ 4.802) gr. en comparación con los testigos de la misma edad.

A los 60 días de nacidos los sujetos del grupo experimental de 16 d. pesaron 204.6 (+ 26.535) gr., o sea, 7.40 % más que los testigos de su misma edad; dichos testigos pesaron 190.5 (+ 16.628) gr. Sin embargo, los animales del grupo experimental de 18 d. pesaron 160.4 (+ 15.711) gr., lo que representa un decremento en su peso de un 15.80 % en comparación con los animales del grupo testigo.

TALLA TOTAL

Los sujetos testigos a los 0 días de edad midieron 5.44 (+ 0.233) cm., a diferencia de los del grupo experimental de 16 d. que presentaron un decremento de 39.33 %, 3.3 (+ 0.590) cm. en la talla total frente al grupo testigo. Los animales del grupo experimental de 18 d. sacrificados también a los 0 días de edad, presentaron decremento en la talla total, siendo éste de 21.69 %, 4.26 (+ 0.602) cm. comparados con los testigos.

En los animales de 15 días de edad, los del grupo experimental de 16 d. midieron 13.5 (+ 1.154) cm., esto representa un 5.03 % menos en la talla total que los animales del grupo testigo, los cuales presentaron una talla de 13.9 (+ 0.65) cm.. Los sujetos del grupo experimental de 18 d. presentaron un decremento en su talla del orden de 5.325, esto es, midieron 13.58 (+ 0.91) cm.

A los 30 días de edad no hubo variación alguna en la talla de los 3 grupos, siendo que el grupo testigo midió 24.19 (+ 0.663) cm., el grupo experimental de 16 d. midió también 24.1 (+ 0.970) cm., y el grupo experimental de 18 d. igualmente midió 24.1 (+ 0.374) cm.; todo esto representa un 0 % de variación entre los 3 grupos.

Sin embargo, a los 60 días de edad si se encontraron variaciones; el grupo testigo presentó 36.8 (+ 0.4) cm. en su talla total, mientras que el grupo experimental de 16 d. solo varió un 4.34 % hacia abajo, siendo su talla de 35.2 (+ 2.135) cm.; ahora, el grupo experimental de 18 d. de PTU si presentó una variación más considerable en la talla, siendo ésta de 32.9 (+ 0.374) cm., o sea, un 10.59 % menos que el testigo.

PESO DE LA GLANDULA DE HARDER CON GLOBO OCULAR.

El peso de la glándula de Harder con el globo ocular en los animales del grupo de 0 días de edad fué de 0.0415 (+ 0.013) gr., esto en comparación con los animales del grupo experimental de 16 d. que pesaron un 49.63 % menos, o sea, 0.0209 (+ 0.003) gr.; y los del grupo experimental de 18 d. que presentaron una diferencia de un 35.18 % menos que los testigos de su misma edad, o sea, 0.0269 (+ 0.009) gr.

En las ratas del grupo testigo de 15 días de edad el peso de la glándula de Harder con globo ocular fué de 0.186 (+ 0.021) gr. Los animales del grupo experimental de 16 d. mostraron un peso de 0.2169 (+ 0.031) gr., esto representa un incremento en el peso de un 12.25 % frente a los testigos. Los sujetos del grupo experimental de 18 d. pesaron un 20.53 % menos que los del grupo testigo, los de 18 d. pesaron 0.154 (+ 0.012) gr.

A los 30 días de edad, los sujetos del grupo experimental de 16 d. mostraron un incremento del 3.11 %, 0.5430 (+ 0.062) gr. al compararlos con los testigos que pesaron 0.5266 (+ 0.054) gr.; y los del grupo experimental de 18 d. resultaron con un decremento del 27.42 %, pesaron 0.3822 (+ 0.01) gr., al contraponerlos con los animales del grupo testigo, que a su vez pesaron 0.5266 (+ 0.054) gr.

A los 60 días de edad el grupo experimental de 16 d. mostró una alza en el peso de la glándula de Harder junto con el globo ocular de 1.24 %, pesó 0.8130 (+ 0.128) gr. en relación con los animales testigo de su misma edad, los que pesaron 0.8030 (+ 0.024) gr.. En el grupo experimental de 18 d. siguió mostrándose un decremento o una baja en el peso igual que a los 30 días, solo que a los 60 días éste decremento fué de 25.13 %, pesaron 0.60129 (+ 0.037) gr.; aproximadamente un 2% menos que a los 30 días. Este porcentaje se compara frente a los sujetos del grupo testigo que pesaron 0.8030 (+ 0.024) gr..

PESO DE LA GLANDULA DE HARDER.

El peso de la glándula de Harder de los animales testigo a los 0 días de nacidos fué de 0.0125 (+ 0.005) gr., mientras que la glándula de Harder de los sujetos del grupo experimental de 16 d. pesó 0.0029 (+ 0.0007) gr., un 76.8 % menos que el peso de los testigos. Este decremento en el peso de la glándula se observa también en el grupo experimental de 18 d., en el cuál el porcentaje menor en el peso fué del rango de 72.8 %, 0.0034 (+ 0.002) gr. con respecto al testigo.

A los 15 días de edad, los animales del grupo testigo pesaron 0.037 (+ 0.010) gr., los animales del grupo experimental de 16 d. pesaron 0.022 (+ 5.765) gr., lo que representa un 44.08 % menos que el peso de sus glándulas frente a los testigos. Los animales del grupo experimental de 18 d. variaron en su peso frente a los testigos y frente a los del grupo de 16 d., los del grupo de 18 d. pesaron 0.035 (+ 4.70) gr., lo cuál representa un porcentaje menor de 11.29 % con respecto a los testigos.

A los 30 días de edad en cambio, los porcentajes variaron frente a los testigos, en los del grupo de 16 d., la glándula pesó 0.1527 (+ 0.019), un 19.20 % menos que el grupo testigo, y el grupo experimental de 18 d. presentó un peso de 0.1496 (+ 0.012), un 20.84 % menos que los testigos; que pesaron 0.1820 gr.

A los 60 días las diferencias entre los 2 grupos experimentales frente al grupo testigo se hicieron más palpables, la diferencia en el grupo experimental de 16 d. fué de solo 4.62 %, este dato traducido a gramos representa la cantidad de 0.3178 (+ 0.051) gr.; fue de 4.62 % menos que el peso de los testigos, que a su vez fué (el de los testigos) de 0.3332 (+ 0.027) gr.. Mientras que los animales del grupo experimental de 18 d. presentaron un porcentaje menor en el peso de un 20.84 % frente a los testigos, a los 60 días de nacidos muestran un a mayor disminución en el peso de sus glándulas, siendo éste de .02414 (+ 0.015) gr., 27.55 % menos que los testigos.

MEDIDA DE LA GLANDULA DE HARDER.

La medida de la glándula de Harder en los animales del grupo testigo de 0 días de edad fué de 0.23 (+ 0.04) cm. en comparación con los del grupo experimental de 16 d. en los que la glándula midió 0.224 (+ 0.045) cm., o sea, un 2.60 % menos que las glándulas de los animales testigos. sin embargo, en el grupo experimental de 18 d. se presentó un incremento en la medida de éstas glándulas, siendo este de 0.268 (+ 0.036) cm., un 16.52 % más que los testigos.

En los animales testigos de 15 días de nacidos la medida de la glándula de Harder fué de 0.43 (+ 0.067) cm., los animales del grupo experimental de 16 d. mostraron un incremento del 30.23 % en la medida de sus glándulas en comparación con los testigos, siendo la medida de los de 16 d. de 0.56 (+ 0.105) cm.. Los sujetos del grupo experimental de 18 d. midieron 0.494 (+ 0.044) cm., lo que representa un incremento del 14.88 % en la longitud de sus glándulas en relación con los animales testigos.

A los 30 días de edad las glándulas de los sujetos testigo midieron 1.12 (+ 0.075) cm., en comparación con las de los sujetos del grupo experimental de 16 d. en los que las glándulas Harderianas midieron 0.71 (+ 0.06) cm.; lo que representa un 36.60 % menos que la medida de los sujetos testigos. Ahora, los sujetos del grupo experimental de 18 d. midieron 0.7 (+ 0.032) cm., lo cuál demuestra un decremento de un 37.5 % en la medida de la glándula en relación con el grupo testigo.

A los 60 días de edad los animales del grupo experimental de 16 d. midieron 1.38 (+ 0.112) cm. en sus glándulas, un 2.81 % menos que los sujetos del grupo testigo, en los cuáles las glándulas Harderianas midieron 1.42 (+ 0.051) cm.. los animales del grupo experimental de 18 d. presentaron una medida de 1.44 (+ 0.034) cm. en sus glándulas, lo que representa una variación hacia arriba o un incremento de 1.40 % en la medida de sus glándulas.

