

# CINCUENTA AÑOS CON LA PIEDRA DE LA LOCURA

## Apuntes Autobiográficos de un Científico Argentino



**Daniel Pedro Cardinali**

El **Dr. Daniel P. Cardinali** es Médico y Doctor en Ciencias Biológicas. Es también Doctor “honoris causa” en Medicina de las Universidades Complutense de Madrid y de Salamanca y Académico Correspondiente de la Real Academia de Medicina de España y de la Academia de Ciencias Médicas de Córdoba. Es Investigador Superior del CONICET y Profesor Emérito de la UBA. Se desempeña actualmente como Director del Departamento de Docencia e Investigación, Facultad de Ciencias Médicas, y Director del Doctorado en Ciencias Biomédicas, Pontificia Universidad Católica Argentina.



*Foto: Diario La Nación*

Cardinali, Daniel Pedro

Cincuenta años con la piedra de la locura : apuntes autobiográficos de un científico argentino / Daniel Pedro Cardinali. - 1a ed. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires : Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias, 2015.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-987-28123-5-5

1. Conocimiento Científico. I. Título.

CDD 507

Ficha de catalogación

CINCUENTA AÑOS CON LA PIEDRA DE LA LOCURA.

Apuntes Autobiográficos de un Científico Argentino.

Daniel Pedro Cardinali

Diseño: AAPC

Maquetador: Gabriel Gil

Editado en 2015 por



Prohibida su reproducción total o parcial sin citar la fuente

ISBN Nº 978-987-28123-5-5

Queda hecho el depósito que marca la Ley 11.723

<http://www.aargentinapciencias.org/>

© 2015 ASOCIACIÓN ARGENTINA PARA EL PROGRESO DE LAS CIENCIAS

# ÍNDICE

	Pág.
Prólogo .....	6
¿Contagia la piedra? .....	6
Capítulo I. ....	8
Breve Historia de la Piedra de la Locura. ....	8
Capítulo II. ....	20
La Etapa Precientífica de la Glándula Pineal. ....	20
Capítulo III. ....	41
Los Inicios de la Era Científica Pineal: Desde Fines del Siglo XIX Hasta la Melatonina. ....	41
Capítulo IV. ....	54
De Cuando Irrumpe en la Historia este Cronista: los '60. ....	54
Capítulo V. ....	65
La Piedra de la Locura como Modelo Neuroendocrino: los '70. ....	65
Capítulo VI. ....	91
La Inervación Periférica del Hipotálamo: Lo Difícil que es Cambiar un Paradigma Fisiológico. ...	91
Capítulo VII. ....	107
Proyecciones Neuroinmunoendocrinas del Simpático Cervical. ....	107
Capítulo VIII. ....	129
La Melatonina como Fármaco Potencial: los '80. ....	129
Capítulo IX. ....	149
La Melatonina como Cronobiótico: los '90. ....	149
Capítulo X. ....	171
Melatonina y las “Enfermedades del Alma”: el Retorno de la Piedra de la Locura. ....	171

<b>Capítulo XI.....</b>	<b>185</b>
<b>Siglo XXI. ¿La Melatonina como Medicamento de la Sociedad 24/7? .....</b>	<b>185</b>
<b>Epílogo.....</b>	<b>213</b>
<b>Cuando los Alumnos Superan al Maestro.....</b>	<b>213</b>
<b>Adendo. ....</b>	<b>219</b>
<b>Los Guijarros de la Piedra de la Locura. ....</b>	<b>219</b>

# PRÓLOGO

## ¿Contagia la piedra?

El objetivo de este relato es recapitular. Recapitular la azarosa existencia de la glándula pineal como entidad histórica, mística, médica y su vinculación, en gran parte olvidada, con la leyenda de la Piedra de la Locura. Recapitular cómo impacta en la vida de un científico la serendipia de haberse vinculado en el inicio de su carrera con un tema como el de la melatonina, cuando recién se habían sentado las bases para su reconocimiento como “hormona de la oscuridad”. Recapitular en fin cuál es el sentido de la obra del científico y concluir que no es otro que empujar un poco la frontera de la Ciencia y perpetuar esta insigne profesión formando discípulos que superen al maestro.

No se trata de una revisión científica sino de lo que la memoria ha dejado en la mente de este cronista luego de los 50 años vividos con un objetivo manifiesto: elucidar el mecanismo y significado del principal producto pineal, la melatonina, y llevarlo a una etapa de aplicación terapéutica. Hoy sabemos que en el hombre la melatonina pineal comienza a liberarse cada día hacia el atardecer y existen pruebas de que éste es el disparo del proceso del sueño (la señal que “abre las puertas del sueño”). Pero el aspecto más apasionante de la melatonina es que se trata de una sustancia que está presente en todos los seres vivos, desde los unicelulares, pasando por las plantas, a los mamíferos superiores, una prueba irrefutable de su importancia para la vida.

La melatonina es el prototipo de los “cronobióticos”, fármacos utilizados para sincronizar y aumentar la amplitud de los ritmos circadianos. Un análogo sintético de la melatonina (tasimelton, Hetlioz<sup>R</sup>, Vanda Pharmaceutical) acaba de ser aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) en EEUU en 2013 para su uso en el trastorno circadiano del sueño con ritmo diferente de 24 horas de individuos ciegos. En el mercado argentino la melatonina fue introducida como medicamento para el insomnio en 1995, y existen análogos de la melatonina utilizados con este fin en EEUU (ramelton y tasimelton) así como para el tratamiento de la depresión (agomelatina, aprobada por la European

Medicines Agency en Europa y por ANMAT en la Argentina). Pero todo esto no explica el por qué de la persistencia evolutiva de la melatonina presente ya en seres que ni duermen ni sufren trastornos emocionales.

Hay mucho en la historia de la melatonina que atrae y ello será brevemente recapitulado en las páginas que siguen. Inspirado en las ideas de Jorge Luis Borges uno podría imaginar a la memoria como un resquebrajamiento del olvido. Y en alguna forma el resquebrajamiento de la Piedra de la Locura subyace a este relato: quizá, la Piedra sí haya contagiado al cronista...

Para más datos sobre el trabajo e intereses del autor véase:

[www.daniel-cardinali.blogspot.com](http://www.daniel-cardinali.blogspot.com)

Daniel P. Cardinali

Primavera de 2015

# CAPÍTULO 1

## **BREVE HISTORIA DE LA PIEDRA DE LA LOCURA.**


La glándula pineal se calcifica a partir de los 20 años, como parte de un proceso normal. La calcificación pineal, siempre presente, es en dos de cada tres adultos normales visible en una radiografía lateral de cráneo con la forma de una pequeña “piedra”. En esto difiere con otras zonas del cerebro como los plexos coroideos que en su histología revelan también calcificación pero no visibles en Rx convencionales.

Es evidente entonces que cualquier ser humano que por curiosidad o necesidad hubiera hurgado dentro del cráneo de un congénere hubiera tenido muchas chances de identificar la “piedra” pineal. Y como las piedras (o cálculos) fueron reconocidos desde muy antiguo como asociados a enfermedades urinarias o biliares, parece lógico que alguien vinculara la enfermedad mental con la presencia de la piedra cerebral.

Identificada la piedra por extraer, el otro componente imprescindible es el orificio a través del cual se la extraerá. Y en este sentido cabe destacar que si existe un procedimiento quirúrgico realizado por todas las culturas desde la Antigüedad, ese es el de la trepanación. La trepanación es uno de los ejemplos más antiguos de un acto quirúrgico realizado por el ser humano y se refiere a la retirada de secciones de hueso del cráneo mediante un instrumento llamado trépano (del griego trypanon, perforador).

La trepanación ya se conocía desde las edades de Piedra y del Bronce en Europa. Estudios con radiocarbono han mostrado que en el cementerio de Vasilyevka, en los rápidos del río Dniéper, a 400 km al sur de Kiev, Ucrania, los cráneos trepanados identificados pueden datarse entre el 8020 y el 7620 aC siendo éstos los cráneos trepanados más antiguos encontrados hasta la actualidad.





Hoy existen más de 1500 especímenes estudiados de cráneos humanos trepanados. Se han encontrado alrededor de 450 cráneos trepanados de la Edad de Piedra en Europa. La mayor parte de ellos se encontró en Francia, en la región del Seine-Oise-Marne. También se han encontrado cráneos trepanados de la Edad de Bronce en Jericó (Israel) y de la Edad del Hierro en Lachish (Israel) así como en Pakistán, Cachemira, China y Hokaido (Japón). Con respecto a las culturas precolombinas, se han descubierto más de 2000 cráneos trepanados en los museos arqueológicos de Perú y Bolivia que muestran evidencias de que la trepanación se realizó en las culturas del altiplano andino y de la costa peruana hace más de 2500 años. Se estima que un 5-6% de las 10000 momias que se hallaron en Perú muestran signos de haber sido sometidas a una trepanación. Se desconoce el motivo por el cual se realizaron las trepanaciones. Lo cierto es que la mayor parte de las trepanaciones de la Prehistoria se realizaron sobre cráneos que no muestran señales de violencia.

En la antigua Grecia y Roma la trepanación se realizó para tratar la epilepsia. Existen también descripciones en la medicina grecorromana, primero en Hipócrates y posteriormente en Celso en la primera mitad del siglo I dC y Galeno a finales del siglo II dC., que recomendaban la trepanación para las fracturas de cráneo con hundimiento de la calota y para traumatismos craneoencefálicos cerrados. La trepanación todavía se practica en algunas comunidades de África (árabes chaouias de Argelia, tribus kisii en Kenia) y entre los maoríes de Melanesia y Polinesia.

Ya que sólo podemos hipotetizar sobre los motivos que indujeron a los pueblos antiguos a practicar la trepanación, podemos intentar buscar explicaciones entre las tribus que todavía la practican hoy en día. Entre los nativos de las islas del Pacífico, las trepanaciones se han practicado para tratar fracturas, epilepsias y cefaleas. En la actualidad, existen diversas comunidades en África donde se practica la trepanación, fundamentalmente por dos motivos: mágico espiritual (tratamiento de los trastornos mentales) y terapéutico, para tratar fracturas y traumatismos craneoencefálicos.



*Figura 1.1. El Bosco, Extracción de la piedra de la locura, c. 1475-1480, óleo sobre tabla. Madrid, Museo Nacional del Prado.*

Sorprendentemente, en la actualidad existe en Occidente una corriente mística que defiende la trepanación simbólica por razones espirituales. Varias personas de este grupo se han practicado la autotrepanación en Estados Unidos, Países Bajos y Reino Unido con la finalidad de adquirir un estado expandido de consciencia. Piensan que practicando un orificio en su cráneo se favorece la pulsación del cerebro, lo que estimularía la creatividad.



*Figura 1.2. Copia de Pieter Brueghel el Viejo, Extracción de la piedra de la locura, c. 1557. Saint-Omer, Musée de l'Hôtel Sandelin (Francia)*

En la Edad Media desaparecen los escritos que mencionen la trepanación y la única excepción conocida es la del médico persa Rhazes (c. 854-925/935) quien denuncia “a los charlatanes que pretendían curar la epilepsia haciendo una incisión en la frente y aparentando extraer algo que llevaban escondido en la mano”. En realidad la extracción de la “Piedra de la Locura” cobra fama por motivos pictóricos en el Renacimiento a través de obras famosas de artistas holandeses (Figuras 1.1 a 1.6).



*Figura 1.3. Pieter Huys, Extracción de la piedra de la locura, 1561. Périgueux, Musée d'Art et Archéologie du Périgord (Francia).*

El tema de los cuadros abona a la hipótesis arriba planteada, que la locura, en un sentido muy amplio, era el resultado de la formación de estructuras similares a los cálculos renales, dentro de la cabeza. Estas piedras presionarían sobre el cerebro, o taponarían los ventrículos, o generarían una disfunción neural alterando el funcionamiento normal encefálico. ¡Sin duda, la “Piedra de la Locura” era ni más ni menos que la glándula pineal!

En las pinturas que tratan de la “extracción de la piedra de la locura”, un hombre que ejerce la medicina, sea persona conocedora de los tratados y formada en la universidad (y por tanto merecedor del

calificativo de “médico”), sea alguien que ha adquirido su conocimiento profesional a través de la práctica y la enseñanza oral (y por tanto susceptible de ser considerado un “charlatán”), hace una incisión en el cráneo del paciente y extrae un cuerpo extraño, generalmente una piedra, aunque también puede ser una flor, como ocurre en el caso de El Bosco (Figura 1.1).



*Figura 1.4. El cirujano, Jan Sanders Van Hemessen, 1550, óleo sobre tabla. Madrid, Museo Nacional del Prado.*

Sea piedra o flor, extraída verdaderamente del cráneo del paciente u oculta en la mano del falso médico, esta es presentada como la causa de desorden mental o locura. Se piensa que en aquella época un paciente podía ser tachado de loco por diferentes causas. Una sería la enfermedad mental con un problema psiquiátrico grave. La segunda sería el bufón, es decir el que divierte y entretiene a los demás, y que suele tener algún tipo de discapacidad mental y/o física, aunque de menor importancia. La tercera sería el enamorado o el que se deja llevar por el impulso sexual o la lujuria, por extensión

el que se deja arrastrar por el pecado. En función de estas connotaciones de la locura, han surgido dos grandes líneas interpretativas con respecto a la serie de pinturas mostradas en las Figuras 1.1 a 1.6.

La primera implica que la extracción de la piedra de la locura es una trepanación terapéutica que tiene como objeto curar o causar una mejoría en un paciente que sufre algún tipo de dolencia mental.



*Figura 1.5. Jan Steen, Extracción de la piedra, 1670. Rotterdam, Museum Boijmans Van Beuningen (Holanda).*

La segunda, que la extracción de la piedra no es más que una puesta en escena en la que un hombre, que ha caído presa de la lujuria, es reintegrado en los cauces sociales, anulando su deseo sexual e inclusive castrándolo.



*Figura 1.6. David Teniers, El Joven, (1610 - 1690) La operación quirúrgica. Museo del Prado, Madrid, España.*

En la serie de Figuras 1.1 a 1.6 hay varios personajes que no faltan. En una posición central está el cirujano, caracterizado de distintas formas: dignificado y con anteojos, como en el cuadro de Jan Sanders Van Hemessen (Fig. 1.4), o ridiculizado y con un embudo sobre la cabeza como en la tabla

de El Bosco (Fig. 1.1), llevando a cabo la incisión, extrayendo la formación calcárea, o cosiendo la piel de la frente. Junto a él, el paciente, sentado, inmovilizado, y que hace todo lo posible para resistir estoicamente la operación. Y alrededor de ambos, y en número variable, hombres y mujeres que asisten al médico, o curiosos que se congregan para ver qué ocurre, o pacientes que esperan a ser intervenidos. La cirugía se desarrolla normalmente en un interior en el que aparecen libros (como en la obra de Pieter Huys, Figura 1.3, o las propias piedras extraídas a los pacientes y colgadas de un cordel (como en la pintura de Van Hemessen, Figura 1.4).

En La extracción de la piedra de la locura de Pieter Bruegel el Viejo (Figura 1.2) la escena se desarrolla en una suerte de consulta médica psiquiátrica, donde otros enfermos, en total desorden, esperan a ser atendidos o están siendo intervenidos. Posiblemente es el interior de un hospital o de un manicomio. Se describen varias escenas al mismo tiempo y hay una representación caricaturesca de los personajes retratados. A varios pacientes les están extrayendo la piedra de la locura, otros parecen tener la cabeza vendada o les están haciendo curas. Uno ha conseguido volcar la silla a la que está atado y el cirujano le persigue.

En la Extracción de la piedra de la locura de Pieter Huys (Figura 1.3), el ambiente es más sosegado, y el médico parece estar o marcando el lugar en que hacer la incisión o bien cosiendo el lugar por donde se extrajo la piedra. En este caso son seis los personajes: el cirujano, el paciente, un clérigo con las manos en gesto de rezar y tres mujeres, una de las cuáles sujeta la mano de la víctima. El paciente está atado a la silla con una tela blanca. La escena tiene lugar en la casa del médico-cirujano y se ven distintos libros y frascos con remedios.

En El Cirujano de Van Hemessen (Figura 1.4) se destaca el médico con anteojos, el cordel con las piedras de la locura, las dos mujeres que lo asisten, y el hombre que espera. El “cirujano” tiene una expresión autosuficiente y satisfecha. A su lado, una mujer mayor ayuda a sujetar la cabeza del paciente. A la derecha del cirujano se ve una soga o cordel de la que cuelgan distintas piedras de un tamaño parecido, seguramente la muestra para los clientes dubitativos de los éxitos en operaciones anteriores. Detrás de la señora mayor, una mujer joven parece preparar un ungüento o pomada



mientras que el último personaje, probablemente el siguiente candidato para la trepanación, está arrodillado, con los ojos cerrados vueltos al cielo.

En la Extracción de la piedra de Jan Steen (Figura 1.5) vuelve a subir la tensión dramática de la escena, y mientras el médico con anteojos opera al paciente, que se retuerce de dolor, una mujer anciana coloca un platillo bajo su cabeza para recoger las concreciones calcáreas, y un grupo de curiosos se asoma a la ventana. Una idea semejante está plasmada en la obra de David Teniers, El Joven (Figura 1.6).

La última representación es un grabado del siglo XVI de N. Weymans donde se muestra la extracción del cálculo cerebral y puede leerse "Come, run, be filled with joy. Here we are cutting the woman of her stone" (venga, corran, llénense de alegría. Aquí estamos liberando a la mujer de su piedra" (Figura 1.7).

En resumen, la extracción de la Piedra de la Locura fue una trepanación terapéutica que tenía por objeto curar o causar una mejoría en un paciente que sufría algún tipo de dolencia mental. Como no hay ninguna referencia escrita a esta cirugía no puede saberse si ésta seguía realizándose según métodos y procedimientos de la Antigüedad, o si por el contrario, había pasado a ser una leyenda que servía a los pintores para retratar la sociedad de su época y para hacer una crítica mordaz de los falsos médicos y los charlatanes así como de los incautos que se dejaban engañar por ellos.

Los cirujanos practicaban su profesión en los campos de batalla, además de hacerlo en lugares públicos, ferias y mercados, ofreciendo sus servicios en tiendas de campaña, acompañados a menudo de actos malabaristas y otras diversiones.



*Figura 1.7. Extracción de cálculo cerebral, N. Weymans (Grabado), S XVI, Wellcome Library, Londres.*

Eran denigrados por los médicos educados en las universidades, los cuales contaban con diplomas que acreditaban sus estudios y reconocimientos científicos. La cirugía era ejercida por barberos, curanderos y charlatanes. Además de extraer la Piedra de la Locura del cráneo practicaban la sangría y hacían extracciones dentarias y trataban luxaciones y fracturas.

## Referencias

La piedra de la locura. Irene González Hernando:

(<http://www.ucm.es/data/cont/docs/621-2013-11-21-PIEDRA%20DE%20LA%20LOCURA.%20Irene%20Gonz%C3%A1lez%20Hernando.pdf>)

<http://www.binasss.sa.cr/revistas/neuroeje/v24n2/art5.pdf>

<http://jralonso.es/2011/06/05/la-piedra-de-la-locura/>

## Capítulo II

### La Etapa Precientífica de la Glándula Pineal

Ya desde tiempos primitivos, tanto en Oriente como en Occidente, se encuentran ideas sobre un significado relevante de la glándula pineal en las funciones mentales. Como ya hemos dicho, es probable que su ostensible calcificación (“piedra” cerebral) haya provocado el interés de aquéllos que por un motivo y otro tuvieron acceso al interior de un cráneo.



*Figura 2.1 Shiva como jefe de familia con su esposa Parvati representada en una pintura de 1820 de Rajput. Nótese el tercer ojo.*

En la filosofía hindú y su literatura védica una de las leyendas más populares narra cómo Parvati, la esposa del dios Shiva, le cubrió los ojos, quedando el mundo sumido en una confusa situación de oscuridad. Afortunadamente, apareció en la frente de Shiva un tercer ojo, con lo que el mundo se salvó del inevitable desastre (Figura 2.1). En este sentido, según las antiguas tradiciones hindúes, los seres humanos dispondrían de un 'tercer ojo' u órgano místico (la glándula pineal) que les proporcionaría una especie de ventana a su propia vida espiritual y que tendría la clave de su poder mental (Modeak, 1993).

Para la interpretación tántrica del Budismo, existen en el cuerpo humano de 6 a 8 "centros neurales" localizados a diferentes niveles y llamados Chakras. El inferior se localiza a nivel del ano y de los órganos sexuales (el muladhara chakra) y controla la actividad sexual. En él reside una cierta forma de energía, a la que se denominó como "el poder de la serpiente" (Kundalini shakti). Normalmente ella es potencial y la serpiente se halla en reposo, pero al activarse ejerce amplia influencia sobre los procesos mentales. Se puede "despertar" (activar) el Kundalini shakti por la práctica intensa de las técnicas yogas que involucran procesos contemplativos de la mente y una vez activada, esta energía tiene que ser canalizada paso por paso a través de la serie de centros neurales (chakras), alcanzando por último al ajna chakra localizado a la altura de la frente, entre ambos ojos y que muchos piensan representa a la glándula pineal. La energía debe fluir del ajna chakra al brahma randra, el cual representa, posiblemente, a los ventrículos laterales (Ray, 2001).

O sea para el Budismo la pineal es el sexto chakra (Ajna), cuyo fin es proporcionar una ventana a la vida espiritual de los individuos como órgano clave para la clarividencia y la meditación. Como la mayor actividad del Ajna se da entre las 2 y 6 de la madrugada, éste era el mejor momento para alcanzar el máximo estadio en la meditación, lo que sin duda es una interesante hipótesis ya que hoy sabemos que la máxima activación metabólica de la pineal, incluyendo la síntesis de melatonina, alcanza su máximo hacia las 02:00-04:00 h.

En Occidente el vínculo de la pineal con la enfermedad mental existió desde un principio. Muchas corrientes de pensamiento y escuelas de medicina en la Antigüedad Clásica trataron de explicar

el origen de los trastornos mentales como “enfermedades del alma”. Los grandes filósofos de la Antigüedad Clásica (Platón, Aristóteles) defendieron el concepto de un alma racional que posee un carácter inmaterial, con sus enfermedades entendidas como una perversión del espíritu, una especie de defecto moral.

En cambio, el acercamiento a la naturaleza íntima del alma humana por las escuelas de medicina en la antigua Grecia fue más materialista. Hipócrates en el siglo IV aC consideró que el alma estaba íntimamente ligada a la corporalidad y, por tanto, sus afectos y los males carecían en gran parte de la connotación sobrenatural que se le atribuían. El legado fue recogido por la Escuela de Medicina de Alejandría que alcanzó su esplendor en el siglo III dC cuyos representantes principales fueron Herófilo y Erasistrato. Erasistrato habla de aire (el pneuma cósmico), que después de su transporte desde los pulmones hasta el corazón se transforma por el músculo cardíaco en pneuma zootikon (espíritu vital), el que es posteriormente transmitido, a través del torrente sanguíneo, hacia el cerebro, donde se transforma, en los ventrículos cerebrales, en pneuma psychikon (espíritu animal) (López-Muñoz et al., 2011).

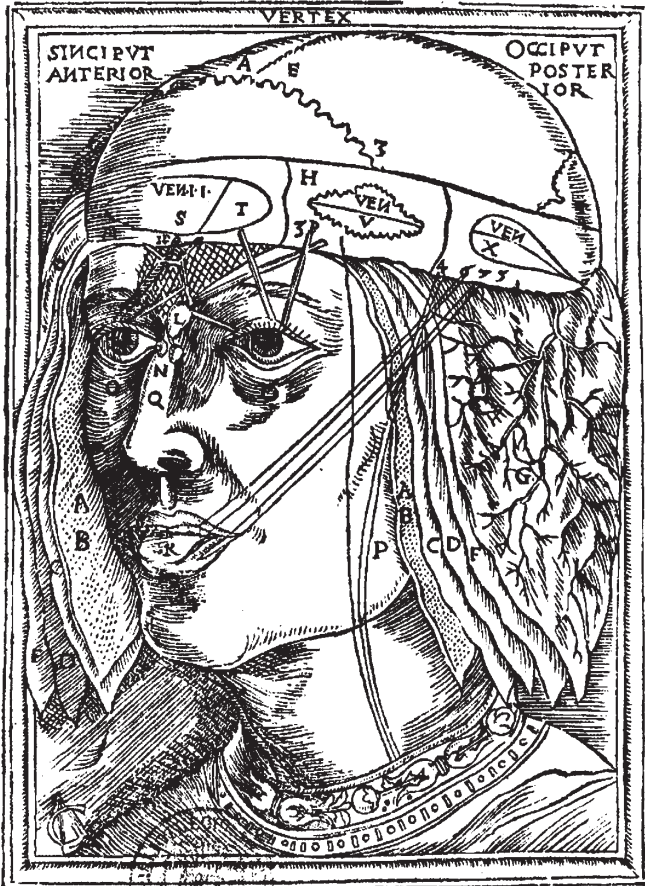
Estas hipótesis derivan de las teorías fisiológicas sobre el funcionalismo cerebral, defendidas por varios presocráticos (siglo V aC), tales como Alcmeón quien aceptó la presencia de poros y canales en el cerebro y Demócrito quien defendió la existencia de átomos vitales en movimiento perpetuo dentro de los poros de diferentes órganos. Son ideas consistentes con los postulados de la corriente estoica del pneumatismo, promovido por Diógenes y Anaxímenes que toman al aire como el principio esencial de la vida. Para Areteo de Capadocia (ca 100 dC) la enfermedad mental era una discrasia en la mezcla adecuada de las cuatro cualidades elementales del aire (caliente, frío, seco y húmedo), lo que daba lugar a una alteración en la dinámica del pneuma o espíritu, un producto refinado del aire que se respira,

(ver [http://en.wikipedia.org/wiki/History\\_of\\_mental\\_disorders](http://en.wikipedia.org/wiki/History_of_mental_disorders)).

Los seguidores de esta corriente, incluyendo a Sorano de Éfeso (siglo II dC) y a Celio Aureliano (siglo IV dC), creían que las enfermedades del alma estaban en un desorden del correcto movimiento de los

átomos a través de sus canales a nivel cerebral, ya sea mediante un aumento de su tensión (estado strictus), la relajación excesiva (estado lusus), o una alteración en ambos estados (estado mixtus). Por ejemplo, la causa de la melancolía para Sorano es el estrechamiento de los canales del cuerpo, evitando así, a nivel cerebral, el flujo correcto de los átomos y generando el estado depresivo.

VNIVERSALIS FIGVRA CAPITIS HVMANI, CVIVS  
explicationem, in fine figurarum capitís, reperies.



*Figura 2.2. Grabado de Johan Eichmann (1500-1560) que ilustra la teoría de la Rete Mirabile y de los ventrículos cerebrales como sede de las funciones mentales*

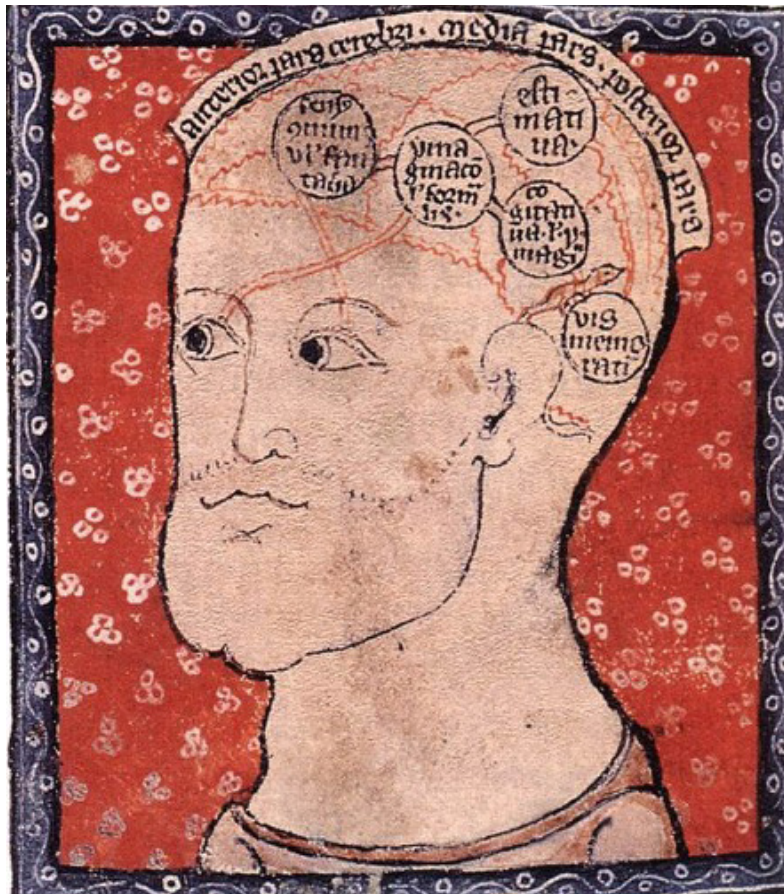
En este marco fisiopatológico neumático y atomista la glándula pineal emerge como importante. La primera referencia expresa a la pineal en la cultura occidental está en la Escuela de Alejandría. Herófilo planteó la idea que la pineal ejercía un control valvular, similar a un esfínter, que regulaba el flujo de los espíritus vitales del ventrículo medial a la parte posterior, la ubicación que Aristóteles le daba a la mneme (memoria). Como prueba de naturaleza valvular se daba el hecho que uno para recordar algo se golpea la frente “lo que moviliza los recuerdos desde las cavidades posteriores a las anteriores”. Este papel de la pineal como válvula fue posteriormente defendido por otros autores como, por ejemplo, Hipólito de Roma (siglo II dC) quien sostenía que la pineal era de gran importancia en la dinámica de los espíritus vitales y, por lo tanto, en la génesis de las enfermedades del alma {López-Muñoz et al., 2010 a,b}.

Galeno (siglo II dC) niega tanto la trascendencia fisiológica del órgano pineal como su relación con la patogénesis de las enfermedades mentales. Galeno supuso la existencia de un alma racional, localizada en el cerebro, y habló de una facultad humana (dynamis) que correspondía a los espíritus (pneumata) compuestos de un material extremadamente sutil. El pneumata llega al cerebro transportado por la sangre, la que a través de la rete mirabile (Figura 2.2) daría lugar, en los ventrículos laterales al pneuma mental o espíritu animal. Para Galeno, el cerebro actuaría como una especie de bomba hidráulica de distribución del pneuma mental a través del cuerpo. Galeno llamó a la pineal “conarium” derivado del griego “konaerion” (que significa piña). Una interpretación acerca del nombre pineal es por la forma que adopta esta glándula en los humanos. El término “epifisis cerebri”, también utilizado frecuentemente, hace referencia a su posición en la parte superior del encéfalo en muchos animales (Russell, 2010).

Galeno elimina el papel del órgano pineal como un esfínter y atribuye este papel al vermis cerebeloso, estructura anatómica que actuaría como una especie de válvula capaz de cerrar el acueducto de Silvio y de impedir el paso del pneuma al cuarto ventrículo o posterior, la ubicación o el asiento de la memoria. De acuerdo con Galeno, el órgano pineal es extracerebral y con incapacidad para producir movimiento, por lo que no puede funcionar como válvula. La función que le da Galeno a la pineal es la de mantener unida la masa de venas que cubre las caras posterior y dorsal del diencéfalo (las venas de Galeno).



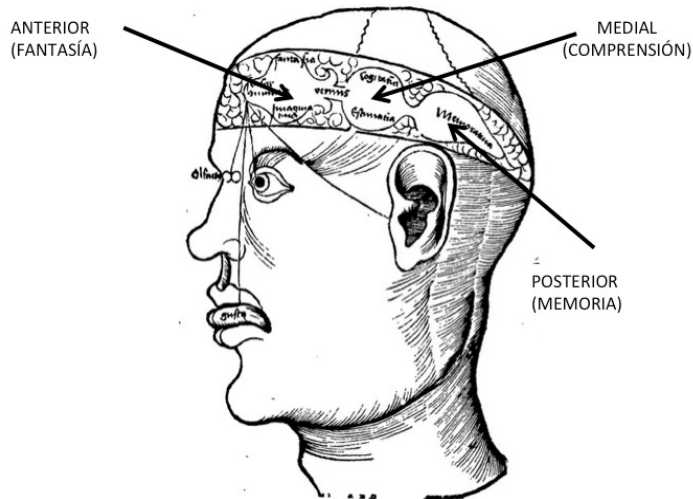
Galeno rediseñó la teoría neumática y explicó la etiología de las enfermedades del alma siguiendo los postulados de la doctrina de los humores sobre la base hipocrática de los cuatro elementos, visión que duraría hasta el siglo XVIII. Las diferentes partes del cuerpo, incluyendo el alma, están formadas por una mezcla, en proporciones variables, de los cuatro humores (sangre, flema, bilis amarilla y bilis negra). En estado de salud se encuentra la mezcla bien equilibrada y las enfermedades, entre ellas las del alma, se deberían a una perversión de esta mezcla, con el predominio o el déficit de ciertos humores y sus respectivas cualidades (Russell, 2010).



*Figura 2.3. En este grabado de ca. 1300 se muestra cómo el vermis (flecha) regula la entrada al IV ventrículo (University Library, Cambridge).*

Como sabemos la influencia de Galeno en los siglos subsiguientes fue muy marcada. Los médicos medievales produjeron una compleja elaboración de las teorías de Galeno según las cuales el cerebro, como el asiento del alma, actuaría, a través del pneuma, sobre la fantasía, la comprensión y la memoria. Éstas residirían, de acuerdo al Obispo Nemesio de Emesa (siglo IV dC), en los tres ventrículos anterior, medial y posterior, respectivamente (teoría de las tres celdas) (Figuras 2.3 y 2.4).

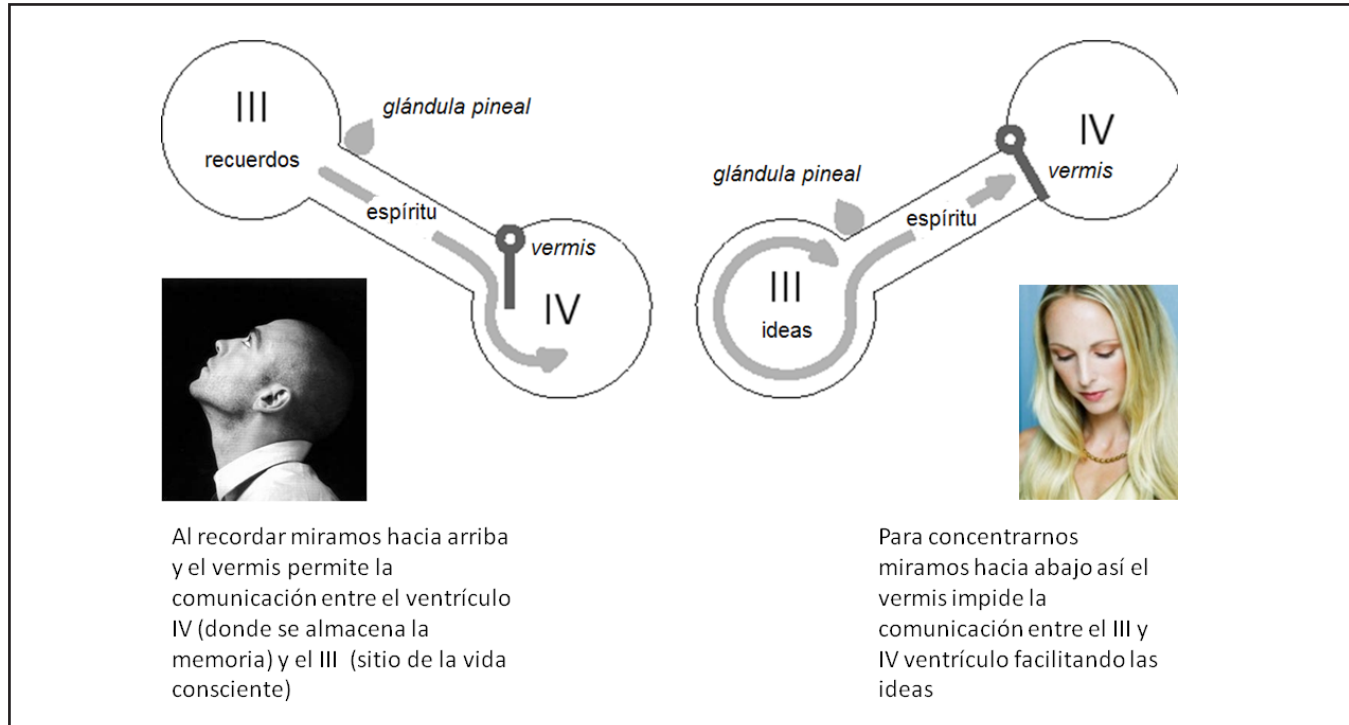
Por su parte en el mundo islámico Costa Ben Luca (siglo IX) combinó las teorías de Galeno y Nemesio y defendió la existencia de una especie de válvula de la memoria (el vermis), actuando como un esfínter para regular el paso entre los ventrículos medial y posterior (Figura 2.5).



*Figura 2.4. Teoría de las tres celdas de Nemesio de Emesa. La figura es de Mondino de Luzzi, ca. 1270 – 1326), médico y profesor de cirugía italiano, considerado el “Restaurador de la anatomía”, por reintroducir las prácticas de disección con cadáveres humanos. El esquema muestra al gusano (o vermis) entre los ventrículos anteriores y posterior.*

Esta explicación mecánica valvular del funcionamiento de la memoria ejerce gran influencia en la Edad Media y llevó al renacimiento de la idea que glándula pineal funcionaba como una válvula en el flujo de los espíritus ya que varios de los autores de textos médicos de esa época utilizaron erróneamente el término pineal para designar al vermis cerebeloso {López-Muñoz et al., 2011}.

Sin embargo Vesalio en el siglo XVI rechaza el concepto valvular de la glándula pineal, así como la de otras estructuras anatómicas incluyendo al vermis del cerebelo. A pesar de ello, la hipótesis mecánica valvular siguió siendo defendida durante el Renacimiento y se prolongó hasta el siglo XIX con François Magendie quien afirmó que la glándula pineal era “una válvula de apertura y cierre del acueducto cerebral”.



*Figura 2.5. Teoría de Costa Ben Luca, ca 900 dC*

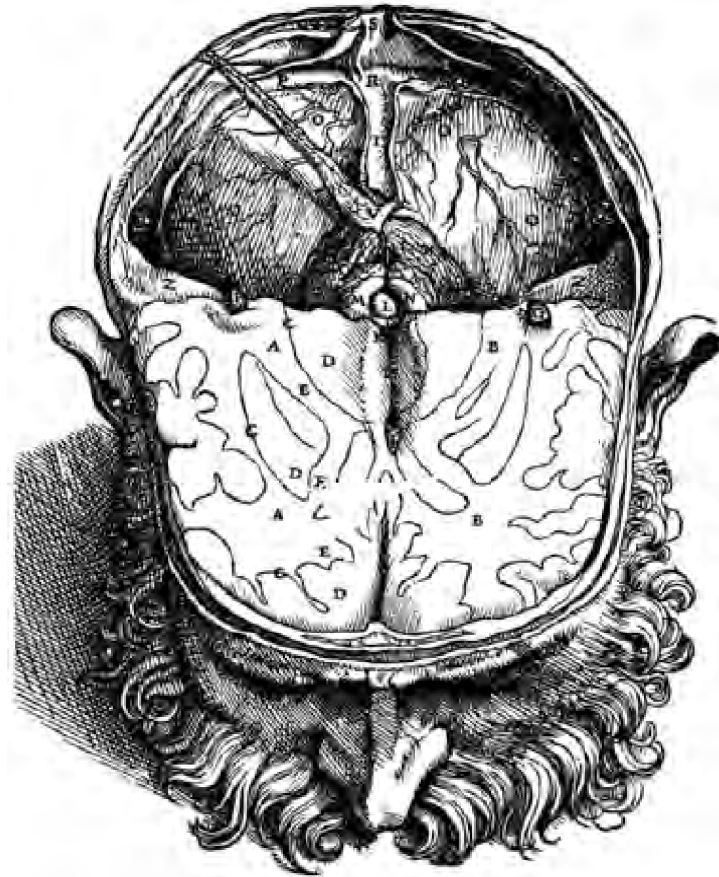
Con el auge del cristianismo un nuevo factor se añadió a la etiología de las enfermedades morales o trastornos del alma: el castigo divino, que fue cediendo lugar a la realización de la hipótesis de posesión diabólica. Surge la idea que algunas enfermedades mentales, tales como la histeria, por ejemplo, podrían ser de origen demoníaco. La relación entre la melancolía humoral y actividades pecaminosas, incluso relacionadas con el pecado original, fue presentada por Hildegard de Bingen (siglo XI).

Hablamos ya de los mitos relacionados con la “piedra de la locura” que prosperaron durante la Edad Media. Aún hoy en Holanda se suele decir que “alguien tiene una piedra en la cabeza” para referirse a los individuos de comportamiento extravagante. Así la extracción de “piedras de la locura” se convirtió en una práctica habitual entre los cirujanos y charlatanes medievales (Capítulo 1).

La crítica renacentista en boga en el medio cultural de la Edad Media, hizo posible a la ciencia moderna crecer reduciéndose así la influencia escolástica. Vesalio, el padre de la anatomía moderna, refuta todas las teorías clásicas sobre la ubicación ventricular de la función mental, así como la capacidad de la rete mirabile, la red de vasos sanguíneos situados en la base de la cerebro, para producir espíritus animales. No obstante, Vesalio defiende aspectos tales como la conducción de los espíritus animales a través de los nervios. En su obra magna (*De humani corporis fabrica*, Libro VII, Basilea, 1543) incluye la primera representación gráfica de la glándula pineal humana (Figura 2.6).

En el Renacimiento, y aunque el origen de la locura se explica todavía en términos de los postulados clásicos de Galeno, aparecen otras ideas. Para Paracelso (siglo XVI) las enfermedades representan alteraciones en el Arché, una especie de organizador de los procesos químicos del cuerpo (“alquimista del cuerpo”). Existe una tríada de principios naturales: mercurio, azufre y sal y el mercurio subyace a la propiedad de la volatilidad (la espiritualidad), por lo que su alteración química está detrás de trastornos psiquiátricos como la manía o delirio (López-Muñoz et al., 2011).

Como consecuencia de las guerras religiosas que se extendieron por toda Europa en ese momento, muchas manifestaciones de la enfermedad mental fueron vistas como un signo de intervención diabólica. Cualquier desviación del orden establecido, incluyendo la desviación mental, podía ser referida a los tribunales religiosos como un signo de posesión por el demonio.



*Figura 2.6. Andrés Vesalio De humani corporis fabrica (1555). Se muestra la localización de la glándula pineal (L), justo en el centro de la cavidad craneal.*

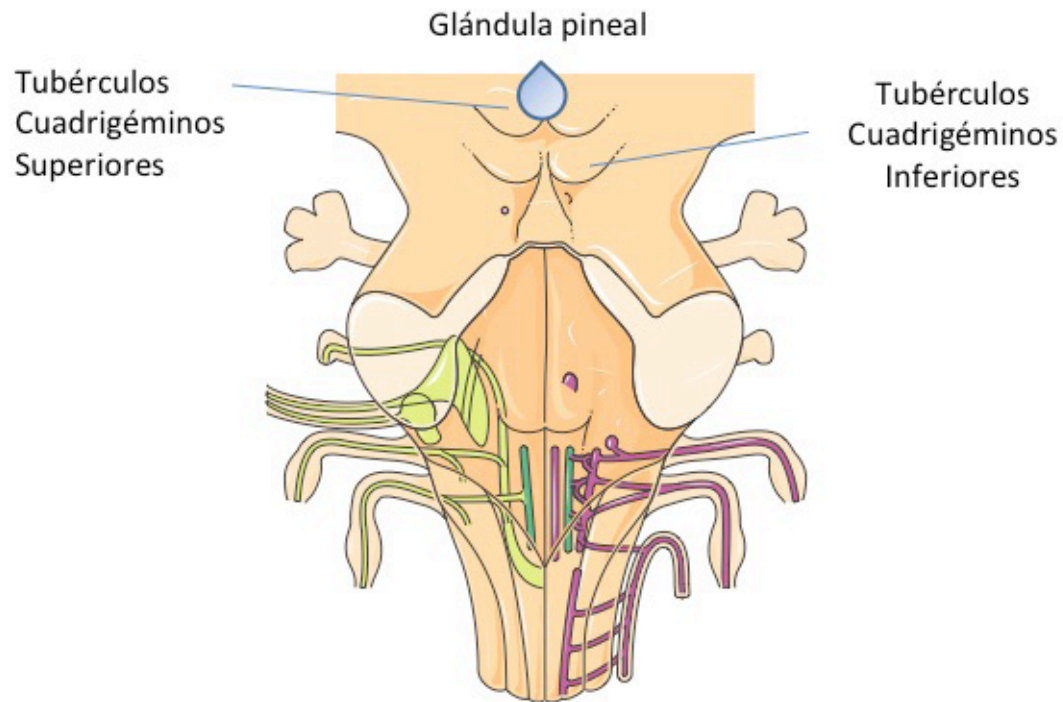
El famoso Malleus Maleficarum (1487), un manual para inquisidores, publicado a finales del siglo XVI, recurrió a la teoría de Galeno de los humores para postular que los demonios tenían el poder de despertar los humores de tal manera que lo que es imaginario parece real.

La teoría del órgano pineal como el guardián del flujo de los espíritus animales se defiende en el Renacimiento por autores de la talla de Giacomo Berengario, Girolamo Fracastorius (Fracastor) y William Harvey. Este último describe en sus trabajos a los ventrículos cerebrales, plexos coroides

y la glándula pineal, a la que denomina “apéndice del pensamiento” asignándole un papel en la filtración de líquido cefalorraquídeo. Por su parte, Fracastor insistió en que era fundamental contar con un órgano impar en el cerebro para actuar en la coordinación y la integración de las percepciones sensoriales bilaterales capturadas por el cuerpo. Para Fracastor, ese órgano tenía que ser el conarium o pineal, el asiento, en su opinión, de la capacidad de la razón.

Si bien “conarium” (piña) fue el nombre que le dio Galeno y pineal la descripción de la forma de piña de la glándula en el hombre, hubo otras interpretaciones morfológicas para esta estructura. El anatomista inglés Thomas Gibson, en su libro “The Anatomy of Human Bodies Epitomized”, publicado en Londres en 1682 describió a la pineal como un pene (penis) suspendido sobre y entre los tubérculos cuadrigéminos superiores (o nates, por su semejanza con las nalgas) y por arriba de los tubérculos cuadrigéminos inferiores (o testes, por su semejanza a los testículos) (Figura 2.7).

El papel de la glándula pineal en las enfermedades del alma tuvo su mayor relevancia histórica en el siglo XVII, gracias al trabajo del filósofo francés René Descartes (Smith, 1998; Berhouma, 2013). Las razones por las que Descartes considerara a la glándula pineal como el centro de control del cuerpo, el sitio de síntesis del sensorio (convergencia de todas las sensaciones del cuerpo en el cerebro) y sitio preferencial de expresión del alma son, con toda probabilidad anatómicas. Descartes sabía que todos los órganos sensoriales y cefálicos son duales, con excepción de la hipófisis y epífisis. A la hipófisis o pituitaria (glándula hipófisis) ni se la consideraba porque la cultura vigente la veía como el sitio de origen de la pituita (líquido cefalorraquídeo que fluye a través de la lámina criboides por la nariz en los cadáveres), considerada una especie de “orina” del cerebro.



*Figura 2.7. Thomas Gibson (1682) describe a la pineal como un pene (penis) suspendido sobre y entre los tubérculos cuadrigéminos superiores (o nates) y por arriba de los tubérculos cuadrigéminos inferiores (o testes). Esta segunda analogía del nombre es muy posterior a la de piña (conarium) derivada de Galeno.*

En cambio, la pineal, glándula pequeña y solitaria situada geoméricamente en el centro del cerebro y que está suspendida por encima de los ventrículos era la que seguramente contenía el espíritu animal. Descartes postuló, erróneamente, que la estructura íntima de la glándula pineal, como la del resto del cerebro, comprendía pequeños canalículos separados por poros regados por la sangre de los plexos coroideos y las arteriolas epifisarias. Para llevar a cabo sus funciones, la glándula pineal

destilaría partículas finas suspendidas en el fluido sanguíneo originadas en la aurícula izquierda del corazón, al calor del miocardio (“un viento muy sutil, o más bien una llama que es muy pura y viva”, en las palabras de Descartes) las transformaría en “esprits animaux”. La céntrica ubicación de la glándula pineal le permitiría recibir cualquier estímulo de los órganos periféricos, mientras que su naturaleza impar le permitiría el proceso de integración de percepciones y sensaciones de órganos duales para posteriormente controlar a los músculos a través de movimientos del espíritu animal (Figuras 2.8 y 2.9).

DE RENE' DESCARTES. 27  
 faire en cette machine des mouuemens tout semblables  
 à ceux aufquels nous sommes naturellement incitez,  
 lors que nos sens sont touchez en mesme forte.

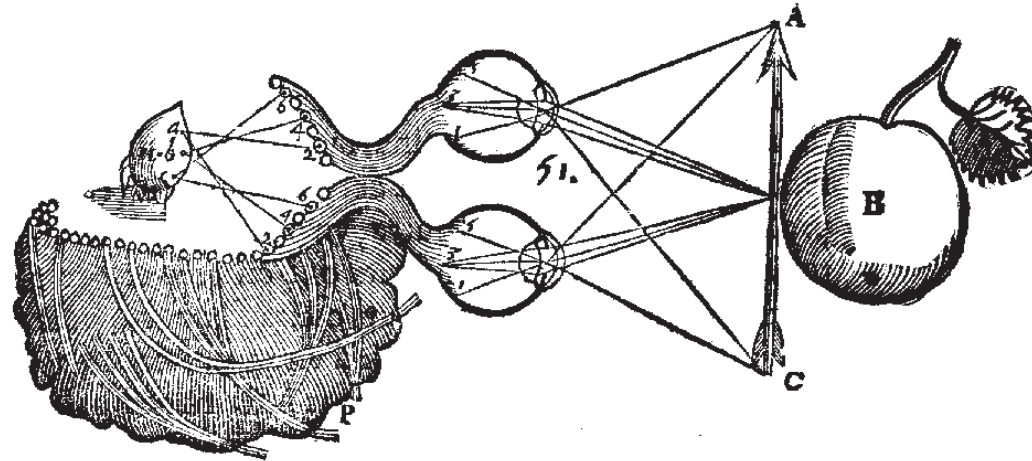


Comme par exemple si le feu A se trouue proche du  
 pié B, les petites parties de ce feu, qui se meuuent com-  
 me vous sçauuez tres-promptement, ont la force de  
 mouuoir avec foy l'endroit de la peau de ce pié qu'elles  
 touchent; & par ce moyen tirant le petit filet. c, c, que  
 vous voyez y estre attaché, elles ouurent au mesme in-  
 stant l'entrée du pore d, e, contre lequel ce petit filet  
 se termine; ainsi que tirant l'vn des bouts d'vne corde,

D ij

*Fig. 2.8. René Descartes escribió su “Traité de l’Homme” entre 1629 y 1632, como la segunda sección de un tratado más general, llamado “Le Monde”. Este constaba además de una primera parte, cuyo tema era la cosmología y la física y de una tercera parte, perdida o destruida antes de la muerte del autor en 1650, que trataba sobre el alma humana. Descartes no permitió la publicación de las dos primeras partes de su obra hasta después de su muerte por temor a la persecución religiosa. La página reproducida en esta figura y la que sigue corresponde a la edición francesa de 1664 en ella se describe el “reflejo” neuromuscular y puede apreciarse el papel relevante atribuido a la glándula pineal.*





*Figura 2.9. Descartes pensaba que la glándula pineal estaba vinculada en forma particular con la vía óptica. Es una genial anticipación de los mecanismos que analizaremos en Capítulos posteriores.*

Con el fin de ofrecer una explicación mecánica del fenómeno fisiológico, Descartes pensaba en una presunta movilidad de la glándula pineal para que los espíritus animales se canalicen a través del movimiento de la glándula, hacia el sistema ventricular cerebral y desde aquí llegar a la periferia del cuerpo, atravesando la multitud de poros que supuestamente recubrían las paredes de los ventrículos. Esta capacidad de movimiento de la pineal para regular el flujo de los espíritus animales es, fue en términos mecánicos, asimilada por Descartes a la función de una válvula (“como la fuente de nuestros reyes...” refiriéndose a los jardines de Versalles) (Smith, 1998; Berhouma, 2013).

