

# Glándula pineal humana, factores reguladores de la producción de melatonina: morfometría, celularidad y células c-kit

Héctor Rodríguez<sup>a</sup>, Carlos Tamayo<sup>a</sup>, Paola Vacarissas<sup>a</sup>, Juan Inostroza<sup>a</sup>, Juan Carlos Araya<sup>b</sup>, Iván Suazo<sup>c</sup>, Pedro Sánchez<sup>d</sup>, Beatriz Olías<sup>e</sup> y Omar Espinoza-Navarro<sup>f</sup>

<sup>a</sup>Laboratory of Histoembriology. Anatomy and Development Biology Program. ICBM. School of Medicine. University of Chile. Santiago. Chile.

<sup>b</sup>LabMed. Valparaíso. Chile.

<sup>c</sup>Facultad de Odontología. Universidad de Talca. Talca. Chile.

<sup>d</sup>Universidad Autónoma de Madrid. Madrid. España.

<sup>e</sup>Universidad Complutense de Madrid. Madrid. España.

<sup>f</sup>Facultad de Ciencias. Universidad de Tarapacá. Tarapacá. Chile.

## RESUMEN

**Introducción:** La glándula pineal es una glándula endocrina derivada del diencefalo y septada por derivados piales, por lo que su morfometría y celularidad pudieran quedar definidos durante los primeros años de vida (proliferación y apoptosis celulares). En la estroma de la glándula pineal se describen astrocitos derivados de la glía. Sin embargo, no se mencionan la presencia de células c-kit+ (CD-117).

**Objetivos:** Este trabajo plantea estudiar la morfometría y celularidad, y la presencia de células c-kit en la glándula pineal humana a distintas edades, permitiendo demostrar la presencia de células con actividad de proteinquinasa III.

**Material y métodos:** Se obtuvieron glándulas pineales humanas de preparaciones anatómicas frescas: *a*) grupo 1, de 1 a 6 años, *n* = 6; *b*) grupo 2, de 12 a 17 años, *n* = 3; *c*) grupo 3, de 20 a 30 años, *n* = 3, y *d*) grupo 4, de 35 años de edad, *n* = 3. Las muestras fijadas en formol (pH, 7,2) durante 48 h se impregnaron en parafina, y se montaron en portaobjetos silanizados secciones de 5 µm. Las secciones, hematoxilina/eosina, se examinaron para la descripción histológica y cuantificación del diámetro lobulillar (µm), área del núcleo de los pinealocitos (mm<sup>2</sup>) e inmunohistoquímica con uso de anticuerpos específicos para la identificación de: c-kit (DAKO A4502), ki-67 y apaf-1 (Vector Co.).

**Resultados y discusión:** Se observaron cambios dinámicos en la morfometría y celularidad (pinealocitos) de la glándula pineal humana según la edad, con un aumento en el tamaño celular hacia la edad de adulto joven y de la proliferación celular durante la adolescencia, en conjunto con una alta tasa de apoptosis inicial y su disminución progresiva a través de la vida. En recién nacidos las células c-kit+ no están presentes. Sin embargo, en los grupos 2, 3 y 4, se encontraron células

## ABSTRACT

**The human pineal gland and melatonin-regulating factors: morphometry, cellularity and c-kit-positive cells**

**Introduction:** The human pineal gland exhibits endocrine activity derived from the diencephalon and is divided into lobules by pial connective tissue. Its morphometry and cellularity might be set up during the early years of development (by cell proliferation and apoptosis). The presence of glia-derived astrocytes has been described in the pineal gland stroma. However, c-kit (CD-117) positive cells have not been described yet in this organ.

**Aims:** In this study, the morphometry, cellularity and presence of c-kit + cells in the human pineal gland (which expresses the membrane receptor with protein kinase III activity) will be assayed.

**Material and methods:** Human pineal glands distributed in 4 groups according to age: *a*) group 1, 1 to 6 years, *n* = 6; *b*) group 2, 12 to 17 years, *n* = 3; *c*) group 3, 20 to 30 years, *n* = 3; and *d*) group 4, 35 years old, *n* = 3; were fixed in pH 7.2 formol during 48 h. They were included in paraffin for histological examination, and a series of 5-µm sections were obtained for hematoxylin-eosin staining. Sections were analysed for histological morphometry (lobule diameter and nuclear area) and quantification of proliferative and apoptotic cell number (cell number/0.17 mm<sup>2</sup>) by specific immunohistochemistry (IHC) for identification of Ki-67, Apaf-1 (Vector Co.) and c-Kit testing (DAKO A4502).