ANALISIS ESTADISTICO

ANALISIS ESTADISTICO:

En base a los resultados emanados de la prueba estadística que se llevo a cabo (T de student) se puede reportar lo siguiente:

0 DIAS DE NACIDOS.

Grupo testigo / Gpo. exp. 16 d. PTU.

Estos 2 grupos no fueron significativamente diferentes, con una $P = < 0.20$

Grupo testigo / Gpo. exp. 18 d. PTU.

No hubo diferencia significativa. $P = < 0.20$

15 DIAS DE NACIDOS.

Grupo testigo / Gpo. exp. 16 d. PTU.

En este grupo si existio una diferencia sigficativa; con una $P = < 0.10$

Grupo testigo / Gpo. exp. 18 d. PTU.

En este grupo si hubo diferencia significativa. $P = < 0.10$

30 DIAS DE NACIDOS.

Grupo testigo / Gpo. exp. 16 d. PTU.

Estos no tuvieron una diferencia significativa. $P = < 0.20$

Grupo testigo / Gpo. exp. 18 d. PTU.

No hubo diferencia significativa. La $P = < 0.20$

60 DIAS DE NACIDOS.

Grupo testigo / Gpo. exp. 16 d. PTU.

No tuvieron diferencia significativa. $P = < 0.20$

Grupo testigo / Gpo. exp. 18 d. PTU.

En estos si se observo diferencia significativa, con una $P = < 0.10$

En relacion al peso de la glándula y su correlacion con el peso total de la rata se obtuvieron los siguientes resultados.

0 DIAS DE NACIDOS.

Grupo testigo / Gpo. exp. 16 d. PTU.

Si se observo diferencia significativa. $P = > 0.02$

Grupo testigo / Gpo. exp. 18 d. PTU.

Si hubo diferencia significativa. $P = < 0.20$

15 DIAS DE NACIDOS.

Grupo testigo / Gpo. exp. 16 d. PTU.

En esta prueba si se observo diferencia significativa. $P = > 0.10$

Grupo testigo / Gpo. exp. 18 d. PTU.

En esta prueba no se observo una diferencia significativa. $P = 0.20$

30 DIAS DE NACIDOS.

Grupo testigo / Gpo. exp. 18 d. PTU.

No hubo diferencia significativa. $P = < 0.20$

Grupo testigo / Gpo. 18 d. PTU.

No hubo diferencia significativa. $P = < 0.20$

60 DIAS DE NACIDOS

Grupo testigo / Gpo. exp. 16 d. PTU.

En este grupo si se pudo observar diferencia significativa. $P = > 0.10$

Grupo testigo / Gpo. exp. 18 d. PTU.

En este grupo no hubo diferencia significativa. $P = > 0.05$.

MICROFOTOGRAFIAS.

FIGURA 1.

Fotomicrografía de la glándula de Harder de rata normal (grupo testigo) a los 0 días de edad, donde se aprecia.

- 1.- Acino glandular.
- 2.- Espacio interacinar.
- 3.- Capilar.
- 4.- Tejido conectivo.
- 5.- Vesículas oscuras.

Material incluido en resinas Polybed y teñido con Azul de Toluidina .
Ampliación 500 X.

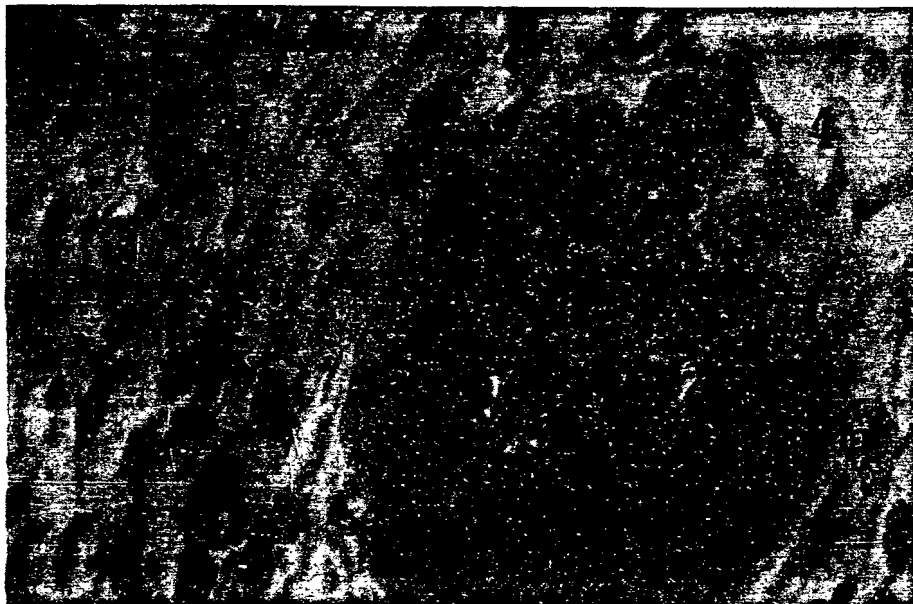


FIGURA 2.

Fotomicrografía de glándula de Harder de rata normal (grupo testigo) a los 15 días de edad, donde se aprecia:

- 1.- Luz acinar.
- 2.- Espacio interacinar.
- 3.- Tejido conectivo.
- 4.- Célula acinar.
- 5.- Arteria.
- 6.- Vena.

Material incluido en resinas Polydeb y teñido con Azul de Toluidina .
Ampliación 250 X.



FIGURA 3.

Fotomicrografía de glándula de Harder de rata normal (grupo testigo) a los 30 días de edad, donde se aprecia:

- 1.- Acino glandular.
- 2.- Espacio interacinar.
- 3.- Capilar.
- 4.- Luz acinar.
- 5.- Vesículas claras.
- 6.- Pigmento.

Material incluido en resinas polybed y teñido con Azul de Toluidina.
Ampliación 500 X.

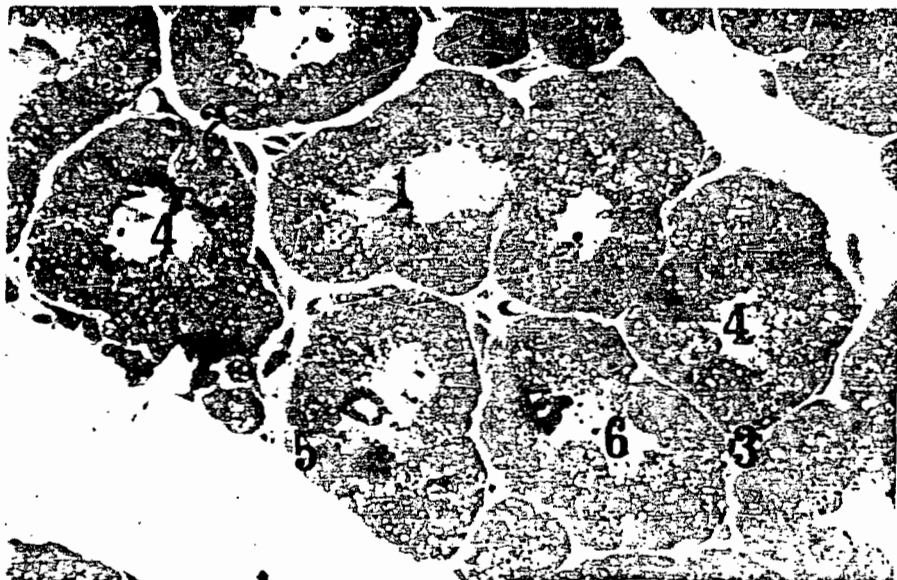


FIGURA 4.

Fotomicrografía de glándula de Harder de rata normal (grupo testigo) a los 60 días de edad, donde se aprecia;

- 1.- Espacio interacinar
- 2.- Pigmento.
- 3.- Acino glandular.
- 4.- Luz acinar.
- 5.- Capilar.
- 6.- Núcleos.

Materia! incluido en resinas Polybed y teñido con Azul de Toluidina.
Ampliación 250 X.