Realmente Descartes no pensaba simplistamente que la pineal era el sitio del alma. Una detenida lectura de sus escritos, publicados en forma póstuma en 1664, conduce a otra conclusión. Debe destacarse, en primer lugar, que la característica fundamental del discurso intelectual de Descartes es su estilo analítico francamente escéptico y deductivo, base del método científico. En “L’Homme” (1664) la idea fundamental que Descartes enfatiza es el carácter automático de muchas respuestas neurales (todas las que ocurren en los animales y una muy elevada proporción de las que ocurren en el hombre) y propone la primera hipótesis detallada de la forma en que dicha respuesta se produce.

A pesar de la poca plausibilidad, a los ojos modernos, de esta idea, ella representa una ruptura fundamental con las nociones prevalentes en la época. La mayoría de los pensadores médicos previos atribuían al alma todas las funciones vitales, tanto en los animales como en el hombre. Se consideraba, hasta Descartes, al alma como formada por tres partes: una consciente o “cognoscitiva”, localizada en el cerebro; otra espiritual o “irascible”, localizada en el corazón y una nutritiva o “concupiscente”, localizada en el hígado. En los animales, el alma cognoscitiva era responsable de la sensación y movimiento y en el hombre, además, de la razón. Los nervios, tanto en los animales como en el hombre, eran extensiones del cerebro y vehículos para los poderes motores y sensitivos, ambas facultades del alma cognoscitiva.

Descartes fue un iconoclasta en relación a la mayoría de estos temas. “Los animales no tienen alma” —decía; “por el contrario; sus movimientos vitales se originan del calor generado por su corazón”. Sólo el hombre tiene alma imbuida en su cuerpo por Dios; pero este alma tiene que ver, exclusivamente, con actos conscientes como la razón, volición, imaginación y emoción. La mayoría de las actividades corporales, incluyendo la neural procede, según Descartes, con total independencia de una intervención consciente, animista o de cualquier otro tipo (Smith, 1998; Hansotia, 2003; Berhouma, 2013).

Descartes visualizaba a los nervios periféricos como tubos: cada uno tenía una doble pared y por su centro una “médula” o fibrilla longitudinal. Alrededor de las fibrillas y llenando el tubo circulaba el “espíritu”. Las fibrillas de los nervios se continuaban con las que formaban la materia sólida cerebral,

y terminaban de tal manera que constituían la pared de los ventrículos cerebrales. En forma de una criba, se abrían en esta pared innumerables canales que, orientados radialmente, servían de conductos de conexión entre la cavidad ventricular y las cavidades neurales. El espíritu que bañaba las cavidades ventriculares se originaba en la glándula pineal, la que a su vez los recibía de la circulación general. Descartes también supuso que algunos espíritus pasaban directamente de la sangre a la cavidad ventricular por los plexos coroideos, sin participación de la glándula pineal.

Esta disposición estructural permitía el siguiente proceso de respuesta neuromuscular (que es la primera teoría enunciada sobre el reflejo muscular): a) la estimulación sensorial produce un desplazamiento de las fibrillas de los nervios respectivos con simultáneo desplazamiento de las fibrillas cerebrales correspondientes; b) este desplazamiento central altera el grado de apertura de los respectivos orificios ventriculares; c) se produce un flujo preferencial de espíritu a través de estos orificios y hacia los nervios, dando lugar a la respuesta motora adecuada (Fig. 2.6). Es decir, cada nervio posee una función sensorial (a través de las fibrillas) y otra motora (mediada por el espíritu).

Descartes sostuvo que era teóricamente posible la construcción de un robot que realizare todas las funciones somáticas o fisiológicas de un hombre, pero no las psíquicas o cognoscitivas. Para que se dé la cognición es necesario mucho más: al componente somático debe sumarse el psíquico (mente o alma). Como puede apreciarse, mal cabe entonces la acusación a Descartes, perpetuada en libros de texto y ampliamente aceptada por especialistas y profanos, de haber localizado el alma en la glándula pineal. En su perspectiva, la pineal es un sitio preferencial de expresión del alma, pero no el único. En principio el alma no se localizaba en ninguna parte del cuerpo.

Para Descartes, cada cambio en la posición de la glándula pineal correspondería a una percepción diferente. A esto llama Descartes “pasión” (o emoción en el concepto actual), que no son sino movimientos sensibles experimentados por el alma como una consecuencia de su unión con el cuerpo. En opinión del pensador francés, sólo hay seis pasiones primitivas o primarias: “... la admiración, amor, odio, deseo, alegría y tristeza, y todos las demás se originan por mezcla de éstas”. Descartes describe la relación entre la pineal y la memoria, postulando que la movilidad del órgano pineal puede ser

más limitada (con todas las connotaciones que esto supondría) en aquellos individuos cuya mente está más aletargada. Del mismo modo, en una carta a su mentor, el padre Marin Mersenne, discute la posibilidad de una disminución de la funcionalidad de este órgano en seres humanos con la edad (López-Muñoz et al., 2010a).

La influencia de Descartes fue de importancia. Algunos autores siguieron utilizando sus teorías para explicar la génesis de trastornos mentales hasta el final del siglo XVIII. Por ejemplo, Johann Friedrich Meckel, publicó un ensayo en el *Mémoires de l'Académie Royale de Prusse* en 1760, en el que mantuvo que las psicosis eran secundarias a un aumento en la consistencia del cerebro que limitaba el libre flujo de espíritus animales.

Asimismo, la teoría iniciada por Descartes sobre el papel de pasiones o emociones en el desencadenamiento de la enfermedad mental comenzó a tomar peso científico al final del siglo XVIII. Prueba de ello es el comentario de Sir Alexander Crichton: "Las pasiones deben ser consideradas, desde un punto de vista médico, como parte de nuestra constitución. . . No tiene interés para el médico aclarar si estos trastornos son de origen moral o inmoral. Son fenómenos .. que tienen efectos beneficiosos o perjudiciales en las facultades de la mente .." (López-Muñoz et al., 2011).

Como consecuencia inmediata del pensamiento de Descartes grandes neuroanatomistas del siglo XVII tales como Silvio (Franz de le Boe) y Thomas Willis emplearon la teoría de los espíritus animales aunque con matices distintos a Descartes. Por otro lado, la hipótesis de Descartes de la glándula pineal como el asiento del "sensus communis" fue rápidamente adoptada por varios contemporáneos del filósofo francés, como Jean Cousin, quien defendió su tesis (Un kônarion sensus communis Sedes?) en la Escuela de Medicina de París en enero de 1641, o el profesor de la Teoría de Medicina de la Universidad de Utrecht, Henricus Regius, quien también defendió esta teoría, en junio de 1641 (Die Frühe Naturphilosophie). Incluso los movimientos científicos del siglo XVIII no escaparon a la influencia del cartesianismo, como se muestra por el principio de la fuerza vital que inspira la corriente vitalista de la Ilustración (López-Muñoz et al., 2011).

No obstante, aún entre los seguidores de las propuestas mecanicistas es posible encontrar serias discrepancias con los postulados psicofisiológicos de Descartes, sobre todo en relación a la función pineal. Un ejemplo es el del danés Niels Steensen (Stenon) que criticó severamente a Descartes y refutó su teoría de un alma racional manifestada en el órgano pineal. Stenon afirma, con razón, que esta glándula es un órgano inmóvil, unido a las meninges y dorsal del sistema ventricular, y que no posee los poros a los que se refiere Descartes, evitando así cualquier papel en la convección de los espíritus animales. Ya en época de Descartes, uno de sus mejores amigos, el padre Mersenne, consideró que la hipótesis de Descartes de vincular la enfermedad mental con alteración pineal no era correcta, ya que las autopsias llevadas a cabo en personas con sus facultades mentales intactas revelaba también la presencia de “piedras”.

El primer trabajo que relaciona alteraciones mentales con patología pineal fue publicado en 1686 por Edmund King en los *Philosophical Transactions of the Royal Society*, Londres, 185, 228-231. En un enfermo de “fatuitas” (lo que hoy se conoce como esquizofrenia) se encontró, en el examen post-mortem, una glándula pineal petrificada. A partir de este momento y por 150 años, la idea de que una pineal calcificada podría causar alteración psíquica fue prevalente en la literatura médica. Anatomistas, como Bonet, y clínicos, como Crichton y Haslam, apoyaron esta noción entusiastamente, a pesar de que esporádicamente, aparecían opiniones encontradas como las de Van Soemmering y Baillie quienes sostenían que la petrificación pineal era un hallazgo común en autopsias de enfermos fallecidos por causas no vinculadas a la enfermedad mental. Por ejemplo, Claude-Nicolas Le Cat, profesor de anatomía en la Universidad de Rouen, quien obtuvo en 1753 el premio de la Real Academia de Ciencias de Prusia con un ensayo sobre las cualidades de los espíritus animales, proponía que el ‘material’ que fluía en el interior de los nervios no era un ‘material’ conocido (agua, sangre, vapor, electricidad, luz, fuego, etc.), sino un denominado ‘fluido universal’, procedente de la filtración de la sangre en la corteza cerebral, lugar donde afirmó que se asentaba el alma humana, y no en la glándula pineal.

Desde una perspectiva más científica y gracias al desarrollo de la anatomía patológica a partir del siglo XVIII, fue posible observar la existencia de piedras pequeñas (acérvulos) en la glándula pineal en

las autopsias de los pacientes, lo que permitió un resurgimiento de la hipótesis de una relación entre los dos hechos. Sin embargo, uno de los pioneros de esta nueva disciplina médica, Giovanni Battista Morgagni, expresó su escepticismo sobre la supuesta relación entre la presencia de calcificaciones en el órgano pineal y la existencia de atraso o alteración mentales.

La aplicación de procedimientos estadísticos rigurosos, hacia 1830, determinó la exactitud de esta última posición, por lo que la idea original fue abandonada. En el Dictionnaire des Sciences Médicales publicado en 1829 se dice de la glándula pineal: ‘. con respecto a la función del órgano pineal, nada es asumible de la ficción de Descartes, concebida en un momento de abuso del racionalismo y de la imperfección de las ciencias naturales.. Hoy, nosotros no necesitamos estas quimeras, aunque todavía no conozcamos las funciones del conarium..’

Gracias a los mayores avances en la biología que tuvieron lugar a mediados del siglo XIX, se inició un proceso de somatización de la enfermedad mental, mediante el cual la locura comenzó a ser considerado el producto de una lesión orgánica y no el resultado de anomalías en el terreno de las ideas o pasiones. De esta forma, acabó sus días el papel espiritual de la glándula pineal desde la vertiente de la ciencia.

El siglo XIX representó el triunfo de la anatomía comparada, que posteriormente adquirió una orientación evolucionista. En este marco, el estudio de la estructura epifisaria en los vertebrados inferiores condujo a una comprensión del papel fotorreceptor de la glándula pineal en estos animales (“del tercer ojo en saurios”). En los mamíferos se catalogó a la pineal como un órgano vestigial. Karl Frederick Burdach afirmó que este órgano carecía de función específica alguna.

Con el advenimiento de técnicas microscópicas más sofisticadas, se hizo evidente que la glándula pineal constituía bastante más que un simple vestigio y los morfólogos sostuvieron, en base a las imágenes histológicas, que la glándula producía y liberaba sustancias hacia la circulación, aún antes de que los fisiólogos comenzaran a cambiar su opinión respecto de la función glandular. Este cambio se produjo lentamente hasta la década del 1950 y más aceleradamente hasta nuestros días.

En cualquier caso, algunos autores siguieron creyendo que había una cierta relación, a pesar de que se carecía de evidencia científica, entre las calcificaciones pineales y la patología mental. Basados en esta idea se administraron extractos de glándula pineal bovina, al comienzo del siglo XX, a sujetos con deficiencia mental. En 1920, W.J. Becker administró extractos de la glándula pineal (llamados Epiglandol) a pacientes psicóticos, una práctica que persistió por años. Mark D. Altschule y Julian Kitay en su obra *La Glándula Pineal* (1954), reportaron 17 estudios llevados a cabo antes de 1950 en el que extractos de la glándula pineal habían sido administrados a pacientes con esquizofrenia con resultados reportados como generalmente positivos.

## Referencias

Berhouma M. (2013). Beyond the pineal gland assumption: a neuroanatomical appraisal of dualism in Descartes' philosophy. *Clin Neurol Neurosurg*, 115, 1661-1670.

Hansotia P. (2003). A neurologist looks at mind and brain: "the enchanted loom". *Clin Med Res*, 1, 327-332.

Kitay J. I., Altschule M. D. (1954). *The pineal gland. A review of the physiologic literature*. Cambridge: Harvard University Press.

López-Muñoz F., Alamo C. (2011). Cartesian theories on the passions, the pineal gland and the pathogenesis of affective disorders: an early forerunner. *Psychol Med*, 41, 449-451.

López-Muñoz F., Marin F., Alamo C. (2010a). El devenir histórico de la glándula pineal: I. De válvula espiritual a sede del alma. *Rev Neurol*, 50, 117-125.

López-Muñoz F., Marin F., Alamo C. (2010b). El devenir histórico de la glándula pineal: II. De sede del alma a órgano neuroendocrino. *Rev Neurol*, 50, 50-57.

López-Muñoz F., Molina J. D., Rubio G., Alamo C. (2011). An historical view of the pineal gland and mental disorders. *J Clin Neurosci*, 18, 1028-1037.

López-Muñoz F, Rubio G., Molina J. D., Alamo C. (2011). Sadness as a passion of the soul: a psychopathological consideration of the Cartesian concept of melancholy. *Brain Res Bull*, 85, 42-53.

Modeak B.R. (1993). *The Ancillary Literature of the Atharva-Veda*. New Delhi, Rashtriya Veda Vidya Pratishthan.

Ray R. (2001). *Secret of the Vajra World: The Tantric Buddhism of Tibet*. Boston, Shambhala Publications.

Russell G. A. (2010). Chapter 6: after Galen Late Antiquity and the Islamic world. *Handb Clin Neurol*, 95, 61-77.

Smith C. U. (1998). Descartes' pineal neuropsychology. *Brain Cogn*, 36, 57-72.





### **Los Inicios de la Era Científica Pineal: Desde Fines del Siglo XIX Hasta la Melatonina**

Johannes Ariëns Kappers, uno de los prohombres de la historia pineal, sostuvo que la segunda mitad del siglo XIX fue tanto el epílogo de un conocimiento de la glándula pineal basado en especulaciones antro-po-filosóficas y metaforizaciones mitológicas como el inicio de los estudios tendientes a dilucidar el verdadero papel fisiológico de este órgano (Kappers, 1979).

Sin embargo esta afirmación no considera adecuadamente el auge de la Antroposofía, una corriente paracientífica, de carácter filosófico-mitológico que, siguiendo la hipótesis cartesiana de control pineal de los “espíritus humanos” asimilaron este órgano con el “tercer ojo” de las culturas indostánicas: la “puerta de Brahma”, por la que el espíritu de las personas puede fusionarse con el alma del universo. La antroposofía fue un intento de asimilación entre el misticismo y la ciencia moderna desarrollado por Rudolf Steiner (1861-1925), y que perpetuó este tipo de mitos, relacionando la glándula pineal, por ejemplo, con el único ojo del cíclope Polifemo de las obras homéricas o con la práctica medieval de la tonsuras de la región occipital por parte de los monjes cristianos.

Debe notarse la influencia de estas concepciones en manifestaciones religiosas como el Espiritismo. En un trabajo reciente se resumieron las opiniones del Espiritismo brasileño al recopilar la información existente sobre la glándula pineal en base a libros de Francisco Cândido Xavier (década de 1940) presuntamente escritos a través de psicografía y se analizaron esas ideas en comparación con la evidencia en la literatura científica actual (Lucchetti et al., 2013). Se estudiaron 12 obras dictadas por el espíritu “André Luiz” a Xavier. Los temas relacionados con la glándula pineal fueron: salud mental,

función reproductiva, relación con la actividad física, la conexión espiritual, la crítica de la teoría de que el órgano no ejerce ninguna función y la descripción de una hormona secretada por la glándula.

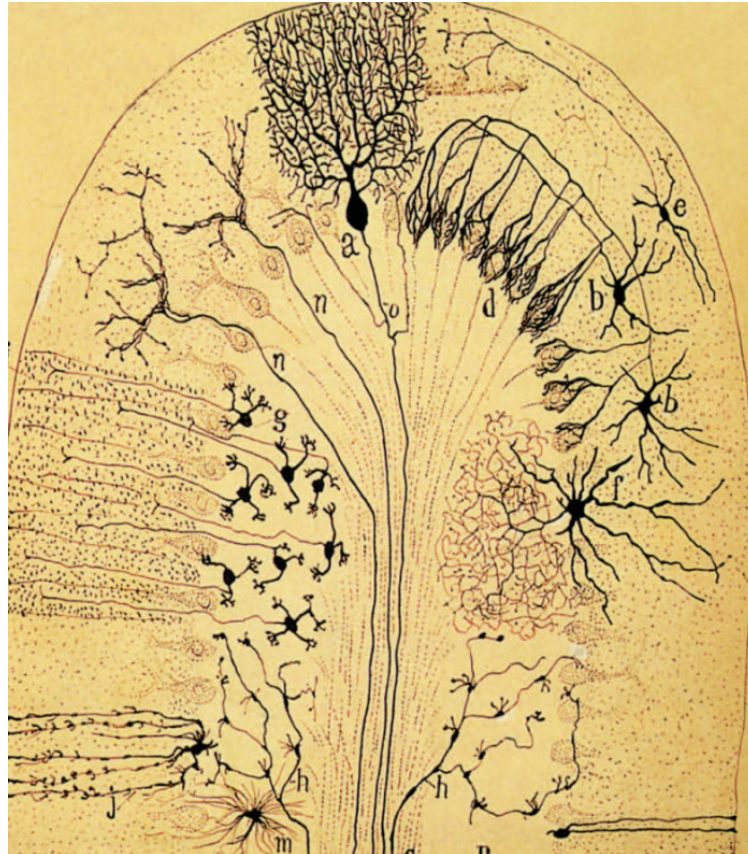
Como mencionamos al concluir el Capítulo previo, el estudio de la estructura epifisaria en los vertebrados inferiores dio a conocer el papel fotorreceptor de la glándula pineal mientras que en los mamíferos se catalogó a esta glándula como un órgano vestigial, resto rudimentario del tercer ojo de los lacértidos o vertebrados de sangre fría. La consideración de la glándula pineal como un órgano vestigial sin ninguna función fisiológica en los mamíferos, perduró hasta finales de la década de 1950.

Los hallazgos principales en esta etapa fueron las correlaciones funcionales presuntas de estudios histológicos. Giulio Bizzozero, profesor de Patología de la Universidad de Turín hacia finales del siglo XIX fue el primer científico que describió varios tipos celulares en el parénquima pineal. Este autor italiano distinguió entre células epifisarias de primera y segunda clase, a las que atribuyó naturaleza nerviosa y conectiva, respectivamente (Vigliani et al., 2002).

En ese momento, y entre las hipótesis sobre la función de la glándula pineal se encuentran la de constituir un ganglio linfático, con “abundantes células redondeadas semejantes a linfocitos” o la de ser una ganglio nervioso del sistema nervioso central que daba origen, como la glándula hipófisis, a tractos neurales. Mediante el uso del microscopio, Albert Koelliker concluyó, en 1875, que tales presunciones eran infundadas y que la pineal era “fisiológicamente incomprensible e indudablemente un órgano insignificante” (ver:

[http://en.wikipedia.org/wiki/Albert\\_von\\_K%C3%B6lliker](http://en.wikipedia.org/wiki/Albert_von_K%C3%B6lliker).

En los primeros años del siglo XX, Jean Verne (1914), consideró la glándula pineal como un órgano eminentemente glial, cuyas células producirían en forma continua nuevas fibras a expensas de la cromatina nuclear. Pero sería la denominada Escuela Histológica Española, creada por Santiago Ramón y Cajal en los albores del siglo XX la encargada de zanjar definitivamente la polémica sobre la naturaleza histológica de la glándula pineal humana.



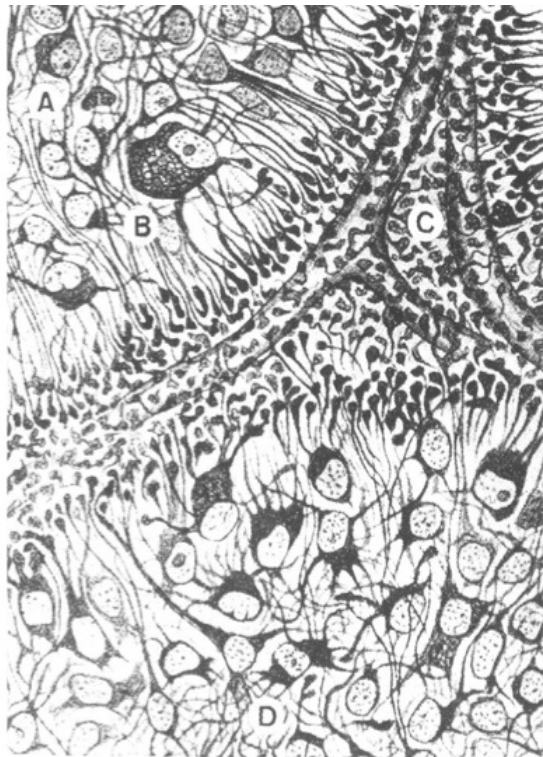
*Figura 3.1. Dibujo original de Ramón y Cajal que muestra una laminilla cerebelosa y distintos tipos de células nerviosas (1888).*

La Textura del Sistema Nervioso del Hombre y de los Vertebrados escrita por Ramón y Cajal es aún hoy obra cumbre y sin parangón de las neurociencias (ver:


[http://es.wikipedia.org/wiki/Santiago\\_Ram%C3%B3n\\_y\\_Cajal](http://es.wikipedia.org/wiki/Santiago_Ram%C3%B3n_y_Cajal)).

En ella se expuso la teoría neuronal que sigue siendo el marco conceptual utilizado para interpretar el funcionamiento del sistema nervioso. En realidad, estamos tan acostumbrados a ella que nos es sumamente difícil imaginar otra alternativa. Sin embargo, llegar a su formulación no fue una tarea fácil, ni tampoco lo fueron las numerosas observaciones que Ramón y Cajal realizó para sustentarla.

Una de los aportes fundamentales de Ramón y Cajal a la neurociencia fue el descubrimiento de las sinapsis, término que, si bien fue acuñado por Sherrington, correspondió a Ramón y Cajal descubrir su estructura e interpretar, correctamente, su función (Figura 3.1). Las sinapsis ejercen un papel fundamental en la teoría neuronal. Ramón y Cajal describió la organización topográfica básica de circuitos neuronales completos y esta descripción anatómica iba siempre acompañada de una interpretación. Con sus leyes de la polarización dinámica de las neuronas, Ramón y Cajal realizó la primera interpretación predictiva sobre el funcionamiento del sistema nervioso, interpretación que no ha hecho más que confirmar posteriormente la electrofisiología. Describió la existencia de colaterales axónicas, introduciendo los conceptos de convergencia y divergencia y la existencia de estructuras de integración, como los glomérulos del cerebelo y del bulbo olfativo.



*Figura 3.2. Tinción argéntica de la glándula pineal humana. Pío del Río-Hortega. 1932. En la figura se aprecian los 3 constituyentes celulares de la pineal: las células fundamentales (o pinealocitos) con sus pies en los espacios perivasculares indicativos de la función endocrina, las células intersticiales (o gliales) pineales y las sinapsis de terminales neurales, de origen simpático y central, que indican la regulación neural de la secreción pineal.*



En cuanto a la glándula pineal, Ramón y Cajal la consideró como una “glándula vascular sanguínea” y describió la inervación del cuerpo pineal de varios mamíferos. Dos de sus discípulos, Nicolás Achúcarro y José Miguel Sacristán, cuestionaron los conceptos en boga sobre la función pineal vestigial en los seres humanos estableciendo el carácter secretor de la glándula pineal humana.

Pero fue Pío del Río-Hortega (1882-1945), después de Cajal la figura más destacada de la Escuela Histológica Española, quien luego de descubrir la microglía (o “células de Hortega”) aplicó para el estudio de la pineal la técnica del tanino y de la plata que había ideado Achúcarro, creando cuatro variantes diferentes una de las cuales impregnaba de forma selectiva las estructuras internas de las células (ver:

[http://es.wikipedia.org/wiki/P%C3%ADo\\_del\\_R%C3%ADo\\_Hortega](http://es.wikipedia.org/wiki/P%C3%ADo_del_R%C3%ADo_Hortega))

Esto le permitió estudiar con detalle los detalles celulares de la glándula pineal de una gran variedad de aves y mamíferos, incluyendo la especie humana.

Del Río-Hortega renombra los dos tipos celulares pineales llamando células fundamentales o células pineales a las parenquimatosas y células intersticiales a las neuróglías (Ortiz Picon, 1971). En 1932 del Río-Ortega publica dos capítulos (sobre la microglía uno y sobre la glándula pineal el otro) en el libro de Penfield “Cytology and Cellular Pathology of the Nervous System”. La Figura 3.2 está tomada de dicho libro.

Del Río-Ortega tuvo un vínculo muy especial con nuestro país. Su primera visita a la Argentina fue en 1925 invitado por la Institución Cultural de Buenos Aires para dictar un curso de Histología con gran éxito. De regreso a España se encuentra con los turbulentos años que precedieron a la guerra civil, siendo un ferviente defensor de la República Española. En un interesante artículo sobre la vida de del Río-Ortega en Buenos Aires, Panzeri de Rossel (2002) menciona el relato que hace Moisés Polak, el discípulo argentino más importante de del Río-Hortega sobre su maestro: “Iniciada la guerra civil, el gobierno republicano que cuidaba a sus hombres de ciencia le recomendó insistentemente que abandonara España y continuara sus estudios e investigaciones en Francia. De allí, invitado por el

gobierno inglés, pasa a Oxford, donde dirigió la sección neurohistológica del servicio neuro-quirúrgico de Hugh Cairns”. En dicho servicio, Moisés Polak compartió una temporada de actividad científica con su maestro. En palabras de Polak: “En este laboratorio tuve la inmensa dicha de pasar con el sabio una breve temporada, oír sus enseñanzas, escuchar sus consejos, asistir a su nombramiento como doctor honoris causa de la Universidad de Oxford y sentir su anhelo de volver a la República Argentina” (Panzeri de Rossel, 2002).

En 1940 la Institución Cultural Española lo contrató para dictar en Buenos Aires un curso teórico-práctico de histología e histopatología. Del Río Ortega recibió con gran alegría ese ofrecimiento, arribando en ese otoño, sin que hubiera en el puerto ningún profesor titular o adjunto para recibirle a su llegada, por temores políticos ante la presencia del “rojo republicano”. En Buenos Aires dicta una serie de conferencias cuyos organizadores fueron antiguos alumnos, como Polak, y científicos amigos como Bernardo Houssay. Terminado el contrato con la Institución Cultural Española y ante la indiferencia demostrada por las autoridades de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires, se archivó el pedido estudiantil de incorporación a la cátedra de Histología de dicha Facultad, en aquella época vacante. Pero volvió a ser la Institución Cultural Española la que puso a disposición de del Río-Ortega el local y el dinero necesario para montar un laboratorio que le sirviera para proseguir sus estudios y capacitar a un grupo de estudiosos argentinos en las disciplinas histológicas e histopatológicas, al que lo llama “Laboratorio Ramón y Cajal”.

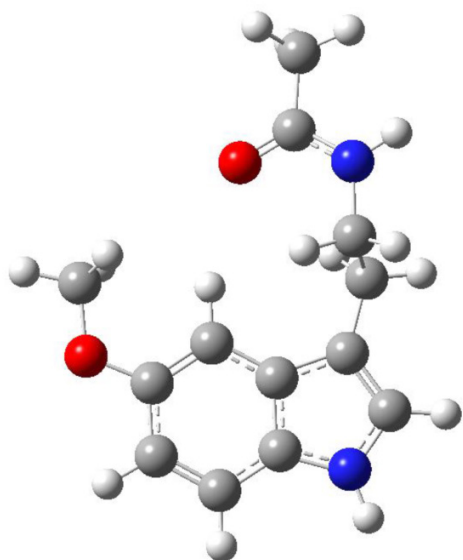
En Buenos Aires también trabajó en el Hospital Santa Lucía con tumores del sistema nervioso. Le ofrecen la cátedra de Histología y Anatomía Patológica de la Universidad de la República, en Montevideo, cargo que no acepta. En 1942 es nombrado doctor Honoris Causa de la Universidad de La Plata y edita la revista “Archivos de Histología Normal y Patológica”, donde publicará sus últimos trabajos. En 1944 se autodiagnostica un cáncer urogenital y muere en Buenos Aires el 1 de junio de 1945 rodeado de discípulos y amigos. En su funeral toman la palabra representantes de la ciencia española, de la ciencia inglesa, de la ciencia francesa, y de la ciencia americana; también se participa en nombre del pueblo argentino, del francés, del español y del pueblo inglés. Hablan por último

representantes del mundo intelectual español, de los universitarios argentinos y de sus amigos en general. No hubo ninguna representación del gobierno franquista...

Una recopilación de interés para la historia científica de la Piedra de la Locura fue el libro escrito por Kitay y Altschule, *The Pineal Gland*, en 1954. Dichos autores analizaron críticamente 1762 trabajos científicos publicados sobre el tema. La mayoría de éstos eran incompletos, pobremente realizados o controlados y, en general, contradictorios. Sin embargo, organizando y resumiendo datos, Kitay y Altschule concluyeron que tres características probables podían atribuirse a la glándula pineal:

- Estaba involucrada en el control de la función gonadal
- Participaba en la respuesta de coloración dérmica a los cambios de luz que se observa en vertebrados inferiores
- Tenía alguna vinculación con la conducta.

En ese mismo año Aaron B. Lerner, un bioquímico y dermatólogo de la Universidad de Yale, comenzaba sus trabajos de aislamiento del factor pineal aclarador de la piel de los anfibios, los que condujeron a la identificación, en 1958, de la melatonina, un hecho de impacto explosivo en la investigación pineal. Siguiendo un trabajo de 1917 de Carey P. McCord y Floyd P. Allen, de la Universidad Johns Hopkins, quienes con el agregado de polvo pineal bovino modificaban el color de larvas de anfibios, y motivado por su interés en el vitíligo (enfermedad pigmentaria de la piel), Lerner y sus asociados iniciaron una epopeya bioquímica para aislar la sustancia activa (Figura 3.3). Finalizaron en 1958 con el aislamiento de una pequeñísima cantidad (unos 100 microgramos) de un metoxindol al que identificaron como N-acetil-5-metoxitriptamina, extraída del procesamiento de 250 000 glándulas pineales bovinas (unos 100 kg de material). El compuesto activo, denominado melatonina, aclaraba la piel de los anfibios por condensación de los granos de melanina de los melanóforos con una potencia 100 000 veces mayor que la norepinefrina (el más activo en este aspecto descrito hasta ese momento). El nombre melatonina deriva de melano (oscuro) (Lerner et al., 1958).



*Figura 3.3. Fórmula espacial de la melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina). En la nomenclatura de la International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC, su denominación es N-[2-(5-metoxi-1H-indol-3-il) etil] acetamida.*

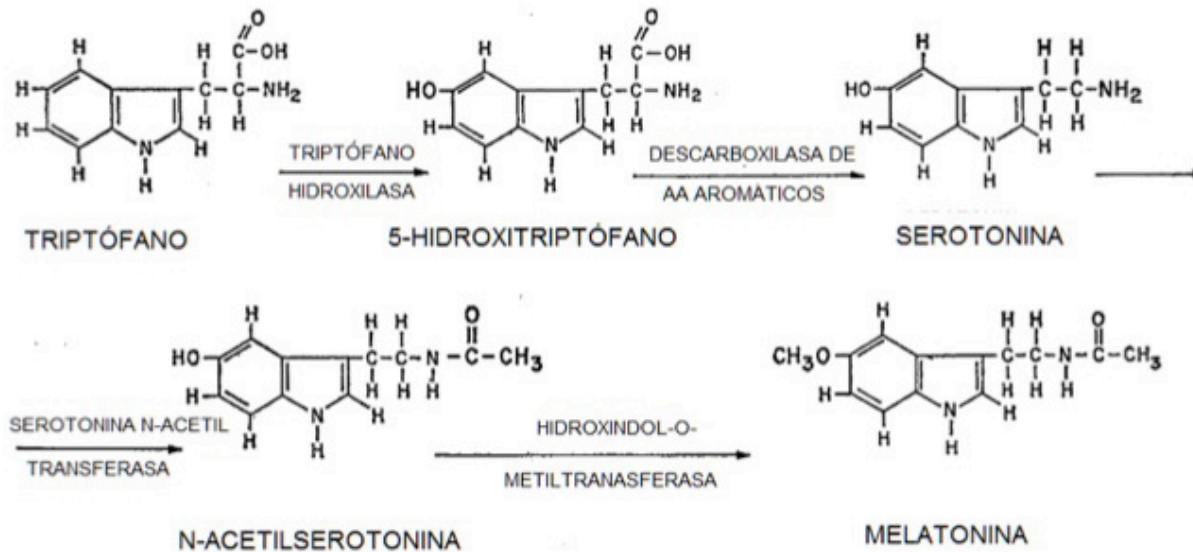
Epílogo curioso de esta historia es que la administración de melatonina careció de efectos sobre el color de la piel en seres humanos por lo que Lerner abandonó su interés en ella. En la década de los '80 Lerner identificó la estructura de los péptidos melanocito-estimulantes hipofisarios, estos sí activos en modificar el color de la piel humana.

Si lo que se perseguía era caracterizar lo que la Piedra de la Locura producía los trabajos de Lerner vinieron como anillo al dedo. Aún en el rápido abandono que hizo Lerner de su hallazgo pudo consignar algo que fue premonitorio. Tanto en él (fue el primero en administrarse melatonina) como en los pacientes que la recibieron se observaba sedación y somnolencia, primera observación del vínculo de la melatonina con el sueño.

Lo cierto es que con el descubrimiento de la melatonina se inicia una época muy activa de la investigación pineal. La melatonina fue el primer compuesto que reprodujo efectos de extractos pineales y revirtió las secuelas de la pinealectomía en animales. Asimismo, los estudios sobre las



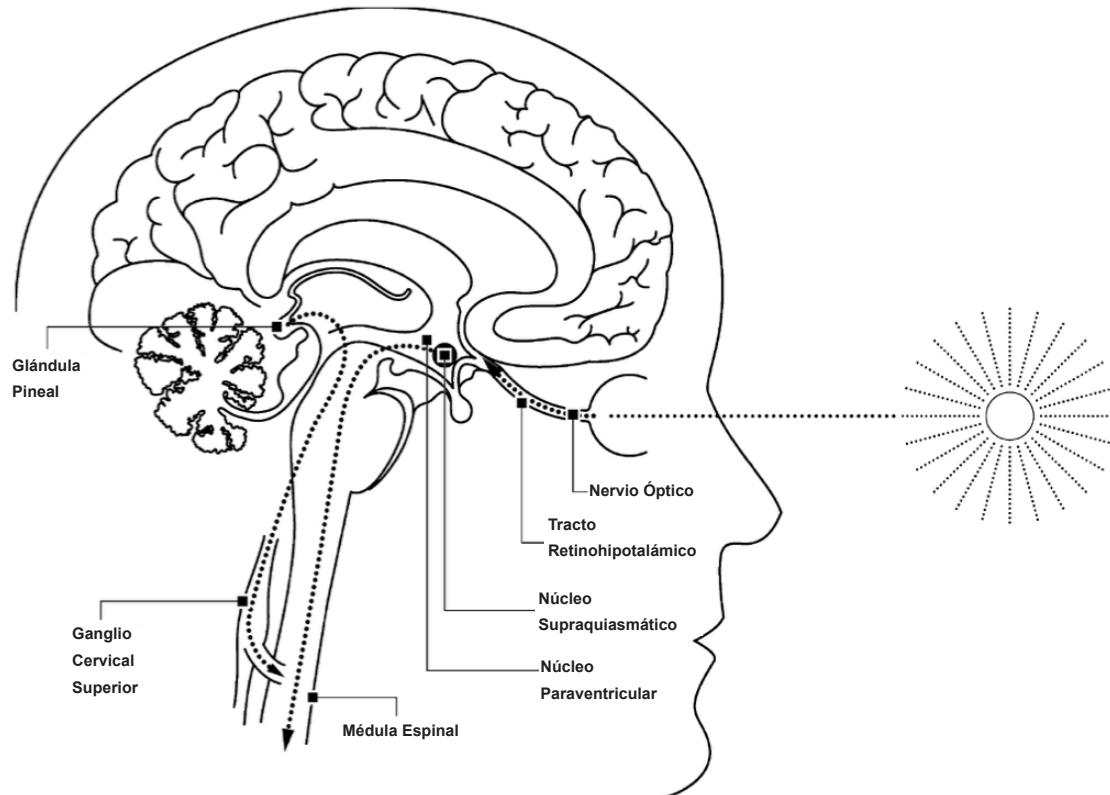
enzimas pineales participantes en su síntesis por Julius Axelrod y col. proveyeron los primeros elementos concretos para la evaluación de la función pineal (Figura 3.4) (Axelrod, 2003).



*Figura 3.4. Vía metabólica de síntesis de la melatonina.*

La biosíntesis de melatonina se inicia con la captación del aminoácido esencial triptófano por las células pineales. Este se convierte en otro aminoácido, el 5-hidroxitriptófano, por acción de la enzima triptófano hidroxilasa y luego en serotonina por acción de una descarboxilasa de aminoácidos aromáticos. La concentración de serotonina pineal es la mayor entre los diversos tejidos de la economía y presenta un ritmo diario con máximo en luz y caída abrupta en oscuridad, período en el cual se sintetiza la mayor cantidad de melatonina. Ésta se origina por acetilación de serotonina a N-acetilserotonina y posterior O-metilación a melatonina. La primera de estas reacciones es catalizada por la enzima serotonina-N-acetiltransferasa (SNAT) y la segunda por la hidroxindol-O-metiltransferasa (HIOMT). De estudios fisiológicos y anatómicos, conducidos entre otros por Wilbur

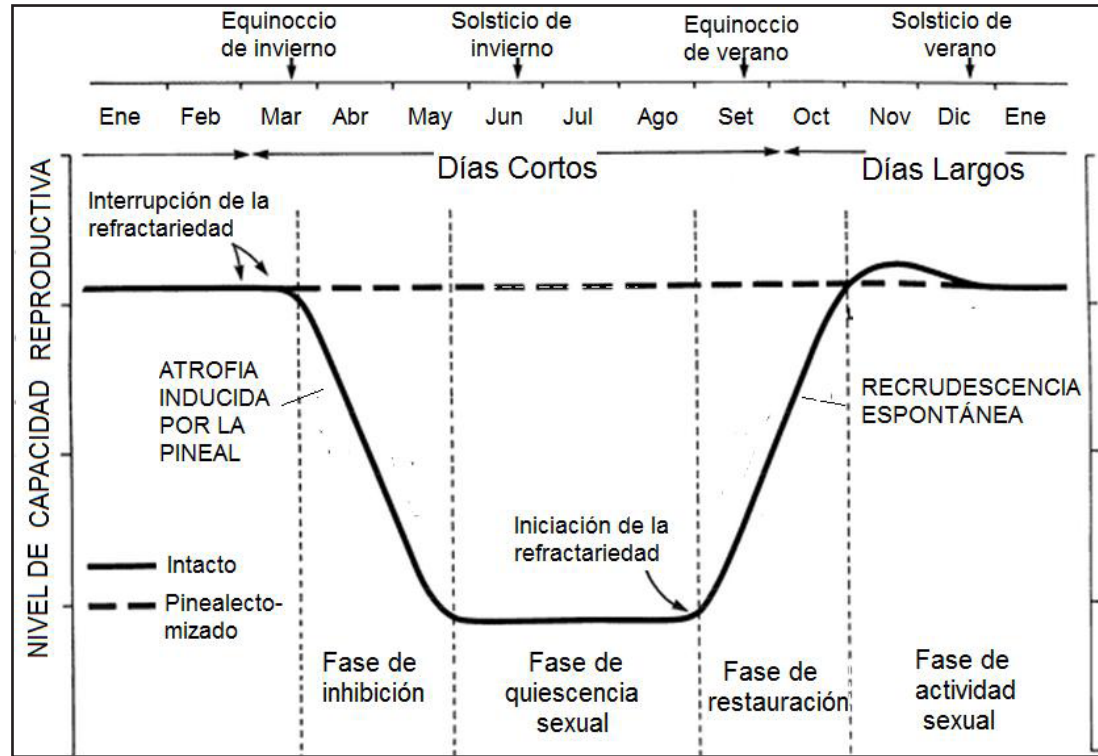
B. Quay, Virginia M. Fiske, Johannes Ariëns Kappers, Richard J. Wurtman y Julius Axelrod, se constató que la síntesis de melatonina pineal estaba controlada en los mamíferos por la luz ambiental a través de una vía neural cuya estación final eran las neuronas simpáticas del ganglio cervical superior (Figura 3.5). No sólo la síntesis de melatonina, sino en general la función metabólica de la glándula pineal, exhiben un ritmo diario con máximos durante el período de oscuridad; la información sobre el estado de iluminación ambiental converge a la glándula pineal por una vía multisináptica originada en la retina y que tiene como estación final a las neuronas simpáticas del ganglio cervical superior. Dicha conexión neuronal utiliza a las proyecciones retinohipotalámicas que penetran en el hipotálamo y terminan en el núcleo supraquiasmático, desde donde se proyectan al mesencéfalo y vías simpáticas descendentes.



*Figura 3.5. Control neural de la síntesis de melatonina pineal.*

La norepinefrina liberada por los terminales simpáticos desencadena, al actuar sobre receptores adrenérgicos beta, una secuencia de fenómenos que resulta en aumento de la secreción de melatonina. Si comparamos la Figura 3.5 con la Figura 2.9 veremos la anticipación que hizo René Descartes sobre esta vía neural.

Por último, en 1965, dos hechos contribuyeron a consolidar el concepto que la glándula pineal era un órgano neuroendócrino activo en los mamíferos. Roger Hoffman y Russel J. Reiter demostraron que la oscuridad o fotoperiodos cortos inducen marcados cambios gonadales en el hámster, que pueden ser suprimidos por la pinealectomía (Reiter, 1983). Si se somete a hámsteres dorados a privación de luz por lesión ocular o por exposición a fotoperíodos de menos de 12.5 horas de luz por día, las gónadas regresionan en 8 a 10 semanas. En animales pinealectomizados esta regresión no se produce, lo cual indica que el efecto del fotoperiodo sobre el eje neuroendócrino-gonadal es mediado por la glándula pineal (Figura 3.6). Es decir, por primera vez se demostraba un visible y dramático efecto de la glándula pineal.



*Figura 3.6. Experimento de Hoffman y Reiter. La pinealectomía bloquea la entrada en la estación de apareamiento del hámster.*

En ese mismo año, Wurtman y Axelrod acuñaron el término “transductor neuroendócrino” para describir a la glándula pineal, un órgano que convierte un impulso neural proveniente de la retina y originado por la luz ambiental, en una respuesta endócrina, la producción de la melatonina (Wurtman y Axelrod, 1965). Esto otorgó a la glándula pineal una definición sucinta y tuvo la virtud de amalgamar el conocimiento acumulado previamente por anatomistas, bioquímicos y fisiólogos.

## Referencias

Axelrod J. (2003). Journey of a late blooming biochemical neuroscientist. *J Biol Chem*, 278, 1-13.

Kappers J. A. (1979). Short history of pineal discovery and research. *Prog Brain Res*, 52, 3-22.

Kitay J. I., Altschule M. D. (1954). The pineal gland. A review of the physiologic literature. Cambridge: Harvard University Press.

Lerner A.B., Case J.D., Takahashi Y., Lee T.H., Mori W. (1958). Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc*; 80, 2587.

Lucchetti G., Daher J. C., Jr, Iandoli D., Jr, Goncalves J. P., Lucchetti A. L. (2013). Historical and cultural aspects of the pineal gland: comparison between the theories provided by Spiritism in the 1940s and the current scientific evidence. *Neuro Endocrinol Lett*, 34, 745-755.

McCord C., Allen F. (1917). Evidences associating pineal gland function with alterations in pigmentation. *J Exp Zool*, 23, 207-24.

Ortiz Picon, J.M. (1971). El trabajo neurohistológico del Doctor Pío del Río-Hortega (1882-1945). *Arch Neurobiol (Madr)* 34, 39-70.

Panzeri de Rosell R. L. (2002). Pío del Río Hortega en Buenos Aires. A 120 años de su nacimiento. *Médicos y Medicina en la Historia*, 1, 19-24.

Reiter R. J. (1983). The pineal gland: an intermediary between the environment and the endocrine system. *Psychoneuroendocrinology*, 8, 31-40.

Río-Hortega P. (1932). Pineal gland. En Penfield W, ed. *Cytology and cellular pathology on the nervous system*, Vol. 2. New York: Harper (Hoeber). p. 635-703.

Verne J. (1914). Contribution à l'étude des cellules névroliques, spécialement au point de vue de leur activité formatrice. *Arch Anat Microscop Morph Exp*, 16: 157-69.

Vigliani R. Giulio Bizzozero. (2002). Remembrance 100 years after his death. *Pathologica*, 94, 206-215.

Wurtman R. J., Axelrod J. (1965). The pineal gland. *Sci Am*, 213, 50-60.



## Capítulo IV

### De Cuando Irrumpe en la Historia este Cronista: los '60

Corresponde en este Capítulo presentar al cronista.

Nací en Buenos Aires en 1943 en el barrio de Villa Pueyrredón, hijo de un matrimonio de primera generación argentina de origen gallego (de Lugo, en la Galicia profunda) e italiano (de los Castelli Romani). Mis abuelos habían llegado a principio de siglo a la Argentina para incorporarse a una sociedad que supo dejar espacio para la movilidad social, al menos en aquellos años.

La influencia de mi madre, Elisa Carreira, fue fundamental para formar mi carácter. Su objetivo era salir de la rueda de la pobreza mediante la educación. Ella me inculcó los valores de la superación y del trabajo a ultranza como entretenimiento cotidiano, que no me han abandonado hasta ahora. Como Doña Elisa consideraba que la socialización con chicos “de la calle” de mi edad no era conveniente para su proyecto, me entretenía jugando solo con juegos diseñados para dos o más jugadores. Recuerdo que había armado una cancha de fútbol en la pieza de mi abuelo, sobre el arcón, y jugaba partidos interminables con 22 botones moviéndolos alternadamente en forma de dos equipos que competían entre sí. O que pasaba horas en transacciones entre jugadores invisibles en “El Estanciero”...

Terminado primer grado superior en una escuela pública mi madre resolvió que debía ir a una de doble turno, privada, el Colegio Cardenal Copello de Villa Devoto, a unas 15 cuadras de mi casa. Por ese entonces la situación económica de mi casa empeoró y mi padre quedó sin trabajo, pero hubo gran benevolencia con las cuotas del Colegio y pude mantenerme en él hasta tiempos mejores.

El Colegio Cardenal Copello había sido fundado en 1944 por la congregación de Hermanos de La Mennais y era un típico colegio de “curas”: fuerte disciplina, gran carga de deberes, estricto cumplimiento de las reglas. Yo me divertía en el Colegio y con los deberes y obligaciones, era lo que se llamaba un

alumno “traga”. Lo reforzó el hecho que hacia 4º grado tuve que empezar a usar anteojos por una fuerte y progresiva miopía lo que por la amenaza del desprendimiento de retina me mantuvo lejos de los deportes que practicaban mis compañeros. Lo compensaba con ávidas lecturas de la colección Robin Hood, una de las colecciones de libros de literatura juvenil más importantes de la Argentina editada por la Acme Agency, para lo cual siempre había dinero en mi casa listo para comprar otro volumen apenas terminaba de leer el anterior.

Me mantuve en el Colegio Cardenal Copello como alumno hasta el fin del ciclo primario y luego de discutir mucho la conveniencia o no de cursar el secundario en otra escuela, mis padres optaron por lo ya conocido y comencé el ciclo secundario en el mismo Colegio. Como alumno dedicado aproveché la formación que por ese entonces se daba a un Bachiller, y arribado al cuarto año no tenía decidido ni siquiera qué grupo de carreras seguir, si Humanidades o Ciencias.

Tenía una cierta predilección por la Química y por la Biología, por lo que pensé que la Bioquímica podía ser mi camino. Pero el Hermano Paulino, Director del Colegio en ese entonces, usó un argumento contundente para convencerme de lo inadecuado de la elección. Con el acento castizo que lo caracterizaba me dijo: “¡No te pasarás la vida limpiando escupideras! ¡Hazte médico, hombre!”.

Mi concepto de médico era el que había obtenido muy tempranamente de un amigo cercano de mi familia, el Dr. David Goldenstein, típico médico de barrio que teniendo yo unos 10 años, me llevaba dos o tres veces por semana a acompañarlo en sus visitas a domicilio. Yo al principio lo esperaba en el auto, pero con el tiempo me concedió el privilegio de ser testigo de su tremenda habilidad para entender, no al “cáncer de hígado”, sino a ese único ser, con historia propia que sufría tal enfermedad de una manera personal e intransferible. La verdad es que yo no me veía en ese papel.