**Results and discussion:** Here we demonstrated changes in morphometry and cellularity of the human pineal gland according to age, with an increase in cell size until the young adulthood and in cell proliferation during adolescence period, in

**Correspondencia:** Prof. Dr. H. Rodríguez.

Laboratory of Histoembriology.

Anatomy and Development Biology Program.

Faculty of Medicine. University of Chile.

Avda. Independencia, 1027. Santiago. Chile.

Casilla 70070.

Correo electrónico: hrodrigu@med.uchile.cl

c-kit+, con un aumento en adolescentes y adultos jóvenes. Las células se presentan como estructuras de núcleo elíptico fuertemente teñidas en el intersticio de la glándula. Aparentemente, la glándula pineal humana termina su desarrollo hacia la pubertad, con la aparición de células c-kit, que podrían participar como focos de depolarización de membrana para la liberación de melatonina. Paralelamente aparecen signos de degeneración a través de la presencia de estructuras calcáreas calcificadas.

**Palabras clave:** Glándula pineal humana. Ki-67. Apaf-1. c-kit. CD-117.

addition to the high rate of apoptotic index in the first years of life and its progressive reduction during the following years. Besides, it was possible to demonstrate the presence of interstitial Cajal cells expressing the receptor c-kit in groups 2, 3 and 4 only, located in the gland interstice. Apparently, the human pineal gland finishes its development during puberty when the c-kit positive cells appear. These cells may act as membrane depolarization foci (pacemaker), thus resulting in melatonin release. Simultaneously degenerative signs appeared in the group of oldest age, as demonstrated by the presence of calcified structures.

**Key words:** Human pineal gland. Ki-67. Apaf-1. c-kit. CD-117.

## INTRODUCCIÓN

La glándula pineal es un derivado temprano del epitalamo diencefálico. Su hormona, la melatonina, como transductor neuroendocrino transfiere la señal neural en una señal endocrina<sup>1</sup>. Los ritmos biológicos en las funciones fisiológicas están dirigidos por el sistema circadiano y sincronizados por ciclos externos a través de varias estructuras sensoriales<sup>2</sup>.

Una de las funciones endocrinas más importantes de la glándula pineal es la síntesis y secreción de melatonina, que permite modular el paso del tiempo a través de los ritmos biológicos (circadiano y/o circanual)<sup>3,4</sup>. Las oscilaciones moleculares circadianas se generan por un complejo formado por un reloj que funciona sobre la regulación de la transcripción génica y sus productos proteicos<sup>5</sup>.

La glándula pineal secreta indolaminas, melatonina, bajo el control del núcleo supraquiasmático, que participa en la regulación de la actividad reproductiva en animales que presentan regulación fotoperiódica<sup>6-8</sup>. Otras funciones asignadas a la melatonina de la glándula pineal son la ritmicidad de muchas funciones<sup>9</sup>, efectos antitumorales<sup>10</sup>, regulación del sueño<sup>11</sup>, propiedades antienviejecimiento y un rol en el eje neuroinmunológico<sup>12</sup>.

En la especie humana, la glándula pineal mide de 5 a 8 mm de longitud y de 3 a 5 mm de ancho. Presenta una forma cónica y una cápsula formada por derivaciones de la piamadre y un tejido conectivo laxo. Esta cápsula se encuentra interrumpida en la región basal por un pequeño espacio ventricular. Estructuralmente, la glándula pineal está constituida por células propias llamadas pinealocitos y células intersticiales, no está claro si las células intersticiales también contienen melatonina<sup>13</sup>. Las células gliales representan diferentes tipos celulares fácilmente distinguibles de los pinealocitos, principalmente por la densidad de sus núcleos<sup>14</sup>.

En el presente estudio se describe la glándula pineal humana de distintas edades a través de evaluaciones morfométricas (diámetro lobulillar, área nuclear de pinealocitos), celularidad (proliferación y apoptosis celulares) y presencia específica de células c-kit positivas, a través de métodos inmunohistoquímicos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Glándula pineal humana

Se obtuvieron glándulas pineales humanas durante los procedimientos de autopsias de varones fallecidos por causas desconocidas y sin evidencia o registros de patologías asociadas al sistema nervioso central. Las glándulas se obtuvieron durante las primeras 24 h post mórtem, desde el Instituto Médico Legal, y bajo todas las consideraciones bioéticas aceptadas por la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile para los trabajos con tejidos humanos. Las glándulas obtenidas se distribuyeron de acuerdo a los siguientes rangos de edad: *a*) grupo 1, de 1 a 6 años, *n* = 6; *b*) grupo 2, de 12 a 17 años, *n* = 3; *c*) grupo 3, de 20 a 30 años, *n* = 3, y *d*) grupo 4, de 35 años de edad, *n* = 3.