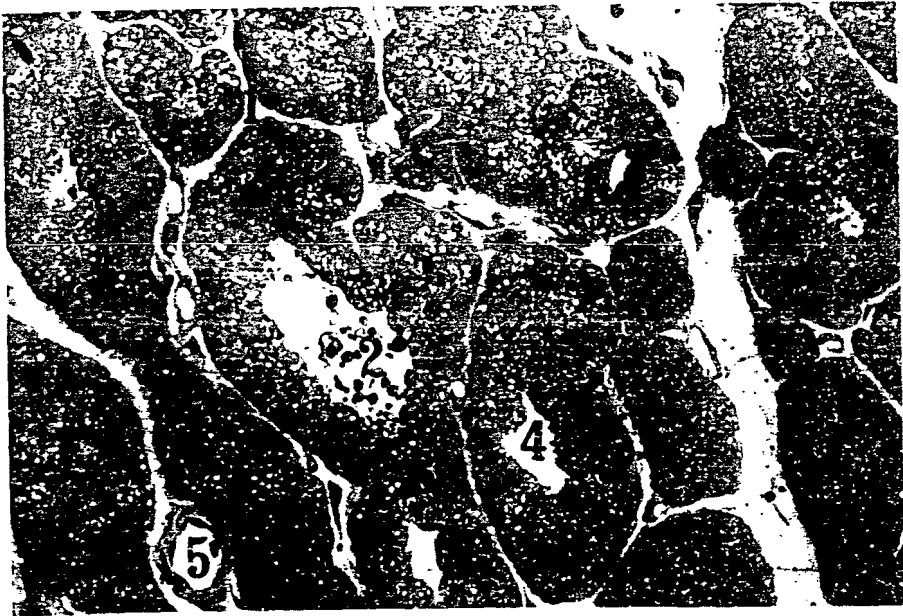


FIGURA 5.

Fotomicrografía de glándula de Harder de rata hipotiroidea del grupo experimental de 16 d. de PTU, a los 0 días de edad, en donde se aprecia:

- 1.- Tejido conectivo.
- 2.- Núcleos.
- 3.- Acino glandular.
- 4.- Capilar.
- 5 - Célula acinar.

Material incluido en resinas Polybed y teñido con Azul de Toluidina.
Ampliación 500X.

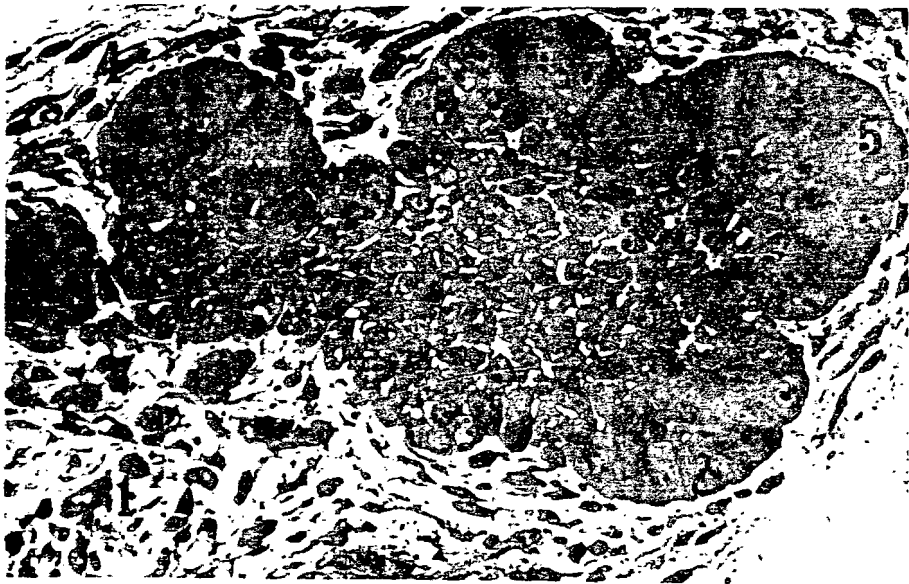


FIGURA 6.

Fotomicrografía de glándula de Harder de rata hipotiroides del grupo experimental de 16 d. de PTU a los 15 días de edad, donde se aprecia:

- 1.- Acino glandular.
- 2.- Espacio interacinar.
- 3.- Capilar.
- 4.- Núcleos.
- 5.- Pigmento.
- 6.- Tejido conectivo.

Material incluido en resinas Polybed y teñido con Azul de Toluidina.
Ampliación 500X.



FIGURA 7.

Fotomicrografía de glándula de Harder de rata hipotiroidea del grupo experimental de 16 d. de PTU a los 30 días de edad, donde se aprecia:

- 1.- Luz acinar.
- 2.- Vesículas claras.
- 3.- Vesículas oscuras.
- 4.- Espacio interacinar.
- 5.- Tejido conectivo.
- 6.- Núcleos.
- 7.- Capilar.

Material incluido en resinas Polyped y teñido con Azul de Toluidina.
Ampliación 250X.

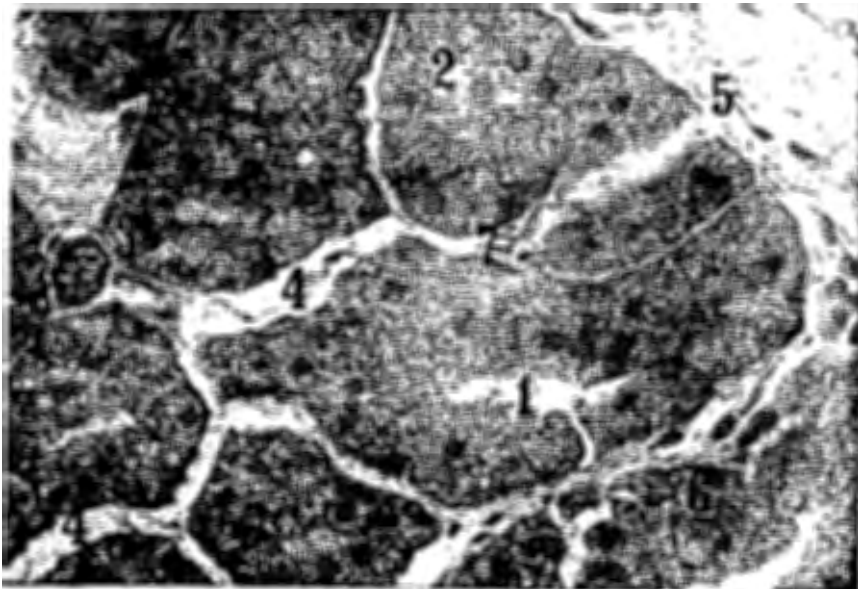


FIGURA 8.

Fotomicrografía de glándula de Harder de rata hipotiroidica del grupo experimental de 16 d. de PTU a los 60 días de nacida. en donde se aprecia:

- 1.- Material de secreción.
- 2.- Acino glandular.
- 3.- Vesículas claras.
- 4.- Vesículas oscuras.
- 5.- Espacio interacinar.
- 6.- Tejido conectivo.
- 7.- Capilar.
- 8.- Luz acinar.

Material incluido en resinas Polybed y teñido con Azul de Toluidina.
Ampliación 250X.



FIGURA 9.

Fotomicrografía de glándula de Harder de rata hipotiroidea del grupo experimental de 18 d. de PTU a los 0 días de nacida, donde se aprecia:

- 1.- Acino glandular.
- 2.- Núcleos.
- 3.- Tejido conectivo.
- 4.- Capilar.

Material incluido en resinas Polybed y teñido en Azul de Toluidina.
Ampliación 250X.

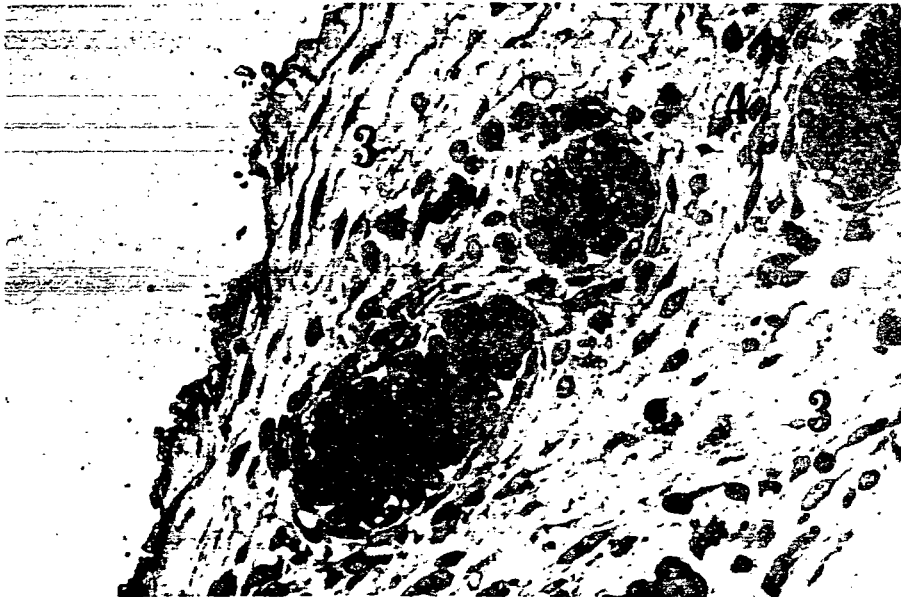


FIGURA 10.