Sin embargo, por esos tiempos ya había comenzado a funcionar la Facultad de Medicina de la Universidad del Salvador con un programa exigente: 7 años de carrera (no los 6 actuales) y ¡2 cursos de Bioquímica, uno en primero y otro en segundo año! Y eso me ayudó a decidir. Ingresé sin problemas y cursé primer año con éxito, por lo que gané la beca “Nicanor Palacios Costa” que mantuve hasta el final de la carrera.

Mi interés en la investigación biomédica se consolidó en la materia Fisiología dictada por muy distinguidos profesores, entre ellos el endocrinólogo Amílcar Argüelles, quien era Brigadier Médico y Director de Sanidad del Hospital Aeronáutico Central. Luego de aprobar la materia el Dr. Argüelles me permitió ingresar como ayudante alumno al laboratorio de endocrinología del Hospital en las vacaciones.

En aquel entonces, y con una participación activa de los militares en la vida del país, se decía irónicamente que los militares “no hacían nada, pero lo hacían temprano”. Una parte del dicho era cierta: la actividad en el laboratorio del Hospital comenzaba a las 06 30 h y para llegar desde Villa Pueyrredón a Pompeya, tomaba de lunes a viernes el colectivo 405 en la esquina de mi casa a las 05 15 h, ¡Y lo hacía muy contento: es que allí trabajaban bioquímicos como Mateo Chekerdemian, que había sido uno de mis profesores de Bioquímica, o Alberto Ricca, que eran un lujo!

Con el Dr. Ricca aprendí las sutilezas de la técnica para aislar y cuantificar la aldosterona urinaria. Extracción diferencial por solventes, cromatografía en papel y otras yerbas me fascinaban. Con esas técnicas ayudé a desarrollar lo que luego sería mi primer “paper” (Arguelles et al., 1964).

Y aquí nace mi contacto con la Piedra de la Locura. Me enteré del descubrimiento de la melatonina cuando estudié fisiología teniendo como libro la primera edición de “Review of Medical Physiology” de William Ganong, una obra señera que me ha acompañado en sus sucesivas ediciones (ha llegado a la vigésimo cuarta) en mi tarea docente en fisiología. De acuerdo a Ganong, las distintas opiniones sobre la glándula pineal en aquel momento eran que se trataba de:

- Un órgano vestigial, homólogo a la del tercer ojo de los reptiles
- El asiento del alma
- La fuente de un factor inhibidor del crecimiento
- La fuente de una sustancia que inhibe el inicio de la pubertad



- La fuente de un compuesto que “cura” la esquizofrenia
- La fuente de una hormona que antagoniza la secreción o efectos de ACTH
- La fuente de factores que regulan la secreción suprarrenal de aldosterona
- La fuente de una sustancia (melatonina) que causa aclaramiento de la piel.

Ganong recomendaba prestar atención sólo a las dos últimas apreciaciones. Como la melatonina no estaba a mi alcance traté de recabar toda la información que podía sobre los compuestos pineales que regulaban la secreción de aldosterona. Todavía no se había consolidado la idea que el sistema renina-angiotensina era el fundamental para la secreción de aldosterona y se especulaba con la función del ACTH o con la existencia de compuestos de otros orígenes como la adrenoglomerulotropina descrita por Gordon Farrell en 1960. Si bien en el trabajo que mencionara más arriba se estudió el efecto de un péptido compuesto por los primeros 24 aminoácidos del ACTH sobre la secreción de aldosterona, quedé muy interesado en lo que se refería a la glándula pineal y su significado.

Luego de asistir durante dos veranos al Hospital Aeronáutico el Dr. Argüelles me aconsejó que contactara al Dr. Jorge Miguel Rosner, quien recién llegaba de EEUU luego de hacer un periodo de entrenamiento en hormonas esteroides en la Universidad de Utah y que se incorporaba a la Facultad de Medicina de la Universidad del Salvador como Profesor de Fisiología para fundar el Laboratorio de Investigaciones Endocrinas. Dados mis conocimientos en cromatografía y extracción de esteroides fui aceptado y colaboré con los primeros proyectos del Laboratorio, uno de ellos vinculado con la producción de esteroides sexuales por las glándulas submaxilares de rata.

Hacia 1965, y por conflictos con mi jefe, decidí que si bien mi vocación estaba en la investigación biomédica básica, el éxito de la investigación en Medicina requería también haber satisfecho las exigencias de la formación clínica de la mejor forma posible. Por ello en los últimos años de la carrera me desempeñé con devoción a mi formación teórica como médico y práctica como practicante de la guardia de los días lunes en el entonces Policlínico General San Martín.

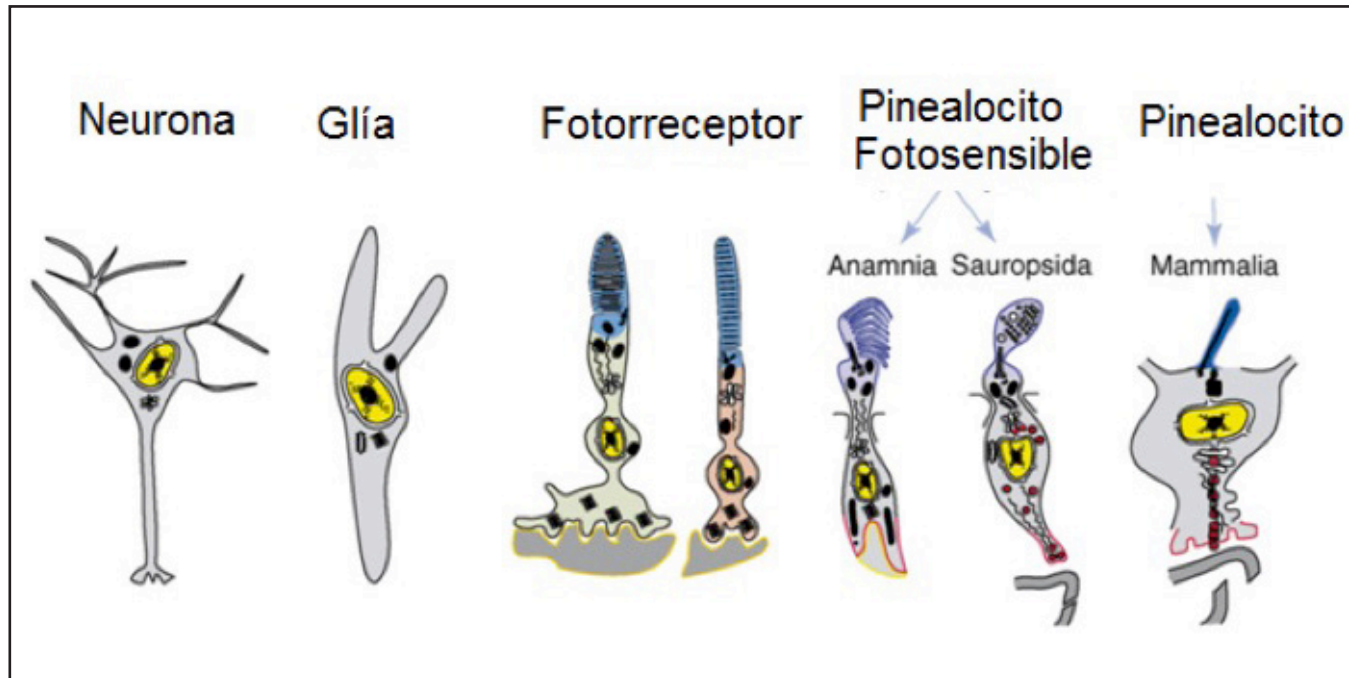
En ese tiempo el laboratorio de Investigaciones Endocrinas de la Universidad del Salvador se había trasladado a San Miguel, vecino al Colegio Máximo de los Jesuitas y se había transformado en el Instituto Latinoamericano de Fisiología de la Reproducción (ILAFIR), dirigido por Rosner. Ya promediando la carrera de medicina en 1968, Rosner me invitó a regresar a su Instituto como becario de Iniciación del CONICET con el tema de los esteroides y la glándula submaxilar. En ese mismo año me casaba con Adriana Teresa del Castello, mi primera novia, a la que conocí cuando tenía 15 años.

Viajar a San Miguel no era fácil y el ambiente era pueblerino. La ventaja era que iba en contra de la corriente de viajeros cotidianos y me sentaba cómodamente en el tren del San Martín, desde Devoto a San Miguel. Tomaba además dos colectivos, uno desde Villa Pueyrredón a la estación Devoto y otro desde la estación San Miguel al Colegio Máximo.

Tan pronto comencé a asistir regularmente al ILAFIR, Rosner me planteó un trabajo adicional. Por motivos basados más en relaciones personales que en su propio interés científico se había comprometido con Juan Tramezzani, Director del Instituto de Neurobiología (que funcionaba en el edificio de la calle Obligado al 2400 del barrio de Belgrano, junto con el Instituto de Biología y Medicina Experimental fundado por Bernardo Houssay) en colaborar en un estudio del efecto de la glándula pineal en la función testicular de patos domésticos sacrificados mensualmente a lo largo del año. Los patos, en 3 grupos experimentales: pinealectomizados, con operación simulada (sólo trepanación) y controles, debían recogerse en el corral al aire libre, al fondo del Colegio Máximo, y sacrificarse muy temprano porque el proceso preparatorio de aislamiento e incubación de fracciones celulares testiculares llevaba todo el día. Era un ejercicio interesante salvo la molesta tendencia de esos bichos de chapotear en el barro para escapar a la captura. Algunos testigos presenciales recogieron la admonición de Rosner en privado: “A Cardinali le va a venir bien bajar el copete embarrándose con los patos”. Sin saber de estos dichos, yo estaba feliz: ¡la Piedra de la Locura estaba a un pato de distancia!

Con toda devoción me dediqué al trabajo encomendado y aproveché para acceder a la mejor bibliografía con que se contaba en el Instituto de Neurobiología sobre la glándula pineal. Yo había quedado impresionado al estudiar Embriología en la carrera de Medicina con la teoría de la

recapitulación o ley biogenética según la cual la ontogenia recapitula la filogenia. El pinealocito deriva del mismo elemento neurosensorial que da origen a los fotorreceptores retinianos (Figura 4.1). Este origen común se exterioriza funcionalmente en los vertebrados inferiores (anfibios, peces, reptiles), donde los pinealocitos tienen la estructura de fotorreceptor (el ojo parietal de los lacértidos). En los mamíferos pierden estas características y se transforman en células endocrinas, careciendo de un nervio eferente que las conecte con el sistema nervioso central.

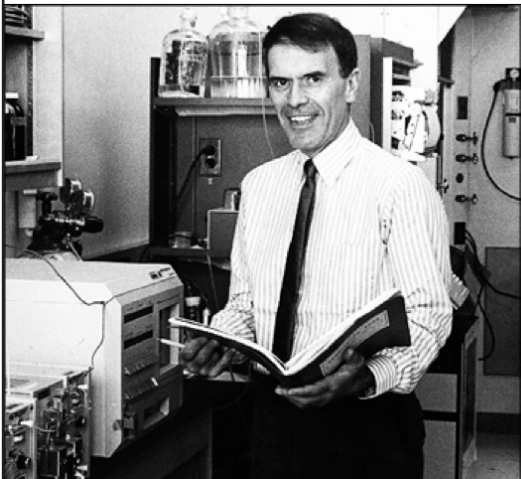


*Figura 4.1. Evolución de las células pineales. Desde fotorreceptores a transductores neuroendocrinos.*

En vista de que la glándula pineal tenía el mismo origen embriológico que la retina, pensé que valía la pena investigar si la síntesis de melatonina, que había sido localizada sólo en la pineal se daba en algún momento del desarrollo de la retina. Razones había porque la única población de melanocitos de mamíferos parecidos a los melanóforos de anfibios es la del epitelio pigmentario.

Convencí a mi jefe en adquirir los reactivos para la determinación de la actividad HIOMT (última enzima y limitante en la síntesis de melatonina) y me puse a trabajar luego de hacer un breve entrenamiento para obtener retinas de rata en la sala 18 de Neurocirugía del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, origen del FLENI (Fundación para la Lucha contra las Enfermedades Neurológicas de la Infancia). Con gran alegría verifiqué que la retina tenía en el feto y en el adulto actividad HIOMT y que era capaz de convertir serotonina-<sup>14</sup>C en melatonina. Estos trabajos se publicaron en revistas de prestigio (Cardinali y Rosner, 1971a,b) y me sirvieron de introducción para contactar a Richard Jay Wurtman, del Massachusetts Institute of Technology (MIT), Cambridge, MA, EEUU para una posible posición en su laboratorio con una beca que había solicitado a la Organización Mundial de la Salud.

Jorge M. Rosner, Director, ILAFIR, Universidad del Salvador, y el cronista (ca. 1973)



Richard J. Wurtman, M.D, Cecil H. Green Distinguished Professor, Massachusetts Institute of Technology. Professor of Neuroscience, Harvard – MIT Division, Cambridge. MA. (ca. 1971)

*Figura 4.2. Dos mentores.*

Wurtman demoró en contestar, y luego supe que quiso primero constatar si la síntesis de melatonina en la retina “...se daba también en ratas norteamericanas”. Cuando finalmente me comunicó su aceptación me puse muy contento: Wurtman era un discípulo destacado de Julius Axelrod, flamante Premio Nobel de Medicina (1970) y como ya he mencionado, ambos habían formulado la teoría de transductor neuroendocrino pineal en 1965. Además, eso de ser “nieto” de Premio Nobel me atraía...

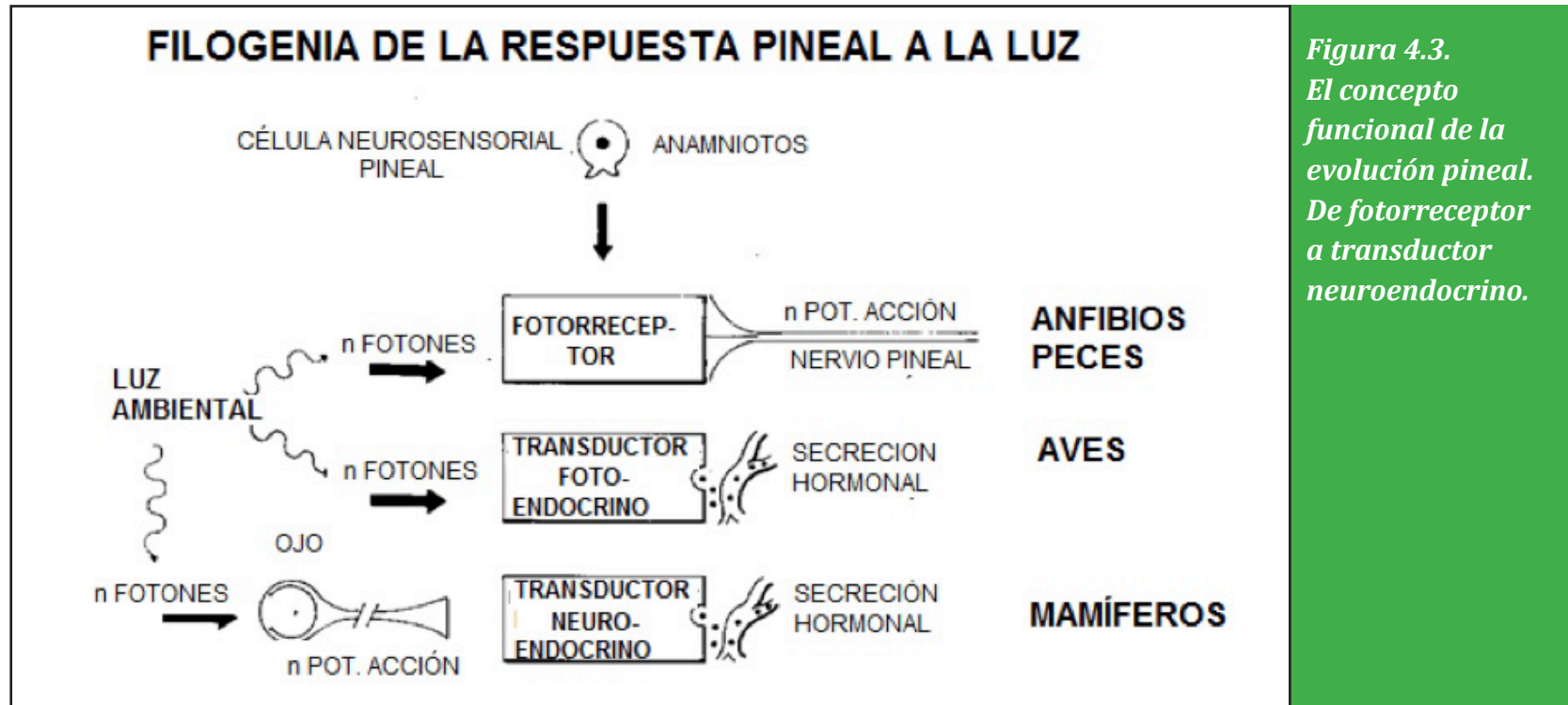
Mientras preparaba mi viaje terminé los experimentos de los patos. Les estaba muy agradecido porque en menos de un año me permitieron cambiar de tema de investigación, de la glándula submaxilar a la Piedra de la Locura. Esos estudios fueron la base de mi tesis doctoral “Función de la glándula pineal en el pato doméstico (*Anas platyrhynchos*) en la regulación de la actividad endocrina del testículo” (su texto puede bajarse de:

<https://www.dropbox.com/s/9wct82danstrp0h/Tesis%20DP%20Cardinali%20%20UNIVERSIDAD%20DEL%20SALVADOR%201972.pdf>

de la cual fue Director Jorge Rosner (Figura 4.2).

En esta Tesis se exponen los resultados sobre la actividad endocrina del testículo del pato durante un ciclo anual y los efectos de la pinealectomía, el papel de la glándula pineal en la fotorrecepción extrarretiniana del pato, la presencia de HIOMT en la pineal, retina e iris del pato y el efecto directo de la melatonina sobre la producción de esteroides por el testículo de pato.

Los trabajos de dicha tesis doctoral contribuyeron a consolidar la interpretación de un rol de transductor fotoendocrino para la glándula pineal de aves, intermedio entre el rol fotorreceptor en anfibios y saurios y el de transductor neuroendocrino de los mamíferos (Figura 4.3).



*Figura 4.3.  
El concepto funcional de la evolución pineal. De fotorreceptor a transductor neuroendocrino.*

En setiembre de 1971 me trasladé a Boston junto con mi esposa Adriana y mi hija Mariana, que tenía poco más de un año. La adaptación al laboratorio fue rápida y en ello ayudó mucho Frances Larin, una farmacéutica exiliada cubana que hacía de técnica y con la que aprendí los procedimientos que se usaban en el laboratorio, muy dirigidos al aislamiento de monoaminas cerebrales. Completé el estudio comparativo de HIOMT en pineal, retina y glándula harderiana, describí la porción del espectro de acción de la luz que participaba en el control de la pineal de rata (Cardinali et al., 1972) lo que luego fue completado con la demostración que la pineal de rata no es capaz, a diferencia de la del pato, de “ver” la luz directamente (Cardinali et al., 1973) y en colaboración con Markku Hyypä, luego Profesor de Neurología de la Universidad de Turku, Finlandia, hicimos estudios de turnover de

melatonina-<sup>14</sup>C administrada intracerebroventricularmente, donde tuvimos la evidencia indirecta de un mecanismo saturable (¿receptores?) (Cardinali et al., 1973).

Con Harry Lynch describimos el transporte de melatonina en plasma unido a la albúmina y en estos experimentos usé para verificar la pureza de la melatonina radiactiva la recristalización a actividad específica constante, de rutina en el campo de los esteroides pero que no había sido aplicada antes a las monoaminas. Tuve el privilegio de conocer a los grandes de la ciencia pineal en el Workshop sobre Glándula Pineal organizado por David Klein en los Institutos Nacionales de la Salud, Bethesda MD, donde presenté los resultados de síntesis de melatonina en retina.

La adaptación de mi familia al ambiente de Boston fue peor que la mía al laboratorio y ya hacia mediados de 1972 habíamos decidido el retorno. Wurtman no lo podía creer: ¿dejar una oportunidad de profesor con “tenure track” en el MIT para volver a un país como la Argentina!

Ese periodo en EEUU fue inolvidable. A la generosidad de Wurtman se sumó su contagioso interés por la Fisiología, siendo capaz de cambiar de un tema al otro con velocidad deslumbrante. No hay dudas que fue el modelo que más influyó en mi carrera científica (Figura 4.2).

## Referencias

**(Para otras referencias del laboratorio del autor, véase el Adendo)**

Argüelles A. E., Chekherdemian M., Ricca A., Cardinali D. P. (1964). Effect of a new synthetic tetracosapeptide on the cortisol levels, and aldosterone, dehydroepiandrosterone and catecholamine excretion. *J Clin Endocrinol Metab*, 24, 1277-1282.

Cardinali D. P., Hyyppa M. T., Wurtman R. J. (1973). Fate of intracisternally injected melatonin in the rat brain. *Neuroendocrinology*, 12, 30-40.

Cardinali D. P., Larin F., Wurtman R. J. (1972). Control of the rat pineal gland by light spectra. *Proceedings of the National Academies of Sciences USA*, 69, 2003-2005.

Cardinali D. P., Nagle C. A., Denari J. H., Bedes G. D. P., Rosner J. M. (1973). Lack of effects of light on the rat pineal in organ culture. *Gen Comp Endocr*, 21, 573-577.

Cardinali D. P., Rosner J. M. (1971). Effect of melatonin, serotonin and N-acetylserotonin on the production of steroids by duck testicular homogeneices. *Asteroides*, 18, 25-37.

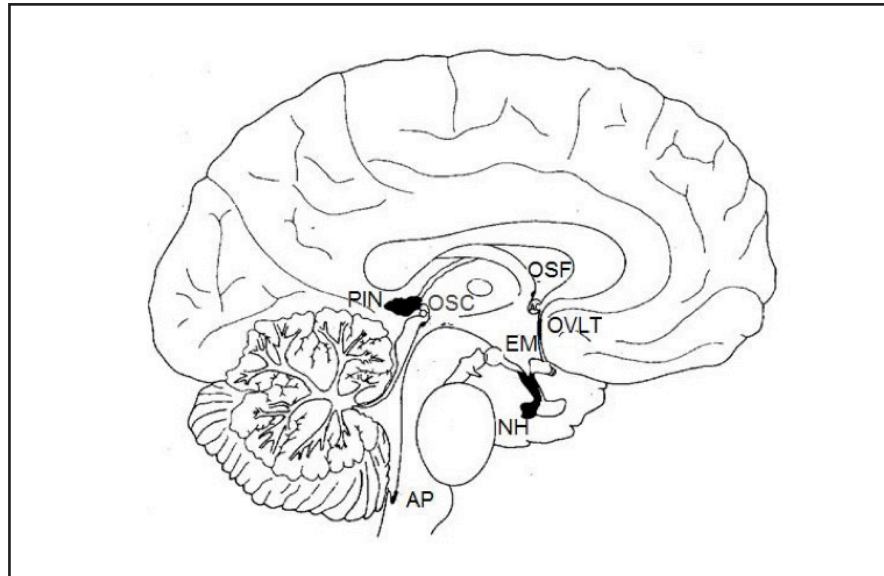
Cardinali D. P., Rosner J. M. (1971). Retinal localization of hydroxyindole-O-methyl transferase (HIOMT) in the rat. *Endocrinology*, 89, 301-303.



## Capítulo V

### La Piedra de la Locura como Modelo Neuroendocrino: los '70.

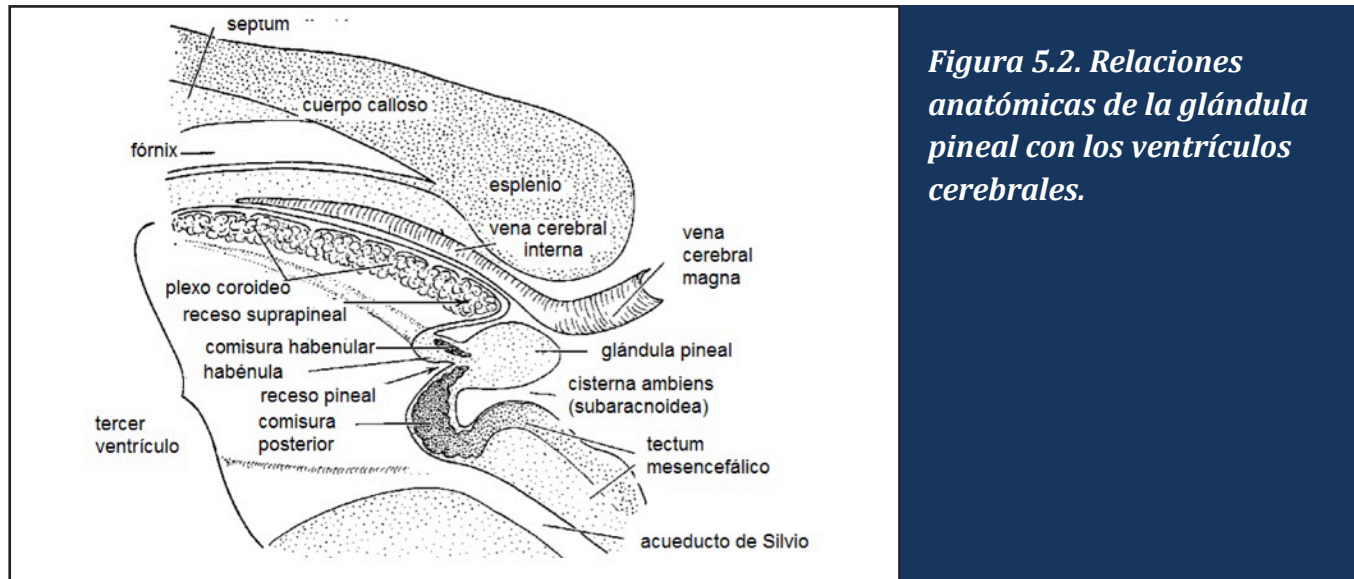
Ya a esta altura de la historia la glándula pineal comenzaba a perder para el gran público médico el concepto de vestigial con que se la había rotulado por décadas. En los libros de anatomía se la ubicaba como perteneciente al grupo de órganos circunventriculares, entre los cuales la eminencia media es el representante más conspicuo (Figura 5.1).



*Figura 5.1. Los órganos circunventriculares. AP: área postrema. NH: neurohipófisis. EM: eminencia media. OVLTL: órgano vasculoso de la lámina terminal. OSC: órgano subcomisural. OSF: órgano subfornical. PIN: pineal.*

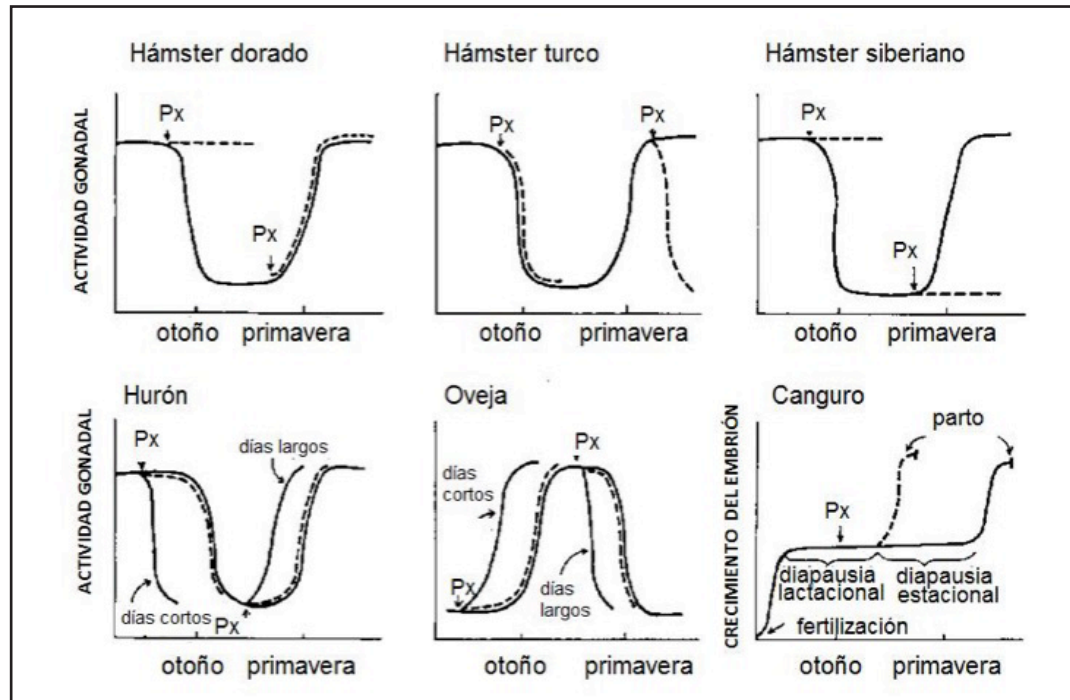
La característica de estas estructuras es estar fuera de la barrera hematoencefálica, un obstáculo funcional al pasaje de sustancias desde la sangre al tejido cerebral. La determinación que el flujo sanguíneo de la glándula pineal es uno de los más elevados del organismo fue un fuerte argumento en contrario de su presunta naturaleza vestigial.

Asimismo los estudios histológicos apoyaron fuertemente la característica secretoria de los pinealocitos en aves y mamíferos. En realidad estos estudios fueron sólo una nota al pie de los magistrales trabajos de del Río-Hortega. Ya él había demostrado (véase la Figura 3.2) que los pinealocitos emiten en su mayoría procesos citoplasmáticos que terminan en los espacios perivasculares o contactan con la cavidad ventricular, constituyendo la base anatómica para la secreción de hormonas hacia ambos compartimientos. La proximidad de la pineal con la cavidad ventricular indica fuertemente que existen al menos dos vías de secreción de productos pineales: la sangre y el líquido cefalorraquídeo (Figura 5.2).



*Figura 5.2. Relaciones anatómicas de la glándula pineal con los ventrículos cerebrales.*

Por último, la peculiar tendencia de la glándula pineal humana a “petrificarse”, hecho observado ya en la vida fetal, no parecía resultar en alteración importante al menos de la síntesis de melatonina, la que se detecta aún en edades avanzadas. Esto fue una tranquilidad para este cronista: la Piedra de la Locura funcionaba toda la vida.



*Figura 5.3. La pineal es indispensable para “leer” la información sobre la estación del año. Efecto de la pinealectomía (Px) en varias especies.*

Desde el punto de vista endocrino la glándula pineal ya concitaba interés como órgano integrador de señales originadas por variables ambientales (en particular, cambios en la iluminación ambiental) en respuesta hormonal. Los trabajos pioneros de Hoffman y Reiter (Figura 3.6) fueron seguidos por estudios en varias especies con apareamiento estacional (en realidad casi todas en la vida silvestre) que fuertemente indicaban el vínculo entre la función pineal y la regulación de la estacionalidad. Algunas de ellas están esquematizadas en la Figura 5.3 (Reiter et al., 2009).

Analizados en conjunto, resultados como los de la Figura 5.3 indican que la glándula pineal produce una sustancia con actividad en el sistema neuroendocrino que codifica la longitud de la noche y han permitido la elaboración de una hipótesis coherente sobre la participación glandular en la regulación estacional. De acuerdo a esta hipótesis, la glándula pineal constituye un transductor que convierte

la información fótica que le llega desde la retina en una señal endocrina, la secreción de melatonina. Tal información, consistente primariamente en la “lectura” del fotoperiodo, regula el ingreso o salida de la estación de apareamiento y, por lo tanto, desempeña un papel central en la sincronización de la reproducción con las condiciones más viables para la sobrevivencia de la cría.

Una pregunta que se hará el lector es qué tendrá que ver esto con los seres humanos. Es interesante que en la especie humana y, a pesar de los cambios evolutivos que han aminorado sus efectos, el ambiente luminoso continúe ejerciendo efectos sobre la reproducción. Las estadísticas sobre nacimientos indican una estacionalidad del proceso reproductivo, con máxima actividad durante el verano. Si se computan los nacimientos múltiples, que son indicativos de sobreestimulación ovárica y por lo tanto, son independientes de factores sociales como la frecuencia de relaciones sexuales, las diferencias estacionales son aún más significativas. Estos estudios han sido realizados predominantemente en poblaciones del hemisferio norte y en las zonas periárticas (países escandinavos, península del Labrador). En estos países la actividad del eje hipófiso-ovárico y la incidencia de concepción en poblaciones humanas disminuyen durante los meses oscuros del año. La edad de la primera menstruación en la mujer tiene también una incidencia estacional con máximos en la primavera y verano. Es interesante señalar que la estacionalidad en el proceso reproductivo se observa principalmente en la mujer.

Es evidente que la señal más adecuada para transmitir al sistema circadiano la información sobre la época del año es la duración del fotoperiodo. Otras señales ambientales (temperatura, humedad, etc.) no tienen el grado de reproducibilidad, año a año, que la longitud del fotoperiodo tiene. Lo dicho, por supuesto, es válido para especies que se desarrollan en zonas alejadas del Ecuador. A nuestra latitud (Buenos Aires, 34° 36' de latitud Sur) los valores extremos de longitud del fotoperiodo se producen el 21 de diciembre y el 21 de junio, con unas 14 horas de luz en el primer caso y unas 10 horas de luz en el segundo. A 50° de latitud Norte (correspondiente al centro de Europa) se dan unas 17 horas de luz al comienzo del verano y apenas 8 horas al inicio del invierno. Sobre el Ecuador no existen estos cambios del fotoperiodo y la estacionalidad depende de factores aún no adecuadamente caracterizados. Otro ritmo estacional es el del estado de ánimo. Si bien las tendencias estacionales

del humor y emociones han sido reconocidas en la experiencia médica desde hace más de 100 años, sólo en 1980 se objetivaron los rasgos diferenciales de una enfermedad afectiva que implica la depresión otoñal o invernal recurrente (“enfermedad afectiva estacional”) (Wehr, 1992). Cada otoño o invierno los pacientes con esta afección se cansan fácilmente, ingieren dietas hipercalóricas de hidratos de carbono, aumentan de peso y tienen una ansiedad o tristeza exageradas. Con la llegada de la primavera los pacientes emergen de la depresión y, en ciertas circunstancias, pueden mostrar síntomas maníacos moderados. Distintos estudios epidemiológicos indican que la enfermedad afectiva estacional es de frecuencia mayor cuanto más alejada esté la población estudiada del Ecuador. La terapia cronobiológica es de utilidad en la enfermedad afectiva estacional: se recomienda la exposición matutina a luces de por lo menos 2 500 lux de intensidad (equivalentes a la intensidad de luz de un atardecer) durante 2 horas diarias y la administración de melatonina al caer de la tarde.

Como en los seres humanos aproximadamente un tercio de la variabilidad en la estacionalidad es genética ¿qué ventaja evolutiva podría tener esta característica genéticamente conservada? Desde un punto de vista evolutivo la estacionalidad presumiblemente representó una ventaja, ya que permitió el ahorro de energía en los momentos de escasez de alimentos. Pero esta ventaja puede ser perjudicial hoy ya que los individuos más susceptibles están en mayor riesgo de aumento de peso en invierno.

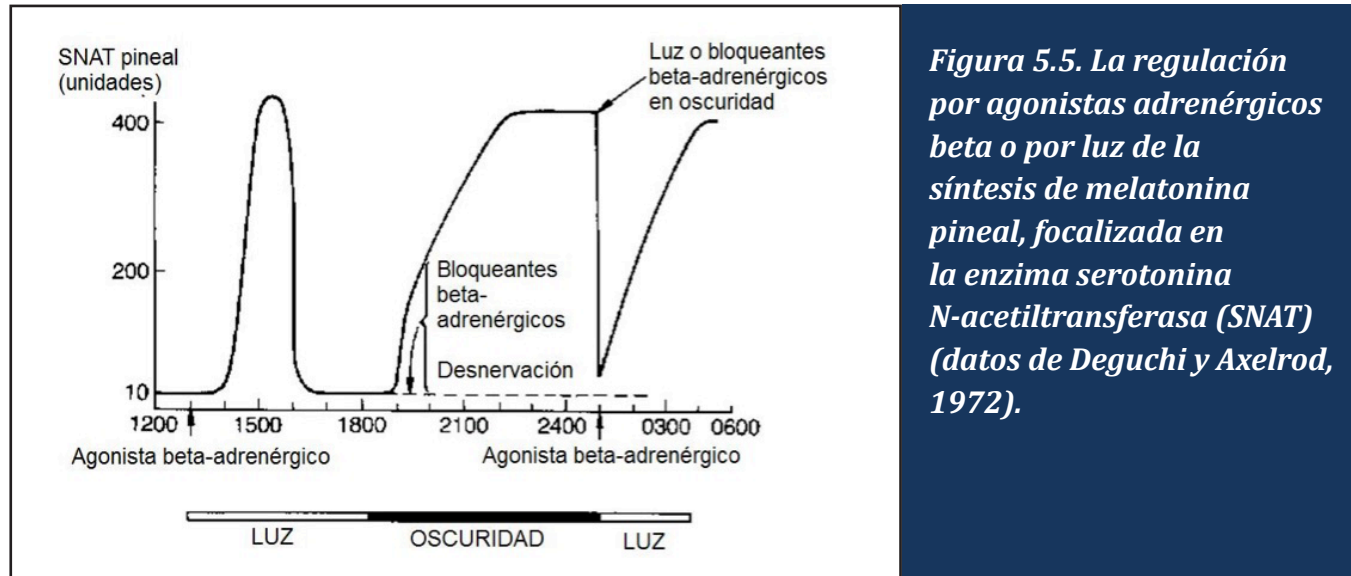
Podríamos decir así que la enfermedad afectiva estacional es el equivalente humano de la hibernación. La disminución de la libido en el invierno reduce las posibilidades de nacimiento en el siguiente invierno (el tiempo menos propicio para la supervivencia de los recién nacidos). Asimismo, los cambios estacionales en la ingesta de alimentos aumentan el éxito reproductivo porque el sobrepeso de la madre embarazada facilita el aumento de peso fetal. En nuestro país no existen investigaciones publicadas sobre la incidencia de enfermedad afectiva estacional, pero se supone que ella debiera producirse, como en el hemisferio norte, en poblaciones de latitudes superiores a los 45° latitud sur. En el único estudio relacionado publicado (Lawrynowicz and Baker, 2005) se analizaron las tasas de suicidio en las tres provincias más meridionales de Argentina (Chubut, Santa Cruz y Tierra del Fuego) tomando como fuente el Agrupamiento de Causas de Mortalidad por División Político Territorial de Residencia, Edad y Sexo: República Argentina. Buenos Aires, Ministerio de Salud, 2002. Las tasas de

suicidio fueron 5.9 (en las mujeres) y el 21,4 (en los hombres) por 100.000 en comparación con tasas nacionales de 3.1 (en las mujeres) y 15,5 (en los hombres). La conclusión de los autores fue que tal diferencia podía estar vinculada, entre otros factores, a una mayor incidencia de enfermedad afectiva estacional.



*Figura 5.4. Los conceptos “cartesiano” y “védico” del control y función de la glándula pineal.*

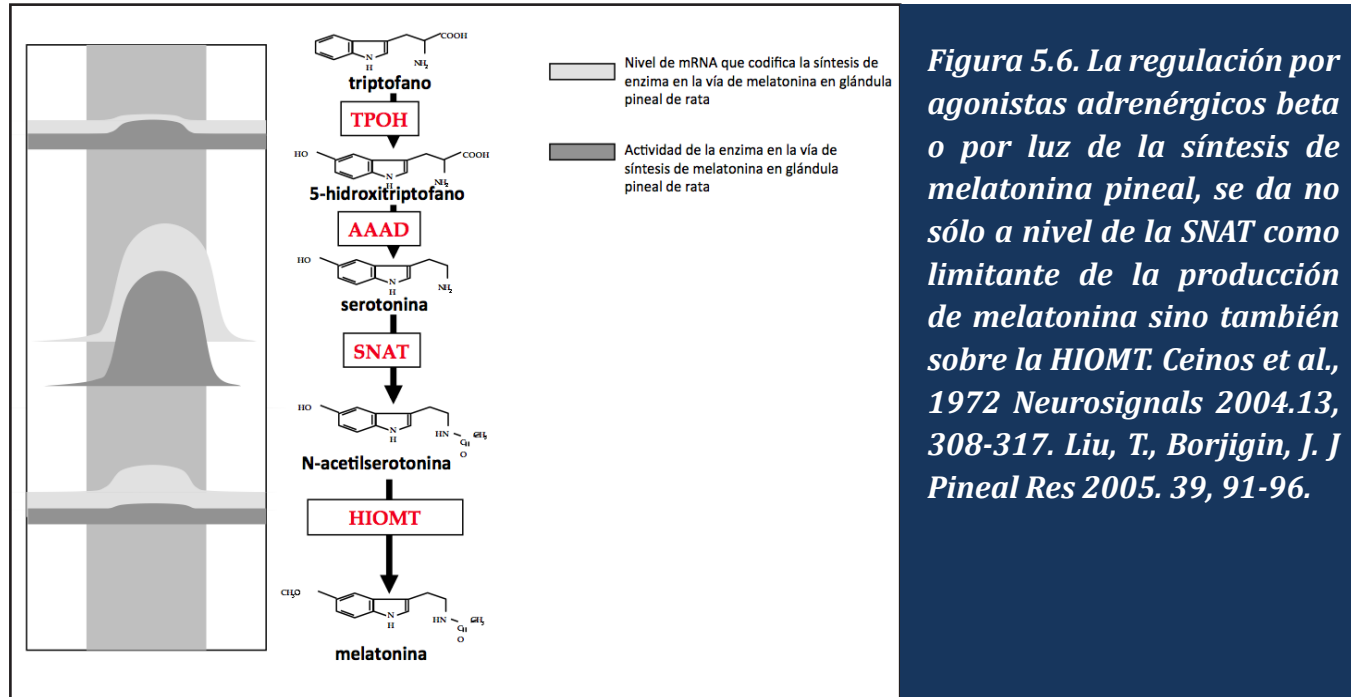
En realidad hay otra razón para sospechar que la incidencia de esta enfermedad es alta en la Argentina. Nuestra posición geográfica es -4 (4 husos horarios al oeste del meridiano de Greenwich) y la Patagonia y las provincias andinas están en -5 (esto es por lo sesgado del territorio nacional). Por Ley Nacional el horario asumido en el país es el correspondiente al huso -3, por lo que una parte sustancial del territorio está a 2 husos horarios de su posición geográfica. Ello hace que en invierno amanezca en estas regiones muy tardíamente, y así desaparezca el efecto matutino de la luz, fundamental para la sincronización del reloj. Como los animales miden, entre otra información, la luz en horas de la mañana como indicio de la estación del año (el alargamiento vespertino de la luz en las regiones fuera del huso geográfico tiene muy poca influencia) el resultado es la falsa interpretación de una latitud más alta que lo que correspondería y equivalente a la de los países nórdicos donde la enfermedad afectiva estacional es endémica.



**Figura 5.5. La regulación por agonistas adrenérgicos beta o por luz de la síntesis de melatonina pineal, focalizada en la enzima serotonina N-acetiltransferasa (SNAT) (datos de Deguchi y Axelrod, 1972).**

Pero volvamos a nuestra historia. Hacia 1972 el debate comenzaba sobre una cuestión fundamental del control de la Piedra de la Locura, aún hoy no zanjado (Figura 5.4): ¿Era la pineal, al estilo cartesiano,

regulada por una sola señal participante, dependiente sólo de la luz ambiental, provista por una única inervación autonómica a través de la NE, con un solo receptor (el adrenérgico beta), una sola salida (la melatonina) y un solo efecto de esta salida: el control estacional de la reproducción?



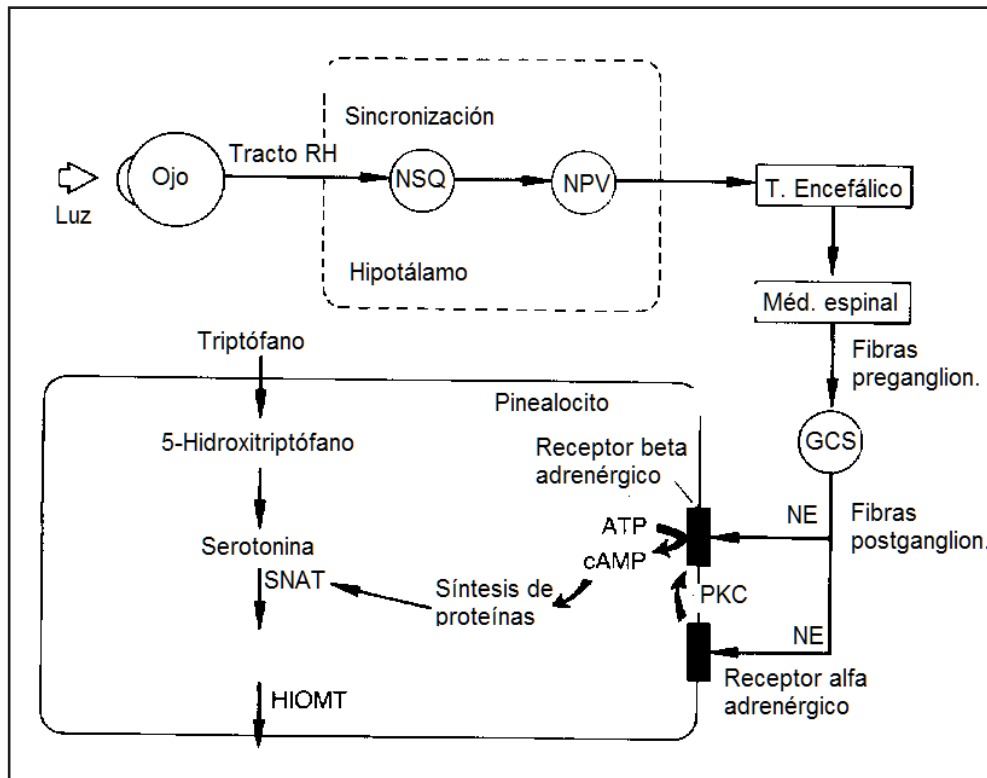
*Figura 5.6. La regulación por agonistas adrenérgicos beta o por luz de la síntesis de melatonina pineal, se da no sólo a nivel de la SNAT como limitante de la producción de melatonina sino también sobre la HIOMT. Ceinos et al., 1972 Neurosignals 2004.13, 308-317. Liu, T., Borjigin, J. J Pineal Res 2005. 39, 91-96.*

¿O la glándula pineal estaba controlada, en estilo védico, por múltiples entradas, exeroceptivas (luz) e interoceptivas (endocrinas, inmunes), mediadas por distintas inervaciones y neurotransmisores y una pluralidad de receptores incluyendo los hormonales, que requerían de una inervación simpática intacta para expresarse, con varias salidas (melatonina, péptidos) y múltiples efectos periféricos?

La primera posición se volvió popular debido a la fuerte influencia de Julius Axelrod y David Klein, quienes hicieron contribuciones de gran importancia examinando la regulación de la SNAT, una

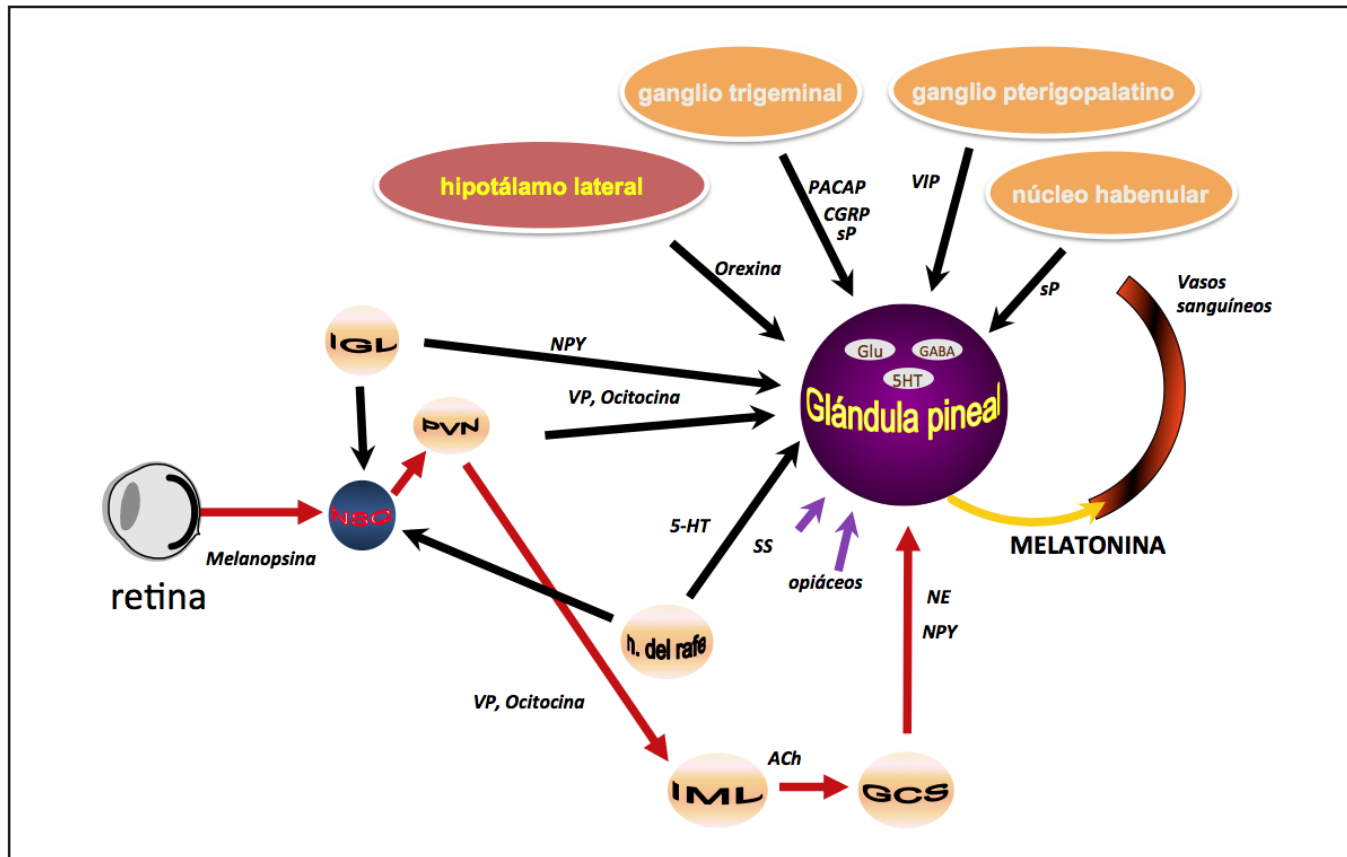


enzima muy particular que aumentaba 30-40 veces en su actividad por acción de la NE sobre los receptores adrenérgicos beta (Klein et al., 1985; Axelrod, 2003). En trabajos fundamentales de Axelrod se determinó la participación de estos receptores (Figura 5.5, Deguchi y Axelrod, 1972) y Klein y sus colaboradores disecaron ese mecanismo hasta sus aspectos más íntimos y postularon con fuerza la idea que la SNAT era el mecanismo de control limitante de la síntesis de melatonina (Klein, 2007). Este cronista discrepó desde un principio con tal conclusión: si los aumentos de melatonina producidos en las mismas circunstancias eran de 2 a 3 veces (y no de 30-40 veces) la acción de la HIOMT debía ser limitante también, no sólo la SNAT. Este debate se mantuvo cada vez que Klein y yo nos encontrábamos y tuvo que esperar varios años antes que otros lo zanjaran (Figura 5.6) (Ceinos et al., 2004; Liu y Borjigin, 2005). Hoy es claro que la SNAT es fundamental (por su control por la luz) para la fase del ritmo circadiano de melatonina, mientras que la HIOMT lo es para la amplitud del ritmo. Es sobre la HIOMT donde se ejerce la acción reguladora de señales como las hormonales e inmunes, de poca o nula actividad sobre la SNAT.