Las muestras de glándulas pineales fueron inmediatamente fijadas en formol tamponado (pH 7,2), donde permanecieron durante 48 h. Luego, las muestras fueron impregnadas en parafina (punto de fusión entre 56 y 58 °C). Finalmente, una serie de secciones de 5 µm de espesor se montaron en portaobjetos silanizados para el posterior desarrollo de las tinciones correspondientes: hematoxilina y eosina (para la descripción histológica y morfometría, áreas y diámetros) e inmunohistoquímica específica (IHQ) para la identificación de células c-kit, ki-67 y apaf-1 positivas.

Las imágenes se digitalizaron y procesaron con el programa Image J del National Institute of Health. Los resultados se representan en fotografías y gráficos

de barras. Mientras que los trabajos estadísticos de análisis de las diferencias de promedios se desarrollaron a través de la prueba de la t de Student, con un  $p \leq 0,05$ .

### Protocolos de inmunohistoquímica

CD-117/c-Kit (DAKO A4502); ki-67 y apaf-1 (Vector datasheet). Revelado a través de diaminobencidina (DAB).

Las tinciones de IHQ se desarrollaron según las hojas técnicas de cada laboratorio comercial para cada anticuerpo primario de tejidos fijados en formol e impregnados en parafina. Las evaluaciones se desarrollaron a través de los registros de células positivas por área tisular ( $0,17 \text{ mm}^2$ ).

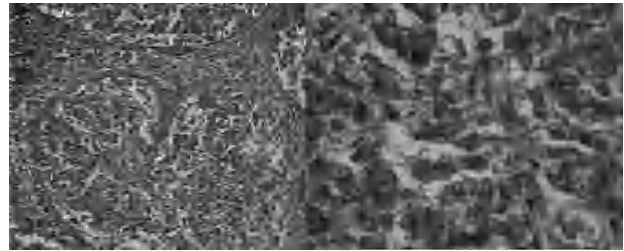
Los anticuerpos primarios se usaron a una dilución de 1:250 y se revelaron con DAB (color marrón)<sup>15</sup> o aminoetilcarbazon (AEC, color rojo). Se desarrollaron procedimientos para la recuperación de antígeno a través del pasaje de las secciones por una solución de tampón citrato a pH 6,0 y una concentración de 0,1 mM durante 30 min a temperatura de  $98^\circ\text{C}$  (uso de Vaporera Oster).

## RESULTADOS

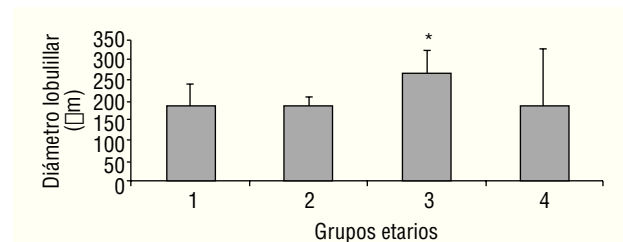
### Histología de la glándula pineal humana

La glándula pineal humana se organiza en lobulillos glandulares endocrinos donde los pinealocitos son ordenados al interior en conjunto con una fina red de estroma formada por tejido conectivo. En el espacio interlobulillar se distribuye una diversidad celular formada principalmente por células derivadas desde la glía pial, y acompañada de una abundante irrigación. Los pinealocitos se reconocen fácilmente por presentar un núcleo redondeado, basofilia de intensidad variable, forma oval pleomórfica y tamaño variable (fig. 1).

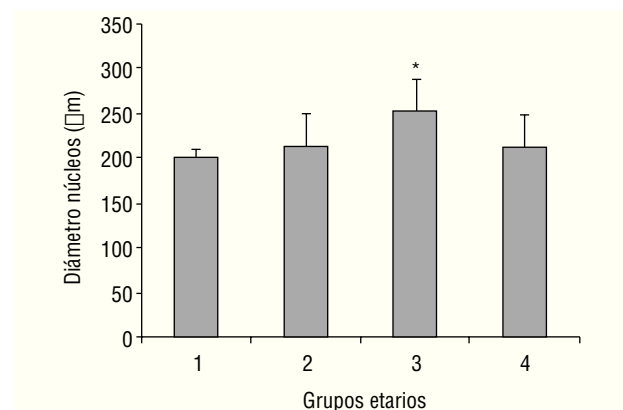
La glándula pineal presenta modificaciones estructurales de manera dinámica durante toda la vida del individuo. En la figura 2 se observa que el diámetro ocupado por la organización lobulillar de los pinealocitos es similar en todos los grupos evaluados, con excepción del grupo 3 (adulto joven), que muestra un aumento ligeramente significativo estadísticamente ( $p \leq 0,05$ ). También se observa que esta característica se hace mucho más variable a edades mayores (grupo 4). De modo similar, en la figura 3 se muestra el área alcanzada por el núcleo de los pinealocitos, describiéndose un aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) en el grupo 3, adulto joven, con respecto a los grupos anteriores.