Fotomicrografía de glándula de Harder de rata hipotiroidea del grupo experimental de 18 d. de PTU a los 15 días de nacida, donde se aprecia:

- 1.- Capilar.
- 2.- Acino glandular.
- 3.- Espacio interacinar.
- 4.- Célula acinar.
- 5.- Vesículas claras.
- 6.- Material de secreción.
- 7.- Luz acinar.

Material incluido en resinas Polybed y teñido con Azul de Toluidina
Ampliación 500X.

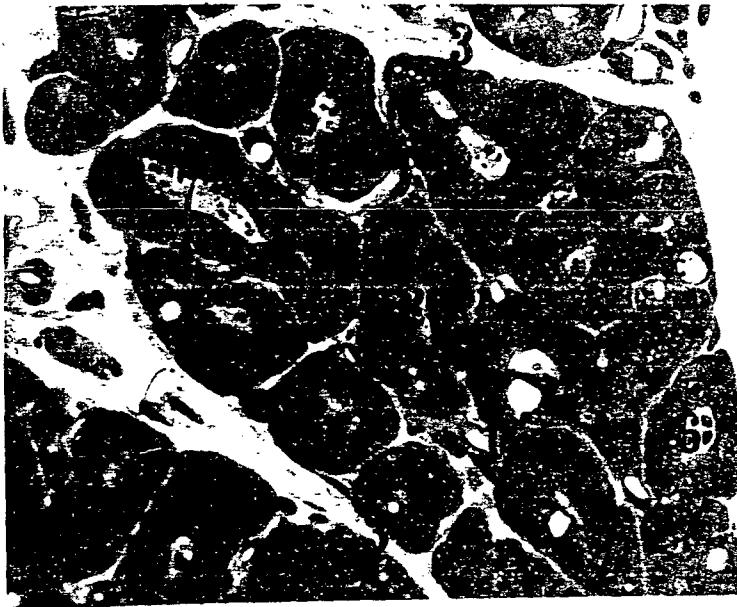


FIGURA 11.

Fotomicrografía de glándula de Harder de rata hipotiroidea del grupo experimental de 18 d. de PTU a los 30 días de edad, donde se aprecia:

- 1.- Tejido conectivo.
- 2.- Acino glandular.
- 3.- Núcleos.
- 4.- Espacio interacinar.
- 5.- Luz acinar.
- 6.- Capilar.
- 7.- Vesículas claras.

Material incluido en resinas Polybed y teñido con Azul de Toluidina.
Ampliación 250X.

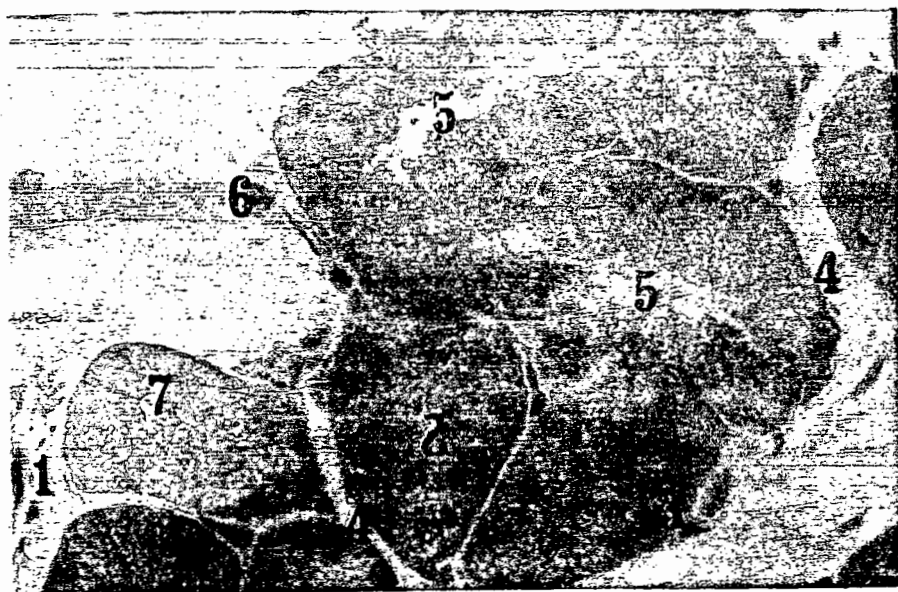
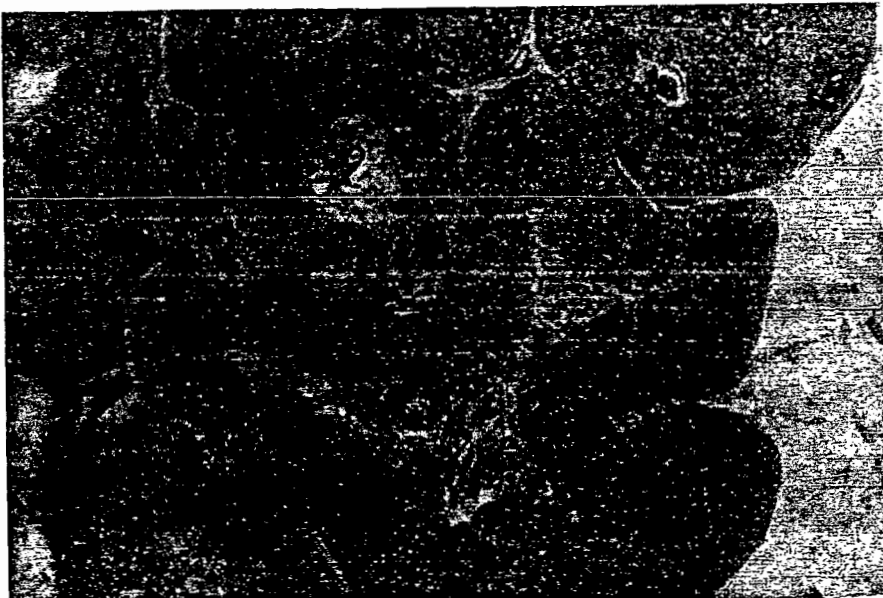


FIGURA 12.

Fotomicrografía de glándula de Harder de rata hipotiroidea del grupo experimental de 18 d. de PTU a los 60 días de eda. donde se aprecia.

- 1.- Material de secreción.
- 2.- Luz acinar.
- 3.- Vesículas oscuras.
- 4.- Vesículas claras.
- 5.- Espacio interacinar.
- 6.- Capilar.
- 7.- Núcleos.

Materia: incluido en resinas Polybed y teñido con Azul de Toluidina.
Ampliación 250X.



PESO TOTAL DE LAS RATAS (en gr.)

	0 D. NAC.	15 D. NAC.	30 D. NAC.	60 D. NAC.
GRUPO TESTIGO	4.88	26.7	69.8	190.5
GRUPO EXP. 16 D. DE PTU.	3.3	24.61	77.36	204.6
GRUPO EXP. 18 D. DE PTU	4.02	24.57	79	160.4

TALLA TOTAL DE LAS RATAS (en cm.)

	0 D. NAC.	15 D. NAC.	30 D. NAC.	60 D. NAC.
GRUPO TESTIGO.	5.44	13.9	24	36.8
GRUPO EXP. 16 D. DE PTU.	3.3	13.5	24	35.2
GRUPO EXP. 18 D. DE PTU.	4.26	13.58	24	32.9

PESO DE LA GLANDULA DE HARDER CON GLOBO OCULAR (en gr.)

	0 D. NAC.	15 D. NAC.	30 D. NAC.	60 D. NAC.
GRUPO TESTIGO	0.04	0.19	0.53	0.8
GRUPO EXP. 16 D. PTU.	0.02	0.2	0.54	0.81
GRUPO EXP. 18 D. PTU	0.03	0.15	0.39	0.6

PESO DE LA GLANDULA DE HARDER (en gr).