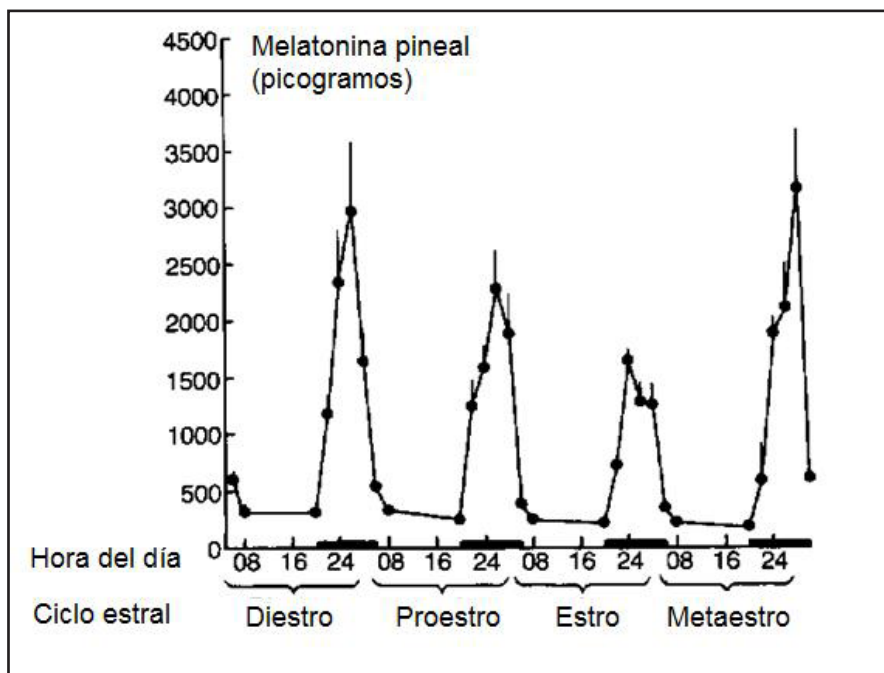
*Figura 5.7. El efecto de la NE en los pinealocitos incluye adrenoceptores alfa y beta.*

Si bien se ha popularizado la idea de una sola inervación pineal, la periférica, perpetuada hasta hoy por esquemas del tipo del de la Figura 5.7, existe también inervación pineal central demostrada por métodos anatómicos. En la Figura 5.8 puede encontrarse un resumen de las vías centrales y periféricas de control avaladas por estudios anatómicos y bioquímicos hasta hoy.



**Figura 5.8. Vías neurales centrales y periféricas de regulación pineal. NSQ: núcleos supraquiasmáticos; IGL: laminillas del cuerpo geniculado interno; PVN: núcleo paraventricular; IML: columna intermediolateral; GCS: ganglio cervical superior.**

Pero no sólo es neural el control pineal. Señales endocrinas e inmunes también participan. La demostración que el contenido pineal de melatonina cambiaba en la rata en función del estado del ciclo estral hecha por Reiter y colaboradores (Figura 5.9) (Johnson et al., 1982) indicaba que además de la luz había factores hormonales que modulaban la producción de melatonina. En 1972 hicimos la primera demostración de la captación específica de estradiol por la glándula pineal de rata (Nagle et al., 1972). En varios trabajos consecutivos describimos la presencia de receptores para estradiol en la pineal controlados por las terminaciones nerviosas del ganglio cervical superior (que fue la primera demostración de un “cross-talk” directo entre neurotransmisores y hormonas en un tejido) y analizamos el metabolismo y acción de los andrógenos en la glándula pineal (Figura 5.10).



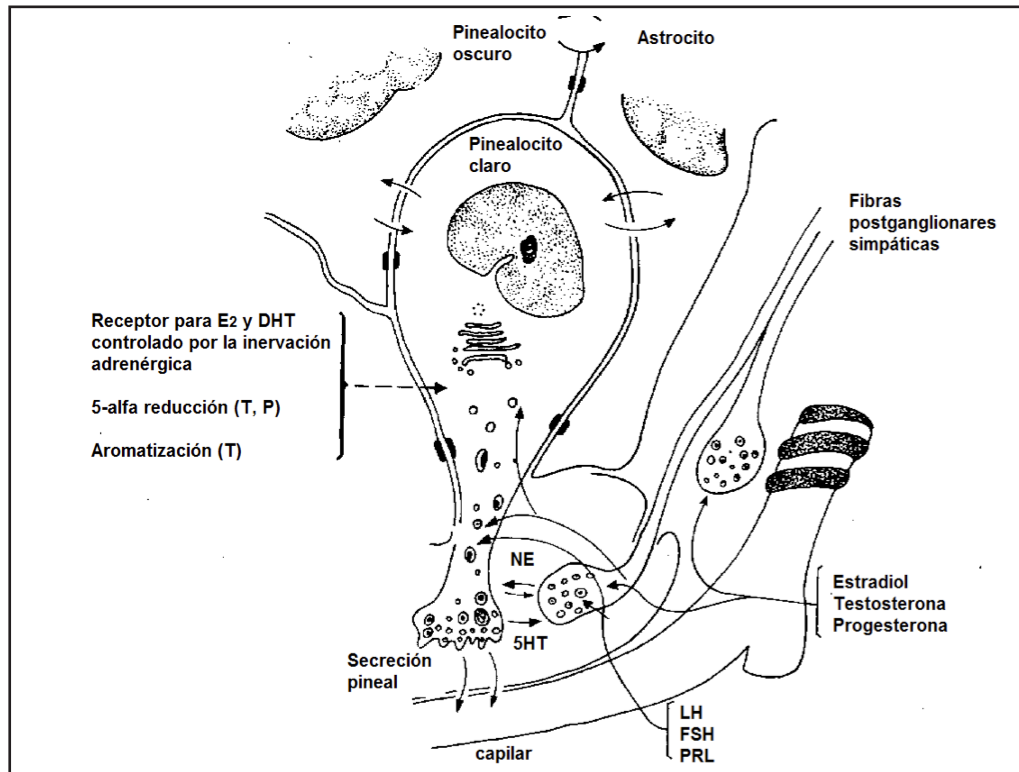
*Figura 5.9. Variación en el contenido pineal de melatonina durante el ciclo estral en la rata. Datos de Johnson, L.Y. et al. 1982 Proc Soc Exp Biol Med 169, 416-419.*

Estos estudios fueron llevados a cabo en su primera fase entre 1972 a 1975, en el ILAFIR luego de regresar a la Argentina, siendo este cronista investigador de la Comisión Nacional de Estudios Geoheliográficos, entidad promotora de la ciencia creada en 1968 por el Gobierno Argentino.

Con respecto a la salida hormonal pineal, se consolidaba claramente la visión cartesiana de “sólo una salida – sólo un efecto” (Figura 5.4). La carencia de melatonina era demostrada como responsable del efecto de la pinealectomía en distintas especies animales (Figuras 3.6 y 5.3).

Desde el punto de vista evolutivo, no es difícil imaginar que una exitosa adaptación al medio ambiente en el que se compite por nutrientes siempre limitados significa optimizar los procesos de gran consumo de energía, como el de la reproducción. Es así que la casi totalidad de las especies presentan apareamiento estacional. Se denominan reproductores de “días largos” a animales, como los roedores, cuyo apareamiento se produce en los meses de primavera-verano, es decir, cuando la duración del día respecto a la noche es mayor.

En estos animales, cuyo periodo de gestación es corto (alrededor de 21 días), los elevados niveles de melatonina durante los meses de invierno (noches largas) mantienen bloqueado el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal y por ende la actividad reproductora (Figura 5.11).



*Figura 5.10. Mecanismos por los cuales las hormonas reproductivas modifican la función pineal, según resultados de este Laboratorio.*

## Cambios en la secreción nocturna de melatonina reflejando los cambios en la duración de la noche

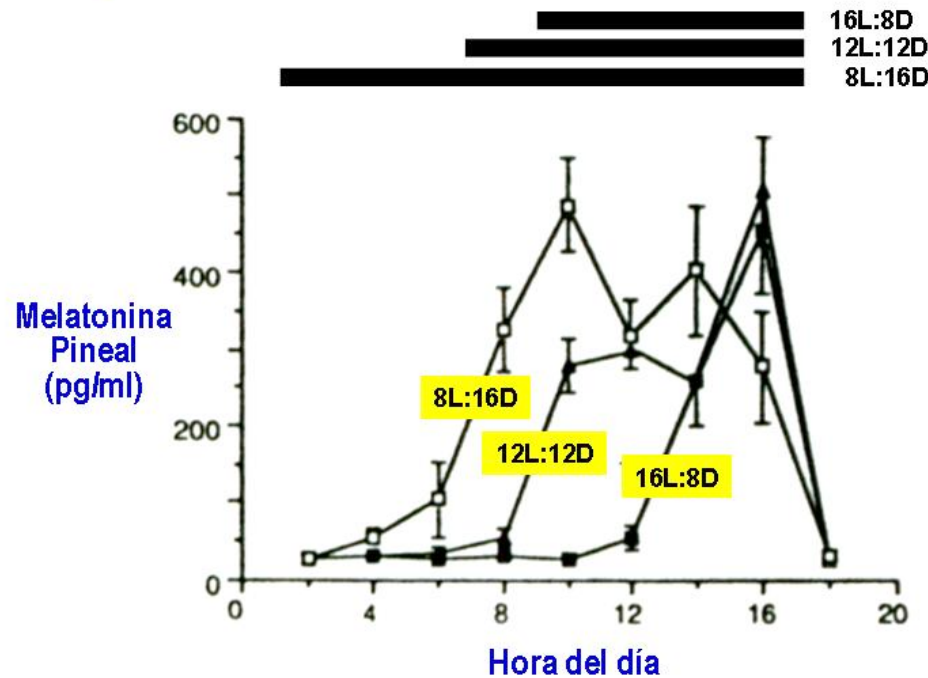


Figura 5.11. Esquema representando la función de “código químico de la longitud de la noche” de la melatonina pineal.

Al comienzo de la primavera, con el acortamiento de la duración de las noches (y alargamiento de los días), la secreción de melatonina disminuye y se acorta en duración y el freno sobre el sistema neuroendocrino-reproductor desaparece, activándose éste y produciéndose el apareamiento. El nacimiento de las crías ocurre así en los meses en los que las condiciones de temperatura y disponibilidad de alimentos favorecen su viabilidad.

En los llamados apareadores de “días cortos”, como la oveja o el ciervo, el apareamiento tiene lugar en los meses de otoño, con noches que se alargan y niveles prolongados de secreción de melatonina

(Figura 5.11). En estos animales, la melatonina disminuye la sensibilidad del hipotálamo a la retroalimentación negativa de los esteroides gonadales, lo que hace que se active el eje reproductor.

El periodo de gestación de los apareadores de días cortos es más largo (5 meses) de tal forma que, al igual que en el caso anterior, el nacimiento de las crías se produce en la época de mayor bonanza. Estos dos ejemplos ilustran cómo, a través de mecanismos distintos, la melatonina se comporta como un agente modulador de los ciclos reproductores estacionales.

En conjunto estas observaciones fueron fundamentales para descartar el papel antigonal de la pineal con que se la ha rotulado por años. La actividad antigonal pineal que se ve en apareadores de días largos como el hámster se transforma en progonadal en apareadores de días cortos como la oveja.

En la especie humana, y en estudios comparativos entre verano e invierno realizados en Finlandia se observó una secreción aumentada de melatonina durante el invierno, en coincidencia con la disminución de las hormonas ováricas.

El pulso nocturno de melatonina en el plasma se extiende por unas horas en la mañana durante el invierno, debido a la corta duración del día (3-4 horas) y a la baja intensidad de la luz causada por la incidencia oblicua propia de los 65° de latitud norte, siendo la intensidad de luz insuficiente para suprimir la secreción de melatonina. Ésta puede ser la señal que desencadena la involución gonadal estacional.

Sin embargo, desde el pasado (hemos mencionado la recopilación que Kitay y Altschule hicieron en 1954 en su libro *The Pineal Gland*) y en numerosas contribuciones en los '60 y '70 comenzaban a señalarse otros efectos de la glándula pineal. Surge así una pregunta cuya respuesta espera de investigadores interesados.

Las múltiples acciones que comenzaban a ser atribuidas a la glándula pineal (Tabla 5.1) ¿podían todas ellas ser mediadas por una sola señal, la melatonina, o existían múltiples productos de secreción pineal?

Agresividad	Periodicidad circadiana
Ansiolisis	Preferencia por etanol
Cáncer	Pubertad, fertilidad, embarazo
Enfermedad afectiva estacional	Regulación autonómica
Enfermedad depresiva	Regulación del peso corporal
Envejecimiento	Regulación hipofisaria
Epilepsia	Regulación immune
Fotoperiodicidad	Respuesta ante el estrés
Hibernación	Ritmo sueño vigilia
Jet lag	Sed
Menopausia	Termorregulación
Metabolismo intermedio	Trabajo en turnos

Tabla 5.1. Algunas funciones atribuidas a la pineal hacia 1980 (por orden alfabético).

Si bien se aislaron fracciones lipídicas activas (por ejemplo, la glomerulotrofina de Farrell, que ya mencionamos) fueron los péptidos los que atrajeron más atención. El tema de los péptidos producidos por la glándula pineal es de larga data.

Este tema fue eclipsado por la irrupción de la melatonina pero todavía no está resuelto. Compuestos como la arginina vasotocina, considerados precursores filogenéticos de péptidos neurohipofisarios,

han sido tentativamente identificados en la glándula pineal humana (Goldstein, 1992). Su actividad endocrina es notable; 0.0001 picogramos de arginina vasotocina inyectada en el líquido cefalorraquídeo revierten, en el ratón, la disminución en prolactina plasmática que sigue a la pinealectomía, siendo éste uno de los efectos endocrinos más potentes descritos para hormona alguna. Otras fracciones peptídicas pineales aún no caracterizadas han demostrado tener también intensa actividad endocrina. El estudio de este punto se ha visto complicado por el hecho que la glándula pineal contiene también diversas hormonas hipofisiotropas (TRH, somatostatina).

La Comisión Nacional de Estudios Geo-Heliofísicos fue disuelta en 1975 y en ese entonces este cronista fue incorporado al CONICET en la carrera del investigador científico con la categoría de investigador independiente. Me trasladé así a un flamante instituto del CONICET, el Centro de Estudios Farmacológicos y Principios Naturales (CEFAPRIN) en el que su Director, el Dr. Álvaro Luis Gimeno, me invitó a organizar el Laboratorio de Farmacología Neuroendocrina. Tanto Álvaro Gimeno como su esposa Marta Gimeno, ambos destacados investigadores en el campo de la fisiología de la reproducción, fueron extraordinariamente receptivos y generosos y en mis 10 años en el CEFAPRIN (desde 1976 a 1986) jamás tuve un problema, excepto los propios avatares de quien quiere practicar la ciencia como profesión en la Argentina.

Entre 1976 y 1982 el CEFAPRIN estuvo ubicado en el segundo piso de la calle Obligado 2490, en el barrio de Belgrano, el edificio de la Fundación Campomar donde coexistía con institutos como el de Biología y Medicina Experimental fundado por Bernardo Houssay) y el Instituto de Investigaciones Bioquímicas dirigido por Luis Leloir. Yo estaba muy feliz: del pueblerino ambiente de San Miguel había llegado a la meca de la ciencia argentina. Ello me permitió interaccionar con colegas interesados en varios aspectos de la fisiología hormonal y me llevó a consolidar la idea que estudiar la Piedra de la Locura en sus aspectos organizativos podía tener un valor heurístico considerable. Así, semejante ambiente científico cosmopolita influyó fuertemente en mi etapa siguiente de investigación sobre la pineal.

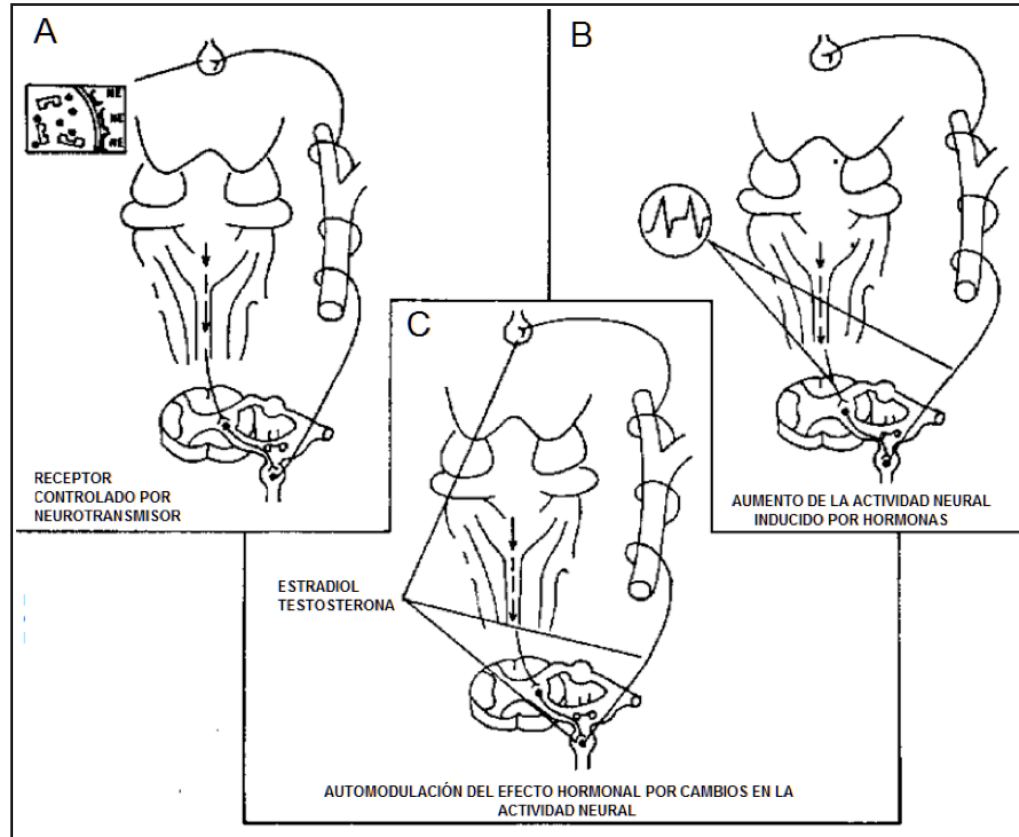


En noviembre de 1977 tuve oportunidad de asistir al II Simposio Internacional sobre la Glándula Pineal, Jerusalén, que contó con la asistencia masiva de científicos interesados de todo el mundo. Era un momento muy especial en la historia del Oriente Medio, ya que coincidió con el repentino viaje de Anwar Sadat y una fuerte expectativa de paz. En esa reunión mostré los resultados del modelo pineal y pude establecer contactos y amistades que luego se concretaron en proyectos conjuntos, como los llevados a cabo con Lutz Vollrath (Universidad de Mainz) y Paul Pévet (Universidad Louis Pasteur, Estrasburgo). Fui testigo allí del nacimiento del European Pineal Study Group, de muy fuerte influencia en la evolución ulterior de los estudios pineales.

Era claro en ese momento que el próximo adelanto importante de la Neuroendocrinología dependería de la profundidad y minuciosidad con que se comprendieran las intrincadas y recíprocas relaciones entre hormonas y neurotransmisores a nivel subcelular en el sistema nervioso central.

Ya la pineal había contribuido a este estudio como modelo desde su identidad de “transductor neuroendocrino” propuesta por Axelrod y Wurtman una década antes. Ese concepto aplicado al hipotálamo llevó a identificar células neurosecretoras especializadas en transformar una señal neural, canalizada por las sinapsis aferentes, en una señal hormonal liberada al líquido cefalorraquídeo o al plasma, por ejemplo, los sistemas hipotalámicos parvo y magnocelular que producen hormonas hipofisiotropas y neurohipofisarias, respectivamente. Pero además era claro que prácticamente toda hormona aplicada en concentraciones fisiológicas producía cambios en la actividad eléctrica de grupos neuronales hipotalámicos aislados (transducción endocrino-neural) o que en el hipotálamo existían neuronas conteniendo receptores para esteroides y hormonas hipofisotropas simultáneamente lo que sugería un proceso de transducción endocrino-endocrina.

Debido a la complejidad de los sistemas neuronales participantes y a la baja concentración de neuronas efectoras de hormonas reproductivas, el hipotálamo es un órgano inadecuado para estudiar el balance neto entre fenómenos neuroendocrinos, endocrino-neurales y endocrino-endocrinos.



*Figura 5.12. Concepto de automodulación del efecto de andrógenos y estrógenos por la actividad neural en la vía GCS-pineal.*

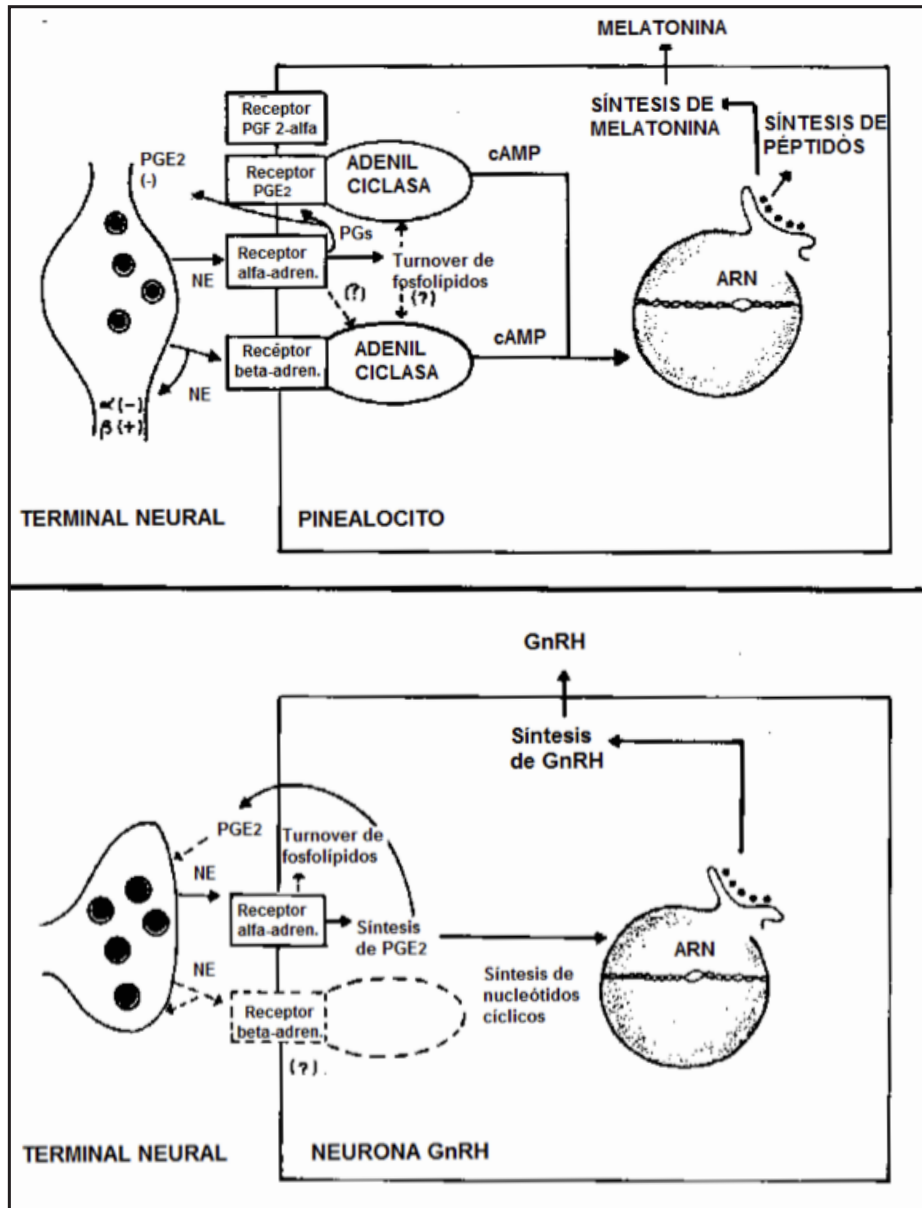
Y aquí emerge el valor potencial del modelo de la unidad funcional glándula pineal-ganglio cervical superior para el estudio de los mecanismos básicos de integración neuroendocrina. ¿Podría un estudio detallado de los fenómenos de transducción neuroendocrina, endocrino-neural y endocrino-endocrina en los pinealocitos y sus neuronas inervantes dar pistas en este sentido?

El tema del modelo neuroendocrino pineal fue estudiado en las tres primeras Tesis Doctorales del Laboratorio de Farmacología Neuroendocrina. La primera Tesis Doctoral fue presentada en 1980 por

la Lic. en Ciencias Químicas María Irene Vacas con el título “La unidad glándula pineal ganglio cervical superior como modelo de integración neuroendocrina” para optar al título de Doctor en Ciencias Químicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA, siendo calificada como Sobresaliente. Los trabajos de dicha tesis fueron realizados entre 1976 y 1979 con becas del CONICET. Ya que el efecto hormonal mostrado en la Figura 5.9 podía ser directo sobre los pinealocitos o mediados por cambios en la activación de la vía neural a la pineal, en la tesis de la Lic. Vacas se investigó la existencia de ambos mecanismos y su interacción (Figura 5.12). Estos datos sentaban la base para un modelo neuroendocrino de gran potencialidad de aplicación (Cardinali y Vacas, 1978).

La segunda Tesis Doctoral del Laboratorio de Farmacología Neuroendocrina fue la de la Lic. en Ciencias Químicas Mónica Nora Ritta, quien se desempeñó como becaria del CONICET entre 1977 y 1980. En esta Tesis se exploró un aspecto vinculado con el modelo neuroendocrino: la función de las prostaglandinas en la unión neuroefectora pineal y un aspecto relacionado con el mecanismo de acción de la melatonina: la inhibición de la síntesis de prostaglandinas en el sistema nervioso central. Con respecto al primer punto, se caracterizó la síntesis, presencia de receptores y efectos de las prostaglandinas en la glándula pineal de rata. Estos estudios indicaron claramente que la administración de antiinflamatorios no esteroideos tenían la potencialidad de inhibir la producción de melatonina, hecho de importancia clínica como veremos más adelante. Asimismo, se plantearon analogías de interés con el control de la producción del GnRH por neuronas hipotalámicas, resumidas en la Figura 5.13.

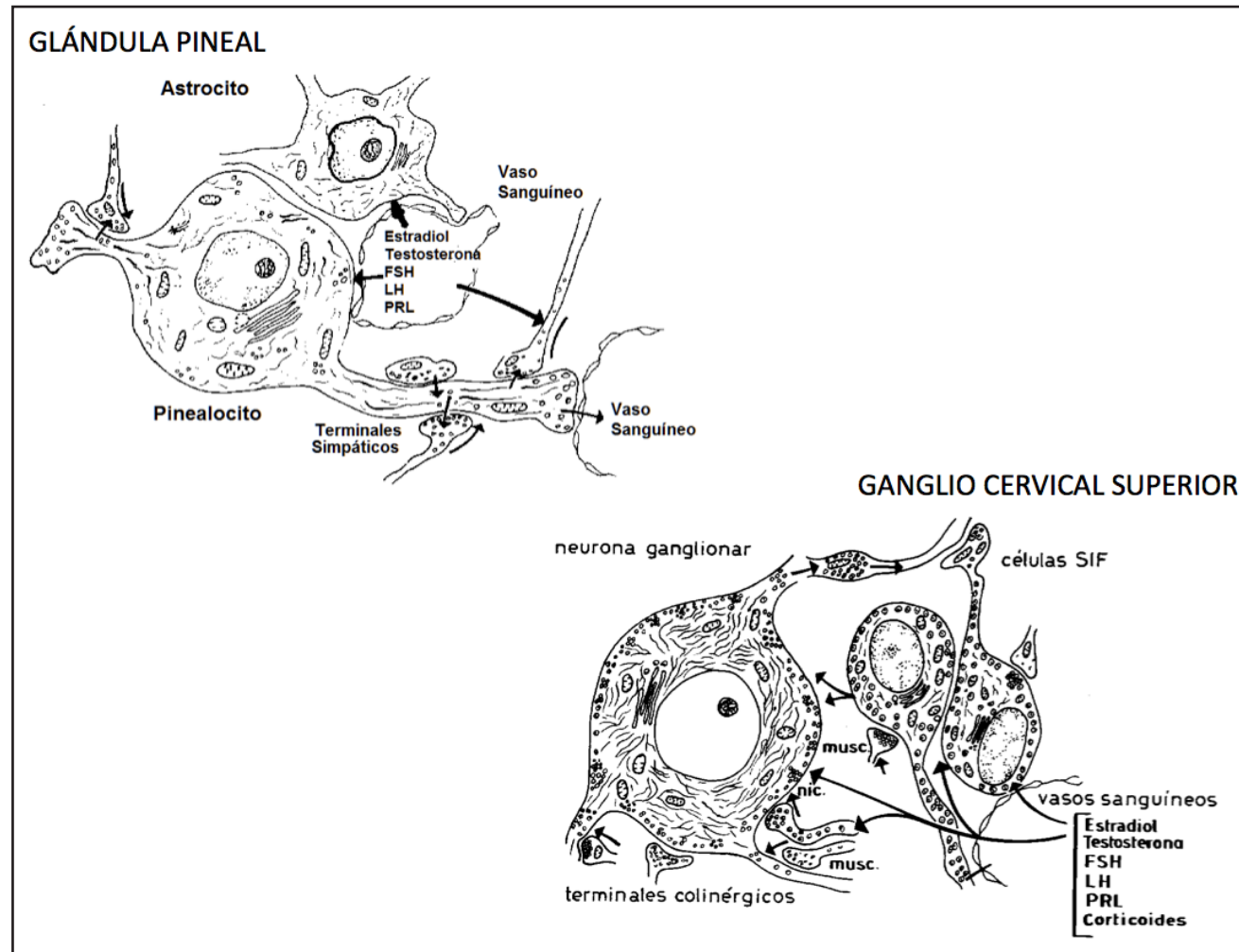
Con respecto al segundo punto, los estudios de la Lic. Ritta fueron la primera demostración que la melatonina era un inhibidor de la síntesis de prostaglandinas, y este efecto antiinflamatorio es uno de los de máxima importancia actualmente cuando se explica el papel de la melatonina como citoprotector. La Tesis Doctoral de la Lic. Ritta fue presentada para optar al título de Doctor en Ciencias Químicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA con el título: “Prostaglandinas y función pineal. Su participación en la biosíntesis y mecanismo de acción de la hormona pineal melatonina” obteniendo la calificación de sobresaliente.



*Figura 5.13. Homología entre el control de síntesis pineal de melatonina por prostaglandinas y el del control de síntesis hipotalámica de GnRH por prostaglandinas (modificado de Cardinali y Ritta, 1983).*

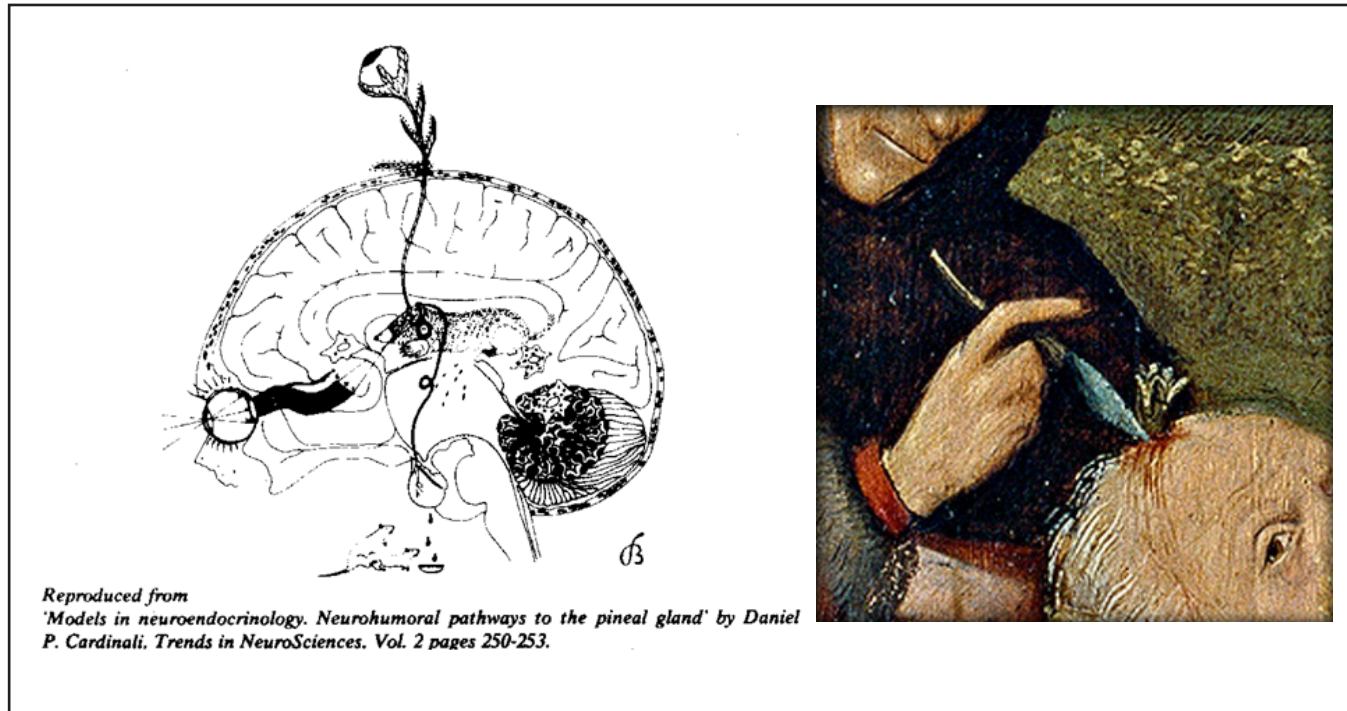
Por ese entonces se acercaron varios estudiantes de medicina al laboratorio y alguno de ellos se quedaron por años demostrando un evidente interés por la investigación científica. Pedro Ricardo Lowenstein fue el más destacado. Pedro comenzó a trabajar en 1978 sobre aspectos vinculados con el neurotransmisor ácido gamma-amino butírico (GABA) y lo hizo a dos puntas: su papel en la glándula pineal y su posible interacción con la acción central de la melatonina.

Como debía cumplir con sus obligaciones de estudiante, la velocidad con que progresó el trabajo fue en dos tiempos: antes y después de obtener su título de médico. Ya en su primera fase había



*Figura 5.14. Los efectos hormonales son ejercidos tanto en los pinealocitos como en las neuronas ganglionares del GCS.*

caracterizado el receptor de progestágenos en la glándula pineal y estudiado otros aspectos de la acción de esteroides en la pineal. También identificó los sitios de unión de benzodiazepinas en la pineal bovina y humana (Lowenstein et al., 1984), y ello fue un fuerte estímulo para los estudios posteriores sobre GABA y melatonina. La tesis Doctoral de Pedro Lowenstein "Un estudio sobre las bases moleculares del mecanismo de acción de las benzodiazepinas en la glándula pineal y sistema nervioso central" fue presentada para optar al título de Doctor en Medicina, Facultad de Medicina, UBA obteniendo calificación de sobresaliente. Dicha Tesis Doctoral obtuvo el Premio Facultad de Medicina 1984, a la mejor Tesis presentada.



*Figura 5.15. A la izquierda: Dibujo de creación editorial para la promoción de la revista Trends in Neurosciences, Elsevier, Amsterdam, en 1980. Aunque este cronista no puede afirmarlo, el dibujante (seguramente holandés y conocedor de piedras en la cabeza, fue influido por el detalle del cuadro de El Bosco (derecha) y que puede verse completo en la Figura 1.1.*

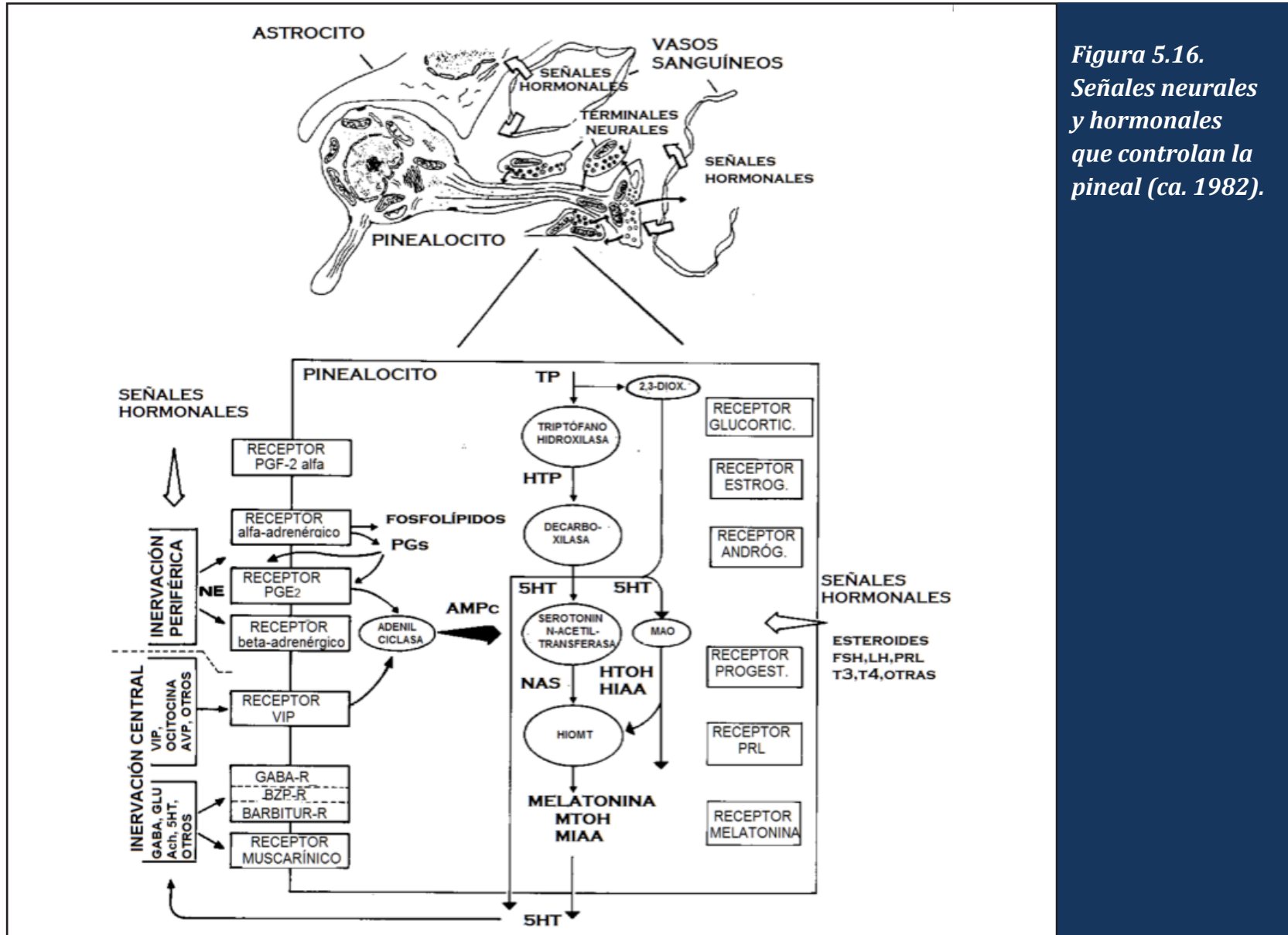


Figura 5.16. Señales neurales y hormonales que controlan la pineal (ca. 1982).

En 1979 publiqué un artículo de revisión en la revista Trends in Neurosciences resumiendo los conocimientos del modelo hasta ese momento (Figura 5.14) (Cardinali, 1979). Este trabajo fue publicitado por la empresa editorial como se muestra en la Figura 5.15: ¡La Piedra de la Locura en el sentido del Bosco, ver Fig. 1.1). Hacia 1981, fecha de publicación del esquema de la Figura 5.16, las características del modelo estaban completadas (Cardinali, 1981).

Años más tarde se publicaba la última Tesis Doctoral del grupo de investigación relacionada con el tema del modelo pineal. El médico Héctor Eduardo Chuluyan, becario del CONICET entre los años 1987 y 1991 presentaba ese año el trabajo de Tesis: “Señales paracrinas en la glándula pineal. Melatonina, GABA y serotonina como señales intrapineales”, para optar al título de Doctor en Medicina, Facultad de Medicina, UBA, Tesis Doctoral que recibió la calificación de sobresaliente

## Referencias

**(Para otras referencias del laboratorio del autor, véase el Adendo)**

Axelrod, J. (2003). Journey of a late blooming biochemical neuroscientist. J Biol Chem 278, 1-13.

Cardinali, D.P. (1979). Models in neuroendocrinology. Neurohumoral pathways to the pineal gland. Trends Neurosci 2, 250-253.

Cardinali, D.P. Melatonin. (1981). A mammalian pineal hormone. Endoc Rev 2, 327-346.

Cardinali D. P., Ritta M. N. (1983). The role of prostaglandins in neuroendocrine junctions: Studies in the pineal gland and the hypothalamus. Neuroendocrinology 36, 152 - 160

Cardinali D. P., Vacas M. I. (1978). Mechanisms underlying hormone effects on pineal function: A model for the study of integrative neuroendocrine processes. J Endocrinol Invest 1, 89-96.



- Ceinos, R.M., Chansard, M., Revel, F., Calgari, C., Miguez, J.M., Simonneaux, V. (2004). Analysis of adrenergic regulation of melatonin synthesis in Siberian hamster pineal emphasizes the role of HIOMT. *Neurosignals* 13, 308-317.
- Deguchi, T., Axelrod, J. (1972). Control of circadian change of serotonin N-acetyltransferase activity in the pineal organ by the beta-adrenergic receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 69, 2547-2550.
- Goldstein, R. (1992). Arginine-vasotocin (AVT)-a pineal hormone in mammals. *Rom J Endocrinol* 30, 21-44.
- Johnson, L.Y., Vaughan, M.K., Richardson, B.A., Petterborg, L.J., Reiter, R.J. (1982). Variation in pineal melatonin content during the estrous cycle of the rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 169, 416-419.
- Klein, D.C. (1985). Photoneural regulation of the mammalian pineal gland. *Ciba Found Symp* 117, 38-56.
- Klein, D.C. (2007). Arylalkylamine N-acetyltransferase: "the Timezyme". *J Biol Chem* 282, 4233-4237.
- Lawrynowicz, A.E.B., Baker, T.D. (2005). Suicide and latitude in Argentina: Durkheim upside-down. *Am J Psychiatry* 162, 1022.
- Liu, T., Borjigin, J. (2005). N-acetyltransferase is not the rate-limiting enzyme of melatonin synthesis at night. *J Pineal Res* 39, 91-96.
- Lowenstein, P., Rosenstein, R.E., Caputti, E., Cardinali, D.P. (1984). Benzodiazepine binding sites in human pineal gland. *Eur J Pharmacol* 106, 399-403.
- Nagle, C.A., Neuspiller, N.R., Cardinali, D.P., Rosner, J.M. (1972). Uptake and effect of 17 $\beta$ -estradiol on pineal hydroxyindole-O-methyl transferase (HIOMT) activity. *Life Sci (II)*.11, 1109-1116.

Reiter, R.J., Tan, D.X., Manchester, L.C., Paredes, S.D., Mayo, J.C., Sainz, R.M. (2009). Melatonin and reproduction revisited. *Biol Reprod* 81, 445-456.

Wehr, T.A. (1992). Seasonal vulnerability to depression. Implications for etiology and treatment. *Encephale*. 18 Spec No 4, 479-483.



## Capítulo VI

### La Inervación Periférica del Hipotálamo: Lo Difícil que es Cambiar un Paradigma Fisiológico.

*“The anterior hypophysis is innervated by the sympathetic nervous system via the cavernous plexus from which numerous nerve twigs also go to the pars intermedia and infundibular stalk. This hypophysial innervation consists of post-ganglionic fibres of the superior cervical sympathetic ganglia, which, on reaching their glandular destination, end in relation to the vascular system and individual parenchymal cells... That these postganglionic nerves have a physiological function other than of purely vasomotor nature is established, I believe, by the observations which follow...”*

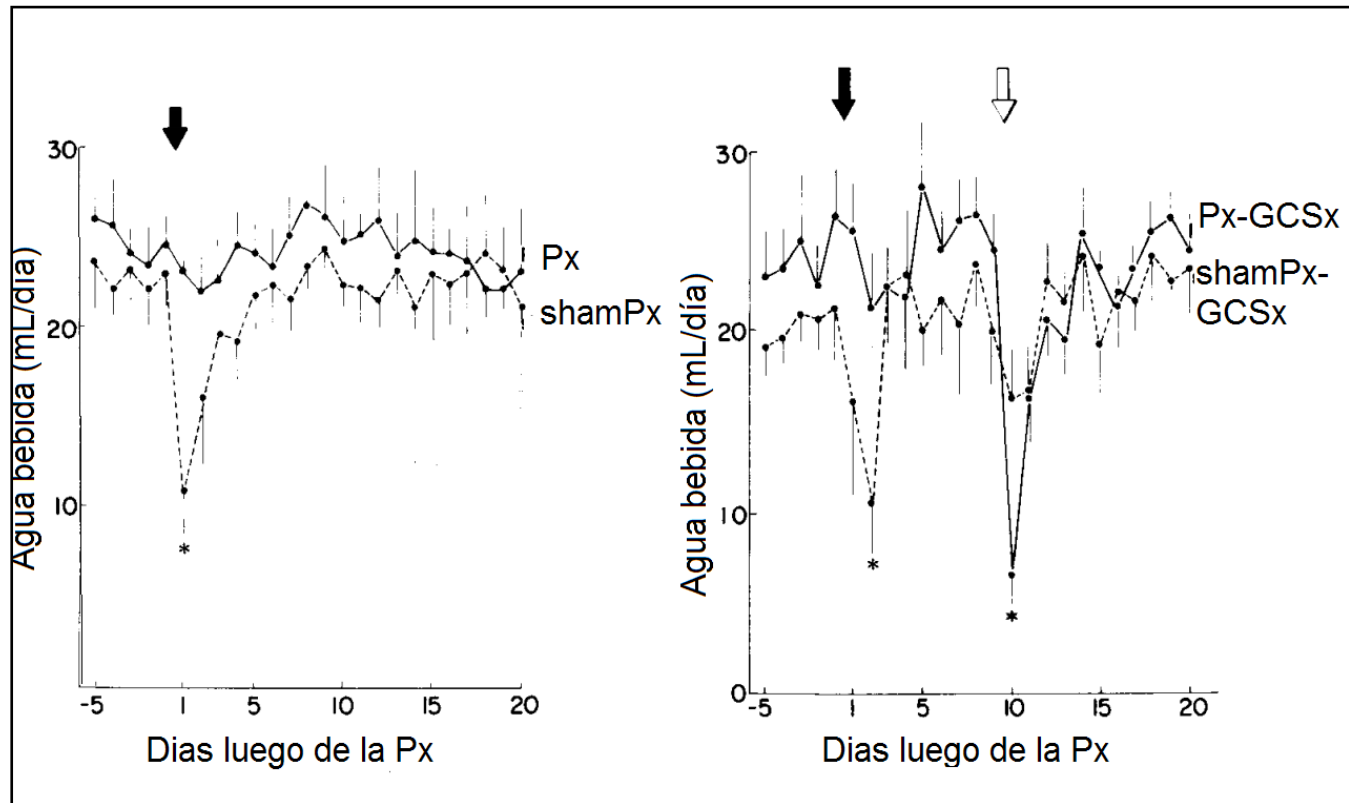
*Harry B. Friedgood, Harvard University, Tercentenary Celebration, Sept. 15, 1936*

El comienzo de Neuroendocrinología como disciplina científica independiente se remonta a principios de la década de 1930. En ese momento el modelo animal más popular era el de la ovulación refleja en la coneja, es decir la respuesta ovulatoria que seguía al coito. Este fenómeno se conocía desde los trabajos de Regnier de Graaf (1641-1673) e inicialmente se pensó que se debía al contacto del semen con el ovario (Wiesemann, 1991).

La prueba sólida de su vínculo con el sistema nervioso central la dio la observación que la estimulación eléctrica cefálica producía la ovulación en la coneja (Marshall y Verney, 1936). Previamente el origen neural del vínculo entre el coito y la ovulación fue sugerido por estudios que reportaron una extensa innervación de los folículos ováricos. En 1933, Bellerby postuló que la hipófisis anterior estaba involucrada en el proceso ovulatorio en base a que: a) el aumento en una sustancia estimuladora del ovario en el flujo sanguíneo derivado del lóbulo anterior luego del coito; b) la falta de efectos del coito

si se resecaba la hipófisis; c) los efectos estimulantes de extractos de lóbulo anterior sobre el ovario. Las posibles vías motoras consideradas en ese momento como conectando al sistema nervioso central con la adenohipófisis fueron: a) el nervio petroso superficial mayor y el ganglio esfenopalatino; b) los ganglios simpáticos cervicales superiores (GCS); c) el tallo hipofisario.

Aunque finalmente la conexión vascular entre el hipotálamo y la adenohipófisis se convirtió en el paradigma central de la neuroendocrinología actual por la obra de gigantes de la fisiología como Geoffrey W.Harris (1937), en aquel momento ya se identificó una inervación adenohipofisaria vascular derivada de los GCS mediante el uso de técnicas de tinción de plata. Debido a que estudios



*Figura 6.1. Cambios en la ingesta de agua en ratas pinealectomizadas o control (izquierda) o sujeta a GCSx en presencia o ausencia de pineal (derecha). Datos de Gejman y col., 1981.*

posteriores indicaron que la estimulación ya sea del tronco simpático cervical o del vago no afectaba la ovulación en la coneja, el interés en el tema de la inervación periférica de la unidad hipotálamo-hipofisaria perdió interés y se extinguió luego de 1955.