**Figura 1.** Microfotografía que muestra la histología de la glándula pineal con tinción de hematoxilina-eosina (grupo 2), a distintos aumentos: lobulillos ( $\times 400$ ); núcleos de pinealocitos ( $\times 1.000$ ), respectivamente.



**Figura 2.** Desarrollo del diámetro lobulillar en la glándula pineal humana. El gráfico de barras muestra los promedios y desviaciones estándar del diámetro lobulillar ( $\mu\text{m}$ ) del parénquima de la glándula pineal humana, evaluadas a diferentes edades (\* $p \leq 0,05$ ).



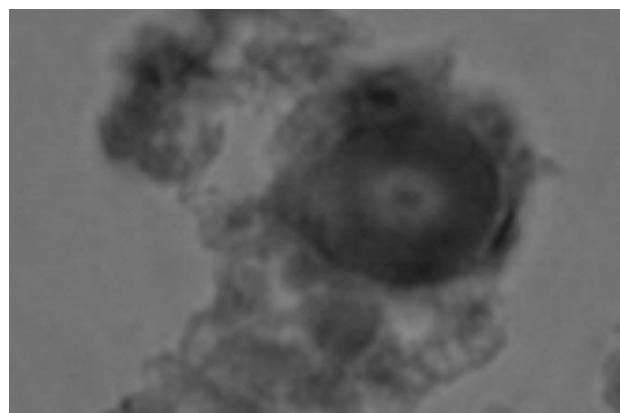
**Figura 3.** Dinámica comparativa del área de los núcleos de pinealocitos. El gráfico de barras muestra los promedios y desviaciones estándar del área de los núcleos de los pinealocitos ( $\text{mm}^2$ ) del parénquima de la glándula pineal humana, evaluados a diferentes edades (\* $p \leq 0,05$ ).

### Células intersticiales de Cajal: c-kit

En la figura 2 se observan células inmunohistoquímicamente reactivas con el anticuerpo específico para reconocer el marcador de membrana CD-117 que corresponde a la expresión del gen *c-kit*. Por lo tanto, esto permite demostrar la presencia de las células in-



**Figura 4.** Microfotografía que muestra la reacción de inmunohistoquímica para c-kit+ (control negativo y experimental c-kit+, respectivamente, grupo 3). La flecha indica una célula c-kit+ (cromógeno aminoetilcarbazol [AEC]).



**Figura 5.** Microfotografía que muestra las concreciones calcáreas (grupo 4). Cuerpos arenáceos (×400).

tersticiales de Cajal (ICC), que expresan la proteína de membrana c-kit, distribuidas en el intersticio de la glándula pineal humana. Cuantitativamente las células c-kit son escasas (una cada 3 a 4 campos de 0,17 mm<sup>2</sup>) y se distribuyen en íntima adherencia a la cápsula conectiva de los lobulillos glandulares. En la figura 4 se observan las células c-kit+ y cargadas con el cromógeno (AEC), que muestran un color rojo intenso en su citoplasma y un núcleo elíptico de difícil definición.

Aparentemente, la cantidad de células c-kit+ aumentan en forma paralela con la edad, aunque sin un patrón definido. Adicionalmente, en el grupo 4 (varones mayores de 35 años), se observaron estructuras acelulares conocidas como acérvulos cerebrales (fig. 5).

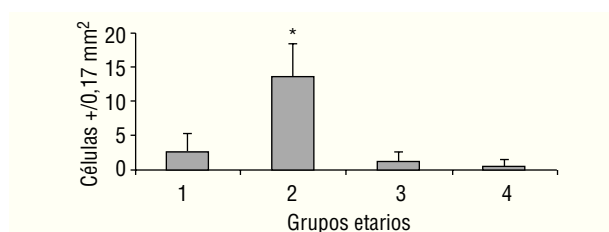
#### **Celularidad de la glándula pineal humana.**

##### **Proliferación celular: ki-67, y apoptosis: apaf-1**

El péptido ki-67 aparece cuando las células se encuentran en alguna etapa del ciclo celular y no en G<sub>0</sub>. Por ello, al detectar la presencia de ki-67 en una célula



**Figura 6.** Microfotografía que muestra la reacción de inmunohistoquímica para ki-67+ (control negativo y experimental ki-67+, respectivamente, grupo 2). Las flechas indican células ki-67+ (cromógeno diaminobenzidina [DAB]).