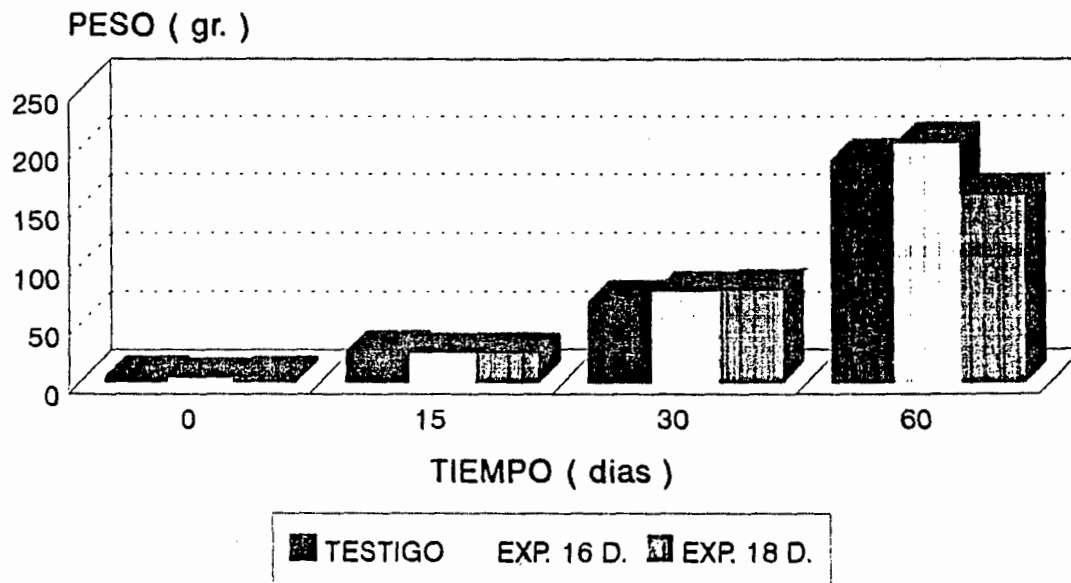
	O D. NAC.	15 D. NAC.	30 D. NAC.	60 D. NAC.
GRUPO TESTIGO	0.01	0.04	0.18	0.33
GRUPO EXP. 16 D. PTU.		0.02	0.15	0.31
GRUPO EXP. 18 D. PTU.		0.04	0.15	0.24

MEDIDA DE LA GLANDULA DE HARDER (en cm.)

	O D. NAC.	15 D. NAC.	30 D. NAC.	60 D. NAC.
GRUPO TESTIGO.	0.23	0.43	1.12	1.42
GRUPO EXP. 16 D. PTU.	0.22	0.56	0.71	1.38
GRUPO EXP. 18 D. PTU.	0.26	0.49	0.7	1.44