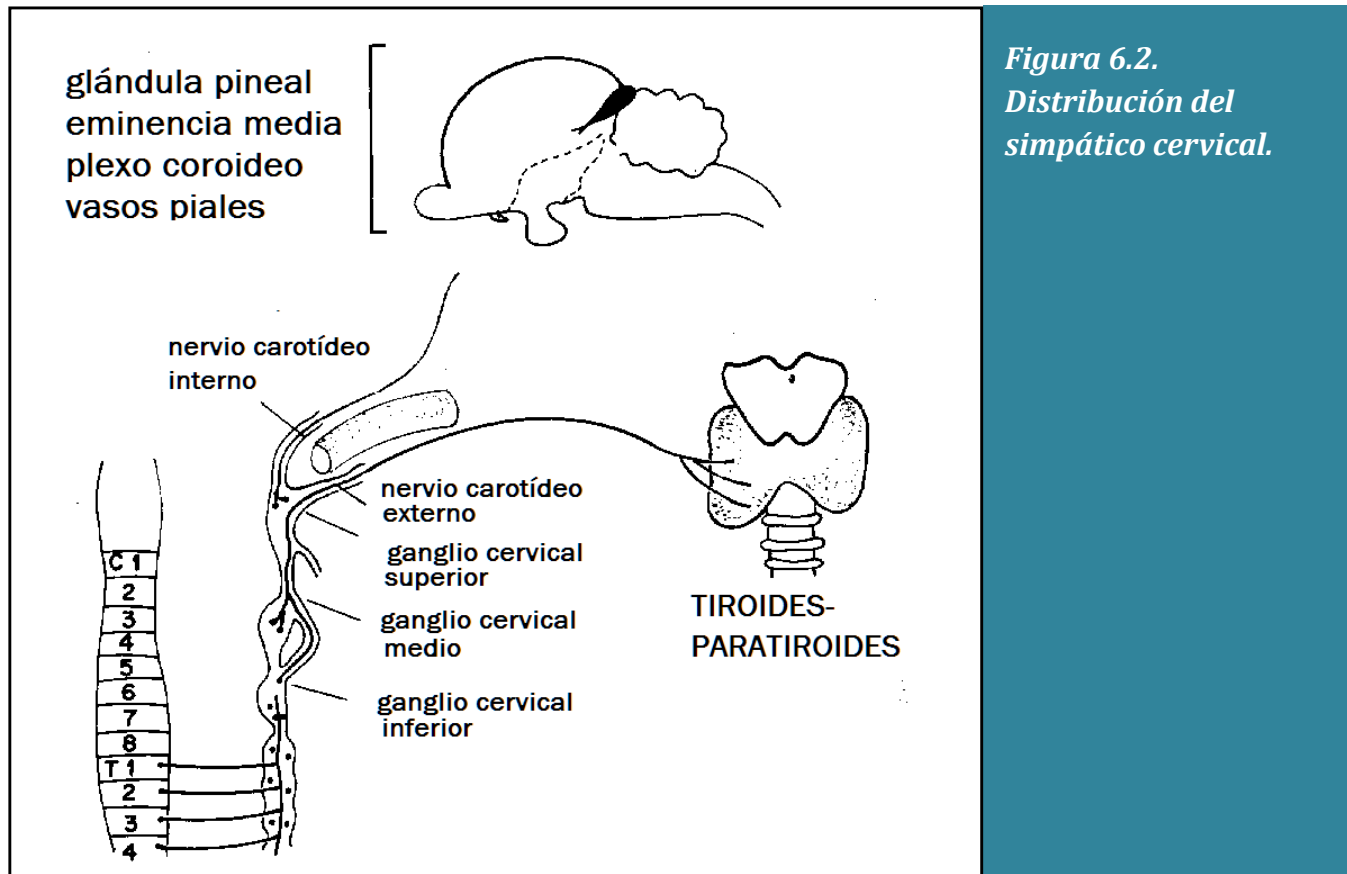
Nuestro interés en el asunto comenzó como una derivación del tema de la regulación pineal. En base a la idea que la única inervación de relevancia funcional pineal provenía de los GCS, en aquellos tiempos (y todavía hoy) se ha usado indistintamente la pinealectomía y la remoción de los GCS (gangliectomía cervical superior, GCSx) para producir la supresión experimental de la síntesis de melatonina pineal.

En nuestras manos dichos procedimientos no dieron idénticos resultados. En distintas series de experimentos encontramos que la pinealectomía y la GCSx diferían en sus consecuencias sobre comportamientos tan dispares como la regulación de la liberación de prolactina, o la regulación del apetito por el agua. Un médico recién graduado, Pablo Víctor Gejman, quien se agregó a nuestro grupo de investigación en 1979, fue el que le dio impulso inicial a dichos estudios. Pablo demostró con claridad que los efectos de la GCSx y de la pinealectomía son independientes para afectar la ingesta de agua en la rata (Gejman et al., 1981) (Figura 6.1).

Pablo era una persona muy activa y dedicada, con un insuperable olfato para relaciones interpersonales, y su pasaje por el Laboratorio estuvo lleno de anécdotas al respecto. Una de ellas merece contarse. Tradicionalmente nuestra fuente de tejidos bovinos fue el Frigorífico Bancalari, ubicado en San Fernando, Provincia de Buenos Aires, sobre la Ruta 202. Pablo era nuestro "contact man" ya que por su experiencia de taxista se movía como anillo al dedo entre los matarifes de aquel entonces, hombres de armas llevar. Iba periódicamente al Frigorífico con el equipo de cirugía para extraer o la pineal o áreas del cerebro de vaca (en los que entonces describimos los receptores de melatonina). El punto era que debía llevar tijeritas de más, porque siempre algún matarife se la pedía de regalo "para recortarse el bigote".

Trabajos como los de Pablo nos demostraron con claridad que considerar que la única inervación de trascendencia neuroendocrina de los GCS era la pineal constituía un error. La relevancia neuroendocrina de los GCS está subrayada por el número de estructuras endocrinas o

neuroendocrinas que se encuentran en ese territorio, incluyendo además de la pineal, las glándulas tiroides y paratiroides, los cuerpos carotideos, la glándula hipófisis (anterior y posterior) y la eminencia media y plexos coroideos. A diferencia de otros ganglios paravertebrales o prevertebrales de la cadena simpática, los ganglios simpáticos de la región cervical carecen de ramos comunicantes y, en consecuencia, las fibras preganglionares alcanzan al GCS desde segmentos inferiores de la cadena simpática (Figura 6.2).

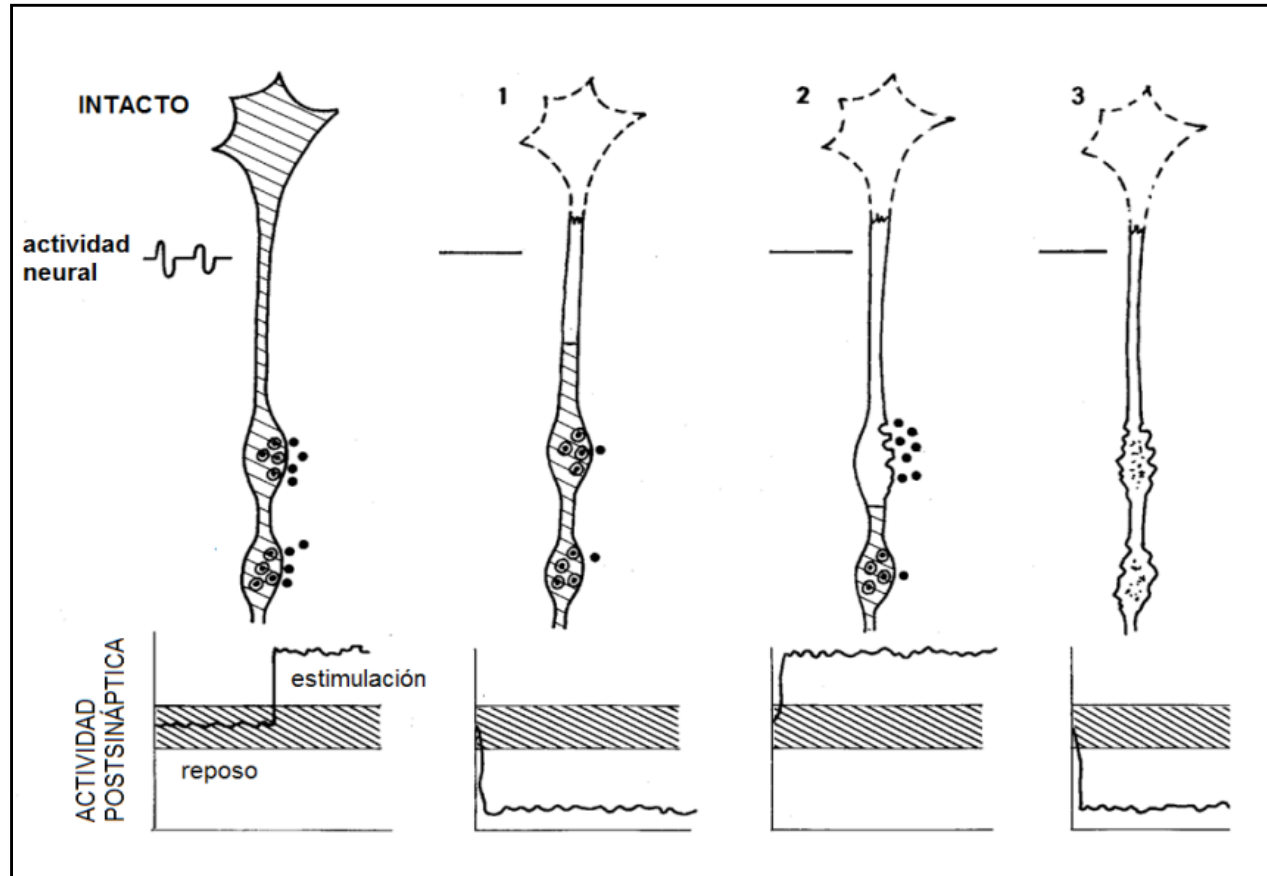


*Figura 6.2.  
Distribución del  
simpático cervical.*

Las fibras postganglionares simpáticas abandonan los GCS por dos vías. La vía nerviosa carotídea interna es la vía seguida por las fibras postganglionares que inervan las estructuras intracraneales, como la pineal, eminencia media, adeno y neurohipófisis o el plexo coroideo. El nervio carotídeo externo es la vía por la que se alcanza la tiroides y paratiroides y estructuras inmunes como los ganglios linfáticos submaxilares. En este caso, algunas de las neuronas ganglionares inervantes se encuentran en los ganglios simpáticos cervicales medio y / o inferior y envían sus axones a través del GCS y del nervio carotídeo externo, junto con las fibras postganglionares originadas en el GCS (Figura 6.2).

Un momento importante para esta parte de la historia el establecimiento de nuestro laboratorio en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina en 1987. Allí tuvimos la oportunidad de vagar a nuestro antojo por la antigua Biblioteca que había fundado Bernardo Houssay en el Instituto de Fisiología en los años '20. Leer los trabajos originales de Cannon y Friedgood sobre la función de la inervación autonómica en las glándulas endocrinas fue un placer (Cannon, 1929; Friedgood, 1948). Horacio Romeo, un ávido lector y "rata de biblioteca" proveía el polvoriento material. Era darse cuenta que estábamos sentados en los hombros de gigantes.

Pero sigamos con nuestra historia. En nuestro laboratorio se utilizaron dos estrategias para examinar las consecuencias neuroendocrinas de la manipulación de los GCS. La primera de ellas consistió en el "experimento de privación" mediante el examen de las secuelas endocrinas de la GCSx 1 a 4 semanas después de la cirugía en presencia o en ausencia de la glándula pineal. La segunda estrategia fue determinar el efecto de la activación postsináptica transitoria que se produce durante la fase temprana de degeneración anterógrada ("walleriana") de las terminaciones nerviosas simpáticas en animales GCSx.



*Figura 6.3. Las distintas fases de la reacción de degeneración luego de la GCSx en la rata. (1) Primera fase paralítica (de 0 a 8-24 h, dependiendo de la longitud del muñón axonal), resultado: parálisis postsináptica. (2) fase de degeneración (de 12 a 36 h), resultado: liberación de NE y estimulación postsináptica. (3) Segunda y definitiva fase paralítica (desde la hora 30-36 en adelante).*

Apreciamos por primera vez la potencialidad de este segundo modelo a partir de los estudios de Carlos Pereg, en la Facultad de Odontología, UBA, quien analizó en detalle el proceso de activación postsináptica observado durante la degeneración walleriana (también llamada “reacción de degeneración”) en las glándulas salivales, como continuación de experimentos iniciales de Emmelin y Trendelenburg en la década de los ’60 (Sanz et al., 1982). Con una latencia de 1-3 días, latencia que depende de la distancia entre el GCS y el territorio estudiado (o sea de la longitud del muñón axonal),



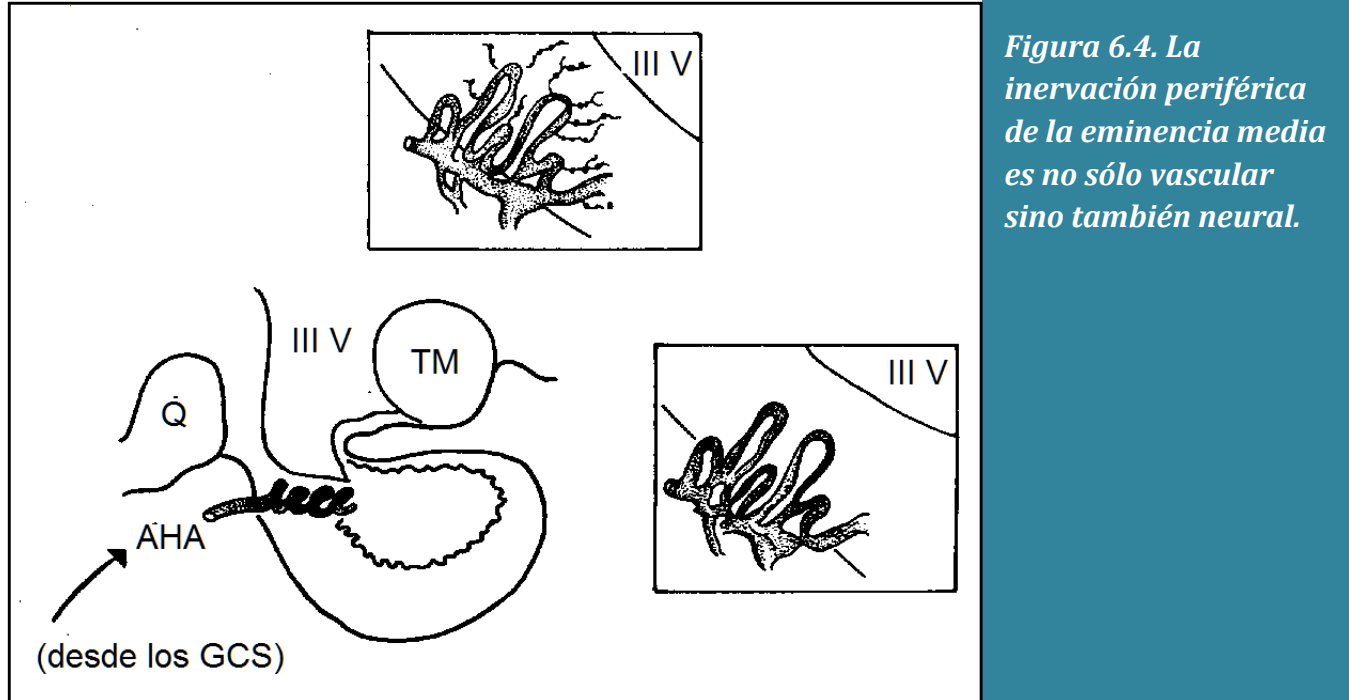
la sección del nervio es seguida por hiperactividad del órgano desnervado como consecuencia de la liberación supraliminar del neurotransmisor norepinefrina (NE) desde las terminaciones nerviosas en degeneración, que continúa durante unas 48 h y es seguida por una parálisis definitiva (Figura 6.3).

Una de las ventajas de este paradigma experimental es que el período completo de la degeneración walleriana en la vía de los GCS en el caso de las proyecciones centrales se puede controlar fácilmente en el animal consciente por el grado de retracción palpebral (debido a la actividad en la degeneración a nivel de los músculos periorbitales) ya que la distancia que separa los GCS de los músculos orbitales es aproximadamente la misma que la que los separa del hipotálamo basal. El criterio para una GCSx exitosa en ratas, y por lo tanto para asegurar una actividad de degeneración en el campo de proyección de los GCS, era la detección de la siguiente secuencia temporal de fenómenos palpebrales: a) ptosis palpebral bilateral de la operación hasta aproximadamente 10 h después de la cirugía, b) retracción palpebral bilateral entre 10 y 30 h después de la cirugía, c) ptosis palpebral irreversible a partir de las 30 h de la operación. Los animales que no presentaban retracción palpebral bilateral, y por lo tanto la remoción ganglionar había sido incompleta, podían ser fácilmente detectados y descartados.

Cabe señalar, sin embargo, que la liberación continua del transmisor inducida por la degeneración es sólo una indicación aproximada del efecto de la liberación fisiológica, fásica, de transmisor que sigue a la estimulación de la vía aferente. Por lo tanto, la reacción de degeneración sólo indica el papel potencial de la activación postsináptica y no sus detalles fisiológicos. A pesar de ello, demostró ser un modelo de gran potencial heurístico, lamentablemente desapercibido hasta hoy.

En una serie de estudios muy influyentes llevados a cabo por John Porter en la Universidad de Dallas en la década de los '60 y '70 en el modelo de medición directa del flujo del sistema porta hipofisario en la rata anestesiada se había concluido que la GCSx carecía de efectos sobre el flujo vascular (Porter et al, 1967). Para este cronista era claro que tal modelo (animal profundamente anestesiado) no era adecuado para contestar a la pregunta planteada. Como vía final de la regulación autonómica, la actividad de las neuronas simpáticas ganglionares está fuertemente influida por el nivel de vigilancia

y el estrés. Por lo tanto, es imposible afirmar o negar su función en tales circunstancias de anestesia profunda.



*Figura 6.4. La inervación periférica de la eminencia media es no sólo vascular sino también neural.*

Además, y planteando el problema desde el punto de su aplicación a la medicina humana, es de notar que el sistema porta hipofisario en el hombre, a diferencia del de la rata, tiene una importante inervación periférica. En el hombre, los capilares del plexo primario del sistema porta hipofisario forman bucles en espiral denominados "gomitoli" que penetran en el infundíbulo. Las arteriolas de la eminencia media tienen paredes musculosas, y la constricción refleja de estos vasos después de hemorragia post-parto ha sido identificada como un factor primordial en la génesis del infarto hipofisario post-parto (o síndrome de Sheehan) (Figura 6.4).

Nos decidimos por lo tanto a reevaluar la apodíctica conclusión de Porter que no existía regulación periférica del flujo en la eminencia media y que toda la cuestión se resolvía en el control central por parte de los sistemas monoaminérgicos del tronco cerebral. Mediante técnicas histoquímicas de fluorescencia ya se había demostrado en la década de los '70 que luego de la GCSx en la rata desaparecían las fibras catecolaminérgicas gruesas de los vasos sanguíneos del lóbulo neurointermedio hipofisario, mientras que las terminales delicadas de origen central se mantenían.

Con la Dra. María Irene Vacas, y en colaboración con los Dres. Francisco Stefano, en ese momento director del Instituto de Farmacología Experimental (ININFA, CONICET) y Sara Chiocchio, del Instituto de Neurobiología, publicamos los primeros estudios que indicaban la existencia de una disminución significativa de la captación neuronal del neurotransmisor NE y del contenido de NE de la eminencia media en ratas luego de la GCSx (Cardinali et al., 1981; Chiocchio et al., 1984). Tales cambios drásticos en la captación de alta afinidad y contenido del transmisor indicaban que un número significativo de las terminales nerviosas noradrenérgicas en la eminencia media derivaban del GCS. De hecho, los estudios de destrucción de neuronas noradrenérgicas ascendentes del tronco cerebral con el neurotóxico 6-hidroxidopamina sólo redujeron la concentración de NE en la eminencia media en un 60 %, lo que sugiere que al menos 30-40 % de la NE de la eminencia media se origina periféricamente.

Con estos datos nos abocamos a evaluar qué ocurría con las respuestas neuroendocrinas centrales concomitantemente con la reacción de degeneración. Mediante el análisis de la síntesis del mensajero intracelular adenosina monofosfato cíclico (AMPC) en el hipotálamo basal, un fenómeno que se sabía ligado a la activación noradrenérgica postsináptica, pudimos demostrar las tres fases de la reacción de degeneración post-GCSx en la eminencia media. Después de una fase inicial de parálisis neural, que duró aproximadamente 10-16 h y que se reflejó por una síntesis reducida de AMPC, dicha síntesis se incrementó abruptamente en coincidencia con la degeneración anterógrada de las terminaciones nerviosas periféricas noradrenérgicas (indicada por la disminución en NE de la eminencia media). Estos cambios ocurrieron también en animales pinealectomizados, descartando así una posible participación de la secreción pineal. Finalmente, se produjo la tercera fase de parálisis 1 a 3 días post-GCSx, lo que lleva a una supersensibilidad  $\alpha$ -adrenérgica farmacológica y bioquímicamente demostrable en el hipotálamo basal (Cardinali et al., 1981; Chiocchio et al., 1984).

Otro aspecto de la fisiología de los GCS nos atraía fuertemente. Más que constituir meras estaciones de relevo de la vía neural simpática, varios datos hablaban de un activo proceso de integración de señales de relevancia fisiológica en las células ganglionares. En realidad ya Porfour du Petit unos 270 años atrás había propuesto la denominación de “pequeños cerebros periféricos” para estas estructuras. Distintas observaciones realizadas por varias generaciones de becarios en mi laboratorio apoyaron la idea que los GCS son sitios efectores de la actividad hormonal y activos centros de integración de señales (Cardinali et al., 1983). Pablo Gejman, en sus últimos estudios antes de emigrar a Israel, demostró cambios en los receptores colinérgicos muscarínicos del GCS ante el tratamiento in vivo e in vitro con hormonas reproductivas. Con la Dra. María Irene Vacas identificamos la persistencia de los efectos hormonales sobre el GCS en ausencia de proyecciones preganglionares intactas descartando así los cambios centrales en las vías nerviosas hacia los GCS como explicación de los efectos hormonales. Por último identificamos sitios de unión para varias hormonas en los GCS, avalando una posible aplicación como modelo neuroendocrino a semejanza de la glándula pineal (Figura 5.14). Estos estudios fueron completados por la Dra. María Elvira Landa, quien con la colaboración del Lic. Guillermo González Burgos, demostró la reactividad ganglionar ante la exposición de hormonas tiroideas. Años después en 1995, Guillermo completaba su tesis doctoral “Estudio neurofarmacológico acerca de la función del ácido  $\gamma$ -aminobutírico en el ganglio cervical superior”, presentada para optar al título de Doctor en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA la que recibió la calificación de sobresaliente.

El paso siguiente era obvio. Si podíamos demostrar cambios postsinápticos relevantes en la fase de degeneración en la eminencia media, la liberación de hormonas del sistema hipotálamo-hipofisario debía necesariamente cambiar. ¡Y entonces podríamos cuestionar la validez del paradigma neuroendocrino contemporáneo que negaba toda función de la inervación periférica de la unidad hipotálamo-hipofisaria!

Nos abocamos durante unos 10 años a explorar este concepto. Un esquema que resume las observaciones realizadas durante tan largo periodo se muestra en la Figura 6.5.

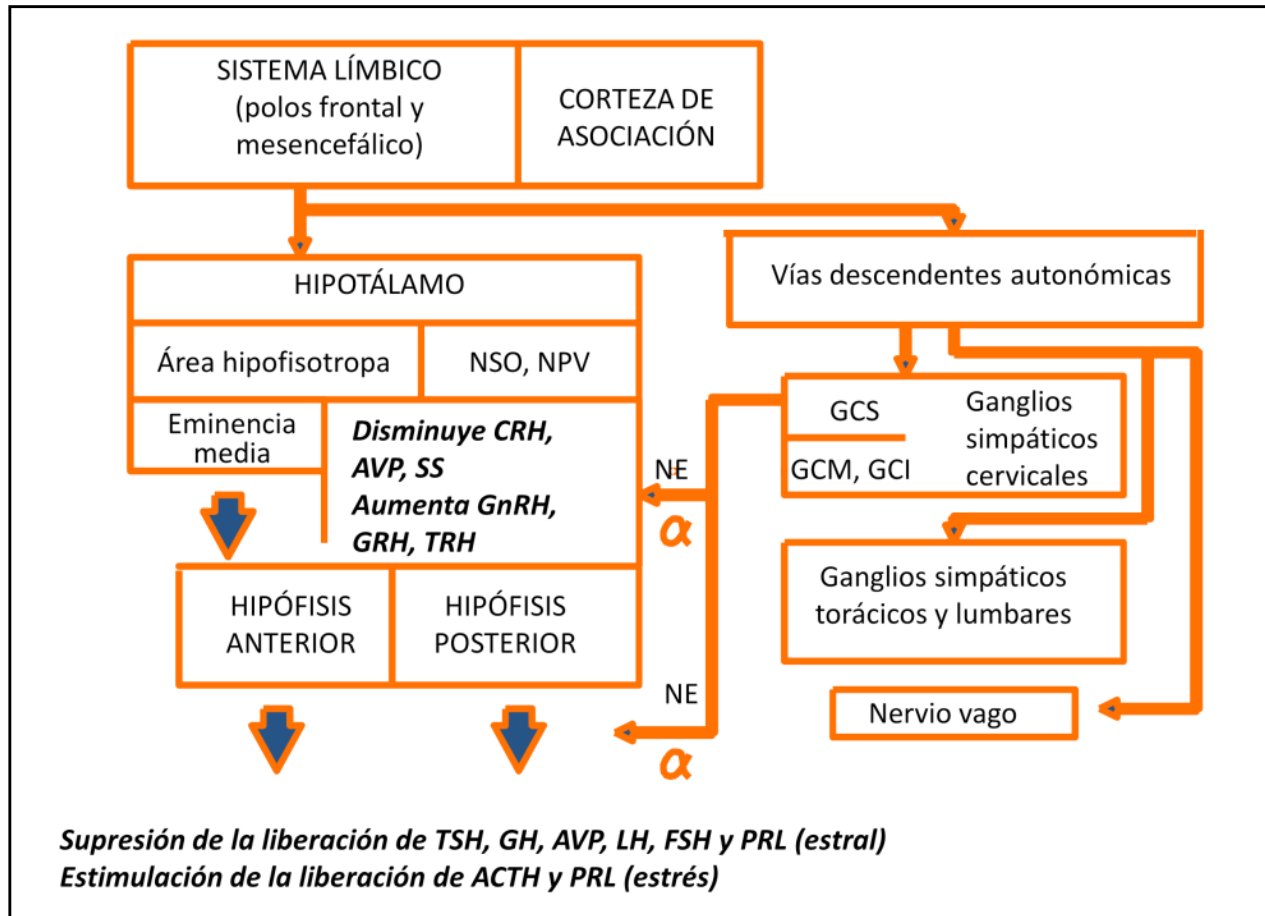


Figura 6.5. Diagrama que resume los cambios en la unidad hipotálamo-hipofisaria durante la activación simpática cervical.

El primer modelo examinado fue el del control de la liberación de gonadotrofinas durante el ciclo estral en la rata. Cuando efectuamos la GCSx a las 24:00 h del diestro II, es decir unas 17 h antes del periodo crítico (1600 h del proestro, momento en que se libera la LH, FSH y prolactina necesarias para la ovulación) observamos un retraso de unos 2-4 días del ciclo estral con frotis vaginales leucocitarios (diestro) al cabo de los cuales el ciclo estral se reanudó. Por el contrario, la GCSx a

las 24:00 h en el día del estro no modificó la ciclicidad estral, ya que la reacción de degeneración no coincidió con la fase de liberación de gonadotrofinas (Cardinali et al., 1989). Estos resultados indicaron que la degeneración de los nervios simpáticos después de la GCSx debe coincidir con el estímulo para la liberación de gonadotrofinas y prolactina del pico preovulatorio para interrumpir el ciclo estral. El efecto inhibitorio de la degeneración walleriana periférica sobre la liberación de gonadotrofinas y prolactina de liberación también se detectó en ratas pinealectomizadas, lo que indicó que era independiente de la liberación de melatonina que se produce durante la degeneración walleriana post-GCSx.

El efecto observado es hipotalámico y no hipofisario: pudimos verificar que la concentración de GnRH en el hipotálamo basal se incrementa, y la respuesta de la pituitaria a GnRH se mantiene normal, en el momento de la depresión de LH durante la fase de degeneración walleriana post-GCSx. Estas observaciones indicaron fuertemente un efecto importante de las terminaciones nerviosas periféricas en la eminencia media.

El segundo modelo tuvo que ver con los mecanismos regulatorios de la secreción de TSH. Como veremos en el próximo Capítulo, la forma en que los GCS pueden regular la función tiroidea es dual: a través de las terminaciones centrales en la eminencia media y a través de la inervación directa de los acinos tiroideos. En nuestros estudios encontramos una depresión significativa de la liberación de TSH durante la fase de degeneración anterógrada post-GCSx. En forma similar a lo encontrado para GnRH, se verificó una respuesta normal hipofisaria al TRH durante la degeneración walleriana de los nervios simpáticos periféricos.

En otros estudios examinamos los niveles séricos de hormona de crecimiento y prolactina y los hipotalámicos de GHRH, TRH y somatostatina, desde 16 h hasta 7 días después de una GCSx bilateral en ratas. Coincidentemente con la degeneración de los terminales neurales, y en comparación con los animales con operación simulada, las ratas GCSx mostraron niveles significativamente más bajos de GH y prolactina en suero y más altos de GHRH y TRH en el hipotálamo basal. La somatostatina hipotalámica se redujo significativamente en las ratas GCSx durante la reacción de degeneración.

También encontramos niveles disminuidos de CRH y AVP en el hipotálamo a las 20 h después de la GCSx. Todos estos datos indicaron sin dudas que durante la fase de degeneración walleriana el papel modulador de terminales nerviosas simpáticas periféricas se ejerce sobre la liberación de hormonas hipofisotropas más que sobre su síntesis. La pinealectomía no previno estos cambios, descartando así una posible participación pineal (ver para ref. Cardinali y Romeo, 1990, 1991).

Quisimos en ese momento avanzar en el estudio de las consecuencias de la GCSx en las respuestas mediadas por TSH. Así analizamos la importancia homeostática de las proyecciones de GCS en la adaptación de las ratas a un ambiente frío, situación de fuerte estímulo para la liberación de TSH. Independientemente de la temperatura ambiente a la que se había mantenido previamente a las ratas, la superposición de la degeneración anterógrada de los terminales nerviosos en el campo de la proyección de los GCS con la exposición de los animales a un ambiente frío durante 24 h, dio como resultado la muerte de la casi totalidad de las ratas, mientras los animales con operación simulada sobrevivieron adecuadamente. Esta fue una fuerte indicación de que se necesita una entrada de GCS normal para producir una respuesta adaptativa normal ante el estrés por frío.

Otro tipo de estrés examinado fue el de la inmovilización. Cuando este estrés se practicó durante la fase de degeneración walleriana post-GCSx, se observó una inhibición de la liberación de LH y de corticosterona. El efecto no se observó en animales sometidos a GCSx 1 semana antes. Tomados en conjunto, estos datos sugieren que las proyecciones periféricas de los GCS a la unidad MBH - adenohipofisaria juegan un papel de importancia en la adaptación al estrés en la rata (Cardinali y Romeo, 1990, 1991)

Para sustanciar esta hipótesis decidimos estudiar otro tipo de estrés que remeda una entidad de relevancia clínica, el síndrome de “enfermedad no tiroidea” también llamado “síndrome de bajaT3”. Este cuadro está clínicamente caracterizado por una hipofunción del eje hipófiso-tiroideo con disminución significativa en la concentración de TSH, T4 y T3 en plasma y se lo ha relacionado con el estrés. Este cuadro se reproduce en ratas por inyección de aceite de trementina y quisimos determinar si la GCSx afectaba la respuesta tiroidea en tal situación. Tanto la GCSx, como la sección

bilateral de los nervios carotídeos externos, pero no de los nervios carotídeos internos, impidieron la depresión de la captación tiroidea de  $^{131}\text{I}$  y de la liberación de T4 observadas después de la inyección de aceite de trementina, un agente estresante leve. Por otro lado, la GCSx fue ineficaz para prevenir la reducción de los niveles de TSH provocada por el tratamiento lo que indica que la liberación de hormona tiroidea alterada durante la enfermedad no tiroidea depende, no de efectos centrales de los nervios simpáticos, sino principalmente de un aumento de la actividad en la vía simpática a la glándula tiroides.

En la mayoría de los estudios citados exploramos concomitantemente el efecto de bloqueantes adrenérgicos  $\alpha$  y  $\beta$  en los cambios observados durante la degeneración walleriana post-GCSx. En general, la actividad de degeneración se asoció con la estimulación de receptores adrenérgicos  $\alpha 1$  postsinápticos, con algunas excepciones en las que se observaron efectos cooperativos de un bloqueo combinado  $\alpha$  y  $\beta$  adrenérgicos.

Así luego de 10 años de trabajo, de decenas publicaciones y de la publicación de una revisión de los resultados obtenidos en una de las revistas de mayor impacto en el área en aquella época (Frontiers in Neuroendocrinology) creímos posible mover el paradigma vigente. Pero no lo logramos.

Tuve la posibilidad de verificar este fracaso en una visita que hice en 1987 al laboratorio de Claude Kordon, entonces editor en jefe de la revista internacional Neuroendocrinology y que muy amablemente me mostró el borrador del capítulo sobre control de la unidad hipotálamo-hipofisaria que estaba escribiendo para la primera edición de un libro que tuvo luego gran influencia en el tema (Knobil and Neill's Physiology of Reproduction). Discutimos las observaciones, vi que tenía en su escritorio varios de nuestros trabajos, pero años más tarde, con la publicación del libro, no hubo la más mínima referencia a ellos.

Ésta creo que es una historia interesante. Cambiar un paradigma puede ser más difícil que mover de lugar un cementerio. Tampoco lo logró un gigante como Friedgood en la década de los '30. Sin embargo, los resultados discutidos anteriormente indican sin duda que las terminales nerviosas simpáticas periféricas en el campo de la proyección de GCS juegan un papel en la regulación de la



respuesta hipotalámica ante el estrés en la rata. Como una hipótesis de trabajo que vale la pena reexaminar puede ser postulado que los canales noradrenérgicos centrales y periféricos paralelos transmiten información al sistema neuroendocrino para provocar la respuesta al estrés (Figura 6.5).

## Referencias

**(Para otras referencias del laboratorio del autor, véase el Adendo)**

Bellerby C. W. (1933). The endocrine factors concerned in the control of the ovarian cycle: *Xenopus laevis* as a test animal. *Biochem J* 27, 615-620.

Cannon W. B. (1929). Pharmacological injections and physiological inferences. *Science* 70, 500-501.

Cardinali D. P., Romeo H. E. (1990). Peripheral neuroendocrine interrelationships in the cervical region. *News Physiol Sci* 5, 100-104.

Cardinali D. P., Romeo H. E. (1991). The autonomic nervous system of the cervical region as a channel of neuroendocrine communication. *Front Neuroendocrinol*, 12, 278-297.

Cardinali D. P., Romeo H. E., Ochatt C., Moguilevsky J. (1989). Estrous cycle delay and inhibition of gonadotropin and prolactin release during sympathetic nerve degeneration after superior cervical ganglionectomy of rats. *Neuroendocrinology*, 50, 59-65.

Cardinali D. P., Vacas M. I., Fortis A. L., Stefano F. J. (1981). Superior cervical ganglionectomy depresses norepinephrine uptake, increases the density of  $\alpha$ -adrenoceptor sites, and induces supersensitivity to adrenergic drugs in rat medial basal hypothalamus. *Neuroendocrinology* 33, 199-206.

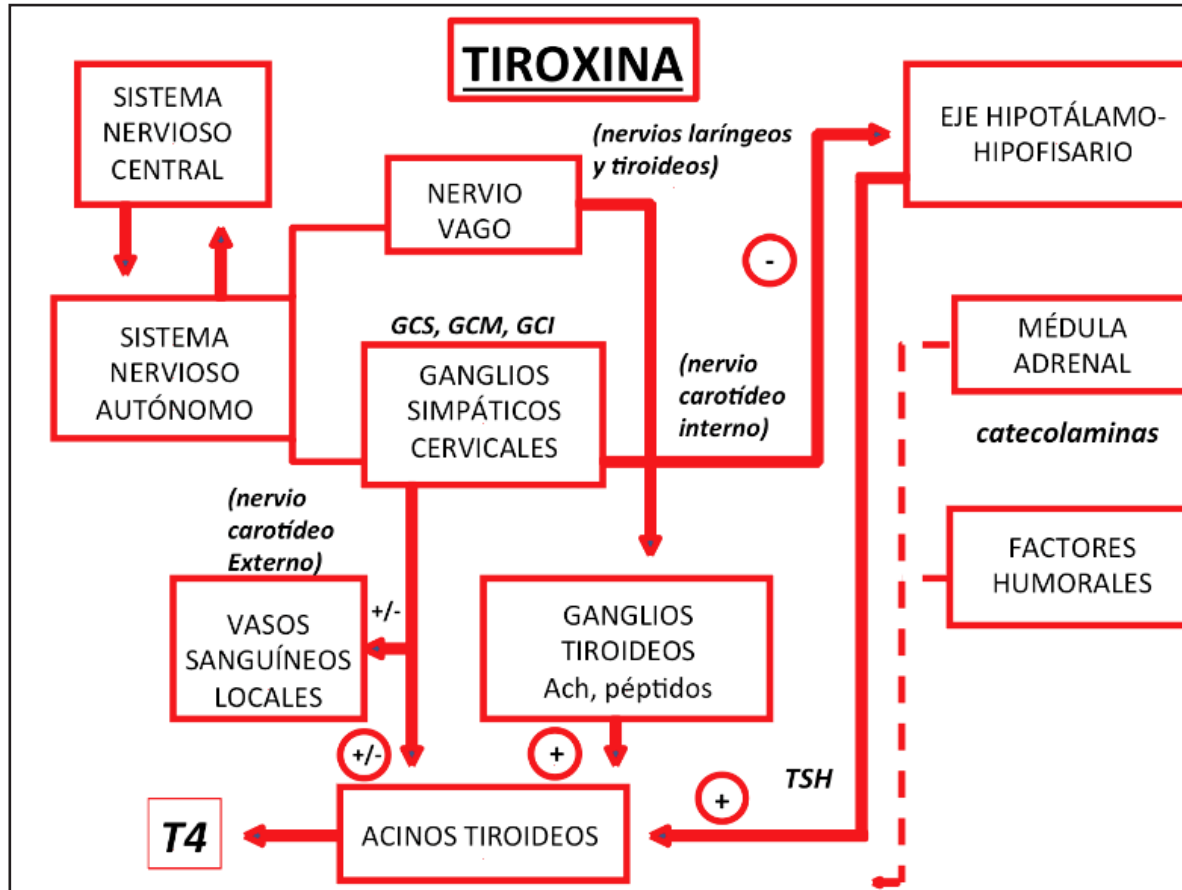
Cardinali D. P., Vacas M. I., Gejman P. V., Pisarev M. A., Barontini M., Boado R. J., Juvenal G. J. (1983). The sympathetic superior cervical ganglia as "little neuroendocrine brains". *Acta Physiol Latinoamer* 33, 205-221.

- Chiocchio S. R., Cardinali D. P., Vacas M. I., Tramezzani J. H. (1984). Acute superior cervical ganglionectomy depresses the postcastration rise of gonadotropins in male rats. *Brain Res* 309, 354-356.
- Friedgood H. B. (1948). Neuro-endocrine and psychodynamic factors in sterility. *West J Surg Obstet Gynecol* 56, 391-398.
- Gejman P. V., Cardinali D. P., Finkielman S., Nahmod V. E. (1981). Changes in drinking behavior caused by superior cervical ganglionectomy and pinealectomy in rats. *J Auton Nerv Syst*, 4, 249-259.
- Harris G. W. (1937). The induction of ovulation in the rabbit, by electrical stimulation of the hypothalamo-hypophysial mechanism. *Proc R Soc Lond B*, 122.
- Marshall F. H., Verney E. B. (1936). The occurrence of ovulation and pseudo-pregnancy in the rabbit as a result of central nervous stimulation. *J Physiol* 86, 327-336.
- Porter J. C., Hines M. F., Smith K. R., Repass R. L., Smith A. J. (1967). Quantitative evaluation of local blood flow of the adenohipophysis in rats. *Endocrinology* 80, 583-598.
- Sanz N. R., Stefano F. J., Perek C. J. (1982). Delay by drugs of adrenergic nerve degeneration after proximal or distal sympathectomy of the submaxillary gland. *Gen Pharmacol* 13, 195-202.
- Wiesemann C. (1991). Regnier de Graaf (1641-1673). *Pathologie* 12, 352-353.

# Proyecciones Neuroinmunoendocrinas del Simpático Cervical.

Uno de los mayores problemas de los paradigmas en Fisiología es que se tornan tan inamovibles que muchas veces previenen u obstaculizan el progreso de las ideas. Hemos visto en el Capítulo previo el fracaso en cambiar la idea acerca de cómo se regula la unidad hipotálamo-hipofisaria. En el ejemplo que sigue el éxito fue parcial, pero porque había antecedentes de gigantes de la Fisiología tales como Harry Friedgood y Walter Cannon que ya habían sido iconoclastas en su tiempo.

El paradigma predominante de la Endocrinología en el siglo XX otorgó a la inervación de glándulas endocrinas como la tiroides o paratiroides una función meramente vascular y secundaria a la de las hormonas tróficas correspondientes. Es de notar que tanto los tejidos endocrinos como inmunes presentan tres sistemas neuronales identificables: a) neuronas noradrenérgicas simpáticas derivadas de las cadenas ganglionares para- o prevertebrales en las metámeras correspondientes; b) neuronas colinérgicas parasimpáticas cuyos cuerpos están situados en los ganglios parasimpáticos locales; c) neuronas peptidérgicas, la mayoría de ellas localizadas en dichos ganglios locales. En este último caso debe consignarse la presencia casi universal del péptido vasoactivo intestinal (VIP), un péptido neurotransmisor indicativo de inervación sensorial por fibras amielínicas de tipo C. Es decir, existe tanto una inervación motora como una sensorial en el tejido endocrino e inmune. El aspecto sensorial es una fuerte prueba para que hoy se sospeche de la existencia de una representación viscerotópica precisa de la interioridad inmunoendocrina en el SNC.



*Figura 7.1. Mecanismos neurohumorales de regulación de los acinos tiroideos.*

Las glándulas tiroides y paratiroides constituyen un caso típico de esta inervación trina (Fig. 7.1). Estas estructuras están inervadas por: a) neuronas noradrenérgicas situadas en los GCS, o en los ganglios cervicales inferiores y / o medios, y que llegan a la tiroides a través del GCS y el nervio carotídeo externo, b) neuronas colinérgicas parasimpáticas situadas en los ganglios locales y que reciben proyecciones preganglionares del nervio vago, c) neuronas peptidérgicas, incluyendo las VIPérgicas, presentes en ganglios locales (Romeo et al., 1986).

La función moduladora de la inervación tiroidea fue sospechada desde mucho tiempo atrás. Los nervios autonómicos que llegan a la tiroides hacen contacto no sólo con la vasculatura del tejido, sino también con las células endocrinas, proporcionando así la base anatómica para una relación neuroendocrina periférica.

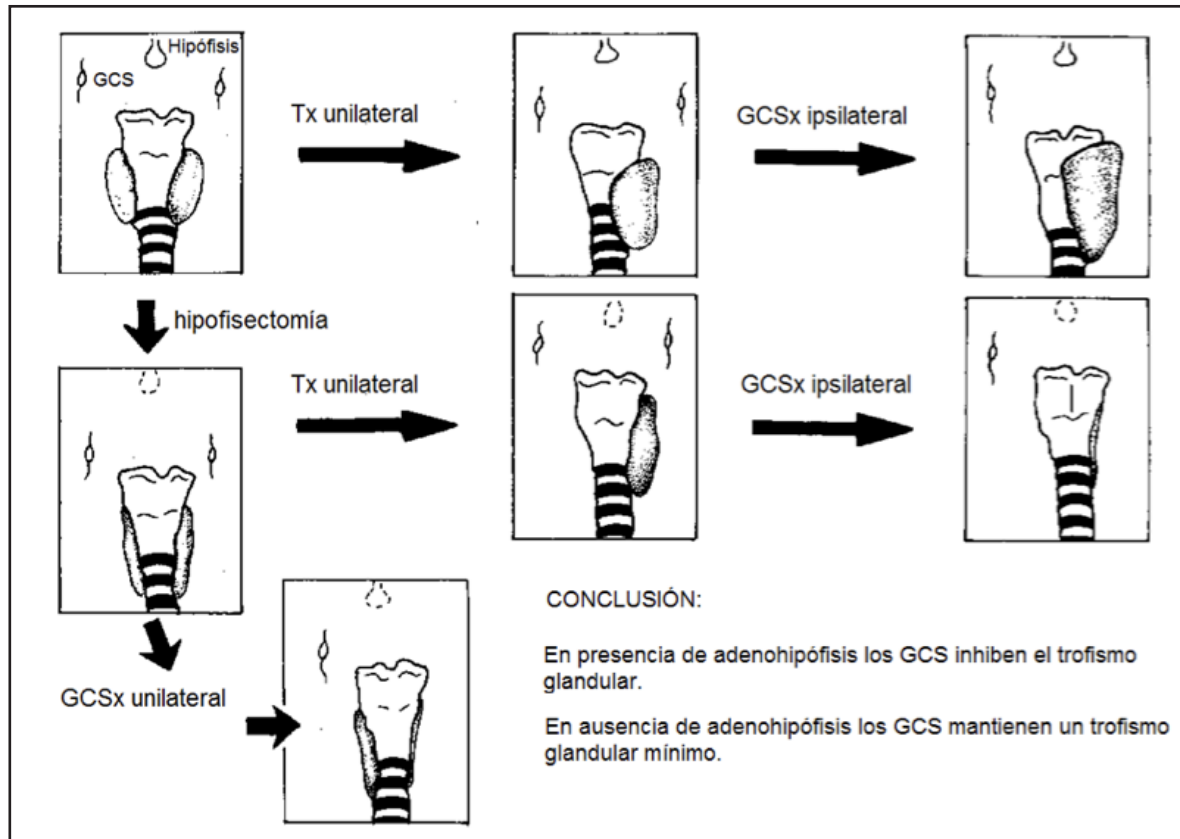
En nuestro laboratorio, y como parte de nuestro estudio de la relevancia de las vías autonómicas periféricas en el territorio cervical, fueron tres las Tesis Doctorales que examinaron estos aspectos en detalle, en los acinos y células C parafoliculares tiroideas y en las glándulas paratiroides.

Estas Tesis fueron (a) la del Lic. en Ciencias Biológicas Horacio Eduardo Romeo quien en 1987 presentó su trabajo: “Papel del sistema nervioso autónomo en la regulación de la función tiroidea” para optar al título de Doctor en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA; (b) la de la Lic. en Ciencias Biológicas Marta Graciela Ladizesky quien en 1988 presentó su Tesis: “Regulación neural de la secreción de paratohormona y calcitonina en la rata” para optar al título de Doctor en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA en 1988; (c) la del médico Javier Stern, quien en 1995 presentó su Tesis: “Significado neuroendocrino de las proyecciones del sistema nervioso autónomo cervical en la homeostasis del calcio” para optar al título de Doctor en Medicina, Facultad de Medicina, UBA. Todos ellos trabajaron en el laboratorio por 4 a 5 años con financiamiento del CONICET y en todos los casos los trabajos de Tesis recibieron la calificación de sobresaliente.

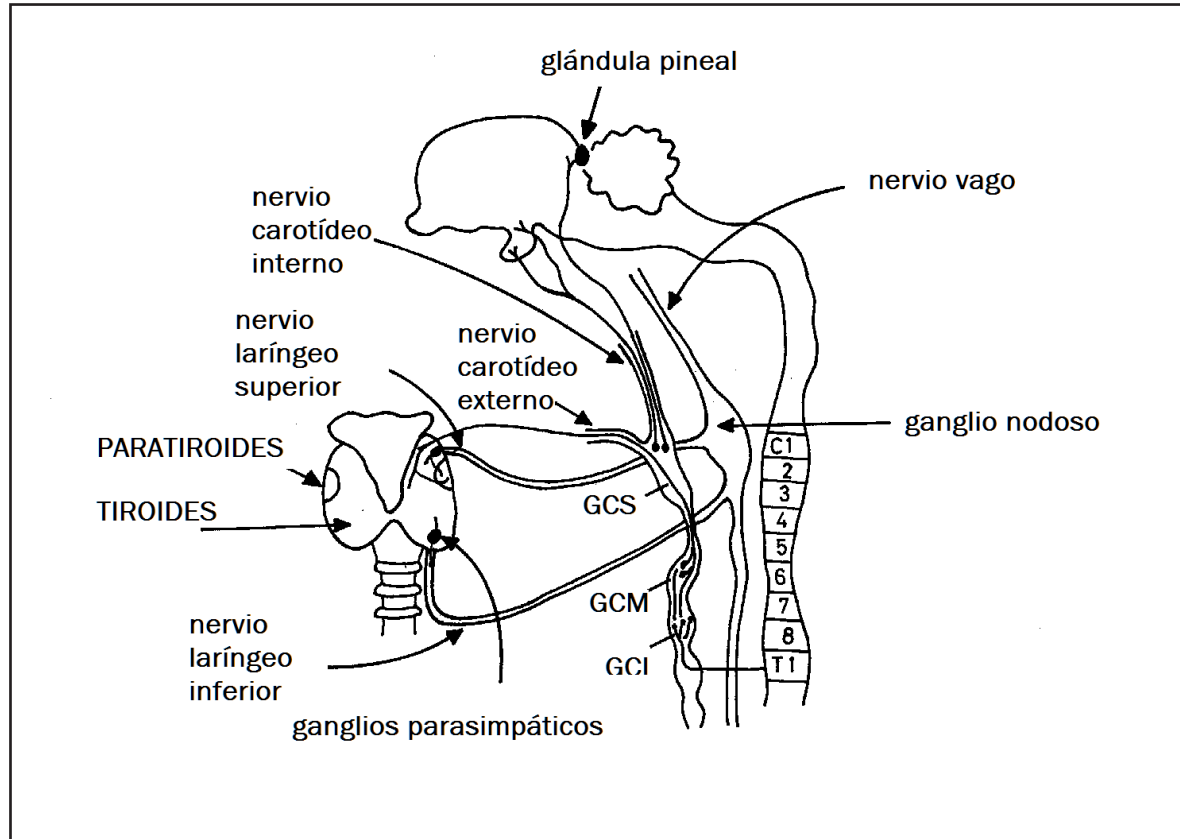
El Dr. Horacio Romeo utilizó para examinar la regulación de los acinos tiroideos el doble enfoque que ya discutimos en el Capítulo previo. Por un lado, obtuvo información sobre los cambios en la función endocrina de los acinos durante la liberación supraliminal de NE de los terminales en la degeneración post-GCSx (Figura 6.2). Por otro lado llevó a cabo diversos estudios sobre los efectos crónicos de la desnervación simpática luego de la GCSx sobre la función y crecimiento de los acinos tiroideos.