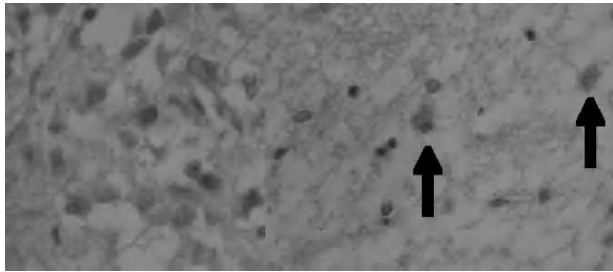
**Figura 7.** Proliferación celular en la glándula pineal humana. El gráfico de barras muestra los promedios y desviaciones estándar de la cuantificación de células ki-67+ por área (0,17 mm<sup>2</sup>) en la glándula pineal humana, evaluadas a diferentes edades (\*p ≤ 0,05).

la significa la presencia de un estado de proliferación celular activo. De modo similar ocurre con los procesos intracelulares de apoptosis, apaf-1, donde se desarrolla la interacción de la proteína apoptosoma con el citocromo c, conduciendo a la activación de los sistemas de caspasas.

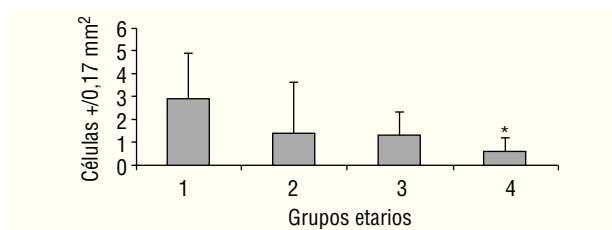
Normalmente, la maduración del sistema nervioso ocurre durante la primera infancia del individuo, mientras que en el adulto aún permanece la plasticidad neuronal.

Aparentemente, y a juzgar por los resultados presentados en este estudio, la glándula pineal presenta un patrón de proliferación celular durante toda la vida del individuo. Como se observa en las figuras 6 y 7, la glándula pineal humana presenta un aumento proliferativo estadísticamente significativo (p ≤ 0,05) en el grupo 2, que corresponde a las edades entre 12 y 17 años. Sin embargo, la apoptosis (figs. 8 y 9) es máxima durante los primeros años de vida (grupo 1), para luego disminuir progresiva y sostenidamente a través de la edad (grupos 2, 3 y 4), llegando a ser estadísticamente significativa en el grupo 4 con respecto al grupo 1 (p ≤ 0,05).

Paralelamente, se observa la presencia de estructuras tipo cuerpos arenáceos acelulares (fig. 5) en el grupo de individuos de mayor edad (grupo 4).



**Figura 8.** Microfotografía que muestra la reacción de inmunohistoquímica para apaf-1+ (control negativo y experimental apaf-1+, respectivamente, grupo 1). Las flechas indican células apaf-1+ (cromógeno diaminobenzidina [DAB]).



**Figura 9.** Presencia de apoptosis en la glándula pineal humana. El gráfico de barras muestra los promedios y desviaciones estándar de la cuantificación de células apaf-1+ por área (0,17 mm²) en la glándula pineal humana, evaluadas a diferentes edades (\* $p \leq 0,05$ ).

## DISCUSIÓN

El principal regulador de la generación de melatonina en la glándula pineal es el ciclo de luz/oscuridad, que actúa a través de la activación neuronal del hipotálamo anterior vía los axones de las células ganglioretinales que corren por el nervio óptico y por la formación del tracto retinohipotalámico. El sistema nervioso central está conectado a la glándula pineal a través del núcleo paraventricular y neuronas simpáticas preganglionares; la inervación por el ganglio cervical superior con neuronas simpáticas postsinápticas suplementa la glándula pineal. La noradrenalina liberada por las fibras simpáticas posganglionares sobre la membrana plasmática de los pinealocitos provoca la estimulación de los  $\beta 1$ -adrenorreceptores para la activación de la proteína G-adenilato ciclasa<sup>16</sup>. Los mediadores intracelulares de los pinealocitos pueden ser AMPc, fosfoinositol, calcio, diacilglicerol y proteincinasa C<sup>17,18</sup>.