ESTUDIO MORFOLOGICO DE LA GLANDULA DE HARDER

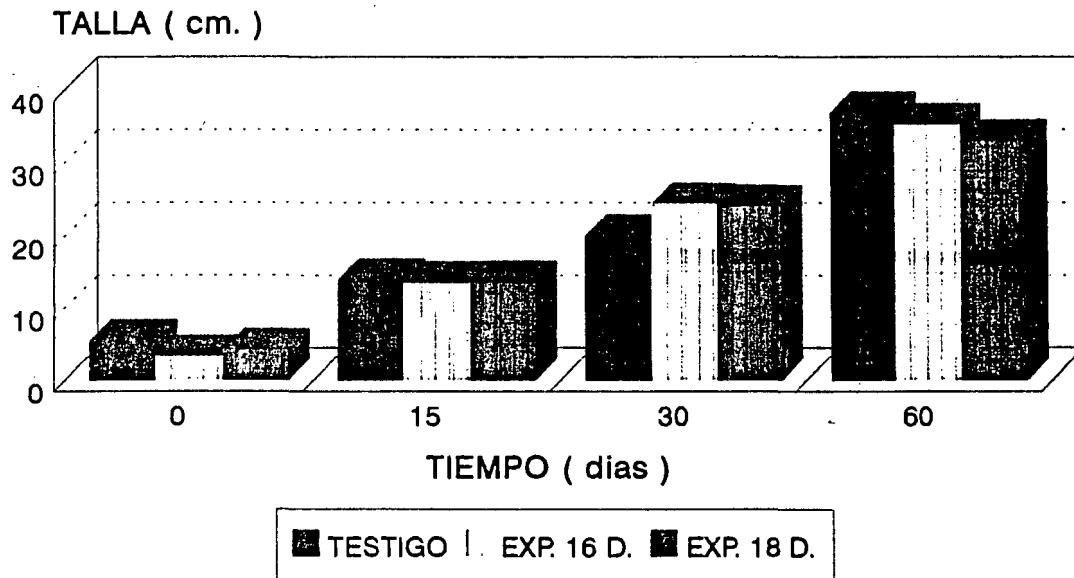
PESO DE LAS RATAS



GRAFICA I

ESTUDIO MORFOLOGICO DE LA GLANDULA DE HARDER

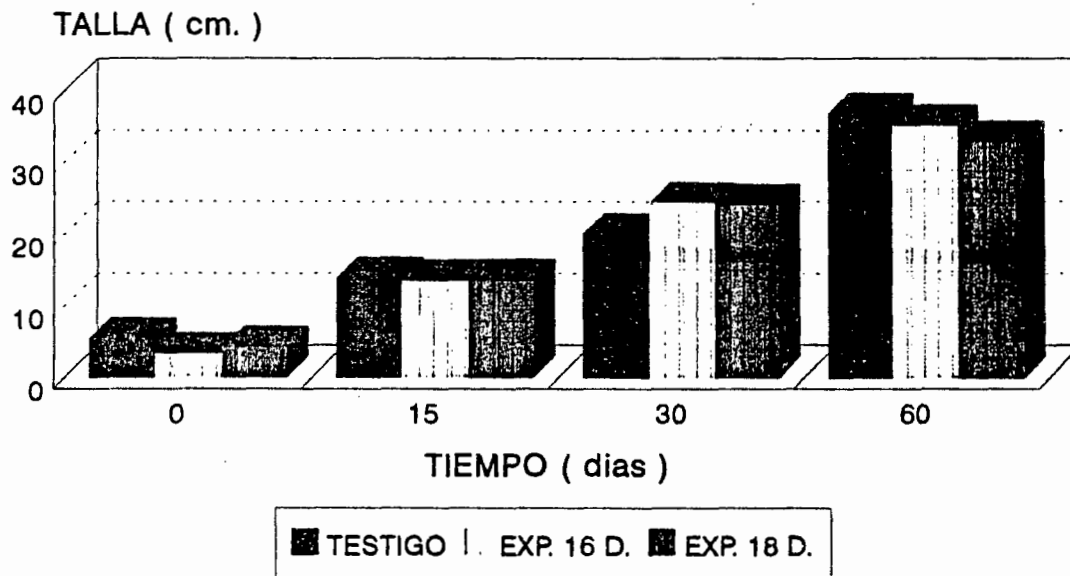
TALLA DE LAS RATAS



GRAFICA II

ESTUDIO MORFOLOGICO DE LA GLANDULA DE HARDER

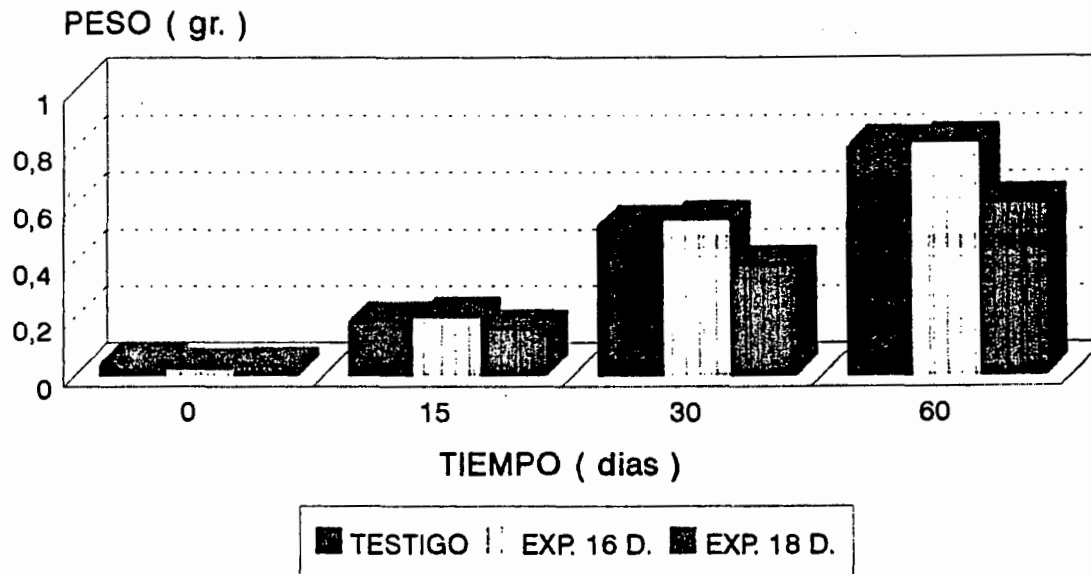
TALLA DE LAS RATAS



GRAFICA II

ESTUDIO MORFOLOGICO DE LA GLANDULA DE HARDER

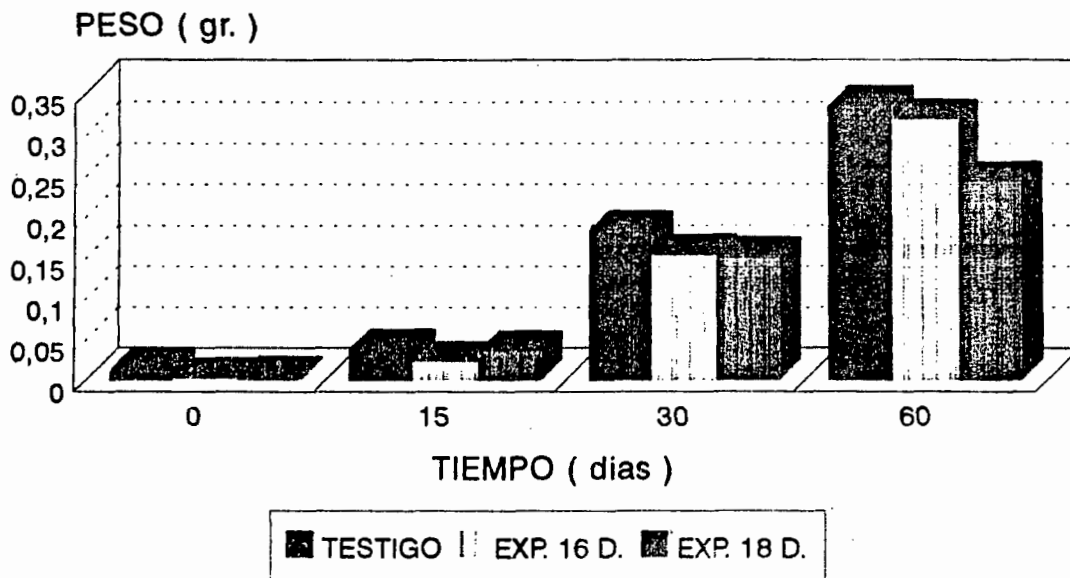
PESO DE LA GLANDULA DE HARDER CON GLOBO OCULAR



GRAFICA III

ESTUDIO MORFOLOGICO DE LA GLANDULA DE HARDER

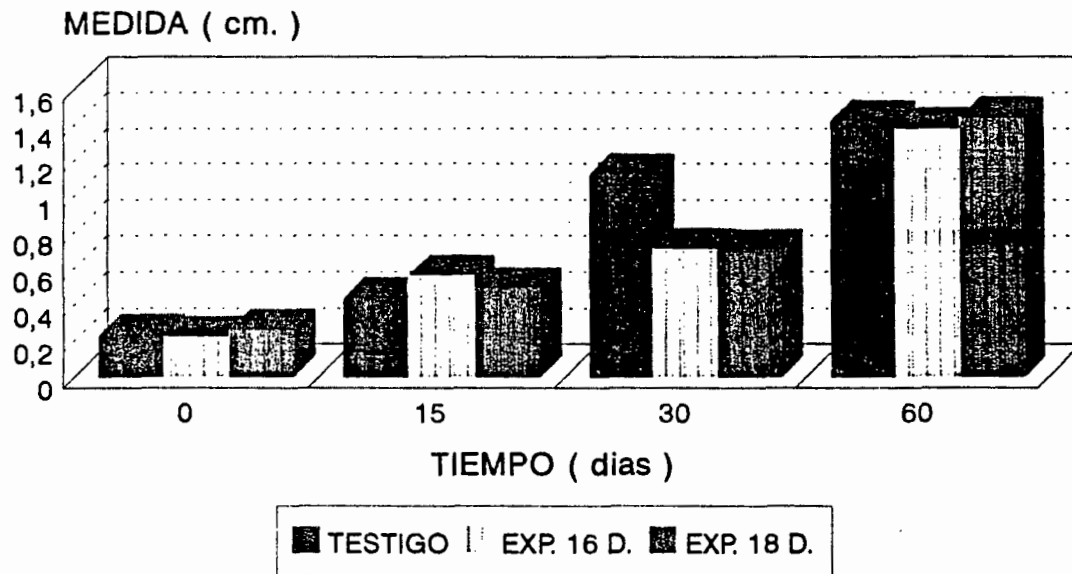
PESO DE LA GLANDULA DE HARDER



GRAFICA IV

ESTUDIO MORFOLOGICO DE LA GLANDULA DE HARDER

MEDIDA DE LA GLANDULA DE HARDER



GRAFICA V

DESCRIPCION HISTOLOGICA.

Los hallazgos histológicos también mostraron diferencias entre las ratas hipotiroideas y las eutiroideas, a los 0 días de edad, en los animales del grupo testigo (fig. 1) se encuentra abundante tejido conectivo, gran cantidad de agregados celulares diseminados entre este tejido conectivo, estos agregados constituyen la futura glándula de Harder, presentan la estructura citológica de una glándula en diferenciación y en desarrollo, no se observan patrones típicos acinares (de glándula tubulo-alveolar), sino masas compactas de células, y entre éstas, múltiples mitosis. Ahora, es difícil establecer (bajo esta tinción y metodología) diferencias entre tipos de células, claras y oscuras, aunque las fibras musculares, el tejido graso y el tejido conectivo si se pueden definir. En las células de éstos agregados compactos aparecería un patron de proliferación pues forman estratos, y en conjunto da la impresión de que se trata de un epitelio estratificado. Del centro a la periferia las células se observan en distintos grados de desarrollo, y al parecer las periféricas son las más desarrolladas. Por otra parte, estas células no presentan una forma definida, pero su citoplasma es claro (en algunas es más oscuro, pero esto no indica que sean células oscuras), este citoplasma es finamente granular, su núcleo es grande y en él se observa frecuentemente el nucleolo central. Las mitosis que se observan se encuentran en uno o dos estratos celulares.. se presentan de la periferia al centro (fig. 1).

En el grupo experimental de 16 d. de PTU, a los 0 días de nacidos (fig. 5) los agregados celulares se notan más espaciados, parecen tener mayor número de células, pero lo que sucede es que estas son más pequeñas y el grado de mitosis observado en éstos agregados es de 2 a 3 veces más que en los animales del grupo testigo de la misma edad (fig. 1). Por otra parte, las células se ven menos diferenciadas, su arreglo no presenta estratos, la célula es polimórfica y su citoplasma (claro u oscuro) es menos abundante que en los sujetos testigos normales. El núcleo de muchas de las células de éste grupo, y a esta edad, no guarda la típica relación 2:1, por otra parte es frecuente encontrar 2 o más nucleólos.

En el grupo experimental de 18 d. de PTU, y a los 0 días de nacidos (fig. 9), la estructura de la glándula se asemeja mucho a la estructura de la glándula de los animales del grupo de 16 d. de PTU, pero en éste caso los agregados celulares son más pequeños.

A los 15 días de edad el patron citológico de la glándula de Harder ya se establece, hay ausencia de mitosis, las células están en etapa de desarrollo: en el grupo experimental de 15 días de edad (fig. 2), el patron tubulo-alveolar ya se manifiesta y podemos observar ya las típicas estructuras acinares con epitelio cúbico simple y con el núcleo basal en el cuál es fácil observar la presencia del nucleólo. El citoplasma denota la presencia de vacuolas, las cuáles confluyen hasta formar grandes vacuolas de material denso que posteriormente se vierten hacia la luz acinar. En ésta fecha es fácil diferenciar la célula clara de la célula oscura.

En los 2 grupos experimentales de 16 y 18 d. de PTU (figs. 6 y 10) a los mismos 15 días de edad, se observa un retraso en la aparición de las estructuras celulares, las células existen, pero se ven de menos tamaño que las del grupo testigo de la misma edad; coinciden insulas de agregados y estructuras tubulo-alveolares ya formadas como en los sujetos testigos a la misma fecha (fig. 2), ya se observan diferencias entre células claras y células oscuras, y patron de exocitosis definido.