Horacio demostró que en ratas sometidas a GCSx 14 h antes, y durante la degeneración de las terminales nerviosas simpáticas en el territorio de proyección del GCS, se observa una depresión significativa de la función del eje hipotálamo-hipófiso-tiroideo incluyendo la caída de TSH y T4 en circulación y la inhibición de la captación tiroidea de <sup>131</sup>I. Las secuelas agudas de la GCSx se explican

en términos de efectos centrales y periféricos de las terminales nerviosas simpáticas, ya que la respuesta tiroidea a la TSH exógena se inhibió durante la fase de degeneración walleriana. Por lo tanto, en presencia de niveles normales o elevados de TSH, la liberación de NE a partir de los nervios simpáticos locales de la tiroides proporciona una señal negativa para la liberación de T4. Se debe enfatizar este hecho: en presencia de NE aumentada en las proximidades de los acinos tiroideos la TSH, aún en dosis farmacológicas, carece de efectos sobre T4. ¿No basta este resultado para convencer al observador del rol modulador de la innervación periférica, no sólo “vascular” sino central para la expresión de la acción endocrina? Las variaciones diarias de la concentración de T4 en suero y en el



*Figura 7.2. Control del crecimiento tiroideo por el sistema simpático cervical en presencia o en ausencia de adenohipófisis. Datos de Romeo et al. (1985).*



**Figura 7.3. Inervación simpática y parasimpática de la tiroides/paratiroides en la ratona.**

contenido de catecolaminas tiroideas en ratas fueron compatibles con esta función moduladora de la NE periférica en la secreción de los acinos tiroideos (Figura 7.1) (Cardinali y Romeo, 1990, 1991).

Los estudios de Horacio Romeo en ratas con GCSx crónica (el experimento de "privación") proporcionaron pruebas del papel de los nervios simpáticos cervicales en la regulación del crecimiento de los acinos tiroideos. En ratas estudiadas 2 a 4 semanas después de la GCSx se identificó un mayor crecimiento glandular (respuesta bociógena) a la TSH endógena. Romeo reportó que el efecto de promoción del bocio por desnervación simpática era ipsilateral. La GCSx ipsilateral

amplificó el crecimiento compensatorio que siguió a la hemitiroidectomía y aumentó la secreción de T4 desde el lóbulo remanente. Todo ello fue correlacionado con un aumento del índice mitótico y de los receptores adrenérgicos  $\alpha$  y  $\beta$ , y con una disminución del flujo sanguíneo en la glándula tiroides de ratas crónicamente GCSx. Horacio también observó que el crecimiento compensatorio del lóbulo remanente luego de una hemitiroidectomía se daba aún en ausencia de adenohipófisis y que el efecto era bloqueado totalmente por la GCSx ipsilateral (Figura 7.2). Este estudio (Romeo et al., 1985) fue considerado como uno de los hallazgos de ese año en la prestigiosa serie *The Year Book of Endocrinology*, 1986 (pp 75-76).

Se analizó también la farmacología de los cambios observados. La administración de agentes bloqueantes de receptores adrenérgicos  $\alpha$  contrarrestó la reducción de T4 sérico encontrada en ratas GCSx 14 h después de la cirugía.

Años más tarde otros investigadores hicieron la misma observación durante el aumento de la actividad simpática obtenido mediante la inyección de 2 desoxiglucosa en ratones. Esta mediación  $\alpha$ -adrenérgica fue también reportada in vitro, lo que indica que la NE ejerce un efecto modulador directo sobre la función de los acinos tiroideos.

Con respecto a la inervación parasimpática de los acinos tiroideos, se conocía la vía preganglionar parasimpática de entrada a las neuronas de los ganglios locales de la tiroides, la que deriva del núcleo motor dorsal del vago y llega a través de los nervios laríngeos inferior y tiroideo (Figura 7.3). Las fibras colinérgicas que salen de los ganglios locales entran en la tiroides e inervan tanto a los vasos sanguíneos como a las células foliculares. Este hecho llevó a sospechar desde mucho tiempo atrás la existencia de un control colinérgico de la actividad de los acinos tiroideos.

Horacio examinó el papel de la inervación parasimpática de la tiroides mediante secciones locales de dichos nervios (Romeo et al., 1988). Así, en ratas sometidas a una descentralización parasimpática unilateral por sección ipsilateral del nervio laríngeo inferior Romeo observó un reducido crecimiento compensatorio de dicho lóbulo luego de la hemitiroidectomía.



Con el fin de obtener información del rol de los nervios parasimpáticos en el crecimiento en ausencia de TSH los animales fueron hipofisectomizados y en estas ratas la sección del nervio laríngeo inferior produjo una involución adicional de la glándula tiroidea. La sección ipsilateral del nervio laríngeo inferior previno el aumento del índice mitótico post-hemitiroidectomía unilateral. En conjunto estos resultados indicaron que se necesitan los nervios parasimpáticos intactos para mantener un crecimiento adecuado de la tiroidea en la presencia de altos niveles de TSH en circulación, así como un trofismo mínimo de tiroidea en ausencia de TSH endógena.

La función de la innervación autonómica de células C tiroideas productoras de calcitonina fue examinada por Ladizesky y Stern (Cardinali y Stern, 1994). Cuando comenzaron sus estudios en el territorio de las células C parafoliculares la información disponible indicaba la presencia de fibras nerviosas simpáticas que llegaban hasta las proximidades de dichas células.

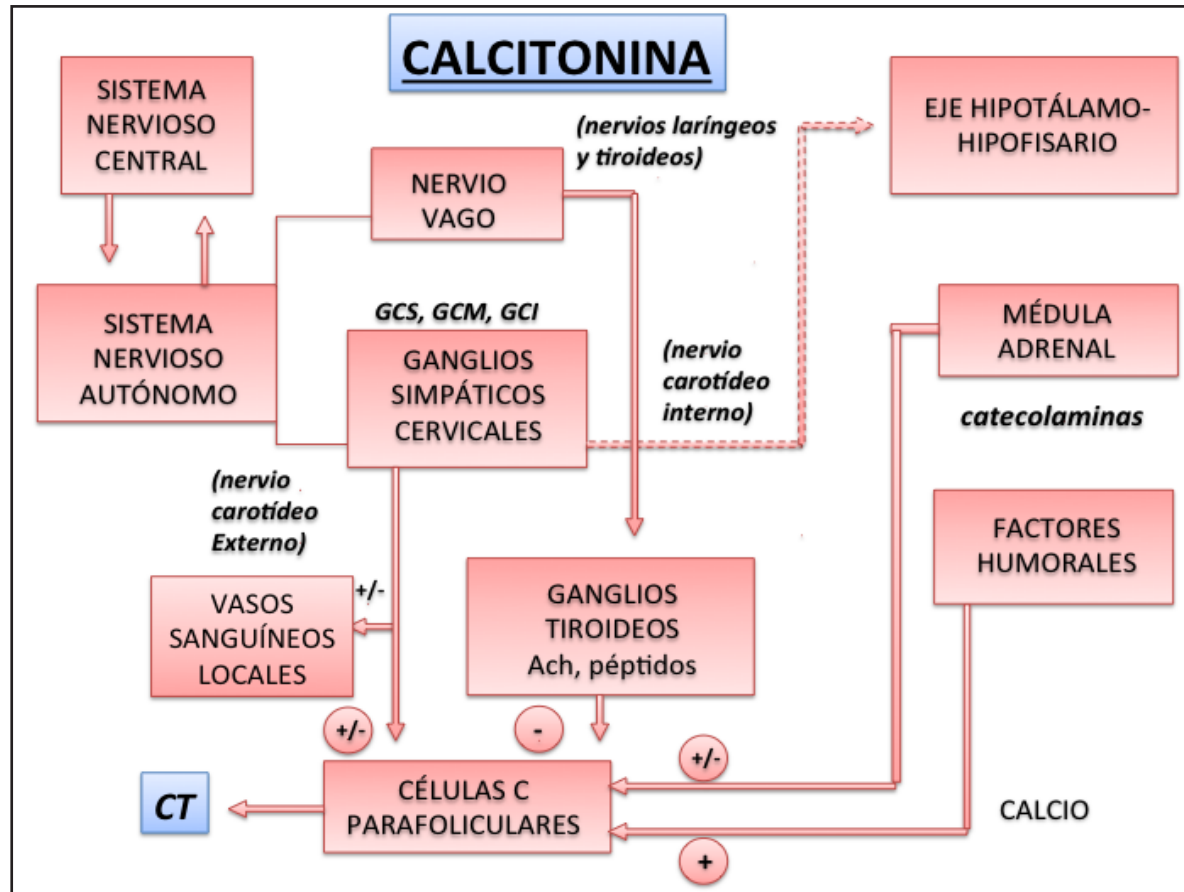
Usando el paradigma de la degeneración anterógrada post-GCSx se analizó la respuesta de las células C ante un estímulo hipercalcémico en ratas. Durante la reacción de degeneración post-GCSx se observó tanto una disminución en la liberación máxima de calcitonina como un retardo en alcanzar dicho máximo ante el estímulo de una inyección de gluconato de calcio.

El bloqueo de los receptores adrenérgicos  $\alpha$  con fenoxibenzamina suprimió la inhibición de la respuesta de las células C durante la degeneración anterógrada post-GCSx mientras que el bloqueo de receptores  $\beta$  -adrenérgicos con propranolol no afectó la liberación de calcitonina durante la degeneración nerviosa, aunque fue eficaz en afectar parcialmente la actividad de la fenoxibenzamina.

Explicamos estos resultados como indicativos de que la liberación supraliminar de NE de los terminales de degeneración produce la activación de ambos tipos de receptores adrenérgicos en las células C, siendo los efectos  $\alpha$  predominantes.

La Figura 7.4 ilustra esquemáticamente el mecanismo de regulación neural y humoral de la liberación de calcitonina por las células C parafoliculares. Con el objeto de evaluar si la ausencia crónica de innervación simpática podía modificar la respuesta de células C ante el estrés, Javier Stern utilizó el modelo animal de inyección de aceite de trementina, desencadenante de un estrés moderado.

Unas cuatro horas después de la inyección de trementina, se observó una reducción del calcio sérico total y de los niveles de calcitonina, en comparación con las ratas inyectadas con vehículo. En ese momento, las ratas se sometieron a un estímulo hipercalcémico mediante la inyección de  $\text{CaCl}_2$ . En los animales estresados por la inyección de trementina, el aumento del calcio sérico fue significativamente menor, y el aumento de la calcitonina fue mayor, que en las ratas controles. Los efectos del estrés por trementina sobre la calcemia y sobre la respuesta en calcitonina antes o después



*Figura 7.4. Mecanismos neurohumorales de regulación de las células C parafoliculares tiroideas.*

de estímulo hipercalcemiante aún persistieron en ratas crónicamente GCSx (Stern et al., 1994). Tomados en conjunto, los resultados de Stern indicaron que los cambios inducidos por el estrés en la liberación de calcitonina dependían tanto de modificaciones en la biodisponibilidad del calcio como de cambios primarios a nivel de células C. La remoción de los GCS tuvo un efecto relativamente menor en los fenómenos inducidos por el estrés. Años después Salvador Guinjoan y Javier Stern pudieron correlacionar los niveles séricos y urinarios de calcio con el grado de psicopatología en pacientes con distintos niveles de estrés (Stern et al., 1996).

Con respecto a la inervación parasimpática de las células C parafoliculares tiroideas, Javier Stern se abocó a examinarla debido a que no se disponía de información sobre el efecto de la parasimpatectomía regional en la liberación de calcitonina. Para ello recurrió a practicar una descentralización parasimpática mediante la sección quirúrgica de los nervios laríngeo inferior o tiroideo.

Cualquiera de las secciones practicadas disminuyó significativamente la captación neuronal de <sup>3</sup>H-colina en la tiroides (un índice de la inervación colinérgica). Tanto luego de la sección del nervio laríngeo inferior como del tiroideo se observó una caída significativa en el calcio sérico total a los 10 días de la operación, acompañado de una disminución significativa de los niveles de calcitonina.

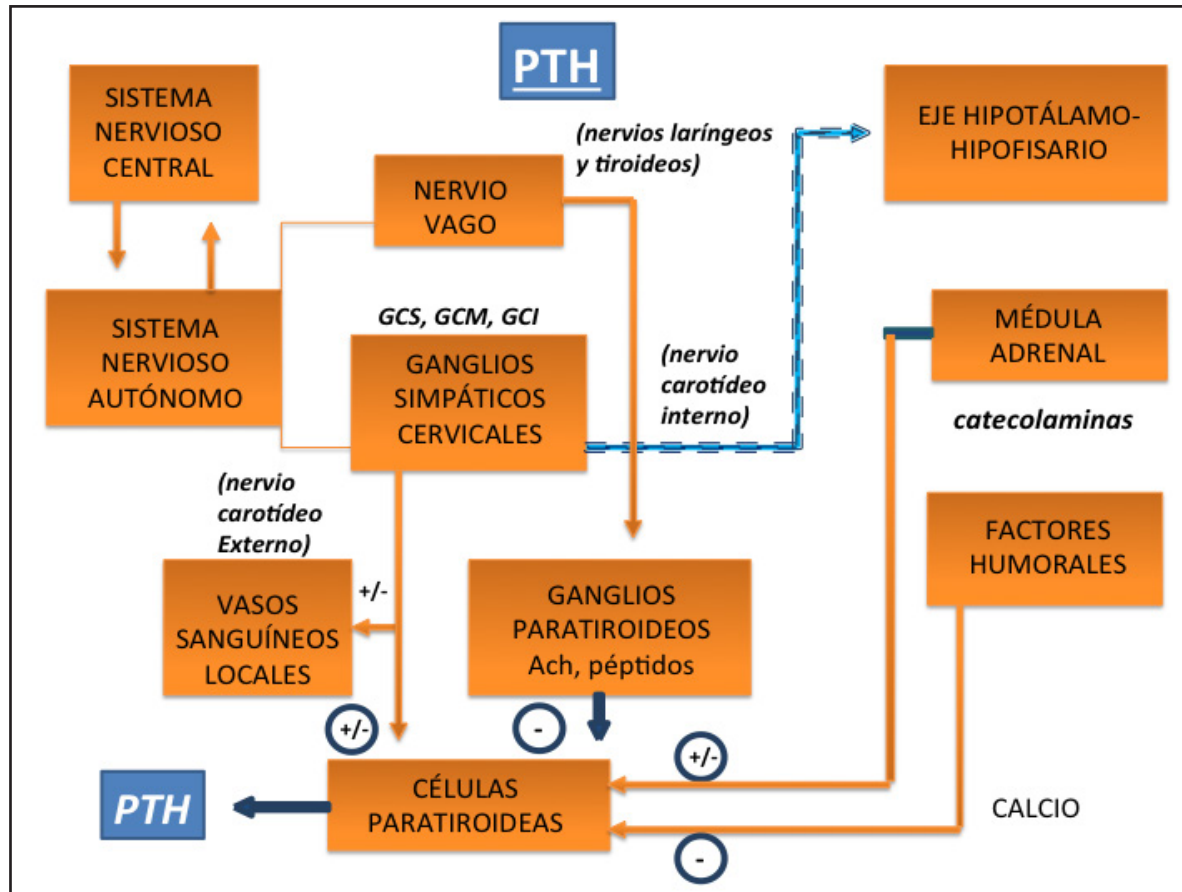
En los animales con sección del nervio tiroideo y después de la inyección de cloruro de calcio, se observó un mayor aumento de la calcitonina en suero y un menor nivel de calcemia. En los animales con sección del nervio laríngeo inferior, la respuesta secretora de calcitonina y la hipercalcemia alcanzada luego de cloruro de calcio también fueron mayores que en los controles.

Un estudio de correlación de los datos indicó que las pendientes de correlación entre el calcio sérico y los niveles de calcitonina en ratas con ambas secciones parasimpáticas fueron mayores que en los controles. En conjunto los resultados indican que el sistema parasimpático tiroideo tiene un efecto inhibitorio sobre la secreción de calcitonina por las células C (Figura 7.4).

Como en el caso de las células C tiroideas, cuando la Lic. Marta Ladizesky y el médico Javier Stern comenzaron sus estudios en glándulas paratiroides la información disponible indicaba la presencia de

fibras nerviosas simpáticas rastreadas hasta las proximidades de las células endocrinas productoras de PTH (Fig. 7.5).

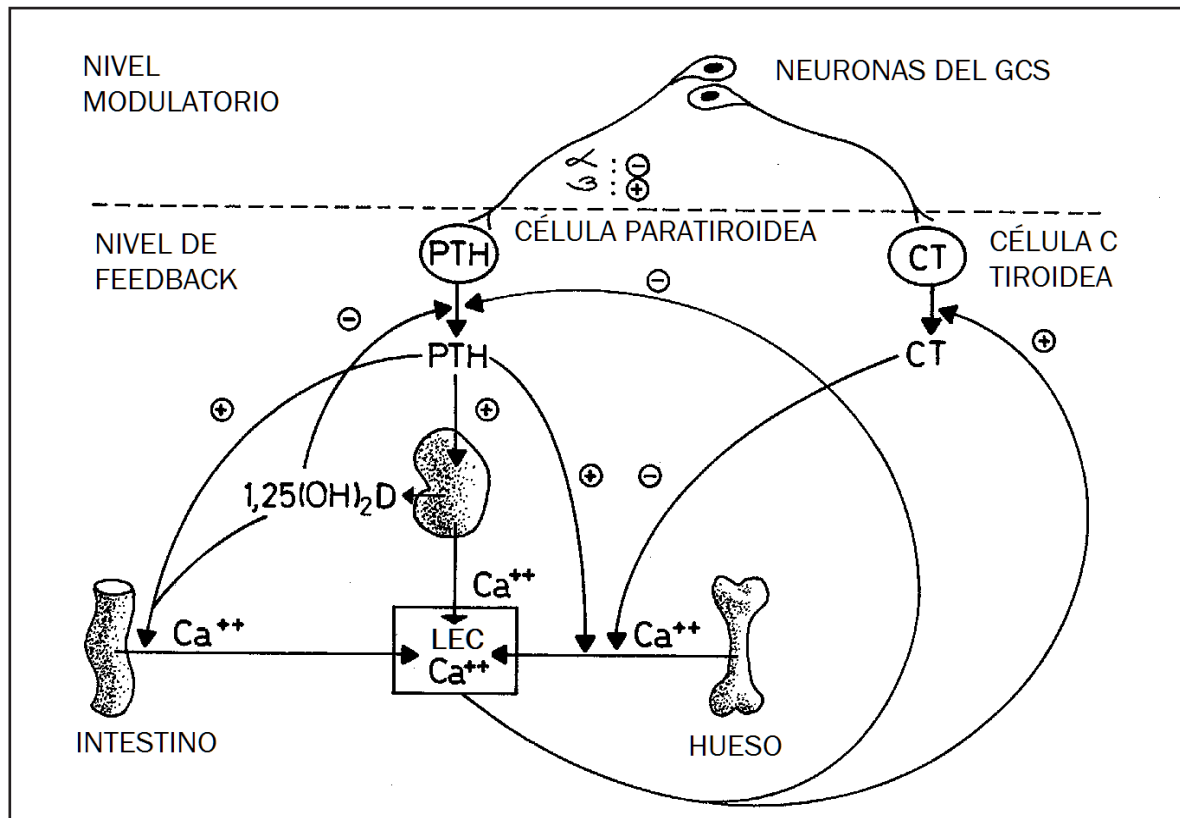
En un primer experimento examinaron la respuesta en secreción de PTH de las glándulas paratiroides de ratas durante la degeneración walleriana post-GCSx utilizando como agente hipocalcemiante EDTA. Durante la reacción de degeneración se verificó un deterioro significativo de la respuesta de las células paratiroides ante la hipocalcemia. Sólo una dosis más alta de EDTA fue capaz de superar la



*Figura 7.5. Mecanismos neurohumorales de regulación de la secreción de PTH.*

inhibición de la secreción de PTH en la fase de degeneración walleriana de los terminales simpáticos. Como en el caso de la calcitonina o de la liberación de T4, el principal efecto inhibitor de la NE sobre la liberación de PTH durante la degeneración neuronal fue mediado por receptores adrenérgicos- $\alpha$ . En ese momento pudimos plantear el esquema de la Figura 7.6 donde el nivel modulador detectado se superpone sobre el nivel de realimentación en la organización de la homeostasis del calcio.

Javier Stern también estudió los efectos de la desnervación simpática crónica sobre la liberación de PTH. Dos semanas luego de la GCSx bilateral, los niveles basales de PTH se incrementaron en



**Figura 7.6. Modulación por el sistema simpático cervical de los mecanismos reguladores de la calcemia.**

presencia de niveles de calcio sin cambios, en comparación con ratas con operación simulada. Aunque la administración de EDTA aumentó los niveles de PTH en ambos grupos experimentales, el patrón general de respuesta en PTH difirió significativamente mostrando una respuesta de PTH más lenta en ratas GCSx. Los resultados de Javier indicaron una sensibilidad modificada de las células paratiroides después de la desnervación simpática regional crónica.

En otro estudio Stern examinó los efectos del estrés por trementina en la respuesta de las células paratiroides. Cuatro horas después de la inyección del agente estresante se observó una caída de calcio sérico total acompañado por un aumento de los niveles de PTH en suero, en comparación con las ratas inyectadas con vehículo.

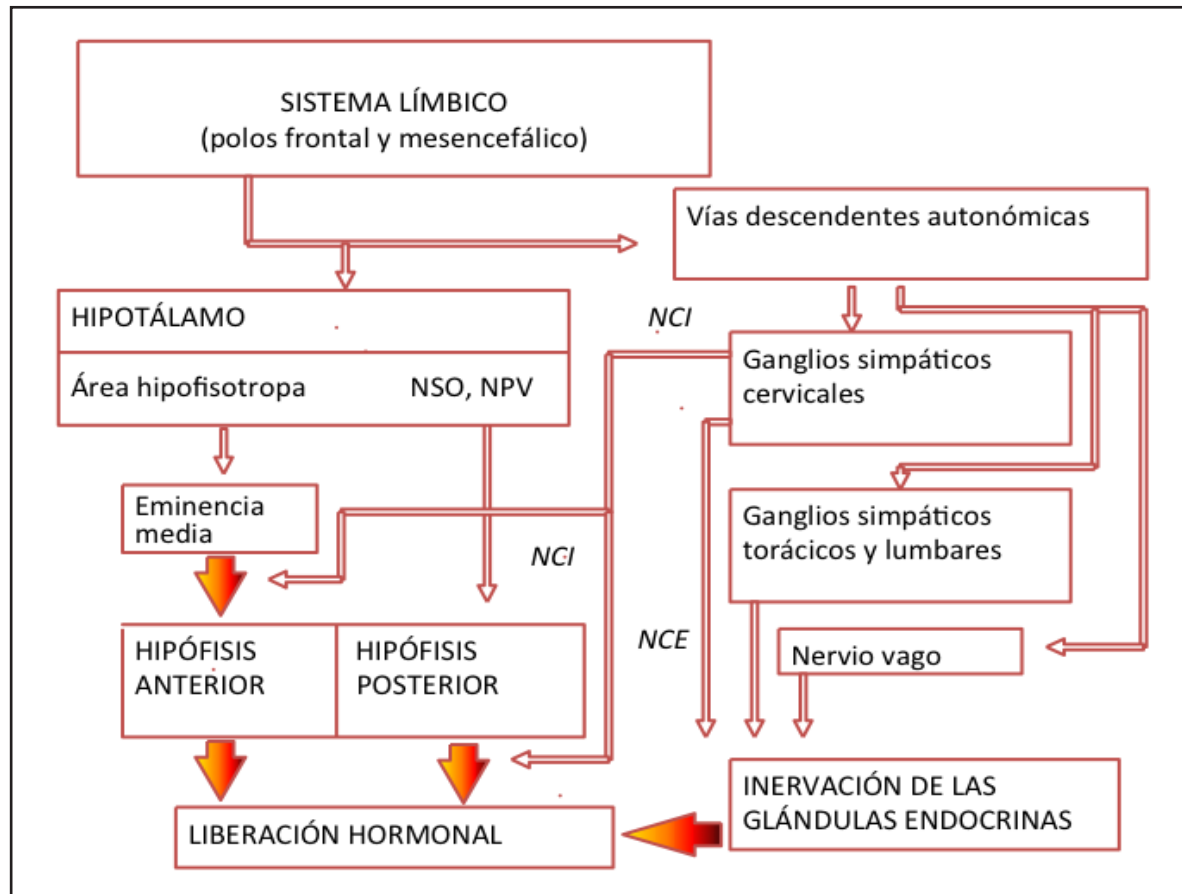
La administración de EDTA provocó una hipocalcemia mayor, y una respuesta secretora de PTH superior, en las ratas estresadas por trementina. Este aumento de la PTH observado en ratas controles después de la inyección de aceite de trementina no fue observado en ratas GCSx 14 días, ni tampoco la potenciación de la hipocalcemia producida por la administración de aceite de trementina. Los resultados de Javier indican que el estrés afecta a la homeostasis de la PTH en parte por la vía neural simpática a las glándulas paratiroides.

Javier también estudió el efecto de la inervación parasimpática de las glándulas paratiroides en ratas sometidas a la sección quirúrgica de los nervios tiroideo o laríngeo inferior. Luego de verificar que ambas secciones quirúrgicas inhibían la captación neuronal de  $^3\text{H}$  colina por la paratiroides, se detectó una caída significativa en el calcio sérico total y un aumento de la PTH en suero 10 días después de ambas secciones quirúrgicas.

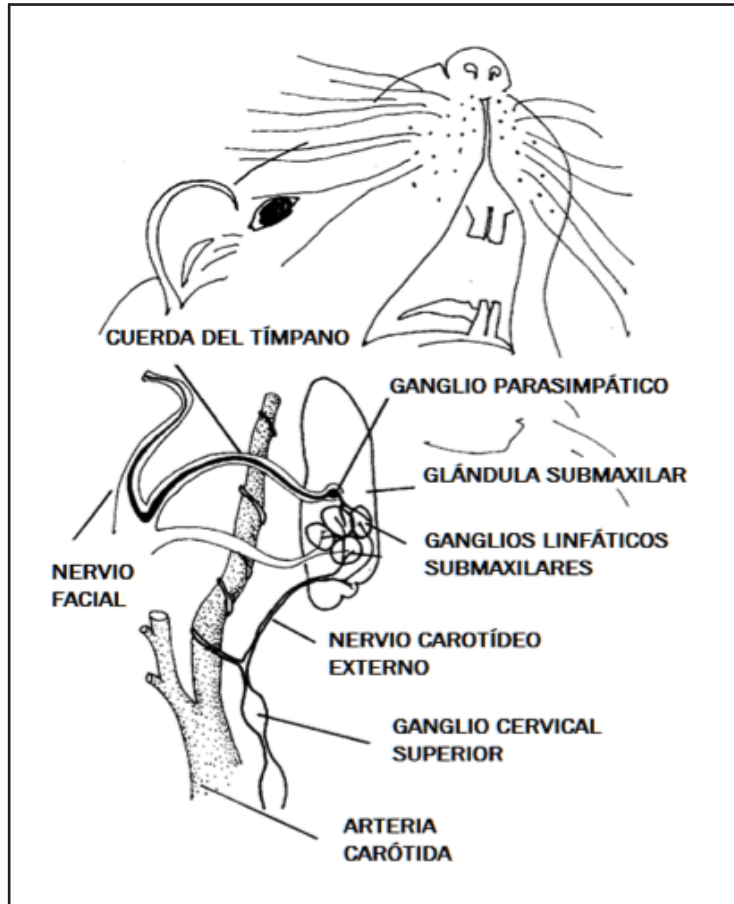
Cuando se evaluó la sensibilidad de la paratiroides a la hipocalcemia se detectó una mayor respuesta de la PTH con ambas operaciones. Las pendientes de correlación entre niveles de calcio y PTH fueron significativamente más pronunciadas en los animales con sección del nervio laríngeo o tiroideo que en los controles.

Los resultados indican la existencia de una influencia parasimpática local inhibidora de la secreción paratiroidea. La Figura 7.5 y 7.6 ilustran esquemáticamente la vía neural y los factores humorales que afectan a la liberación de PTH (Cardinali y Stern, 1994).

En resumen, lo que argumentamos, sin mucho éxito, fue que los nervios que llegan a las glándulas endocrinas constituyen vías alternas a través del cual el cerebro se comunica con ellas.



**Figura 7.7. Vías neurohumorales en paralelo del control endocrino. NCI: nervio carotídeo interno; NCE: nervio carotídeo externo; NSO: núcleo supraóptico; NPV: núcleo paraventricular.**



*Figura 7.8. Inervación autónoma de los ganglios linfáticos submaxilares.*

La organización de estas vías, como para muchas otras vías sensoriales y motoras del sistema nervioso central, tiene como una característica importante su estructura jerárquica y en paralelo (Figura 7.7).

Con esta información nos abocamos a la elucidación de relaciones semejantes en el tejido linfático de la región cervical. Para ello fue fundamental la colaboración que establecimos por años con el grupo de la Dra. Ana Esquifino, Catedrática del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad



de Medicina, Universidad Complutense de Madrid. Como en el caso de la tiroides y paratiroides los ganglios linfáticos submaxilares reciben inervación simpática de las neuronas localizadas en el GCS. Por su parte la inervación parasimpática deriva del nervio lingual, rama del facial, y llega a los ganglios submaxilares por la cuerda del tímpano. Basado en esto, desarrollamos un modelo experimental que comprende los ganglios linfáticos submaxilares y la manipulación local ipsilateral de los nervios simpáticos y / o la manipulación ipsilateral de los nervios parasimpáticos regionales de la cuerda del tímpano (Figura 7.8) (para ref. ver Cardinali y Esquifino, 1998).

Nos introdujimos en este problema a comienzos de los '80. Por ese entonces Hugo Besedovsky, un muy destacado inmunólogo argentino emigrado a la República Federal Alemana, había hecho la original demostración que la sección del nervio esplácnico resultaba en aumento de la respuesta inmune del bazo en ratas (Besedovsky et al., 1979). Besedovsky es hoy reconocido, con mucha justicia, como uno de los iniciadores de la Neuroinmunología, idea ante la cual los inmunólogos clásicos eran exasperadamente refractarios en esa época.

Al leer el trabajo de sección del nervio esplácnico me surgió una duda no contestada por el diseño experimental de Besedovsky: ¿cómo descartar que lo que se veía era un efecto atribuible a algún factor humoral movilizado por el estrés de la cirugía? El uso de un órgano linfático impar como el bazo jamás podría contestar a esta pregunta. Por ello nuestro primer experimento tuvo un destino manifiesto: evaluar si la descripción que Besedovsky hacía era reproducible cuando comparábamos los efectos locales de los nervios autonómicos en ganglios linfáticos submaxilares unilateralmente desnervados, en comparación con el lado contralateral, que recibía una operación simulada. De esta forma, cualquier diferencia en la respuesta inmune entre los ganglios linfáticos ipsilaterales y contralaterales podría atribuirse a un efecto local de los nervios, independientemente de la existencia de posibles efectos sistémicos de la manipulación quirúrgica en sí.

Debo confesar que fue una gran decepción encontrar los mismos resultados que Hugo Besedovsky había descrito: la desnervación simpática unilateral aumentó la respuesta inmune en los ganglios linfáticos submaxilares ipsilaterales. Por ello, y por muchas otras contribuciones, Hugo ha recibido merecida fama, a pesar de la falencia circunstancial del trabajo mencionado.

El concepto de homeostasis fue introducido por Walter Cannon, del que ya hemos hablado, quien era Profesor de Fisiología de Harvard en los años '20. Cannon quería modificar la idea de “constancia del medio interior” que se iniciara con Claude Bernard 60 años antes. Cannon sostenía que las variables fisiológicas no eran “fijas” sino que oscilaban entre un valor máximo y mínimo, y que cuando por algún motivo esta variable se alejaba de estos límites, el organismo reaccionaba restableciendo lo que llamó “homeostasis”. Este concepto de homeostasis reactiva fue la base de los significativos adelantos de la fisiología endocrina del siglo XX.

Pero hay otro tipo de homeostasis, la relacionada con los ritmos circadianos, donde los cambios en una variable no son la reacción ante la perturbación sino que la anticipan, de allí su nombre de “homeostasis predictiva”. La innervación de los tejidos endocrinos e inmunes es responsable de canalizar la información de ambos tipos de homeostasis.

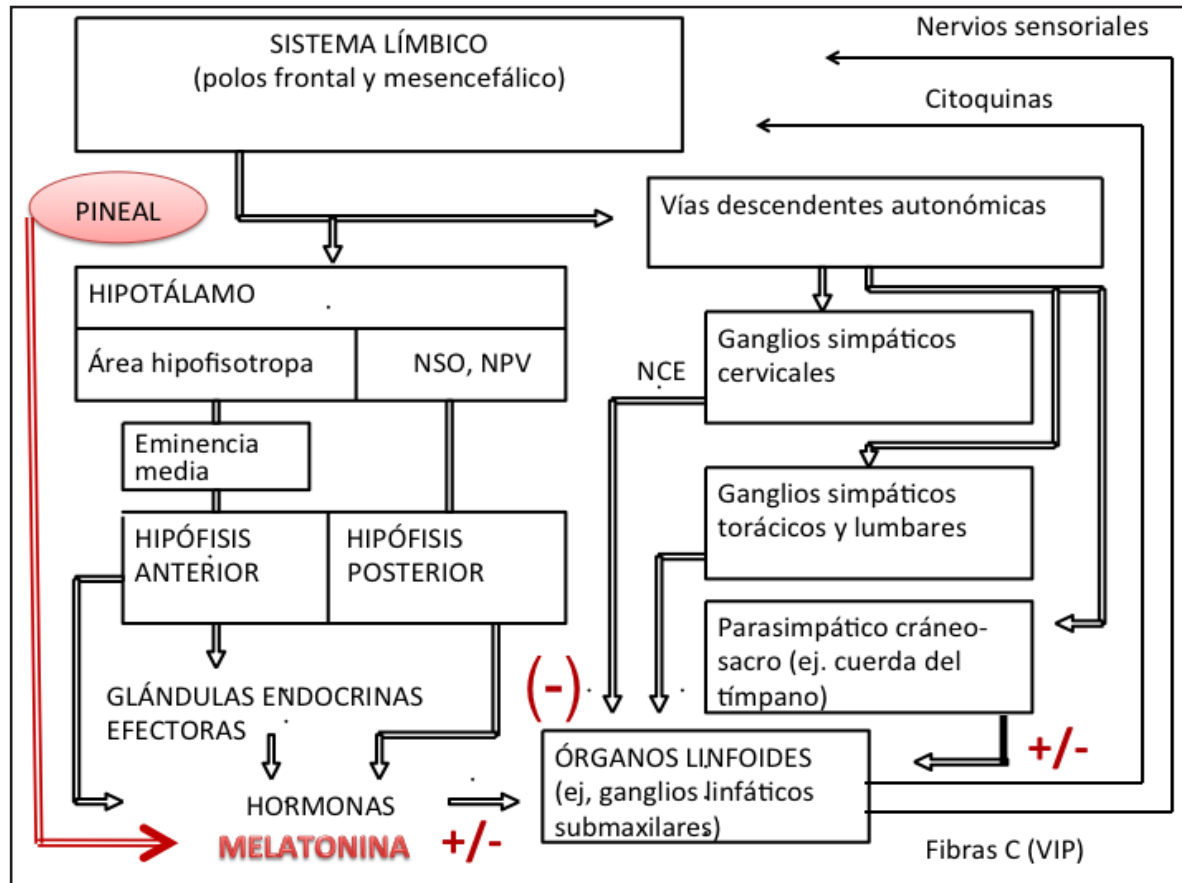
Para estudiar la homeostasis reactiva en el territorio inmune sometimos a ratas con distintos tipos de desnervación unilateral a estrés por inmovilización. Pudimos verificar un efecto inhibitorio de la respuesta inmunosupresora ante el estrés por la resección ipsilateral de los nervios simpáticos y un aumento de la respuesta por supresión de la innervación parasimpática.

Estos resultados indicaron la participación del sistema autónomo local en la regulación de las respuestas inmunes reactivas ante el estrés.

En relación con la homeostasis predictiva, con la Dra. Esquifino examinamos la regulación del ritmo diario en un marcador de la proliferación celular linfática (la enzima ornitina descarboxilasa, ODC) en el territorio cervical. En algunos casos comparamos con lo encontrado en el bazo. Describimos un máximo de ODC en la fase de reposo del ritmo diario de actividad, a las 13:00-17:00 h y una actividad máxima de mitógenos en este momento.

Eran dos los mecanismos posibles por los cuales el SNC regulaba esta actividad circadiana. Uno puramente neuroendocrino debía involucrar señales circulantes como la melatonina o los glucocorticoides. El otro posible era neural, a través de los nervios autonómicos locales (Figura 7.9).

Con respecto al sistema nervioso autonómico local pudimos verificar que los cambios diarios en actividad ODC de los ganglios linfáticos submaxilares estaban vinculados en parte con una señal circadiana que llega al tejido a través de la inervación simpática ya que el máximo diurno de ODC fue inhibido parcialmente por la GCSx ipsilateral. Dado nuestro interés en la Piedra de la Locura no perdimos tiempo en analizar el efecto de la manipulación pineal y la melatonina en los cambios diarios observados.



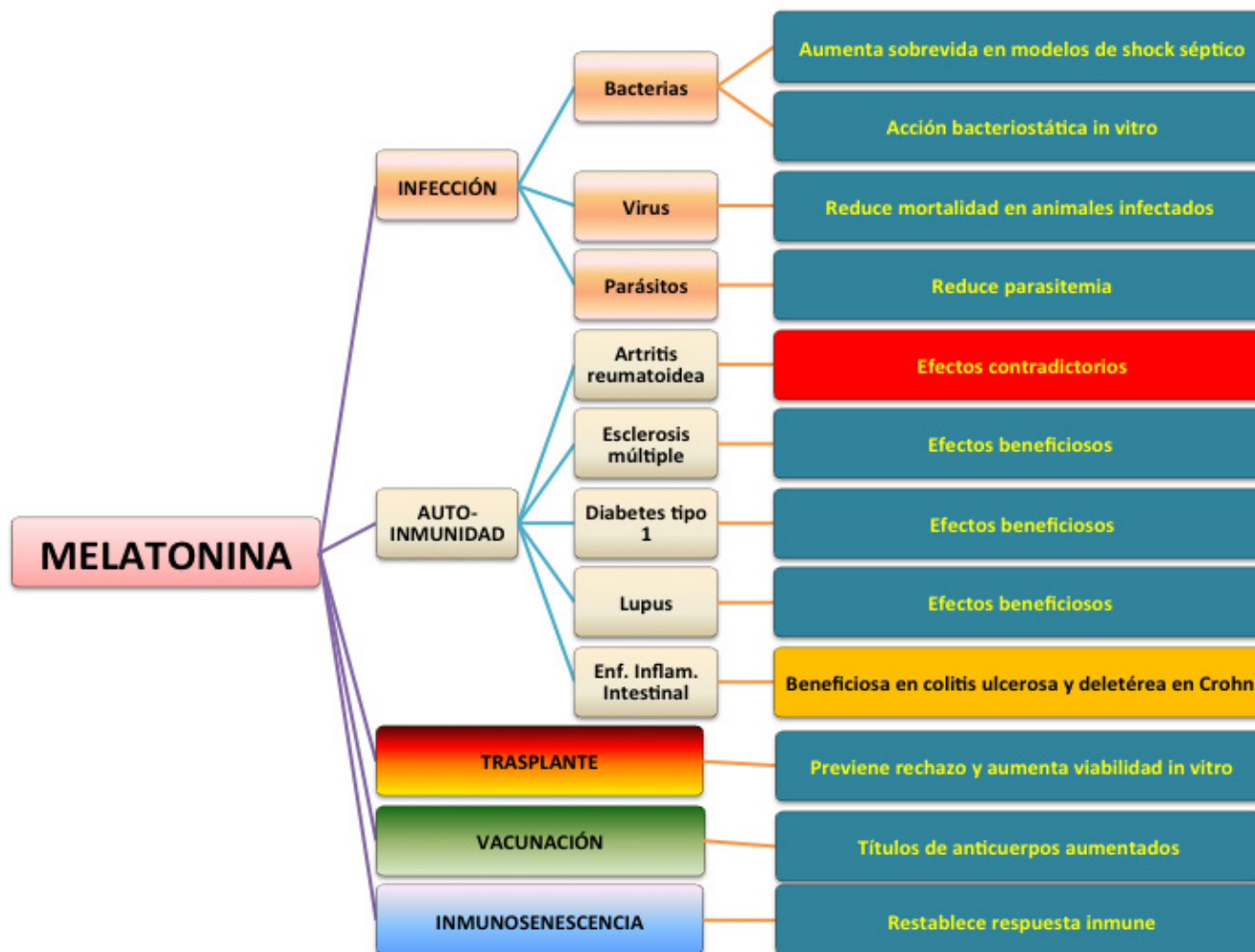
*Figura 7.9. Interacciones neuroinmunoendocrinas con foco en la región cervical.*

Aparte de su efecto en el SNC, la melatonina es una señal que sincroniza relojes circadianos periféricos, entre ellos el de las células inmunes. En general la pinealectomía deprime y la administración de melatonina aumenta parámetros inmunes en distintas especies. Volveremos sobre esto más adelante (para ref. ver Cardinali y Esquifino, 1998).

En estudios sobre el efecto de la supresión pineal y reemplazo con melatonina sobre las variaciones diarias de ODC en los ganglios linfáticos submaxilares y bazo observamos con Ana Esquifino que en ratas pinealectomizadas la ODC disminuyó a la mitad, manteniendo su máximo a las 1300 h. En ratas GCSx se verificó la desaparición del ritmo diario de ODC y una reducción de los valores a la mitad. La administración de melatonina restableció los niveles y amplitud del ritmo de ODC tanto en animales pinealectomizados como GCSx. Asimismo, el tratamiento con melatonina fue efectivo en aumentar los niveles enzimáticos y la amplitud del ritmo en animales controles.

Otro punto que examinamos en estos estudios fue si la melatonina podía afectar los cambios diarios de actividad de los nervios autonómicos locales pudiendo verificar tal acción. Estos estudios fueron llevados a cabo por el médico Ignacio Brusco, quien comenzó a desarrollar su Tesis doctoral en el laboratorio en ese momento (Brusco et al., 1998).

Los estudios mencionados contribuyeron a la relevancia clínica actual que ha adquirido la acción de la melatonina en el sistema inmune (para ref. ver Carrillo-Vico et al. 2013). La evidencia acumulada indica que ejerce un efecto bifásico: en condiciones basales o deprimidas de la respuesta inmune, la aumenta; en condiciones de reacción inmune e inflamatoria exacerbadas, la disminuye. Varios estudios avalan su utilidad en las infecciones virales, bacterianas y parasitarias (Figura 7.10). En particular es de interés que en la inmunodeficiencia humana adquirida por retrovirus VIH-1 existe una correlación positiva entre melatonina e interleuquina 12 en individuos infectados y una correlación negativa entre melatonina y ARN de HIV-1 en plasma. Como los niveles de melatonina en individuos infectados con VIH-1 son menores su aplicación terapéutica está justificada aunque hay escasos datos publicados al respecto.



*Figura 7.10. Resumen de los efectos inmunes de la melatonina aplicables terapéuticamente. Con excepción de la artritis reumatoidea y de la enfermedad de Crohn las acciones de la melatonina como buffer del sistema inmune son de relevancia.*

Otra área de gran interés clínico es la sepsis neonatal. La melatonina plasmática disminuye y su ritmo está alterado en pacientes sépticos, en correlación con la severidad de la sepsis grave. El tratamiento con melatonina de neonatos reduce la peroxidación lipídica y normaliza el recuento de glóbulos blancos, de neutrófilos y los niveles de proteína C reactiva en la sepsis del recién nacido, y cuando ocurre con síndrome de dificultad respiratoria, disminuye inflamación y aumenta la supervivencia. La melatonina ha demostrado efectos protectores en modelos experimentales de glomerulonefritis, esclerosis múltiple, diabetes tipo I y lupus generalizado. Se ha reportado una disrupción del ritmo circadiano de melatonina, con menor concentración nocturna de melatonina y mayor calcificación pineal en pacientes con esclerosis múltiple, estando los niveles nocturnos de melatonina correlacionados inversamente con la duración y agravamiento de la enfermedad.

Asimismo, los niveles de melatonina se correlacionan inversamente con la depresión y con el deterioro en la agudeza visual diurna en pacientes y se normalizan luego del tratamiento con interferón- $\beta$ .

Un tema de interés es la utilidad de la melatonina para aumentar la respuesta ante vacunas. El mecanismo propuesto es la mejoría de la presentación de antígenos a las células inmunocompetentes o de la producción de citoquinas en el inicio de la respuesta inmune. Esto está siendo utilizado en medicina veterinaria y abre la posibilidad que el tratamiento con melatonina sea un adyuvante eficaz en la vacunación (inmunoterapia) de la enfermedad de Alzheimer o del cáncer.

Por último, otro tema de gran interés clínico es la mejoría del trasplante cardíaco, pulmonar, de islotes pancreáticos en ratas por inhibición de la respuesta al aloinjerto reduciendo la proliferación de linfocitos con prevención del rechazo. Ya se usa la melatonina como aditivo para aumentar la preservación de órganos (ej., preservación de injerto hepático no esteatósico y esteatósico) aumentando así la disponibilidad de órganos para el trasplante (Figura 7.10).

Debe notarse que existe información previa sobre un efecto deletéreo de la melatonina en la enfermedad de Crohn y en la artritis reumatoidea por lo que la aplicación de la melatonina requiere la supervisión médica.

## Referencias

### (Para otras referencias del laboratorio del autor, véase el Adendo)

- Besedovsky H. O., del R. A., Sorkin E., Da P. M., Keller H. H. (1979). Immunoregulation mediated by the sympathetic nervous system. *Cell Immunol* 48, 346-355.
- Brusco L. I., Garcia-Bonacho M., Esquifino A. I., Cardinali D. P. (1998). Diurnal rhythms in norepinephrine and acetylcholine synthesis of sympathetic ganglia, heart and adrenals of aging rats: effect of melatonin. *J Auton Nerv Syst* 74, 49-61.
- Cardinali D. P., Esquifino A. I. (1998). Neuroimmunoendocrinology of the cervical autonomic nervous system. *Biomed Rev* 9, 47-59.
- Cardinali D. P., Romeo H. E. (1990). Peripheral neuroendocrine interrelationships in the cervical region. *News Physiol Sci* 5, 100-104.
- Cardinali D. P., Romeo H. E. (1991). The autonomic nervous system of the cervical region as a channel of neuroendocrine communication. *Front Neuroendocrinol* 12, 278-297.
- Cardinali D. P., Stern J. E. (1994). Peripheral neuroendocrinology of the cervical autonomic nervous system. *Braz J Med Biol Res*, 27, 573-599.
- Carrillo-Vico A., Lardone P. J., Alvarez-Sanchez N., Rodriguez-Rodriguez A., Guerrero J. M. (2013). Melatonin: buffering the immune system. *Int J Mol Sci* 14, 8638-8683.
- Romeo H. E., Boado R. J., Cardinali D. P. (1985). Role of the sympathetic nervous system in the control of thyroid compensatory growth of normal and hypophysectomized rats. *Neuroendocrinology* 40, 309-315.
- Romeo H. E., Diaz M. C., Ceppi J., Zaninovich A. A., Cardinali D. P. (1988). Effect of inferior laryngeal nerve section on thyroid function in rats. *Endocrinology* 122, 2527-2532.

Romeo H. E., Gonzalez Solveyra C., Vacas M. I., Rosenstein R. E., Barontini M., Cardinali D. P. (1986). Origins of the sympathetic projections to rat thyroid and parathyroid glands. *J Auton Nerv Syst* 17, 63-70.

Stern J. E., Guinjoan S. M. A., Cardinali D. P. (1996). Correlation between serum and urinary calcium levels and psychopathology in patients with affective disorders. *J Neural Transm* 103, 509-513.

Stern J. E., Keller Sarmiento.M.I., Cardinali D. P. (1994). Parasympathetic control of parathyroid hormone and calcitonin secretion in rats. *J Auton Nerv Syst* 48, 45-53.



## Capítulo VIII:

### **La Melatonina como Fármaco Potencial: los '80.**

Si bien nuestro interés en la Piedra de la Locura se había concentrado hasta fines de la década de los '70 en los aspectos de modelo neuroendocrino de la glándula pineal, desde los tiempos del Laboratorio de Regulación Neuroendocrina del MIT existió por parte de este cronista un interés en la melatonina como posible fármaco. En ese entonces y en colaboración con Dick Wurtman y Harry Lynch hicimos los primeros estudios sobre la unión de melatonina a proteínas transportadoras en plasma, identificándose a la albúmina en ese rol (Cardinali et al., 1972). También en ese entonces, y en colaboración con Markku Hyypä evaluamos la captación y metabolismo de <sup>3</sup>H-melatonina cuando se administraba intracisternalmente a ratas (Cardinali et al., 1973).