Morfológicamente, el cuerpo de la glándula pineal humana es una estructura sólida, parenquimatosa y de forma cónica (figs. 1-3 y 5). En el adulto es frecuente encontrar cuerpos microscópicos calcificados, gliosis y formaciones quísticas (fig. 5), probablemente como una característica de la involución del órgano después de la pubertad (figs. 7 y 9)<sup>19</sup>. Esta glándula degenera

progresivamente con el avance de la edad. La cápsula de la glándula está formada por tejido conectivo que se extiende en tabiques hacia el parénquima de la glándula llevando la irrigación a través de capilares de distinto calibre, formando la estructura lobular característica. Citológicamente los pinealocitos no mostraron signos de atrofia ni signos de hiperplasia en ninguno de los grupos etarios analizados (figs. 1 y 6).

Según Golan et al<sup>20</sup>, el tamaño de la glándula pineal humana varía de forma importante con la edad, donde las medidas mayores del ancho y alto de la glándula se observaron en individuos menores de 30 años; mientras que el espesor mínimo se observó en individuos mayores de 40 años. Observación similar a la descrita en el presente trabajo al considerar el diámetro de los lobulillos parenquimatosos y del área nuclear de los pinealocitos, donde los promedios más altos se obtuvieron en el grupo 3, con diferencias significativas con respecto a los grupos de individuos más jóvenes (figs. 2 y 3).

De acuerdo con los resultados mostrados en el presente trabajo, durante la vida, la glándula pineal humana básicamente mantiene su celularidad y desarrolla varios cambios adaptativos según la edad, pero nunca se ha observado una mayor abundancia del tejido conectivo y/o vascularización. Esta característica es importante para las funciones que se le adscriben a la glándula pineal, incluso sus propiedades oncostáticas.

La glándula pineal es un órgano que se desarrolla desde muy temprano en el embrión a partir de la placa neural, durante el segundo mes de gestación. En el adulto es de ubicación media y única, mientras que en el embrión a menudo aparece doble, se extiende desde la comisura habenular y la evaginación de la raíz del diencefalo. El neuroepitelio prolifera para formar el parénquima glandular que en un principio se organiza a modo cordonal y folicular rodeado por tejido conectivo pial embrionario<sup>14</sup>.

Las células neuroepiteliales de la glándula pineal constituyen el parénquima, formado principalmente por pinealocitos y células neurogliales (figs. 1 y 4). La estroma de la glándula está formada por un sistema de tabiques y trabéculas alrededor y en el interior de los lóbulos glandulares, que se continúan con la estructuración de la cápsula del órgano. Estos tejidos conectivos de la cápsula y tabiques son derivados del mesénquima meníngeo y una vasta contribución desde las células de la cresta neural (fig. 4) y vascular (mesodermo intermedio).

En mamíferos la glándula pineal crece desde la infancia hacia la adultez principalmente por un aumento del tamaño de los pinealocitos y, en menor grado y más variablemente, por un ligero aumento en las células gliales y estromales. En la glándula pineal huma-



na se observa un aumento de área de los núcleos de los pinealocitos y del tamaño de los lobulillos hacia la edad del adulto joven, grupo 3 (figs. 2 y 3).

En el presente estudio, al analizar la celularidad intersticial, se observó que las células c-kit<sup>+</sup> estaban ausentes en las edades más tempranas (grupo 1), lo que probablemente signifique que la glándula aún se encuentra en estado de diferenciación.

Según Carvajal et al<sup>21</sup>, en la glándula pineal de la rata durante la primera semana después del nacimiento el porcentaje de células en fase "S" del ciclo celular disminuye desde el 9 al 1,3%. Disminución que se repite durante la segunda semana de vida, que llega a un 0,5%. Por lo que numéricamente la cantidad de pinealocitos disminuye progresivamente durante todo el primer mes de vida. Sin embargo, en el presente estudio la cantidad de pinealocitos en proliferación aumenta drásticamente en el grupo 2, que corresponde a la edad de adolescencia, con valores promedios estadísticamente significativos con respecto a cualquiera de los otros grupos (figs. 6 y 7). Aparentemente, la celularidad del parénquima de la glándula pineal quedaría definida durante la adolescencia.

Estos resultados permiten sugerir que la glándula pineal humana presenta una fuerte expansión celular previa a la maduración morfológica y funcional, idea que permanece abierta para investigaciones futuras considerando la relación entre función y procesos proliferativos<sup>21</sup>.

En la glándula pineal de muchas especies de mamíferos es posible encontrar una variedad de cuerpos neuronales. A través de marcadores celulares es posible identificar la presencia de astrocitos en porcentajes entre 10 y 20 de las células de la glándula pineal.