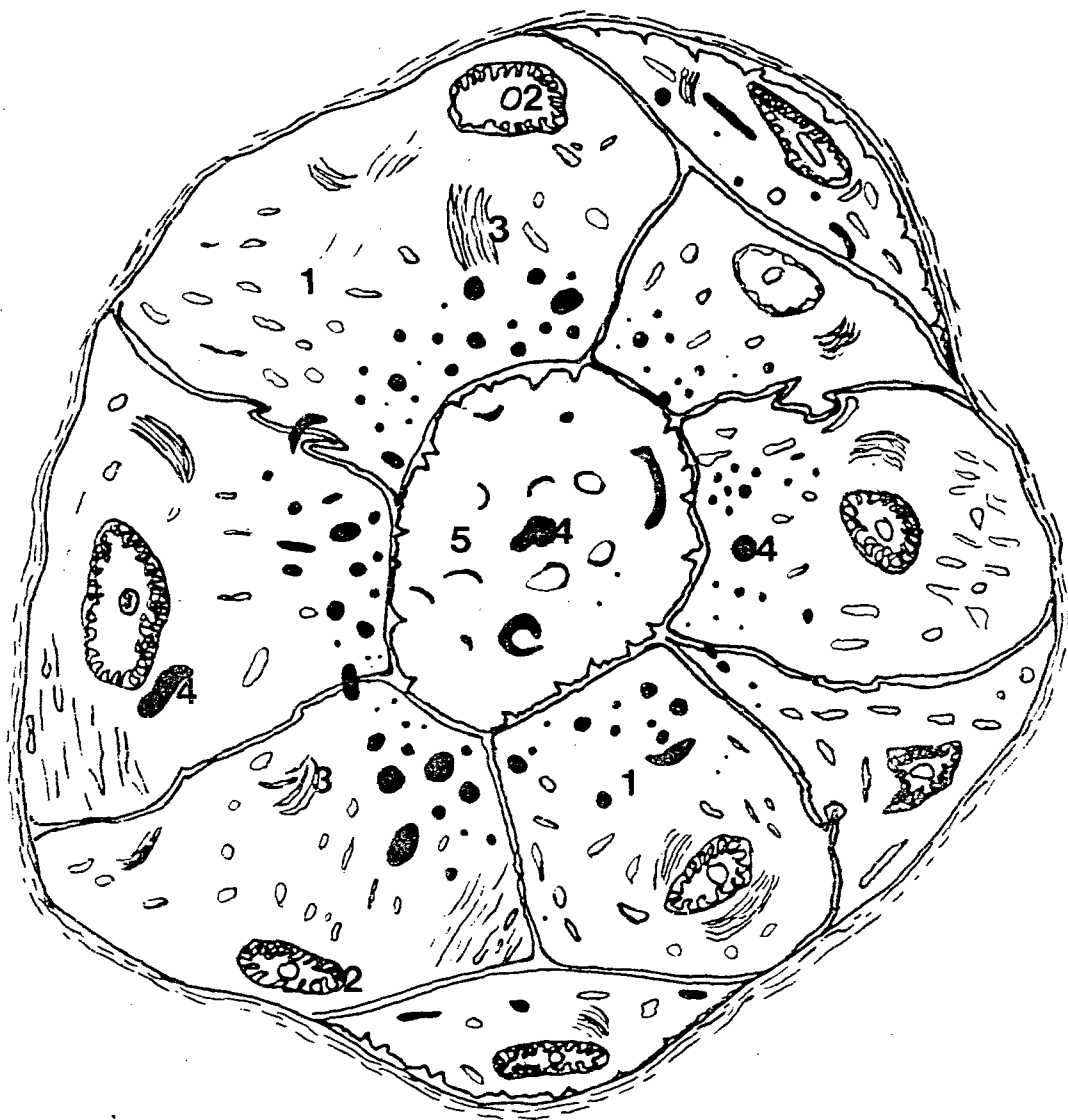
A los 30 días de edad se observan gránulos de secreción en la luz acinar de los animales del grupo testigo (figs. 7 y 3), mientras que en los 2 grupos experimentales (figs. 6 y 10) solo varia el patron de secreción.

A los 60 días de edad, en los animales del grupo testigo (fig. 4) ya se observa gran cantidad de secreción y poco tejido conectivo, mientras que en los 2 grupos experimentales de 16 y 18 d. de PTU (figs. 8 y 12) la única variación perceptible se presenta en los patrones de secreción.

DESCRIPCION GRAFICA MACROSCOPICA DE LA GLANDULA DE HARDER.

Dibujo esquemático de la glándula de Harder mostrando las diferentes estructuras, a nivel macroscópico.

- 1.- Acino glandular.
- 2.- Núcleos basales.
- 3.- Aparato de Golgi.
- 4.- Granulos de secreción.
- 5.- Luz acinar.



DISCUSSION.

DISCUSION

Los resultados emanados del siguiente trabajo muestran claramente que las hormonas Tiroideas intervienen en el desarrollo de la glándula de Harder, ya que, como lo describe Legrand (1967), al provocar hipotiroidismo artificialmente se producen una serie de desarreglos glandulares, hormonales, y en el sistema nervioso.

Las ratas tratadas con Propitiouracilo (PTU), o sea, los sujetos hipotiroideos, presentan una glándula Tiroidea atrófica, comparada con la de los animales eutiroideos, el epitelio de los folículos es más delgado y el coloide más abundante. Las células de ratas hipotiroideas son de forma angulosa e irregular.

En modelos de hipotiroidismo en ratas se ha reportado que uno de los parámetro más afectados es el sistema músculo esquelético, donde el peso corporal es de gran relevancia durante el desarrollo, el animal hipotiroideo del grupo experimental de 16 d. de PTU presenta un menor peso, de un 25 a un 35 % a los 0 y 15 días de edad, esto es, comparado con los sujetos testigo; mientras que a los 30 y 60 días de edad este peso es de un 8 a un 11 % más que el de los animales testigos de esas mismas edades. Todo esto habla de una "curva de recuperación" en el peso de éstos animales, esta recuperación es debida probablemente a que las crías al nacimiento y hasta los 15 días de edad se ven imposibilitadas para desarrollarse debido a la acción bloqueadora de captación de yodo por la G. Tiroidea, provocada por la administración de PTU, y a partir de los 30 días decrece esta acción al no estar presente el PTU en la dieta, ya que las crías ya han sido destetadas. La cría comienza a captar yodo y sus niveles de hormonas tiroideas (T3 y T4) se normalizan. En el grupo experimental de PTU, los animales hipotiroideos se encontraron con un menor peso, que oscila entre un 15 y un 17 % menor que los testigos, excepto a los 30 días, en los que el peso fué de un 12 % mayor que el peso de los testigos. Ahora, en la glándula de Harder encontramos que se vió también afectado su peso y su medida, en el grupo experimental de 16 d. de PTU se encontró un menor peso en la glándula, de 4 a 76 % promedio en las 4 fechas, mientras que la medida de la glándula fué menor a los 0 días en un 2.6 %, a los 15 días en un 36.6 %, y a los 60 días fué menor en un 2.8 %; mientras que a los 30 días de edad el peso fué de 30 % más que el peso de los testigos; debido esto probablemente a un incremento de síntesis de hormona de crecimiento y de T3 y T4 (hormonas tiroideas), con lo cuál la glándula recupera peso. En el grupo experimental de 18 d. de PTU el peso de la glándula fué menor en las 4 fechas frente a los testigos, esta disminución fué del orden de un 72.8 % promedio. La medida de la glándula mostró variaciones, a los 0, 15, y 60 días de edad la medida fué menor que la de la glándula de los testigos hasta en un 16.5 %, mientras que a los 30 días aumentó en un 37.5 % frente a los animales del grupo testigo, provocado esto por que el animal recuperó sus niveles de hormonas tiroideas (T3 y T4) y de hormona de crecimiento. Por otra parte, los resultados histológicos muestran a los 0 y 15 días de edad un evidente retardo en el desarrollo de la glándula, ya que además de presentar un menor tamaño, su patron histológico muestra modificaciones. Esto apoyado a los 0 y 15 días de desarrollo post-natal, por un incremento en el número de mitosis, una mayor cantidad de tejido conectivo y un mayor espaciamiento de los polos de desarrollo glandular. Por otro lado, si bien parecería que hubiera más células por área, estas son solo más pequeñas que las del animal eutiroideo, y con mayor cantidad de nucleólos; a partir de los 15 días, el patron tubo-alveolar en el animal normal ya está presente, en cambio en el hipotiroideo de la misma edad solo en el 80 % de los animales se observó este patron; en el 20 % restante aún encontramos agregados multicelulares en desarrollo. Para los 30 y 60 días, bajo esta metodología, no encontramos diferencia, esto nos sugiere que el animal al ser destetado y alimentado normalmente alcanza su patron de desarrollo glandular normal.

Las repercusiones de la investigación en éstos niveles, específicamente en la Neuroendocrinología, son de incalculable valor en el estudio de las hormonas, Neurotransmisores, Neurotransductores, Péptidos y otras sustancias con actividad endócrina que se encuentran involucradas en la fisiología de la glándula de Harder y sus interacciones con la glándula Pineal y otras áreas en el sistema Nervioso Central.

CONCLUSIONES.

CONCLUSIONES.