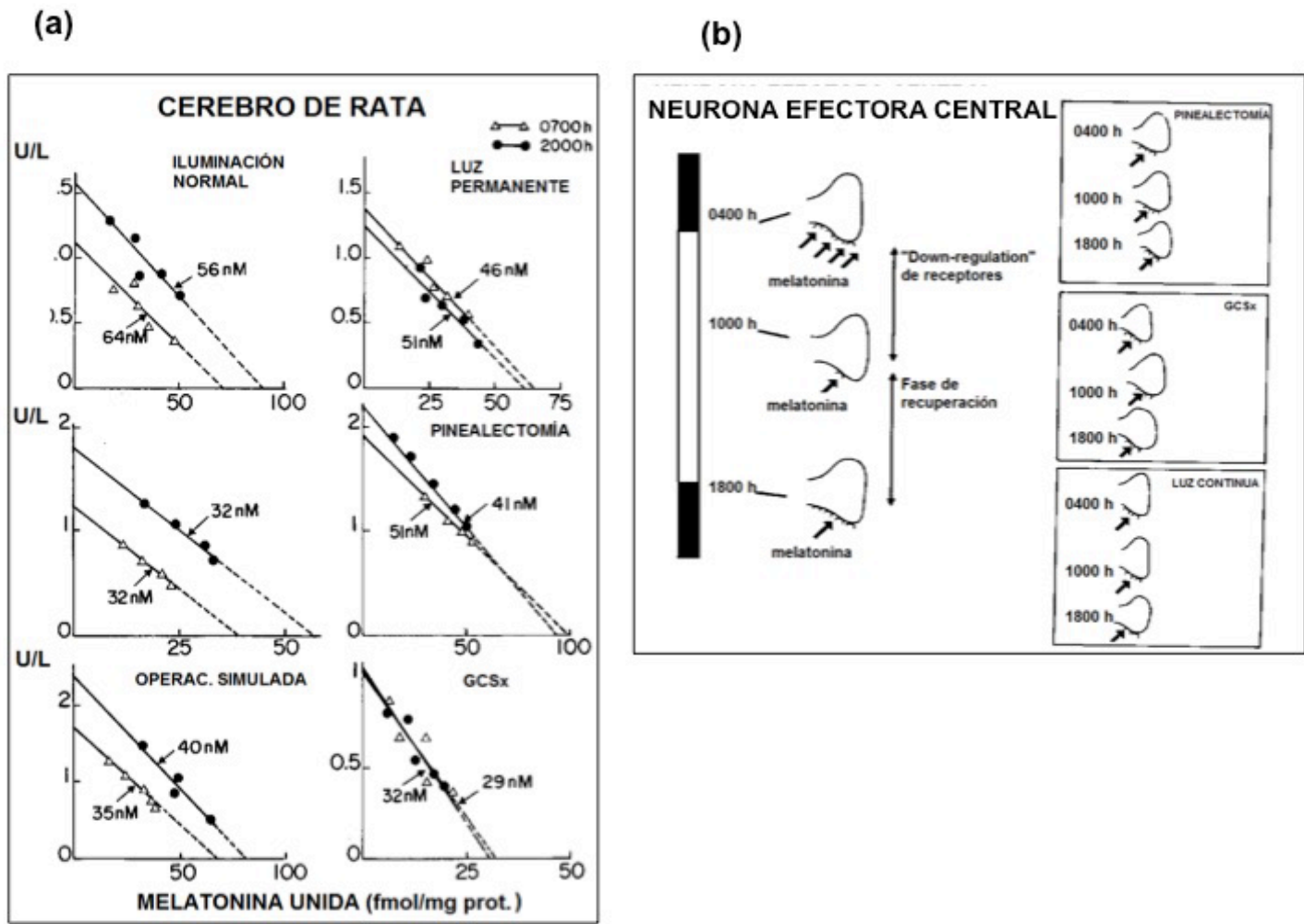
Para aquellos estudios utilizábamos un primitivo método de síntesis de melatonina radiactiva: se hacía reaccionar anhídrido acético marcado con <sup>3</sup>H (de una actividad específica muy baja: 400 Ci/mol) con metoxitriptamina. Sólo un grupo acetato se fijaba para producir melatonina, por lo que la actividad específica del compuesto final era la mitad (200 Ci/mol). Si bien pudo obtenerse evidencia indirecta de un mecanismo neural saturable de captación (la melatonina no marcada competía con la captación de la marcada) estábamos lejos de poder lograr la descripción del receptor de melatonina con un radioisótopo de actividad específica tan baja.

Ya de regreso en Buenos Aires y en el ILAFIR, hicimos estudios con Francisco Freire, un avezado microscopista electrónico, sobre los cambios estructurales y bioquímicos de la eminencia media de ratas inyectadas con melatonina publicando evidencias sobre una posible interacción del metoxindol con tubulina, la proteína constitutiva de los microtúbulos (Cardinali et al., 1975). Años después varios trabajos de distintos grupos de investigación indicaron una acción de la melatonina sobre el citoesqueleto celular (Jimenez Rubio et al, 2012).

Mientras tanto en la década de los '80 comenzaba a cobrar interés la observación de Aaron Lerner, el descubridor de la melatonina, sobre la somnolencia producida por la melatonina cuando se la administraba a sí mismo y a sus pacientes. Fernando Anton Tay en México y Lutz Vollrath en Mainz, corroboraron y extendieron estos resultados, fuertemente indicativos de una actividad hipnótica de la melatonina. Me consta en forma directa por lo que me relatara Lutz Vollrath que se obtuvieron patentes de uso para esta posible aplicación de melatonina como hipnótico.

Debe notarse que al ser un producto natural la melatonina no es pasible de patentamiento como fármaco sino sólo pueden protegerse sus aplicaciones. Las patentes llamadas así de uso son débiles y nunca han interesado a la industria farmacéutica para hacer la inversión necesaria. Este es un punto fundamental para entender la situación actual de la melatonina, como discutiremos más adelante.

Por nuestra parte, nuestro laboratorio había adquirido gran experiencia en la determinación de todo tipo de receptores por métodos de unión de alta afinidad y sólo esperábamos la introducción en el mercado de melatonina tritiada de alta actividad específica para usarla en nuestras preparaciones y detectar los posibles sitios receptores. En 1977, uno de los principales proveedores de material radiactivo, New England Nuclear, introdujo en el mercado melatonina tritiada de alta actividad específica (30 Ci/mmol) y una vez que contamos con ese material en pocas semanas con la Dra. María Irene Vacas y un estudiante de medicina ayudante en nuestro laboratorio, Eduardo Estévez, identificamos los receptores cerebrales de melatonina en áreas del cerebro bovino y luego de rata. La comunicación previa de 1978 fue completada con el trabajo en detalle publicado en la revista *Endocrinology* en 1979 (Cardinali et al., 1978, 1979). En otros estudios verificamos los cambios en la concentración de receptores en correlación con los niveles circulantes de melatonina y el estado de luz ambiental (Figura 8.1) (Vacas y Cardinali, 1979).



*Figura 8.1. Receptores cerebrales de melatonina determinados por sitios de unión de alta afinidad en la rata. Los cambios diarios son abolidos por la pinealectomía o la desnervación pineal. Datos de Vacas y Cardinali, 1979.*

Rápidamente otros investigadores confirmaron nuestros resultados pero hacia 1981 New England Nuclear decidió por problemas técnicos de estabilidad retirar del mercado la  $^3\text{H}$ -melatonina de alta actividad específica, lo que detuvo nuestras investigaciones sobre el tema.

Hacia 1983 se había avanzado notablemente en las técnicas autorradiográficas e inmunohistoquímicas de detección de receptores y se había introducido un ligando yodado de la melatonina, la 2- $^{125}\text{I}$ -melatonina, lo que hizo explotar el conocimiento en el campo de los receptores de melatonina, culminando con su clonado en la década de los '90. La insuficiencia de recursos en aquellos años para sostener los costos de nuestra investigación cada vez más cara nos alejó del pelotón de líderes en el tema de los receptores para melatonina. Buscamos entonces otros nichos que requirieran una baja inversión. Y afortunadamente los encontramos.

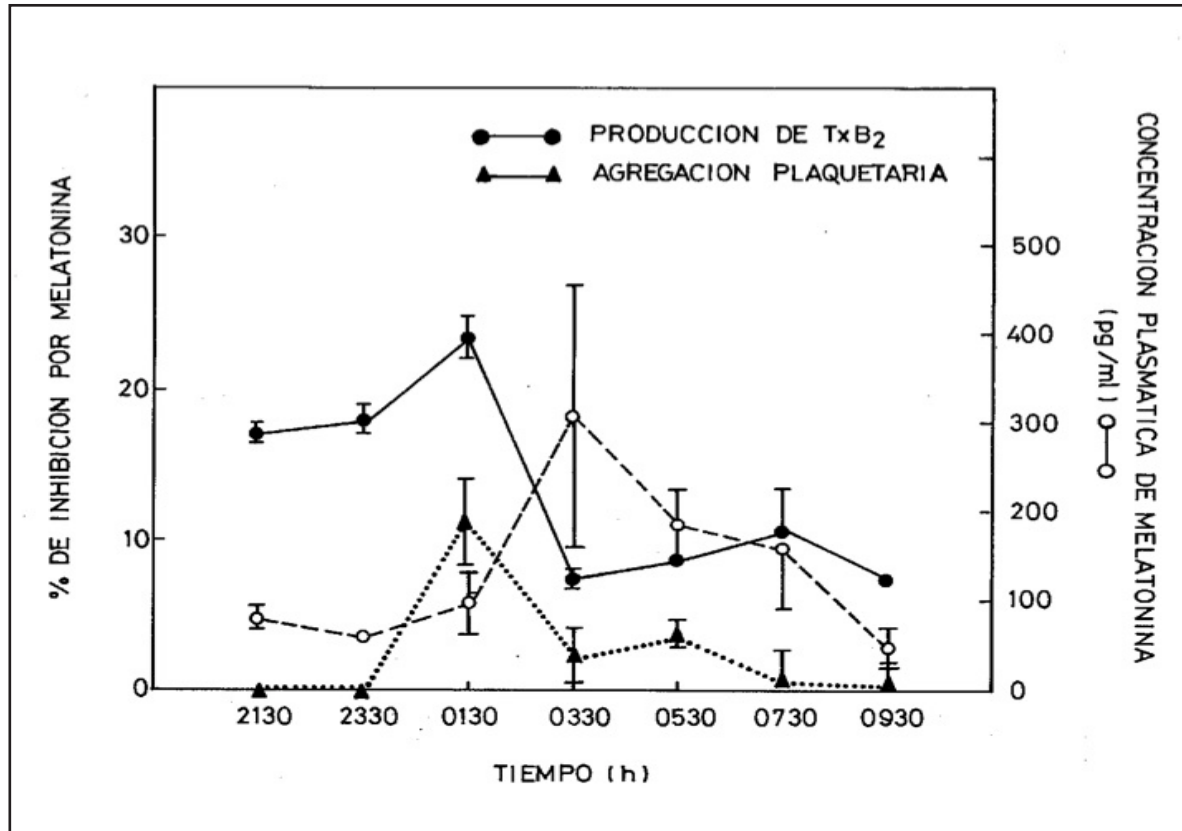
Un primer nicho lo dio la cercanía con el grupo de la Dra. Martha Gimeno, experta en el área de las prostaglandinas, y con quien, además de describir la función de las prostaglandinas en la interfase neuroendocrina pineal, describimos también por primera vez lo que hoy es de suma importancia para entender la acción citoprotectora de la melatonina: su capacidad de inhibir la ciclooxigenasa en diversos tejidos incluidos el SNC, útero y plaquetas (Franchi et al, 1987). Ya mencionamos que la segunda Tesis doctoral de nuestro grupo, la de la Lic. Mónica Ritta se presentó con el título: "Prostaglandinas y función pineal. Su participación en la biosíntesis y mecanismo de acción de la hormona pineal melatonina".

Por ese entonces (1982) este cronista, motivado por su interés en la docencia en Fisiología, se había presentado al concurso de profesor adjunto de la materia en la Facultad de Medicina de la UBA. Se concursaban 4 cargos y 11 aspirantes se presentaron a la prueba de oposición. El dictamen del jurado le otorgó la posición 11<sup>a</sup> a este postulante. Ciertamente los intereses políticos de aquellos años finales del gobierno militar habían dejado marca importante en la vida académica y en las decisiones pesaban fuertemente dichos intereses.

Lejos de amilanarse el cronista aceptó la invitación que le formulara del Dr. Carlos Bozzini, titular de Fisiología en la Facultad de Odontología, UBA, para incorporarse como profesor adjunto a su cátedra,

incorporación finalmente sustanciada por concurso en 1984. Esos años fueron de intensa actividad docente combinada con el trabajo científico en el CEFAPRIN, que ya se había mudado del edificio de la calle Obligado a un complejo de Institutos de investigación en Serrano 665, en el barrio de Villa Crespo. También en esos años creció en nuestro grupo de investigación la decisión de incorporarnos a la UBA y la oportunidad fue dada por los cambios sustanciales en la organización universitaria producidos por el retorno a la democracia.

En 1986 se sustanció el concurso de profesores del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina, UBA, con un jurado internacional convocado especialmente para ello y este cronista ocupó



*Figura 8.2. Correlación de la agregación plaquetaria y producción de tromboxano  $B_2$  estimuladas por melatonina con los niveles circulantes de melatonina en voluntarios sanos. Datos de Vacas et al., 1991.*

el primer lugar en el orden de méritos como profesor titular con dedicación exclusiva. Así en junio de 1987, y luego de refaccionar áreas de investigación del piso 7º del edificio de la Facultad en la calle Paraguay con ayuda de un modesto subsidio del CONICET, nuestro grupo de investigación se trasladó para constituir el Laboratorio de Neurociencias del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina, UBA.

Retomando el hilo del relato científico, en ese entonces se incorporó a nuestro grupo de investigación la médica María de las Mercedes Del Zar, quien había concluido la residencia de endocrinología en el Hospital Ramos Mejía y quería hacer su tesis doctoral. En colaboración con la Dra. María Irene Vacas y con el distinguido grupo de hematología del Dr. Luis Carreras el trabajo de María de las Mercedes tuvo dos objetivos: a) analizar la actividad antiagregante de la melatonina en seres humanos con posible aplicación clínica; b) evaluar si las plaquetas podrían constituir un elemento de utilización clínica para evaluar el efecto central de la melatonina. En distintos experimentos en los cuales jugó un papel esencial la Dra. María Irene Vacas se determinó que la melatonina inhibía distintos procesos fisiológicos plaquetarios. como la agregación plaquetaria, la producción de tromboxanos y la liberación de ATP y serotonina, ambos índices de secreción plaquetaria. En general el efecto de la melatonina fue mayor en horas de la tarde y comienzo de la noche, coincidiendo con los datos in vivo que indican un mayor efecto de la melatonina administrada sistémicamente en ese momento (Figura 8.2). En estudios de unión del radioligando in vitro se detectaron sitios aceptores para la <sup>3</sup>H-melatonina en membranas de plaquetas humanas con afinidad en el rango nanomolar (Del Zar y col., 1990 a,b; Vacas et al., 1992).

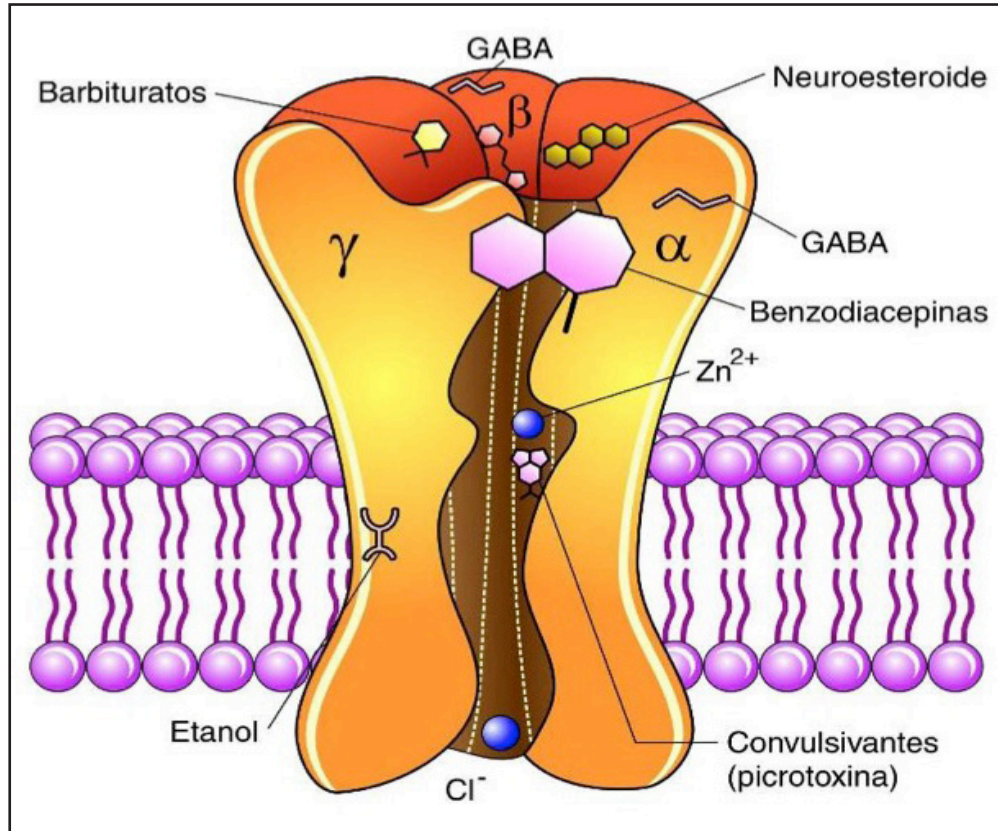
Hoy esta actividad antiagregante es considerada fundamental para la aplicación clínica de la melatonina en el síndrome metabólico, como veremos más adelante. La médica María de las Mercedes Del Zar presentó en 1991 su trabajo de Tesis “Las plaquetas como marcadores periféricos de la actividad central de la melatonina en clínica”, presentada para optar al título de Doctor en Medicina, Facultad de Medicina, UBA la que fue calificada como sobresaliente.

Un segundo nicho de investigación se originó en el interés de nuestro grupo por la regulación de mecanismos GABAérgicos en el SNC. Como ya mencionáramos ese fue el tema de la tesis doctoral de Pedro Lowenstein. Por ese entonces se había incorporado al Laboratorio de Farmacología Neuroendocrina del CEFAPRIN Ruth Rosenstein, una brillante estudiante de Ciencias Químicas de la UBA, quien ingresó para ayudar en los experimentos finales de la tesis de Pedro sobre receptores de benzodiazepinas (BZP). También por ese entonces pasó dos años como postdoctorando en nuestro laboratorio Darío Acuña Castroviejo, quien hoy es un destacado fisiólogo en el área de la melatonina y Catedrático de Fisiología en la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

El GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC presente en interneuronas de circuitos cerebrales, en neuronas de proyección en algunas áreas cerebrales, en las células horizontales en retina y por sobre todo, en la mayoría de las neuronas de los núcleos supraquiasmáticos. En ese entonces no había idea clara de los sistemas neuronales afectados por la melatonina en el SNC pero el GABA era un candidato obvio.

En ese entonces nos manejamos con la premisa que para demostrar que un neurotransmisor estaba implicado en la acción de la melatonina dos requisitos debían cumplirse: (a) el neurotransmisor debía mostrar cambios dinámicos como consecuencia de la inyección de melatonina; (b) la obliteración funcional del neurotransmisor debía modificar de manera significativa el efecto de la melatonina. Cabe señalar que existían datos indicando que las vías monoaminérgicas no eran de importancia para el efecto cronobiótico de la melatonina ya que la inyección intraventricular de 6 - hidroxidopamina y/o 5,7 dihidroxitriptamina, que suprime los niveles de catecolaminas e indoleaminas, no alteraban la acción resincronizadora de melatonina en los cambios de fase de los ritmos circadianos.

Dedicamos entonces considerables esfuerzos para examinar la participación de neuronas GABAérgicas en los efectos cerebrales de la melatonina. Ante la activación de receptores de GABA tipo A se inhibe el disparo neuronal mediante el aumento de la conductancia al Cl<sup>-</sup>, un efecto alostéricamente modificado por las BZP (Figura 8.3). En nuestro laboratorio Darío, Pedro y Ruth demostraron una



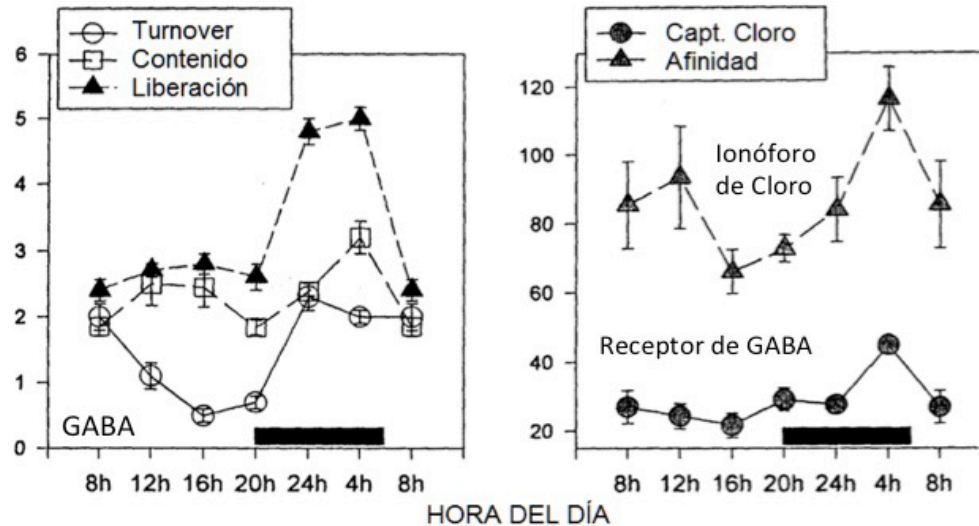
*Figura 8.3. Regulación alostérica de receptores GABA A . Existen sitios alostéricos de unión para benzodiazepinas, esteroides, etanol, barbitúricos y picrotoxina, los cuales modulan la actividad del GABA sobre el ionóforo de cloro.*

ritmicidad diurna en el número de receptores de alta afinidad para GABA y BZP en cerebro de rata que se alteraba con la pinealectomía y se restauraba por la administración de melatonina (Figura 8.4).

Dado que las mediciones del contenido arrojaban una mala evaluación de la dinámica del transmisor estudiamos los ritmos circadianos del turnover de GABA en la corteza cerebral, el hipotálamo medio basal (HMB), el cerebelo y la glándula pineal del hámster mantenido bajo iluminación compatible con días largos o cortos. En días largos (es decir, 14 horas de luz por día), el recambio del GABA en



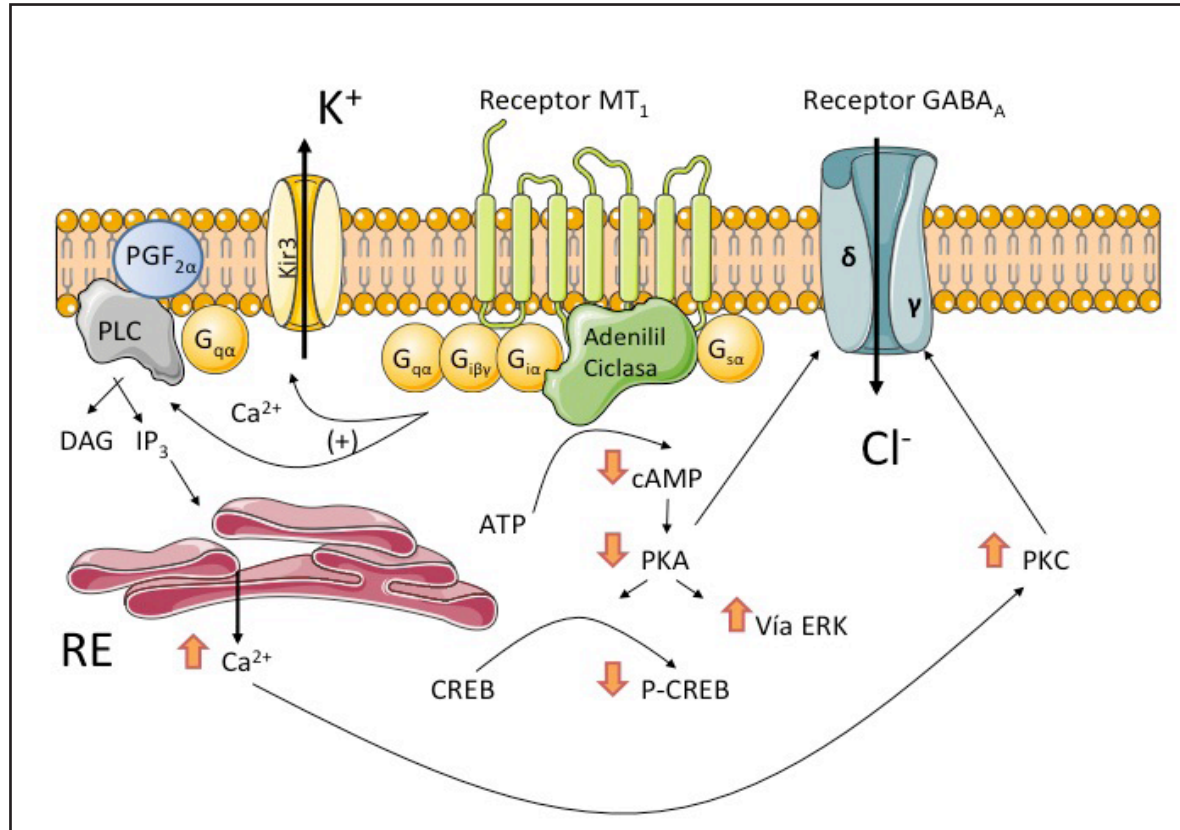
## INDICADORES DE ACTIVIDAD GABAÉRGICA. HIPOTÁLAMO MEOBASAL DE RATA.



*Figura 8.4. Distintos aspectos de la actividad del sistema gabaérgico alcanzan su máximo en la noche. Modificado de Cardinali y Golombek. Neurochemical Research 1998, 23:607-614.*

la corteza cerebral, PMBH, el cerebelo y la glándula pineal exhibió una relación de fase significativa, mostrando valores máximos hacia la primera mitad de la noche (Figura 8.4).

Que los cambios en el GABA en el cerebro de hámster están asociados con cambios concomitantes en la activación del receptor GABA A se demostró por distintos experimentos en los que estudiamos el fenómeno fisiológicamente relevante del receptor GABA A, el ionóforo de Cl<sup>-</sup> (Rosenstein et al, 1990). Pudimos determinar entonces que la melatonina afectaba significativamente a este sistema de neurotransmisión cerebral (Figura 8.4). Otros grupos de investigación establecieron la participación en la acción de la melatonina de receptores MT<sub>1</sub> y de las señales intracelulares desencadenadas por éstos (Figura 8.5).

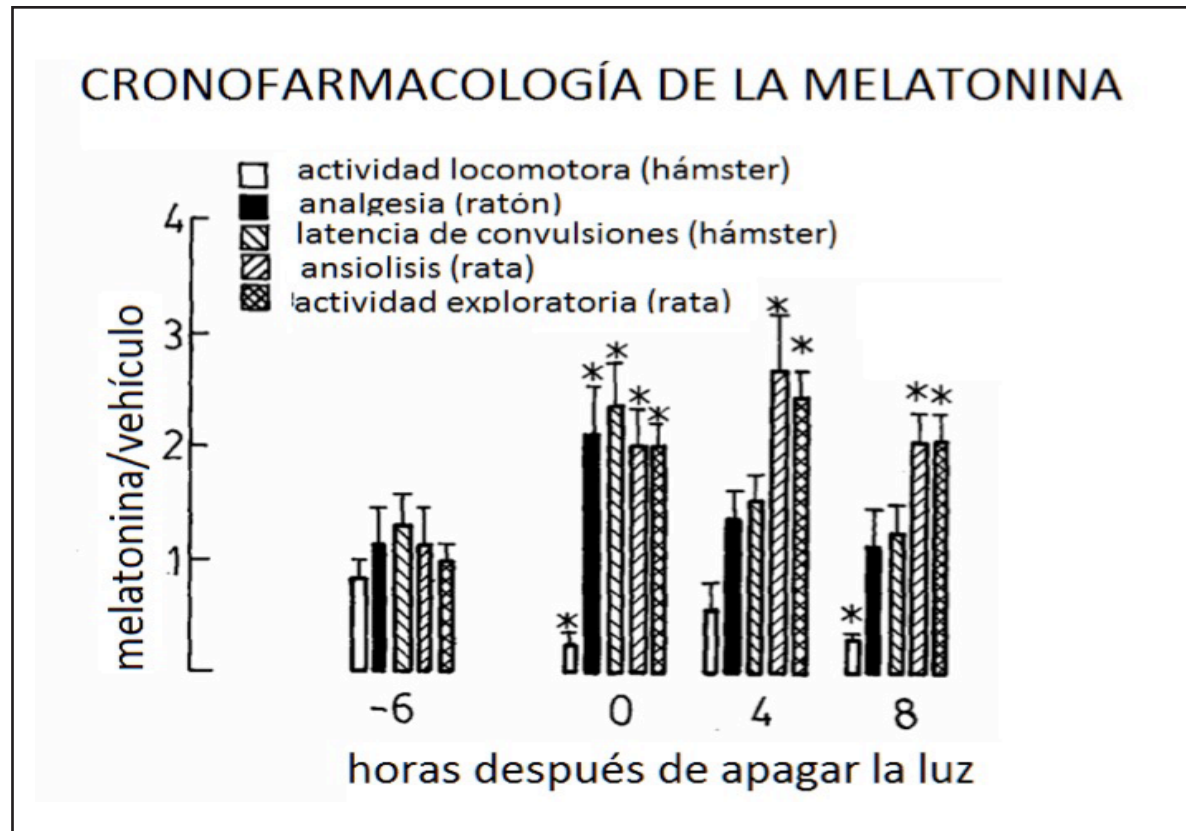


*Figura 8.5. Señales intracelulares que participan en la modulación del receptor tipo A del GABA por los receptores MT<sub>1</sub> de la melatonina.*

Ya imaginábamos en ese momento que los estudios mencionados podrían sentar la base para el reconocido efecto de la melatonina en reducir o suprimir el consumo de BZP en poblaciones de gerontes del que luego hablaremos.

El segundo criterio que nos habíamos planteado como necesario para caracterizar al GABA por efector específico de la melatonina era que la obliteración funcional del neurotransmisor debía modificar de manera significativa el efecto de la melatonina. Hacia 1989 se incorporó a nuestro grupo de investigación un Lic. en Ciencias Biológicas recién graduado de la UBA, Diego Andrés Golombek,

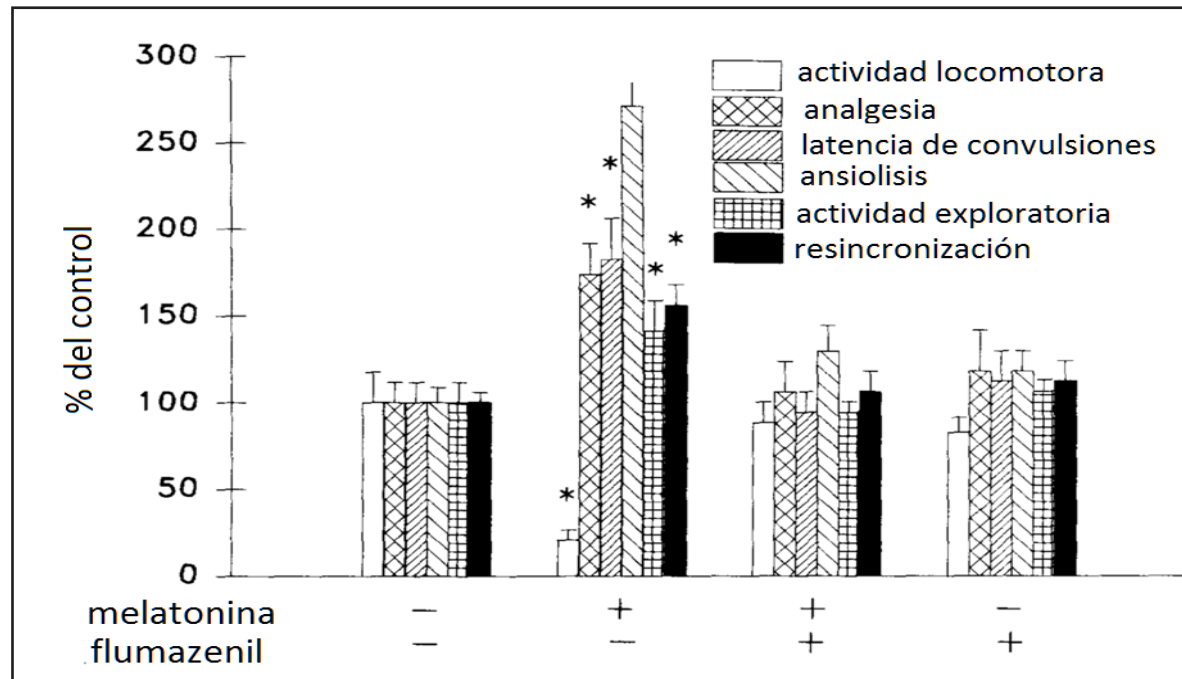
con el destino manifiesto de incorporar metodologías cronobiológicas a las líneas de investigación en marcha. Fue Diego quien estableció las técnicas para monitorización continua de los ritmos de actividad locomotora y temperatura corporal y en una serie de trabajos muy ingeniosos demostró la dependencia de la actividad de la melatonina sobre diversos parámetros conductuales de la integridad de los mecanismos GABA érgicos. Entre estos parámetros Diego estudió la actividad locomotora del hámster, la analgesia en el ratón (base del uso de la melatonina en cuadros de hiperalgesia central como la fibromialgia, cefaleas y colon irritable), la actividad anticonvulsivante (base del uso de melatonina como droga anticomicial) y su efecto ansiolítico (utilizado hoy en clínica para reducir el consumo de BZP).



*Figura 8.6. Cronofarmacología de la melatonina para afectar varias conductas en rata, ratón y hámster. Datos de Golombek et al., 1992a.*

Los trabajos de Diego fueron los primeros en identificar que la acción central de la melatonina en el sistema GABA érgico y de BZP explica la actividad cronobiótica de la molécula (Golombek et al, 1991 a,b, 1992 a,b).

Las Figuras 8.6 y 8.7 resumen una serie de estudios llevados a cabo por Diego para definir la participación de mecanismos GABA érgicos del cerebro en los efectos conductuales de la melatonina en roedores. En primer término caracterizó la cronofarmacología de la melatonina para los diversos parámetros conductuales determinados (Figura 8.6). Para lograr una efectiva inhibición de la actividad GABA érgica se empleó flumazenil, un antagonista del receptor BZP con cierta actividad agonista inversa del receptor. Así efectos de la melatonina como el de la analgesia, comportamiento locomotor, convulsiones, actividad exploratoria, ansiolisis y resincronización circadiana fueron inhibidos por la administración de flumazenil (Figura 8.7). Esta fue en esencia la tesis Doctoral de Diego Golombek.



*Figura 8.7. Bloqueo por flumazenil del efecto de la melatonina sobre varias conductas en rata, ratón y hámster. Datos de Golombek et al., 1992a.*

En nuestras discusiones semanales de los resultados de Diego pudimos elaborar en conjunto con los integrantes del grupo de investigación distintas interpretaciones para sus resultados. En primer lugar, la melatonina podría interactuar con sitios de BZP en el complejo receptor GABA A, efecto contrarrestado por el flumazenil (esta posibilidad no era apoyada por la incapacidad de la melatonina para desplazar a las BZP de sus sitios de unión in vitro demostrada por Darío Acuña Castroviejo años atrás). En segundo lugar, el flumazenil podría desplazar a la melatonina de sus sitios receptores en el cerebro, existiendo resultados de otros investigadores que apoyaban la existencia de efectos directos de BZP en la unión de melatonina. En tercer lugar, la melatonina podría necesitar una actividad tónica endógena intacta GABAérgica para afectar el comportamiento, una situación perturbada por la administración de flumazenil. Una última posibilidad era que la acción de la melatonina necesitara de un “tono” BZP endógeno intacto, lo que podría ser bloqueado por flumazenil. No avanzamos más entonces en la elucidación de estas posibilidades, y el tema está todavía abierto.

En conjunto, los resultados discutidos son compatibles con la idea que la actividad de la melatonina sobre la ritmicidad circadiana involucra la función del receptor GABA tipo A. La melatonina y las BZP parecen tener en común una actividad en las neuronas GABAérgicas centrales que participan en la organización circadiana.

En 1989 la Lic. en Ciencias Químicas Ruth Estela Rosenstein presentó su trabajo de Tesis: “Melatonina y transmisión gabaérgica en el sistema nervioso central y glándula pineal” para optar al título de Doctor en Ciencias Químicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA. Esta tesis fue calificada como sobresaliente y además recibió el Premio Estímulo a la Investigación, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, y el Premio Asociación Química Argentina, a la mejor Tesis en temas químicos presentada.

En 1992 el Lic. en Ciencias Biológicas Diego Golombek, presentó su trabajo de Tesis “La actividad cronobiológica de la melatonina: Relación con el sistema gabaérgico central” para optar al título de Doctor en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA, trabajo que recibiera la calificación de sobresaliente. Esta Tesis recibió el premio otorgado a la mejor Tesis en temas biológicos, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, años 1991-1994.

Ambos, Ruth y Diego recibieron años después la Beca Guggenheim, en parte por estos hallazgos.

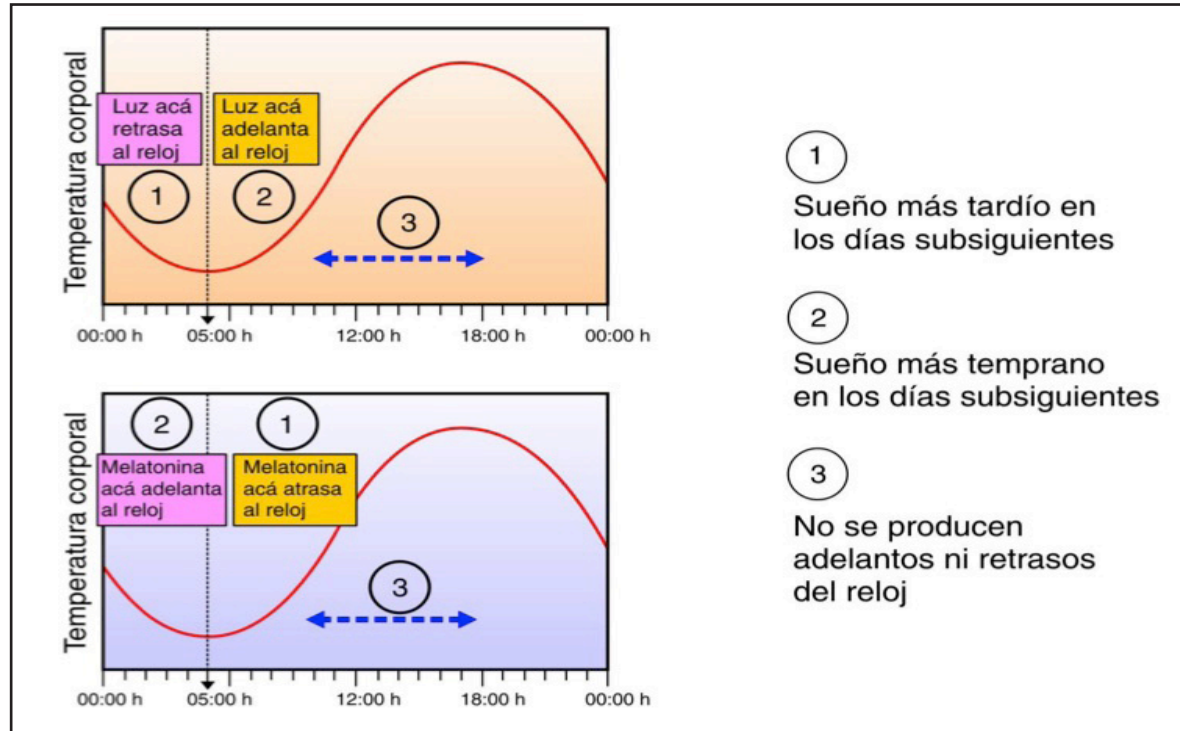
La década de los 1980 fue muy dificultosa para la ciencia básica en la Argentina. Los insuficientes salarios y la reducción progresiva de los fondos para investigar, junto con el costo creciente de las nuevas metodologías que se incorporaban como la biología molecular hizo que se fueran restringiendo las posibilidades de competir internacionalmente con la eficacia de décadas anteriores.

Además este cronista vivió una etapa de creciente requerimiento por parte del CONICET de trabajo administrativo (Comisiones Asesoras) que lo alejaba de su trabajo de laboratorio. Afortunadamente nuestro grupo de investigación recibió en esa década financiamiento del Stiftung Volkswagenwerk, Hannover, y del Gobierno de la República Federal Alemana lo que permitió mantener un cierto nivel de investigación.

Estos apoyos también facilitaron la presencia del grupo de investigación en reuniones científicas clave en las que se fue consolidando el interés creciente por la glándula pineal y la melatonina, entre ellas el Simposio Internacional sobre Melatonina, Bremen (1980), la Reunión Española de Neurobiólogos, Salamanca (1981), los Simposios Internacionales sobre Glándula Pineal, Erice, Italia (1982 y 1986) y Digby, Canada (1984), los Coloquios Internacionales del European Pineal Study Group (Pecs, Hungría, 1984, y Módena, 1987) y el Simposio Internacional sobre Glándula Pineal y Cáncer, Tubingen (1987).

Hacia el final de la década se habían concretado varios adelantos en la función de la melatonina. En primer término, su definición como cronobiótico, nombre que se acuñara para su efecto sincronizador de los ritmos circadianos.

La melatonina es el recurso terapéutico de elección en los vuelos transmeridianos para prevenir el “jet lag”.



*Figura 8.8. Curva de respuesta de fase ante la luz y la melatonina en el hombre. Los cambios en temperatura corporal marcan la actividad del reloj. La temperatura corporal central alcanza su nadir a las 04:00 - 05:00 h.*

Como se ve en la Figura 8.8, y dependiendo del momento del día la melatonina produce adelantos o retraso de fase del reloj circadiano y aumenta la amplitud del ritmo lo que hoy la hace junto con la luz natural en horas de la mañana el tratamiento imprescindible para ayudar a las terapéuticas específicas en todo tipo de patología.

Otro mecanismo de suma importancia fue la caracterización de la melatonina como la señal que “abre las puertas del sueño”. Para entender este efecto debemos brevemente recapitular los mecanismos participantes en la producción del sueño que son tres:

1. Un proceso llamado “S” (por sueño), determinado por la historia previa de sueño y vigilia del individuo. El proceso “S” se manifiesta por la propensión al sueño aumentada observable luego de

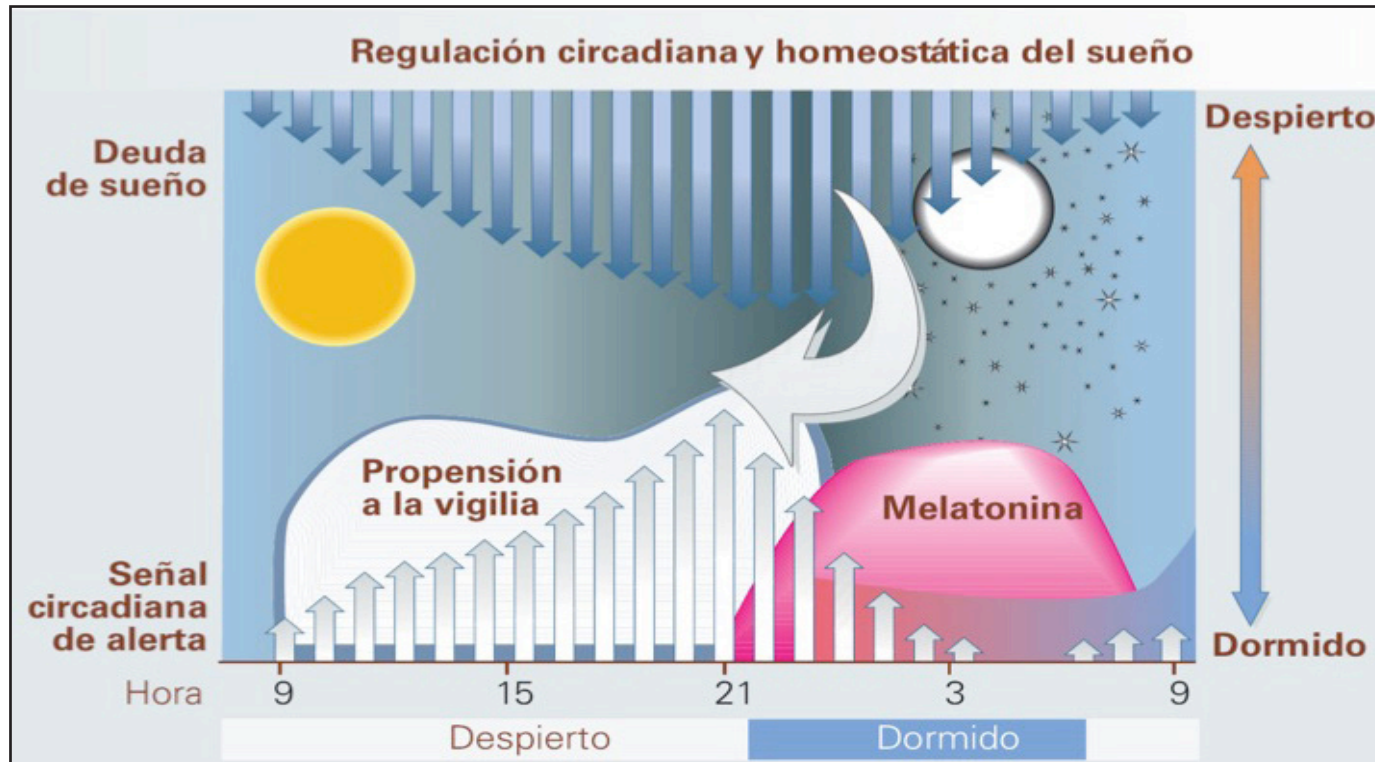
una privación de sueño. Es como la acumulación de una deuda, semejante al mecanismo de un reloj de arena.

2. Un proceso llamado “C” (por circadiano), controlado por el reloj biológico endógeno e independiente de la historia previa de sueño y vigilia. El proceso “C” comprende la tendencia del sueño a iniciarse en la fase de caída de la temperatura corporal (primera parte de la noche) y la terminación del sueño durante la fase de incremento de la temperatura (segunda parte de la noche). Es debido a este proceso “C” que luego de una noche despiertos tenemos más sueño hacia las 4 - 5 de la mañana que unas 2 o 3 horas después (a pesar de haberse acumulado más deuda de sueño por el proceso S).

El sueño es así semejante a una deuda bancaria: si queremos pagarla cuando la “ventanilla del banco” (proceso C) está “cerrada” no lo podremos hacer y deberemos esperar a que el “banco abra”. Esto es lo que le ocurre al trabajador nocturno que luego de una noche en vela quiere dormir en la mañana al volver a su hogar. Es sabido que deberá esperar un momento más adecuado (el de la siesta luego del mediodía, por ejemplo) para que el sueño sea reparador.

3. Un componente periodicidad de 90-120 minutos (ultradiano), perceptible tanto dentro del sueño (alternancia del sueño REM y lento con esta periodicidad) como en la vigilia (periodicidad de unos 90-120 minutos en máximos y mínimos de atención y vigilia). Sabemos por experiencia que no puede mantenerse la atención en una tarea, por ejemplo, escuchar una clase, más de 60 – 90 minutos. La melatonina pineal comienza a liberarse hacia las 18:00–19:00 h y actúa por medio de receptores específicos sobre los núcleos supraquiasmáticos (el marcapasos central de los ritmos circadianos) reduciendo su actividad eléctrica y por lo tanto su capacidad de neutralizar la presión del proceso S. Existen pruebas de que éste es el disparo de la inducción del sueño, y ya hemos mencionado que se considera a la melatonina como la señal que “abre las puertas del sueño” (Figura 8.9). Esta expresión, acuñada por el fisiólogo israelí Peres Lavie no es sólo poética (Lavie, 1997). Si alguien intenta dormirse a las 18:00 o 19:00 h hará una siesta de 1 o 2 horas y luego se despertará. Si en cambio la hora de comienzo del sueño se desplaza a las 21:00 – 22:00 horas el sueño que se produce puede ser ya consolidado y de unas 6 – 8 horas de duración.





*Figura 8.9. Los dos procesos que regulan el sueño. Un proceso determinado por la historia previa de sueño y vigilia del individuo y que se manifiesta por la propensión al sueño aumentada es contrarrestado por los mecanismos de alerta controlados por el reloj biológico endógeno e independientes de la historia previa de sueño y vigilia. La melatonina pineal comienza a liberarse hacia las 18:00–19:00 h y actúa por medio de receptores específicos sobre los núcleos supraquiasmáticos (el marcapasos central de los ritmos circadianos) reduciendo su actividad eléctrica y por lo tanto su capacidad de neutralizar la presión del sueño.*

Esta verificación condujo a sacar del olvido los estudios previos sobre la actividad hipnótica de la melatonina. Por mecanismos no totalmente aclarados para este cronista ni para varias fuentes internacionales consultadas la melatonina comenzó a comercializarse en EEUU como un suplemento nutricional hacia fines de los '80.

El amplio uso que comenzó a tener este compuesto como medicina alternativa para el tratamiento del insomnio y la verificación de su notable falta de toxicidad hizo que por el uso y la demanda se consolidara su posición a pesar de las reservas de la FDA al respecto. La aprobación en EEUU era fundamental para que en la Argentina el ANMAT la incorporara. Eso se produjo años más tarde como veremos en el próximo Capítulo.

## Referencias

**(Para otras referencias del laboratorio del autor, véase el Adendo)**

Acuña Castroviejo D., Lowenstein P., Rosenstein R. E., Cardinali D. P. (1986). Diurnal variations of benzodiazepine binding in rat cerebral cortex: Disruption by pinealectomy. *J Pineal Res* 3, 101-109.

Acuña Castroviejo D., Rosenstein R. E., Romeo H. E., Cardinali D. P. (1986). Changes in gamma-aminobutyric acid high affinity binding to cerebral cortex membranes after pinealectomy or melatonin administration to rats. *Neuroendocrinology* 43, 24-31.

Cardinali D. P., Freire F. (1975). Melatonin effects on brain. Interaction with microtubule protein, inhibition of fast axoplasmic flow and induction of crystalloid and tubular formations in the hypothalamus. *Mol Cell Endocrinol* 2, 317-330.

Cardinali D.P., Golombek D. A. (1998). The rhythmic gabaergic system. *Neurochem Res* 23:607-614

Cardinali D. P., Hyypä M. T., Wurtman R. J. (1973). Fate of intracisternally injected melatonin in the rat brain. *Neuroendocrinology* 12, 30-40.

- Cardinali D. P., Lynch H. J., Wurtman R. J. (1972). Binding of melatonin to human and rat plasma proteins. *Endocrinology* 91, 1213-1218.
- Cardinali D. P., Vacas M. I., Boyer E. E. (1978). High affinity binding of melatonin in bovine medial basal hypothalamus. *IRCS Medical Science* 6, 357.
- Cardinali D. P., Vacas M. I., Boyer E. E. (1979). Specific binding of melatonin in bovine brain. *Endocrinology* 105, 437-441.
- Del Zar M. M., Martinuzzo M., Cardinali D. P., Carreras L. O., Vacas M. I. (1990a). Diurnal variation in melatonin effect on adenosine triphosphate and serotonin release by human platelets. *Acta Endocr* 123, 453-458.
- Del Zar M. M., Martinuzzo M., Falcon C., Cardinali D. P., Carreras L. O., Vacas M. I. (1990b). Inhibition of human platelet aggregation and thromboxane B2 production by melatonin. Evidence for a diurnal variation. *J Clin Endocrinol Metab* 70, 246-251.
- Franchi A. M., Gimeno M. F., Cardinali D. P., Vacas M. I. (1987). Melatonin, 5-methoxytryptamine and some of their analogs as cyclo-oxygenase inhibitors in rat medial basal hypothalamus. *Brain Res* 405, 384-388.
- Golombek D. A., Escolar E., Burin L., De Brito Sanchez M., Cardinali D. P. (1991a). Time-dependent melatonin analgesia in mice: inhibition by opiate or benzodiazepine antagonism. *Eur J Pharmacol* 194, 25-30.
- Golombek D. A., Escolar E., Burin L., De Brito Sanchez M., Fernandez D., Duque D., Cardinali D. P. (1992a). Chronopharmacology of melatonin: inhibition by benzodiazepine antagonism. *Chronobiol Int* 9, 124-131.
- Golombek D. A., Escolar E., Cardinali D. P. (1991b). Melatonin-induced depression of locomotor activity in hamsters: time dependency and inhibition by the central type benzodiazepine antagonist Ro 15-1788. *Physiol Behav* 49, 1091-1098.