Según los resultados inmunohistoquímicos que se muestran aquí, es posible describir la presencia de un nuevo tipo celular en el espacio intersticial de la glándula pineal humana identificada a través de la presentación del receptor de membrana conocido como receptor c-kit (*transmembrane kinase III like receptor*). Normalmente las células que expresan la proteína c-kit se han descrito como ICC, y como marcadores de membrana se han denominado CD-117 (figura 2). Aquí, en individuos menores de 6 años (grupo 2) no fue posible encontrar células c-kit<sup>+</sup>. Mientras que en el grupo de adolescentes (grupo 2) ya aparecieron las células ICC. Estas células se encuentran en muy escasa cantidad y se distribuyen en los espacios interlobulillares, cercanas a los vasos sanguíneos.

Estas células presentan un núcleo oval y de escaso citoplasma, dando la apariencia de una organización citoplasmática con múltiples proyecciones (estrelladas) dirigidas hacia las células vecinas, posiblemente

haciendo un puente intercelular entre los capilares sanguíneos y los pinealocitos (fig. 4).

Es posible que la presencia de las ICC represente la organización estructural de la función de control de los impulsos nerviosos a través de la transducción de señales inhibitorias y excitatorias<sup>22</sup>, que puede participar en la regulación de la síntesis y secreción de la melatonina.

En primates, las fibras parasimpáticas en la glándula pineal harían sinapsis con las células ganglionares parasimpáticas de la estroma de la glándula, lo que estaría asociado a la presencia de receptores nicotínicos y muscarínicos colinérgicos<sup>23,24</sup>, por lo que se puede especular y explicar su relación con las invenciones de las células de Cajal en otros sitios, como el plexo miotérico.

La organización histológica podría corresponder a la compensación estructural y funcional para reforzar la funcionalidad de la glándula pineal, considerando que en mamíferos la glándula pineal pierde la función de sus fotorreceptores progresivamente durante la evolución<sup>25</sup>. Aún así la glándula pineal continúa siendo estimulada por la luz a través de los núcleos supraquiasmáticos<sup>26,27</sup>. Según Daniel y Berezin<sup>28</sup>, las ICC serían de origen mesenquimático con características de fibras musculares primitivas.

Paralelamente, las concreciones calcáreas presentes en la glándula pineal de individuos de mayor edad (grupo 4) (fig. 5), así como también en bovinos, posiblemente tengan un origen glial o de la estroma de la glándula<sup>14</sup>.

Por lo tanto, la glándula pineal humana es una estructura dinámica que manifiesta todas sus características morfofuncionales hacia la pubertad, precisamente en los momentos donde más se requiere de su integración funcional dado que se inicia y establece la actividad reproductiva de la especie.

## CONCLUSIONES

La glándula pineal humana se organiza en un sistema parenquimatoso lobulillar, donde el diámetro de los lobulillos y el área ocupada por el núcleo de los pinealocitos alcanzan su mayor expansión al alcanzar la etapa de adulto joven. Mientras que la proliferación celular alcanza su máxima expresión durante la pubertad. Paralelamente, durante la niñez se observan tasas altas de apoptosis, cuyos valores disminuyen progresivamente a través de la vida. Por lo tanto, la glándula pineal humana alcanza una gran organización morfofuncional durante la pubertad y la edad de adulto joven, momentos que coinciden con la adquisición de las mejores aptitudes reproductivas de la especie hu-

mana. Mientras que luego aparecen manifestaciones de carácter degenerativo, hacia edades mayores (adulto), que coincide con una disminución de las aptitudes reproductivas de la especie humana.