En base a lo antes descrito en el presente trabajo, se concluye que:

- 1.- Existe un estrecha relación entre la función de las hormonas Tiroideas (T3 y T4) y el crecimiento y maduración de la glándula de Harder.
- 2.- Las ratas hipotiroideas muestran un menor peso y una menor talla que las ratas eutiroideas de la misma edad. Esto es debido a la falta de hormonas tiroideas en etapas tempranas de desarrollo.
- 3.- Mediante microscopía óptica es difícil observar diferencias finas en los acinos glandulares , y se requiere una profunda investigación mediante técnicas de microscopía electrónica para poder describir detalladamente los organelos sub-celulares y las vesículas secretoras de la glándula de Harder de ratas hipotiroideas.
- 4.- La glándula de Harder de sujetos sometidos a hipotiroidismo mediante la administración de Propiltiouracilo (PTU) sufren un retraso en el crecimiento y muestran alteraciones en la glándula de Harder, en comparación con los sujetos eutiroideos.

BIBLIOGRAFIA.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Bucana C. D., Nadakavukaren J.M., Inervation of the harderian gland.. Science, vol. 175 : 205-206. 1972.
- 2.- Bucana C. D., Nadakavukaren J.M., Ultrastructural investigations of the post-natal development hamster Harderian gland. Z. Zell forsh 142, 1-12. 1973.
- 3.- Bucana Corazon D., Nadakavukaren J.M., Fine structure of the Hamster Harderian gland. Z. Zellforsh 129, 178-187. 1972.
- 4.- Burns R. E., specific antibody production against a soluble antigen in the Harderian gland of the domestic fowl. Clin. Exp. Immunol. 26, 371-374. 1976.
- 5.- Cardinali D. P., Larin F., Wurtman R. J., Action spectra for effects on light on hidroxi-indole-ortho-methyl-transferases in rat: pineal, retina, and harderian gland. Endocr. 91-1, 247, july 1972.
- 6.- Cantarow A., Schepardtz B., Bioquímica. 4a. ed. p.p. 283,286. 1969.
- 7.- Cardinali D. P., Wurtman R. J., Hidroxi-indole-ortho-methyl-transferases in rat pineal, retina, and Harderian gland. Endocr. 91-1, 247. july 1972.
- 8.- Cohn S.A., Histochemical observations on the Harderian gland of the albino mouse. J. Histochem. Cytochem. 3: 251-342. 1955.
- 9.- Coujard M., La "Harderisation" de la glande de Loewenthal chez le rat blanc. Societe de Biologie. Comptes renduz. N. 2-3 T. 168. 1974.
- 10.- Chiquione A. D., The identification and electron microscopy of myoepithelial cells in theharderian gland. J. Anat. Record. 132-4, 569-583, Dec. 1958.
- 11.- Davis F. A., The anatomy and histology of the eye and orbit of the rabbit. An. Ophtalmology Soc. 27: 401-402. 1929.
- 12.- Danley D. L., The Harderian gland and site finding by metacercariae of Philophthalmus megaiurus (Trematoda Digenea). the Journal of parasitology 59 3. 456-462. june 1973.
- 13.- Darrien E., Turchini J., Sur l'accumulation d'une porphirine dans le glande de Harder des rongeurs du genre mus et sur son mode d'excretion Comptes rendus Societe de Biologie. 91: 637-639. 1924.
- 14.- Ebling F. J., et.al., The effects of hypofsectomy and bovine growth hormone on the responses to testosterone of prostate, preputial, harderian, and Lachrimal glands and of brown adiposse tissue in the rat. J. Endocr. 66: 401-406. 1975.
- 15.- Feria V. A., et.al., Efectos de las condiciones de luz ambiental sobre la ultraestructura de la glándula de Harder en la rata recién nacida. Arch. Invest. Med. (MEX) 9: 67. 1978.

- 16.- Feria V. A., et.al. Sex differences in secretion pattern of neonatal rat Harderian gland under various environmental lighting conditions. *Comp. Biochem. Physiol.* vol. 74 B., N. 4: 709 to 714. 1983.
- 17.- Feria V. A., Karnovsky J. M., Preservación óptima del sistema nervioso Central con perfusión con glutaraldehído para estudio estructural. *Arch. inv. MEd. (MEX)* 1: 201. 1970.
- 18.- Goth A., *Farmacología médica*. 4a. edic., Edit. Interamericana. p.p. 477-478. 1969.
- 19.- Guyton A. C., *Anatomía y fisiología del sistema nervioso*. 2a. ed., p.p. 206-208. 1978.
- 20.- Guyton A. C., *Tratado de fisiología médica*. 5a. ed., edit. interamericana. p.p. 1004-1011. 1977.
- 21.- Hoffman R. A., Influence of some endocrine glands, hormones, and binding on the histology and porphyrins of the Harderian gland of golden Hamster. *An J Anat* 132: 436-478. 1977.
- 22.- Jost U., et.al., A morphological and biochemical analysis of the Harderian gland in the rabbit. *Cytobiologie* 8: 3, 440-456. 1974.
- 23.- Kelenyi G., Orban S., Electron microscopy in the Harderian gland of the rat ; maturation of the acinar cells and genesis of the secretory droplets. *Acta. Morph. Acad. Sci. Hung.* 13: 155-156. 1965.
- 24.- Kenned G. Y., Harderipotphirin; a new porphirin from the Harderian gland of the rat. *Comp. Biochem. Physiol.* 36: 21-36. 1970.
- 25.- Lawrence E., Pansky B., *Bioquímica*. 3a. ed., 1982.
- 26.- Lawrence E., et.al., *Neurociencias, enfoque sistemático*. 3a. ed. McGraw Hill. p.p. 11-13. 1982.
- 27.- Lehninger A. L. *Bioquímica*. 2a. ed., p.p. 823-842. 1984.
- 28.- Margolis F. L., Regulation of the porphirin byosynthesis in the Harderian gland of inbred mouse strains. *Arch. of Biochem. and Biophisics*, 145: 73-82. 1971.
- 29.- Martin W. D., Mayes P. A., *Bioquímica de Harper*. 9a. ed. p.p. 41-46, 320-325. 1984.
- 30.- Morrison T. R., Boyd N. R., *Química orgánica*. 2a. ed. p.p. 1265-1266. 1986.
- 31.- Noback C. R., Demarest R. J., *Sistema Nervioso Humano (fundamentos de neurobiología)*, p.p. 14-21. 1980.
- 32.- Payne A. P., et.al., Androgenic control of the Harderian gland in the male Hamster. *J. Endocr.* 75: 373-381. 1977.
- 33.- Payne A. P., Moore M. R., The Hamster Harderian gland and porphirin byosynthesis. *Boletino dell'istituto dermatologico S. Gallicano*. Vol. III . Pag. 21-28. 1986-1987.
- 34.- Reiter R. J., Klein D. C., Observations of the pineal gland , the Harderian gland, the Reina and the reproductive organs of adult female rats exposed to continous light . *J. Endocr.* 51: 117-125. 1971.

- 35.- Singh S. P., McKenzie J. M., Sulfate uptake by mouse Harderian gland: effects of serum for patients with graves diseases. *Metabolism*. vol. 20 N. 4. p.p. 422-427. 1971.
- 36.- Ulrich R., et.al., Effects of sex hormones and environmental lighting on rat Harderian gland porphirin. *J. Endocr.* 63: 99-102. 1974.
- 37.- Valahakes G. J., Wurtman R. J., A Mg. dependent hidroxi-indole-ortho-methyl-transferases in the rat Harderian gland. *Biochimia and Biophysica Acta*. 261, 194-197. 1972.
- 38.- Valverde C., Fanghanel G., Nuevos conceptos sobre fisiología y patologíahipotalamo-hipofisiária. p.p. 60-77. 1982.
- 39.- Wetterberg L., et.al., Effect of lighting conditions of the porphirins content and morphology of the Harderian glands and uterine morphology in the Golden Hamster *Specialitia Experientia* 28: 1084-1085. 13 march 1972.
- 40.- Wetterberg L., et.al., The Harderian gland; influence on pineal hidroxi-indoi-ortho-metyl-transferases in neonatal rats. *Science* 170. 194-196. 9 oct. 1970.
- 41.- Wetterberg L., et.al., Harderian gland, an extraretinal photoreceptor influencing the pineal gland in neonatal rats. *Science* 167: 884-885. 1970.
- 42.- Woodhouse M. A., Rhodin J. A. G., The ultrastructure of the Harderian gland of the mouse with particular reference to the formation of its secretory products. *J. Ultrastructure research* 9: 76-98. 1963.
- 43.- Wurtman R. J., Weisel J., Environmental lighting and neuroendocrine function: relationship between spectrum of light source and gonadal growth. *Endocrinology* 85: 1218. 25 apr. 1969.