## Bibliografía

1. Axelrod J. The pineal gland: a neurochemical transducer. *Science*. 1974;184:341-8.
2. Herichová I, Monošíková J, Zeman M. Ontogeny of melatonin, Per2 and E4bp4 light responsiveness in the chicken embryonic pineal gland. *Comp Biochem Physiol, Part A* xx (2007) xxx-xxx. Disponible en: [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)
3. Brownstein M, Axelrod J. Pineal gland and the 24 hour rhythm in norepinephrine turnover. *Science*. 1974;184:1631-65.
4. Catrina S, Curca E, Catrina A, Radu C, Cociulescu M. Melatonin shortens the survival rate of ehrlich ascites-inoculated mice. *Neuroendocrinol Letters*. 2001;22:432-4.
5. Shearman L, Sriram S, Weaver D, Maywood S, Chaves I, Zheng B, et al. Interacting molecular loops in the mammalian circadian clock. *Science*. 2000;288:1013-9.
6. Reiter R. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocrin Rev*. 1991;12:151-80.
7. Reuss S. Components and connections of the circadian timing system in mammals. *Cell Tissue Res*. 1996;285:353-78.
8. Simonneaux V, Poirel V, Garidou M, Nguyen D, Díaz-Rodríguez E, Pévet P. Daily rhythm and regulation of clock gene expression in the rat pineal gland. *Mol Brain Res*. 2004;120:164-72.
9. Mesangeau C, Yous S, Chavatte P, Ferry G, Audinot V, Boutin JA, et al. Design, synthesis and in vitro evaluation of novel benzo[b]thiophene derivatives as serotonin N-acetyltransferase (AANAT) inhibitors. *J Enzyme Inhibition Med Chem*. 2003;18:119-25.
10. Bartsch C, Bartsch H, Lippert T. The pineal gland and cancer: facts, hypotheses and perspectives. *Cancer J*. 1992;5:194-9.
11. Brown G. Melatonin in psychiatric and sleep disorders: therapeutic implications. *CNS Drugs*. 1995;3:209-26.
12. Maestroni G. The immunoneuroendocrine role of melatonin. *J Pineal Res*. 1993;14:1-10.
13. Möller M, Brown G. Cellular Localization of melatonin in the superficial and deep pineal gland of the golden hamster and rat: an immunocytochemical study. Presented at INABIS 1998 - 5th Internet World Congress on Biomedical Sciences at McMaster University, Canada, Dec 7-16th. Invited Symposium 1998. Dsponible en: <http://www.mcmaster.ca/inabis98/brown/moller0874/index.html>
14. Koshy S, Vettivel S. Varying appearances of calcification in human pineal gland: a light microscopic study. *J Anat Soc India*. 2001;50:17-8.
15. Porti A, Hille R, Koch M. Immunohistochemical determination of HER-2/neu overexpression in malignant melanoma reveals no prognostic value, while c-Kit (CD117) overexpression exhibits potential therapeutic implications. *J Carcinog*. 2003;2:8.
16. Schuster C. Sites and mechanisms of action of melatonin in mammals: the MT1 and MT2 receptors. *J Soc Biol*. 2007;201:85-96.
17. Sudgen D. Melatonin biosynthesis in the mammalian pineal gland. *Experiencia*. 1989;45:922-31.
18. Konturek S, Konturek P, Brzozowska I, Pawlik M, Sliwowski Z, CzeNikiewicz-Guzik M, et al. Localization and biological activities of melatonin in intact and diseased gastrointestinal tract (git). *J Physiol Pharmacol*. 2007;58:381-405.
19. Hasegawa A, Ohtsubo K, Mori W. Pineal gland in old age; quantitative and qualitative morphological study of 168 human autopsy cases. *Brain Res*. 1987;409:343-9.
20. Golan J, Torres K, StaEkiewicz G, Opielak G, Maciejewski R. Morphometric parameters of the human pineal gland in relation to age, body weight and height. *Folia Morphol*. 2002;61:111-3.
21. Carvajal J, Carbajo S, Gómez E, Álvarez-Morujó Suárez AJ, Muñoz Barragán L. Cellular proliferation in the rat pineal gland during postnatal development. *Histol Histopathol*. 1998;13:697-701.
22. Wedel T, Spliegler J, Soellner S, Roblick UJ, Schiedeck TH, Bruch HP, et al. Enteric Nerves and Interstitial Cells of Cajal are Altered in Patients with Slow-Transit Constipation and Megacolon. *Gastroenterology*. 2002;123:1459-67.
23. Geneser F. Sistema endocrino. En: Geneser F, editor. *Histología*. 3.<sup>a</sup> ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2000. p. 590-5.
24. Perry-David C, Xiao Y, Nguyen H, Musachio JL, Davila Garcia MI, Kellar KJ. Measuring nicotinic receptors with characteristics of alpha4beta2, alpha3beta2 and alpha3beta4 subtypes in rat tissues by autoradiography. *J Neurochem*. 2002;82:468-81.
25. Thuneberg L. Interstitial cells of Cajal: intestinal pacemaker cells. *Adv Anat Embryol Cell Biol*. 1982;71:1-130.
26. Sanders K, Ördög T, Ward S. Physiology and pathophysiology of the interstitial cell of cajal: from bench to bedside. IV. Genetic and animal models of GI motility disorders caused by loss of interstitial cells of Cajal. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2002;282:747-56.
27. Teclemariam-Mesbah R. Anatomical demonstration of the suprachiasmatic nucleus-pineal pathway. *J Comparative Neurol*. 1999;406:171-82.
28. Daniel E, Berezin I. Interstitial cells of Cajal: are they major players in control of gastrointestinal motility? *J Gastrointest Motil*. 1992;4:1-24.