- Golombek D. A., Fernandez Duque D., De Brito Sanchez M., Burin L., Cardinali D. P. (1992b). Time-dependent anticonvulsant activity of melatonin in hamsters. *Eur J Pharmacol* 210, 253-258.
- Jimenez-Rubio G., Ortiz-Lopez L., Benitez-King G. (2012). Melatonin modulates cytoskeletal organization in the rat brain hippocampus. *Neurosci Lett* 511, 47-51.
- Lavie P. (1997). Melatonin: role in gating nocturnal rise in sleep propensity. *J Biol Rhythms* 12, 657-665.
- Rosenstein R. E., Cardinali D. P. (1990). Central gabaergic mechanisms as target for melatonin activity. *Neurochem Int* 17, 373-379.
- Vacas M. I., Cardinali D. P. (1979). Diurnal changes in melatonin binding sites of hamster and rat brains. Correlation with neuroendocrine responsiveness to melatonin. *Neurosci Lett* 15, 259-263.
- Vacas M. I., Del Zar M. M., Martinuzzo M., Cardinali D. P. (1992). Binding sites for [3H]-melatonin in human platelets. *J Pineal Res* 13, 60-65.
- Vacas M. I., DelZar M. M., Martinuzzo M., Falcon C., Carreras L. O., Cardinali D. P. (1991). Inhibition of human platelet aggregation and thromboxane B2 production by melatonin. Correlation with plasma melatonin levels. *J Pineal Res.*, 11, 135-139.

## Capítulo IX:

### **La Melatonina como Cronobiótico: los '90.**

Como mencionamos en el Capítulo anterior, la situación de supervivencia para este cronista en la Argentina de los finales de los '80 fue crítica. Ya por entonces había establecido muy estrechas conexiones con laboratorios en Madrid, Salamanca y Santander y la posibilidad de la emigración era inminente, sobre todo porque en España se habían puesto en marcha ventajosos programas para la radicación de científicos extranjeros.

No puedo dejar de mencionar la generosidad y apoyo de mis colegas españoles. Mi entrañable amigo Jesús Tresguerres, catedrático de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, se preocupó en forma continua por el desarrollo de los acontecimientos y colaboró de mil formas para hacer la situación más llevadera. Pasé meses trabajando en su laboratorio en Madrid y tuve el gran honor de que por su propuesta se me nombrara Doctor honoris causa en Medicina de esa Universidad. Jesús fue también el artífice de mi incorporación a la Real Academia de Medicina de España como miembro correspondiente extranjero.

Otro gran amigo, Luciano Muñoz Barragán, catedrático de Anatomía e Histología Humana de la Universidad de Salamanca, fue el propulsor de mi nombramiento como Doctor honoris causa en Medicina de esa Universidad. Para mí éste fue una distinción extraordinaria porque sólo tres argentinos habían recibido el doctorado "honoris causa" en Ciencias hasta ese momento: Bernardo A. Houssay, Luis F. Leloir y Mario Bunge. Otro dilecto amigo, Emilio Sánchez Barceló, Catedrático de Fisiología de la Universidad de Cantabria, Santander, puso generosamente su laboratorio a mi disposición y por algunos años viajaba en el verano 3 meses a cumplir con mis obligaciones de Catedrático visitante en esa hermosa ciudad.

Como una de las últimas obligaciones en el CONICET del gobierno del presidente Alfonsín tuve la suerte de participar en 1987 en una misión exploratoria ante la Comunidad Económica Europea para un programa de subsidios con países de América Latina. Como mencioné en el Capítulo 6, uno de los laboratorios que visité fue en París el laboratorio de Claude Kordon donde, como comentamos en el Capítulo 6, verifiqué la dificultad de cambiar un paradigma tan fuerte como el vigente en la Neuroendocrinología.

Pero además viajé a Estrasburgo a la Universidad Louis Pasteur donde fui muy auspiciosamente recibido por Paul Pévet con quien finalmente elaboramos el primer proyecto en Biomedicina financiado por el programa europeo por 2 años y que fuera con los años renovado 2 veces más. Este subsidio aseguraba el mantenimiento del laboratorio, pero no de los hambreados investigadores que trabajaban en él.

Para colmo de males, la falta de olfato político de este cronista lo llevó a firmar una solicitada en favor del candidato radical Eduardo Angeloz el día previo a la elección que llevó a Carlos Menem a la Presidencia de la Nación. La venganza inmediata de los que asumieron el poder inició un periodo de ostracismo científico-político, sin apoyo por parte de los organismos estatales, lo que perjudicó particularmente a nuestro laboratorio.

En este momento y de una manera absolutamente casual irrumpió en esta historia un brillante y audaz médico psiquiatra, Roberto Bonanni Rey. Roberto había sido compañero de este cronista en la carrera de medicina de la Universidad del Salvador y había hecho una carrera meritoria pero informal en el área de la salud mental. Por sobre todo era un excelente médico con gran llegada a los enfermos y un profundo pragmatismo alejado de doctrinas.

Roberto había establecido un consultorio que se hizo mediáticamente popular cuando rescató a Carlos Calvo (“Carlín”) de su drogadicción. Carlín dejó en esa época (1990) un éxito imborrable en las pantallas de la televisión argentina: “Amigos son los Amigos”. La colaboración con Roberto en esa época de ostracismo obligado por mi falta de olfato político tuvo un resultado beneficioso para ambos. La tarea de Bonanni Rey se vio beneficiada por la asociación con un grupo de investigadores

que enriquecieron el enfoque clínico de su consulta y a su vez, la tarea de los investigadores adquirió una pieza invaluable en las ideas de Roberto sobre el funcionamiento del sistema nervioso autónomo en la patología psiquiátrica.

El trabajo de Tesis Doctoral de Salvador Guinjoan fue un emergente de esta incursión clínica del grupo de investigación. Salvador fue un muy brillante estudiante de medicina que comenzó en nuestro laboratorio como becario estudiante tempranamente en la carrera. Luego de recibirse de médico y con la ayuda de becas del CONICET Salvador concluyó en 1996 su trabajo de Tesis “Correlatos neurovegetativos en los trastornos afectivos” presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, UBA. Su tesis recibió la calificación de Sobresaliente y además el Premio Facultad de Medicina 1997, a la mejor Tesis presentada. Salvador completó luego la residencia en Psiquiatría en EEUU con mucho éxito y regresó al país para concretar una muy brillante carrera de investigador clínico.

También y en la misma línea otra brillante Licenciada en Ciencias Biológicas egresada de la UBA, Paola Yannielli, completó su Tesis doctoral en la UBA sobre el tema: “Cronobiología de la ansiedad y la depresión mayor: estudio en modelos animales” aprobada en 1999 con calificación sobresaliente. Paola fue un personaje muy particular. Siguió simultáneamente con su carrera científica una carrera literaria de gran éxito con el nombre de Paola Kaufmann. Varias de sus novelas fueron galardonadas por premios nacionales e internacionales y en el 2005, al regresar a la Argentina de su posdoctorado en EEUU, recibió el premio Planeta por su novela “El Lago”. La tremenda fatalidad de un tumor cerebral acabó con su vida a los 37 años el 23 setiembre de 2006.

Volviendo a nuestro tema central, dijimos que la melatonina ya estaba siendo comercializada en EEUU hacia fines de los '80 como suplemento dietario en trastornos del sueño. Esta situación en el mercado norteamericano permitía su ingreso al mercado argentino según la reglamentación vigente. Así este cronista hizo múltiples contactos con laboratorios farmacéuticos nacionales e internacionales para introducirla como terapéutica del insomnio, sin éxito. El uso de la melatonina, mientras tanto, seguía en aumento, y a este crecimiento lo estimuló una infundada actividad “antienvejecimiento” con gran repercusión en la prensa internacional de ese momento.

Afortunadamente Laboratorios Gador, un laboratorio nacional con una fuerte tradición de investigación farmacológica, liderada hasta ese entonces por Esteban Montuori con la colaboración de Aníbal Pérez Lloret, se interesó en la potencialidad de la melatonina como fármaco. Así entre los años 1993 y 1995 se completaron los trámites para su incorporación al mercado argentino como producto de venta libre, a través de Elisium S.A., ya que ésa era la condición existente en EEUU.

Elisium S.A. firmó un convenio con la Facultad de Medicina, UBA, para la asistencia científico-técnica que este cronista, como Profesor Titular de Fisiología, brinda al producto, convenio aún vigente. Se abría así la oportunidad largamente esperada para intentar la aplicación clínica del producto de la Piedra de la Locura.

Ya mencionamos que la melatonina, al ser un producto natural, no puede patentarse. Este hecho ha tornado dificultoso que exista financiamiento para cumplimentar los requerimientos necesarios para ser un producto prescribible bajo receta, lo que implica rigurosos estudios clínicos de alto costo. El tema del patentamiento o no de productos naturales ha cobrado actualidad recientemente acerca de ciertas aplicaciones en genética humana. En junio de 2013 la Corte Suprema de EEUU sentenció que los genes humanos no pueden patentarse por ser productos naturales. Dicho tipo de patentes había sido solicitada por empresas como Myriad Genetics que pretendía patentar las secuencias de dos genes, BRCA1 y BRCA2, relacionados con el riesgo de cáncer de mama y de ovario. Un caso célebre en este aspecto fue el de la actriz Angelina Jolie quien anunció haberse sometido a una doble mastectomía preventiva después de enterarse que portaba mutaciones de riesgo del BRCA1.

Con la melatonina en el mercado (Melatol<sup>R</sup>, Elisium) pudieron hacerse los primeros estudios en ancianos internados en el Centro Médico Ingeniero A. Rocca, Hospital Italiano de Buenos Aires, entonces dirigido por el distinguido gerontólogo Isidoro Fainstein. El primero fue un estudio piloto de corto plazo diseñado para evaluar la eficacia y tolerancia de la melatonina en el tratamiento de los trastornos del sueño en adultos mayores. Se estudiaron 41 pacientes (28 mujeres y 13 hombres, promedio de edad 74 años) agrupados en: (a) 22 pacientes con trastornos del sueño; (b) 9 pacientes con trastornos del sueño y síntomas de depresión; y (c) 10 pacientes con trastornos



del sueño y demencia. Todos los pacientes recibieron 3 mg de melatonina en cápsulas de gelatina por vía oral 30 min antes de acostarse, durante 21 días. La calidad del sueño y el alerta durante el día fueron evaluados globalmente, por medio de consultas clínicas estructuradas y de agendas del sueño completadas por los pacientes (o por quienes los cuidaban en el caso de pacientes con demencia). Comenzando en el 2° o 3° día del tratamiento, la melatonina mejoró significativamente la calidad del sueño y disminuyó el número de despertares en pacientes con trastornos del sueño con o sin depresión asociada. La estimación de la función del día siguiente (es decir, alerta matutina y durante el día) mejoró significativamente sólo en los pacientes que mostraban exclusivamente trastornos del sueño. Si bien los pacientes con demencia no revelaron mejoría significativa de la calidad del sueño, la agitación vespertina disminuyó significativamente en 70% de ellos. Esto se reflejó en el coeficiente de varianza a la hora de acostarse, el que disminuyó significativamente en pacientes con demencia cuando fue reevaluado en los días 19 a 21 del tratamiento. Cuatro (31%) de los 13 pacientes con insomnio primario que recibían BZP como tratamiento en forma concomitante redujeron la dosis (del 50 al 75% de la dosis inicial) y 4 (31%) discontinuaron el uso de estos agentes hipnóticos. De los 7 pacientes con depresión y 7 con enfermedad de Alzheimer que recibieron BZP en forma concomitante, 2 (29%) en cada grupo redujeron el uso en más del 50%. No fueron reportados efectos colaterales atribuibles al tratamiento con melatonina (Fainstein y col, 1977). Así se confirmó la sospecha que teníamos de tiempo atrás: la melatonina podía ser efectiva para sacar de la dependencia de BZP a los pacientes.

En otro estudio piloto abierto sobre la seguridad y eficacia de la melatonina en 22 mujeres con insomnio administramos 3 mg de melatonina por vía oral diariamente durante 6 meses, 30 min antes del tiempo de sueño esperado (Siegrist y col, 2001). Veinte de las 22 pacientes recibían BZP y continuaron con su ingesta durante el tratamiento. Al cabo de los 6 meses no se observaron cambios en los niveles séricos de prolactina, FSH, TSH o estradiol ni hubo ninguna indicación de alteración hematológica o bioquímica en análisis de rutina. La melatonina aumentó significativamente la calidad y duración del sueño y disminuyó la latencia del sueño y el número de episodios de despertar. También mejoró el estado de alerta al día siguiente. La excreción urinaria del metabolito de la melatonina 6-sulfatoximelatonina se correlacionó con la edad en este grupo de pacientes. Trece de

los 20 pacientes que tomaban BZP abandonaron su uso y en otros 4 pacientes se redujo la dosis de BZP al 25-66 % de la dosis inicial.

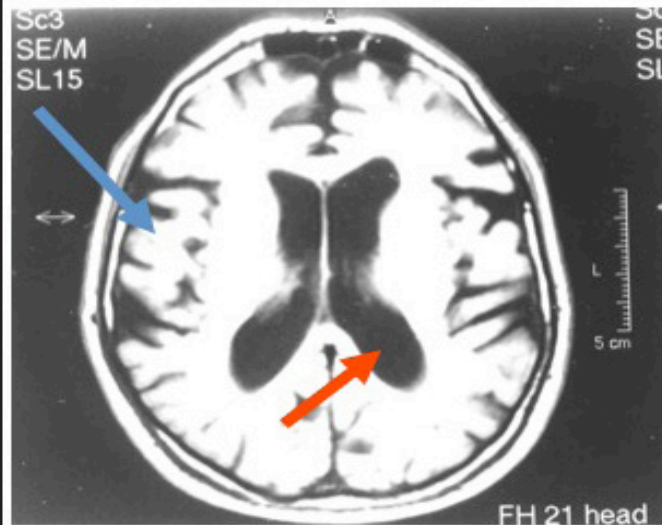
Además de la mejora en la calidad de sueño por la administración de melatonina, los resultados de dichas pruebas iniciales fueron para nosotros auspiciosos en dos sentidos: se verificaba la eficacia de la melatonina para reducir el uso de BZP, contraindicadas para el uso prolongado en estos pacientes, y aparecía un efecto cronobiótico sincronizador del sistema circadiano en pacientes con enfermedad de Alzheimer, lo que planteaba la posibilidad de uso para reducir el fenómeno conocido como “sundowning” o agitación vespéral.

En cuanto a los estudios clínicos en enfermedad de Alzheimer, ellos fueron llevados a cabo por el médico Luis Ignacio Brusco como parte de su tesis doctoral, que también incluyó estudios sobre el efecto de la melatonina en modelos animales de envejecimiento.

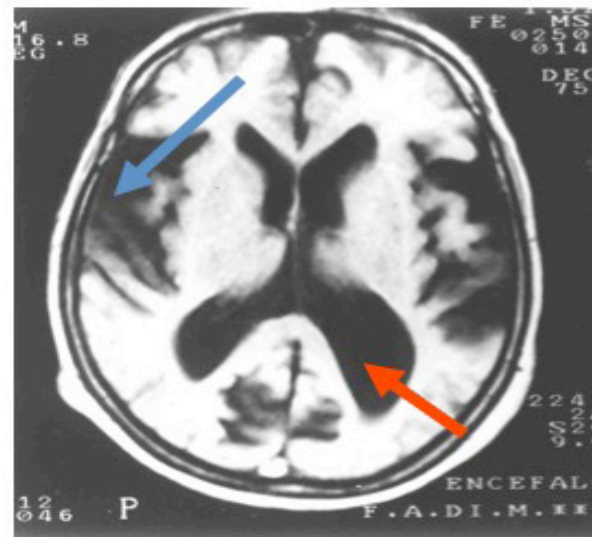
Es conocido que la prevalencia de la enfermedad de Alzheimer está aumentando rápidamente a medida que aumenta el número de personas en la franja etaria de mayor edad. En Argentina, la población total según el censo del 2010 es de 40 091 359 habitantes con un total de habitantes mayores de 60 años de 5 813 247 (el 14.5% de la población). Puede estimarse que para el 2050 uno de cada tres argentinos tendrá más de 60 años por lo que el envejecimiento de la población se tornará un problema mayúsculo médico y social. Se calcula que existen aproximadamente 450 000 argentinos con enfermedad de Alzheimer y se espera que este número aumente 3-4 veces durante los próximos 50 años.

La enfermedad de Alzheimer se asocia con la acumulación en el cerebro de una proteína llamada  $\beta$ -amiloide y la presencia de ovillos neurofibrilares (conglomerados anormales de proteínas dentro de las neuronas). Sin embargo, a pesar de que se ha avanzado en el estudio de los procesos neurobiológicos vinculados con esta patología, no hay acuerdo sobre si estas observaciones son efectivamente su causa (el 30% de las personas de más de 70 años que son cognitivamente normales también presentan estas anormalidades) (para ref. ver Pandi-Perumal et al., 2013). En lo que sí hay consenso es que los trastornos cerebrales en el Alzheimer empiezan a producirse unos 15 años antes

## NMR



Paciente NN (melatonina)



Paciente ZZ

*Figura 9.1. Resonancia magnética nuclear de cerebro en los gemelos con enfermedad de Alzheimer relatados en el texto. El paciente NN fue tratado con 6 mg/día de melatonina en el horario de dormir durante más de 6 años. Tres meses después de empezar el tratamiento con melatonina, el paciente NN discontinuó la tioridacina. A los 36 meses de tratamiento, la evaluación neuropsicológica mediante la prueba FAST indicó una fase 7b fase para ZZ paciente y una 5 fase para NN paciente, con Mini-mental de 0/30 y 10/30, respectivamente. La resonancia nuclear magnética indicó una atrofia cortical generalizada en ambos pacientes, con atrofia bitemporal más importante y agrandamiento ventricular mayor en el paciente ZZ. Datos de Brusco et al., 1998b.*

de que se manifiesten los problemas cognitivos. El 10% de los que muestran deterioro cognitivo leve (un déficit detectable en las pruebas neuropsicológicas, pero que no interfiere en las tareas diarias) avanzarán hacia el Alzheimer u otras demencias por año.

Más de la mitad de los pacientes con enfermedad de Alzheimer presenta alteraciones del sueño. La agitación vespertal o “sundowning” es un fenómeno cronobiológico relacionado con dichas perturbaciones del sueño. Los síntomas de agitación incluyen una capacidad reducida para mantener la atención ante estímulos externos, pensamiento y discurso desorganizados, y una variedad de perturbaciones motoras como agitación, ambulación sin sentido y conductas redundantes en asociación con perturbaciones perceptivas y emocionales que ocurren en la tarde/noche. Estas perturbaciones constituyen una tensión física y psicológica significativa para el cuidador y ello frecuentemente conduce a la institucionalización del paciente.

De aquí que un tratamiento adecuado de la perturbación del sueño sea prioridad en el manejo de la enfermedad de Alzheimer.

Se ha recomendado el uso de BZP y antidepresivos tricíclicos para estos trastornos del sueño en enfermos dementes. Sin embargo, el uso crónico de esta medicación está asociado con riesgos múltiples, ya que las drogas sedantes-hipnóticas tienden a producir habituación, pérdida de eficacia e insomnio, sin las mejoras significativas de las condiciones de la vigilia. Por consiguiente, es prioritario contar con nuevas estrategias farmacológicas para el tratamiento de las alteraciones del sueño.

La demencia se asocia con perturbaciones de distintos ritmos circadianos, como la temperatura corporal, la concentración de varias hormonas y el ciclo de reposo-actividad. Estas alteraciones coinciden con pérdida o daño de neuronas en los núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo (el marcapasos central del sistema circadiano). Existe una secreción disminuida de melatonina durante el envejecimiento y esta reducción es significativamente mayor en pacientes con enfermedad de Alzheimer.

Basados en estas observaciones, Ignacio Brusco y Miguel Márquez, un distinguido psiquiatra que colaboraba con nuestro grupo de investigación, comenzaron a utilizar la administración de melatonina como terapéutica adyuvante para el tratamiento de los trastornos del sueño y del “sundowning” en los pacientes dementes. Este estudio iniciado en 1995 coincidió con estudios básicos publicados por ese entonces en la bibliografía internacional indicando que la melatonina protegía a las neuronas contra la toxicidad del  $\beta$ -amiloide e inhibía la formación de amiloide in vitro, prevenía la peroxidación lipídica inducida por  $\beta$ -amiloide, alteraba el metabolismo de la proteína precursora del  $\beta$ -amiloide y prevenía el daño oxidativo del ADN mitocondrial por el  $\beta$ -amiloide (para ref, ver Pandi-Perumal et al., 2013).

En nuestro trabajo publicado en 1998 evaluamos en un estudio retrospectivo la eficacia de una dosis de 9 mg de melatonina, administrada por períodos que variaron entre 22 y 35 meses, para tratar los trastornos de sueño en 14 pacientes con enfermedad de Alzheimer (Brusco et al., 1998 a). El “sundowning” diagnosticado clínicamente en todos los pacientes examinados, no fue detectado al cabo del periodo de observación en 12 pacientes, y persistió en forma atenuada en los 2 restantes. El examen neurológico al momento de la evaluación indicó que los pacientes mostraron menor progresión de los síntomas de deterioro cognitivos y conductuales de la enfermedad. Ello debería contrastarse con el deterioro clínico significativo esperable en los pacientes luego de 1-3 años de evolución de la enfermedad de Alzheimer. No se encontraron efectos adversos de la melatonina en los pacientes evaluados. Los resultados presentados apoyaban por primera vez la existencia de un efecto terapéutico beneficioso de la melatonina en la enfermedad de Alzheimer.

Por ese mismo tiempo tuvimos la oportunidad de tratar una pareja de gemelos univitelinos con enfermedad de Alzheimer, de 79 años de edad con enfermedad diagnosticada 8 años antes (Brusco et al, 1998b). El comienzo de la enfermedad difirió en aproximadamente 6 meses entre ambos gemelos. Los pacientes mostraron alteraciones cognoscitivas similares y similares alteraciones en la neuroimagen al momento del diagnóstico. Ambos pacientes fueron tratados con vitamina E y desde unos 3 años antes de la evaluación recibieron 50 mg diarios de tioridacina por las alteraciones conductuales y del sueño. Uno de los gemelos recibió durante 3 años melatonina (9 mg diarios),

mientras que el otro no. A los 36 meses de tratamiento, la evaluación neuropsicológica indicó un menor compromiso de la enfermedad en el gemelo que había recibido melatonina. La resonancia nuclear magnética indicó una atrofia cortical generalizada en ambos pacientes, con menor atrofia bitemporal y menor agrandamiento ventricular en el paciente tratado con melatonina (Figura 9.1). Tampoco se observó insomnio o “sundowning” en comparación con una intensa sintomatología en el gemelo no tratado. El ritmo sueño-vigilia del paciente tratado con melatonina fue normal.

En un estudio subsiguiente evaluamos la capacidad de la melatonina para mejorar el sueño en un grupo de 45 pacientes con enfermedad de Alzheimer. Se evaluaron las perturbaciones de sueño inmediatamente antes y luego de 4 meses de tratamiento con 6 - 9 mg de melatonina/día. El tratamiento mejoró significativamente la calidad global de sueño en este grupo. Más aún, el “sundowning”, clínicamente diagnosticado en todos los pacientes, desapareció después de 4 meses de tratamiento con melatonina. La actividad de la melatonina se vio en todos los casos, e independiente del tratamiento concomitante para trastornos cognitivos o conductuales que recibieran los pacientes (Cardinali et al., 2002). No existieron efectos colaterales de la melatonina de importancia en la población de pacientes examinada. La Tesis Doctoral del médico Luis Ignacio Brusco fue presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, UBA con el Tema de Tesis: “Cronobiología del envejecimiento cerebral normal y patológico”. Obtuvo en 2004 la calificación de sobresaliente.

También se abrieron en ese momento otras oportunidades terapéuticas para el efecto cronobiológico de la melatonina. Por ese entonces nos contactaron los Dres. Gustavo Citera y Juan Maldonado Cocco, el primero joven reumatólogo y el segundo Jefe de la Sección de Reumatología del Instituto de Rehabilitación Psicofísica, el ex-Centro Nacional de Rehabilitación del Lisiado creado el 1956 con motivo de la epidemia de poliomielitis. Gustavo Citera estaba interesado en examinar el efecto de la melatonina en la fibromialgia, condición clínica caracterizada por dolor musculoesquelético grave y debilitante, hiperalgesia, trastornos del sueño, depresión y ansiedad, además de deterioro de la memoria y de funciones cognitivas. La fibromialgia es una enfermedad incapacitante que afecta al 2-5% de la población, en su mayoría mujeres jóvenes y de mediana edad. Es parte de un grupo de

síndromes clínicos que incluye a la migraña y el síndrome del intestino irritable, cuyas características clínicas reflejan similares procesos fisiopatológicos: son síndromes de sensibilidad aumentada central.

Gustavo Citera sostenía que los datos que indicaban una acción analgésica de la melatonina en modelos animales permitían suponer una posible utilidad en fibromialgia. Y así lo verificamos en un estudio abierto en 21 pacientes consecutivos con el cuadro. Este trabajo fue el primero en la bibliografía internacional en demostrar el efecto de la melatonina en la fibromialgia (Citera et al., 2000). Hoy existe un renovado interés en el tema verificado por varios estudios doble ciego placebo-controlados. Es interesante que existan también datos sobre la acción terapéutica de la melatonina en el síndrome del intestino irritable y en la migraña, los otros dos cuadros con procesamiento central inadecuado del dolor.

¿Cuál es la situación actual en relación a estos efectos cronobiológicos de la melatonina sobre el sueño que observamos en nuestros iniciales estudios clínicos?

En relación al sueño, se sucedieron varios estudios en general indicativos de un efecto significativo del compuesto y un reciente meta-análisis así lo avala (Ferracioli-Oda et al, 2013). En este meta-análisis se incluyeron 19 estudios que involucraron 1683 sujetos. La melatonina demostró eficacia significativa en la reducción de la latencia del sueño y en el aumento del tiempo total de sueño. Los ensayos de mayor duración y el uso de dosis más altas de melatonina demostraron mayores efectos. La calidad del sueño mejoró significativamente en los sujetos que tomaron melatonina.

Otro hecho relevante ha sido la aprobación como fármaco para el tratamiento del insomnio en los gerontes por la European Medicines Agency (EMA) en 2007 de una forma de liberación prolongada de 2 mg de melatonina (Circadin<sup>®</sup>, Neurim, Tel-Aviv). La melatonina adquirió así un status que permite su incorporación en el vademécum de varios países europeos.

El British Association for Psychopharmacology consensus statement on evidence-based treatment of insomnia, parasomnias and circadian rhythm disorders concluyó en 2010 que “la melatonina de

liberación prolongada debe ser el hipnótico de elección en sujetos insomnes de más de 55 años” (Wilson et al., 2010).

Un área de particular importancia es el uso de la melatonina en los trastornos del sueño en la niñez. El insomnio afecta a un 30% de los niños entre los 6 meses y 5 años. En el 5% de los casos se produce por causas médicas y el 25% restante, por causas conductuales que impiden una sincronización correcta del ritmo circadiano de vigilia-sueño.

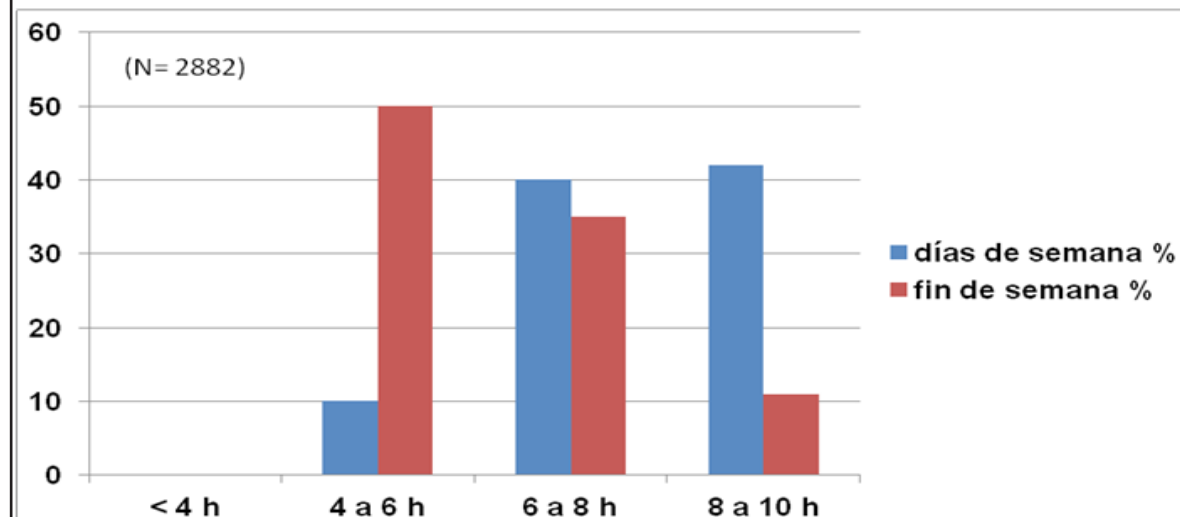
La Clasificación Internacional de Enfermedades del Sueño denomina a este último grupo “insomnio infantil por hábitos incorrectos”. Entre los 6 y 13 años, la prevalencia del insomnio es mayor del 15%, su principal causa es la conducta y es denominado en la misma Clasificación como “insomnio aprendido”.

Las consecuencias del insomnio infantil son serias: dificultades de aprendizaje, deficiente consolidación de la memoria, alteración de las funciones ejecutivas, mayor irritabilidad y dependencia de los cuidadores, pobre modulación del afecto y alteraciones de conducta, tales como agresividad, hiperactividad y falta de control de impulsos. Las repercusiones en los padres no lo son menos: estabilidad deficiente de la pareja, sensación de frustración por no saber solucionar el problema, aumento de ansiedad y fatiga, mayor índice de divorcios y menor número de hijos en la familia.

El insomnio en la adolescencia es también motivo de gran preocupación. Se ha agravado notablemente por la reducción actual de las horas de sueño en nuestra “Sociedad 24/7”. Un adolescente debería dormir al menos nueve horas cada día, pero pocos lo hacen. La prevalencia del insomnio en los adolescentes es hoy tan alta como en los adultos mayores. Para entender esta situación es imprescindible considerar algunas peculiaridades del adolescente que pueden influir sobre el sueño. El ritmo circadiano de 24 horas sufre un retardo durante la adolescencia, es decir, que la necesidad de sueño aparece más tarde, con lo que lógicamente se retrasa la hora de levantarse. Se postula que el periodo endógeno del ritmo de vigilia/sueño tiene una periodicidad mayor a 25 horas. Esto podría ser una de las características del sueño de los adolescentes, que nunca encuentran el momento de acostarse y casi siempre retrasan el momento de levantarse. La falta de reiteración en los sincronizadores externos,



## Horas dormidas en días de clase y fin de semana



*Figura 9.2. Sólo 10% de los adolescentes entrevistados durmieron más de 8 horas el fin de semana (Pérez-Chada et al., 2007).*

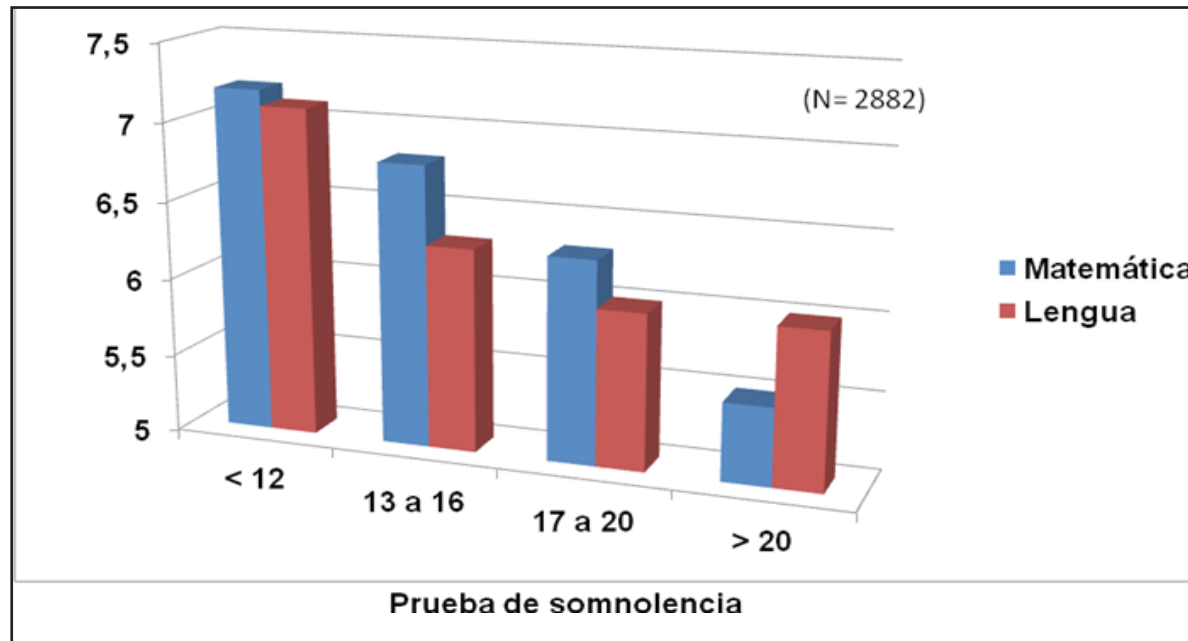
sobre todo el descubrimiento de nuevas normas sociales y horarios de sueño irregulares, es una de las causas de este retraso circadiano. La costumbre actual de retrasar sobremanera los horarios de acostarse en los fines de semana sólo contribuye a hacer más difícil la sincronización del ritmo biológico vigilia/sueño.

En un estudio llevado a cabo en colaboración con Daniel Pérez Chada, distinguido neumonólogo que se desempeña como Profesor Asociado de Medicina en la Universidad Austral, sobre 2882 adolescentes de 9 escuelas públicas y privadas en el país obtuvimos resultados objetivables en este sentido (Pérez Chada et al., 2007). En primer término, la Figura 9.2 muestra el desarreglo social aparente del fin de semana común entre los adolescentes hoy: 50% de los entrevistados dormía entre 4 y 6 horas. La

Figura 9.3 correlaciona el rendimiento en matemática y lengua de acuerdo a somnolencia diurna. Claramente los estudiantes más privados de sueño tenían menor rendimiento escolar.

Es de notar que al llegar a la adolescencia, una de las características de la dinámica familiar es la mayor libertad en la organización de los horarios. Hoy en día, una gran mayoría de adolescentes dispone de un espacio para ellos solos. Normalmente, en su habitación tienen su PC, su equipo de música, su teléfono, su televisor, su mesa de estudio y, sobre todo, su intimidad. Es el “reducto de paz que le protege del agobio familiar”. Además, en dicha habitación también duermen. Muchos se refugian en este espacio con el consentimiento explícito de los padres, que cansados de insistir en conseguir unas conductas adecuadas, permiten, casi como autodefensa, que el adolescente haga su vida aislado en su habitación. Esto ayuda a desconocer de forma exacta los horarios reales de acostarse.

Se llama síndrome de fase retrasada de sueño a la alteración caracterizada por el retardo del



*Figura 9.3. Rendimiento en matemática y lengua de acuerdo a somnolencia diurna en la muestra de adolescentes estudiada. Existe un correlato lineal las notas en matemática probablemente porque el menor sueño lento impide adecuada fijación de la memoria episódica (Pérez-Chada et al., 2007)*

episodio mayor de sueño con relación al horario normal, lo que resulta en síntomas de insomnio que se expresan en forma de dificultad para iniciar el sueño o dificultades para despertarse a la hora deseada. El adolescente típico con esta patología es aquel que se acuesta sobre las 3 o 4 h de la madrugada porque antes no tiene sueño.

A esta hora se duerme con facilidad y si le dejaran dormir, despertaría de forma espontánea nueve horas después. Pero lo dramático es que por necesidades normalmente escolares, los padres levantan al joven tres o cuatro horas después de iniciado el sueño. Él se resiste, crea una clara distorsión social y, cuando consigue levantarse, su rendimiento es muy deficitario. Y el problema es que esto es cada día. Por ello, cuando lo dejan dormir los fines de semana, puede dormir hasta 15 horas seguidas en un intento de recuperar lo que no ha dormido, aunque nunca sin llegar a conseguir un estado satisfactorio. Está demostrado que en estas circunstancias sólo se recupera un 20-25% del sueño perdido.

Otra área de importancia en los trastornos de sueño en niños y adolescentes es la constituida por los trastornos neurológicos y psiquiátricos. En este caso debe prestarse atención a las características especiales de cada patología. En el niño con trastorno de déficit de atención e hiperactividad, es importante tratar no solamente las rutinas del sueño sino también las del día. En niños con ansiedad grave o trastornos obsesivo-compulsivos, debe tenerse en cuenta que el establecimiento de hábitos y rutinas puede empeorar la situación. En los niños autistas, el trastorno del sueño puede ser consecuencia de una fase retrasada de sueño.

Es frecuente que las medicaciones hipnóticas o relajantes causen efectos paradójicos en los niños, es decir, que actúen como excitantes en vez de relajantes o inductores del sueño. Se han descrito este tipo de acciones con sustancias como fenobarbital (ahora en desuso), antihistamínicos (utilizados por su efecto secundario de producción de somnolencia) y BZP, como el diazepam. Además, estas medicaciones pueden tener efectos secundarios durante el día.

Es aquí donde emerge la utilidad de la melatonina para los trastornos de sueño en la infancia. Baste mencionar que en la reciente 8ª edición (2014) del Master en Sueño: Fisiología y Medicina,

Universidad de Murcia, España, Eduard Estivill (del Hospital General de Catalunya. Barcelona) y Silvia Miano (Sleep and Epilepsy Center. Neurocenter of the Southern Switzerland. Civic Hospital of Lugano) hacían la recomendación del tratamiento con melatonina como de primera elección para el tratamiento del insomnio en las siguientes patologías en niños y adolescentes: cólico del lactante, depresión y trastornos de ansiedad, síndrome de fase retardada del sueño, trastorno de déficit de atención con hiperactividad, espectro autista, distintas enfermedades neurológicas (Rett, Angelman, Smith-Magenis) y epilepsia. Recientemente se ha descrito la utilidad de la melatonina en neonatos con sepsis y distrés respiratorio .

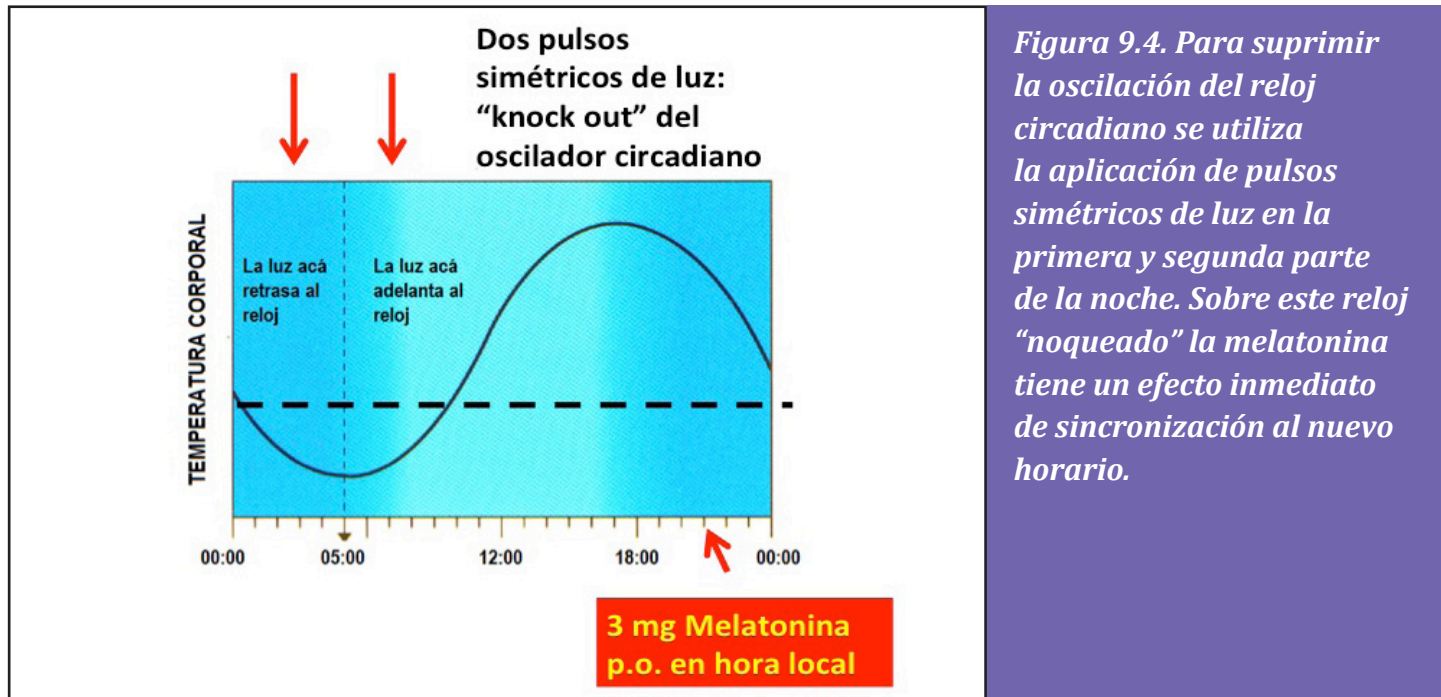
Por lo tanto, la melatonina presenta un futuro prometedor en el tratamiento del insomnio de inicio en niños sanos y de las diferentes alteraciones del sueño en los niños con trastornos neurológicos. Aunque su administración parece ser un tratamiento seguro y sin efectos adversos a corto plazo, se debe tener cautela, ya que los efectos a largo plazo del uso crónico de melatonina en pacientes pediátricos son desconocidos en la actualidad.

Con respecto al efecto beneficioso de la melatonina en la enfermedad de Alzheimer se sucedieron resultados tanto en apoyo como negando dicha actividad. Los resultados positivos incluyen estudios abiertos como doble ciego placebo controlados. Recientemente publicamos una revisión de los resultados publicados sobre el uso de melatonina en la enfermedad de Alzheimer (Cardinali et al., 2014). Ocho estudios abiertos o de reporte de casos (n= 89 pacientes) apoyan la posible eficacia de la melatonina para mejorar la calidad de sueño y el “sundowning” así como para reducir el deterioro cognitivo. En 6 ensayos controlados con placebo, doble ciego, aleatorizados, se examinaron 210 pacientes. La calidad del sueño aumentó, la agitación vespertal disminuyó y el rendimiento cognitivo mejoró en 4 estudios (143 pacientes) mientras que no hubo efectos significativos en 2 estudios (67 pacientes).

Otra búsqueda sistemática de estudios sobre la melatonina y el “sundowning” en pacientes con enfermedad de Alzheimer fue publicado en 2010. Se revisaron un total de 9 artículos, incluyendo 4 ensayos controlados aleatorios (n = 243), y 5 series de casos (n = 87). En 2 de los ensayos controlados

y en las 5 series de casos se encontró una mejoría significativa de la agitación vespéral (De Jonghe et al., 2010).

Por lo tanto no hay unanimidad en que melatonina tenga valor terapéutico en la enfermedad de Alzheimer ya constituida. Se debe señalar que uno de los problemas con estos pacientes de patología completamente desarrollada es la heterogeneidad del grupo. A su vez, la expresión reducida de receptores para melatonina en estos pacientes puede explicar por qué el tratamiento con melatonina es menos eficaz o errático. Ello nos llevó a preocuparnos por los estadios iniciales de la enfermedad de Alzheimer, conocidos como de deterioro cognitivo mínimo, tema del que nos ocuparemos en el Capítulo XI ya que la acción de la melatonina en este estadio de la enfermedad se incluye en los aspectos citoprotectores de la melatonina.



*Figura 9.4. Para suprimir la oscilación del reloj circadiano se utiliza la aplicación de pulsos simétricos de luz en la primera y segunda parte de la noche. Sobre este reloj "noqueado" la melatonina tiene un efecto inmediato de sincronización al nuevo horario.*

Para terminar el Capítulo queremos destacar que una de las aplicaciones mejor definidas de la melatonina es su utilidad en trastornos circadianos del sueño, que engloban además del síndrome de fase retardada del sueño, el “jet-lag”, los trastornos del trabajo en turnos, el insomnio en la edad avanzada y alteraciones periódicas del sueño, como la que se observa en ciertos tipos de ceguera.

Tomemos como ejemplo al “jet-lag”. Se denomina así al cuadro de desincronización externa que se produce cuando un individuo atraviesa varios husos horarios en cortos períodos de tiempo. Los distintos ritmos circadianos se adaptan al nuevo horario con una velocidad de aproximadamente 1 día/hora de diferencia horaria. Varios estudios han demostrado que dosis de melatonina entre 3 y 5 mg son efectivas para reducir el tiempo de resincronización en varios días. Este efecto se acompaña de una disminución importante, o aun desaparición, de los signos del jet-lag.

En los casos extremos de traslaciones de unos 12 husos horarios (como por ejemplo, los vuelos transpolares que unen Buenos Aires con Sidney) hemos utilizado durante años la combinación de diversas manipulaciones cronobiológicas, incluida la melatonina, para obtener resincronizaciones al nuevo horario en pocos días y aumentar la eficacia de cada uno de estas medidas aplicadas en forma aislada. Tuvimos la posibilidad de evaluar este procedimiento por primera vez en la bibliografía científica internacional en un grupo de deportistas de elite compuesto por jugadores de fútbol profesional (Boca Juniors) que compitieron por la Copa Intercontinental 2000 en Tokio con el Real Madrid (Cardinali et al, 2002). El procedimiento que utilizamos está esquematizado en la Figura 9.4.

Debe tenerse en cuenta para entenderlo que en estas condiciones de traslación de 12 husos horarios en unas horas se invierten totalmente (180 grados) las relaciones entre el día subjetivo y el día geofísico. Primero, se empleó una exposición pautaada a luz natural cubriendo simétricamente las porciones de retraso y adelanto de fase derivadas de las curvas de respuesta de fase para la luz en los seres humanos. Es sabido que la exposición a Zeitgebers simétricamente en la noche subjetiva, centrada en el nadir de la temperatura corporal central “noquea” al marcapasos circadiano y lo sensibiliza para la manipulación adicional cronobiológica.

Segundo, administramos un estímulo no fótico (el ejercicio físico) en forma pautada de modo de coincidir prácticamente con la exposición a la luz natural y contar con otra manipulación tendiente a enmascarar al oscilador circadiano. Tercero, administramos melatonina a los atletas a la hora local de sueño con el fin de resincronizar el oscilador circadiano al horario de Tokio (Figura 9.4).

Se incluyeron en el estudio 22 individuos normales. El día previo a la salida de Buenos Aires se recolectó la orina de cada sujeto con el fin de determinar los niveles del metabolito de la melatonina 6-sulfatoximelatonina, un índice de la producción diaria de la hormona pineal. Se solicitó a los participantes que completaran diarios de sueño desde el día 0 (pre-vuelo) al día antes de retornar a Buenos Aires (día 8). Todos los individuos recibieron diariamente 3 mg de melatonina a la hora de acostarse esperada en Tokio después de dejar Buenos Aires. Los jugadores realizaron un ejercicio diario restringido a dos momentos del día en Tokio (de 08:00 h a 11:00 h por la mañana y de 13:00 h a 16:00 h por la tarde). Se evitó la exposición a la luz solar o el ejercicio físico en otros momentos del día.

Los resultados fueron significativos (Cardinali et al., 2002). No se detectaron cambios en los parámetros de sueño comparados con la valoración pre-vuelo. La calidad de sueño y de la vigilia matutina en Tokio se correlacionó significativamente con la secreción de melatonina determinada previo a la partida de Buenos Aires. La velocidad observada de resincronización fue de unos 2 días, significativamente diferente de una resincronización mínima de 8 - 10 días esperable luego de un vuelo de 12 husos horarios. El óptimo estado de alerta de los deportistas, ya sincronizados desde días antes al horario local, lo indicó el resultado de 2 a 0 a favor de Boca Juniors a los 6 minutos de iniciarse el partido. Finalmente, Boca Juniors se impuso al Real Madrid por 2 a 1, a pesar de que desde el punto de vista técnico el equipo español era el favorito para esta final.

No hace falta ser deportista de elite para mostrar estos efectos de la combinación de factores de resincronización. Como mencionamos, hemos utilizado este esquema por años para resincronizar a viajeros de todas las edades en los vuelos transpolares recomendando además del uso de melatonina, la exposición durante los 2 primeros días a la luz solar en el lugar de arribo en horarios semejantes

matutinos y vespertinos, si es posible con caminatas restringidas a estos periodos (Cardinali et al., 2006).

Además de estos escarceos clínicos, también jugábamos a fisiólogos en el Laboratorio. Una de las ideas más locas de Diego Golombek y Eduardo Chuluyan fue tratar de probar que la piedra de la locura podía responder como el perro de Pavlov. ¿Recuerdan a este perro famoso, portador de una fístula salival? En el conocido experimento, se observó que la presencia de alimentos producía invariablemente salivación. A esta respuesta, obligada y vegetativa, se la denominó innata o no condicionada. La asociación de la respuesta innata con un tono del diapasón (estímulo neutro, que de por sí es incapaz de desencadenar salivación), hace que el estímulo se transforme ahora en condicionado, produciendo la respuesta salivatoria. Un aspecto crucial para el establecimiento de los reflejos condicionados es la contingencia entre estímulos: el estímulo neutro, para convertirse en condicionado, debe siempre preceder al no condicionado, y lo debe hacer por un intervalo de tiempo constante.

La idea de Diego y Eduardo era demostrar la posibilidad de manipular la respuesta de la pineal haciendo que estímulos que antes no eran funcionales lo sean, un proceso que puede ser considerado como una forma de aprendizaje condicionado. Sabemos que la secreción de melatonina muestra un ritmo circadiano con altos niveles de circulación nocturnos y niveles mínimos durante el día. Bajo un fotoperiodo de 12 h de luz : 12 h de oscuridad el contenido de melatonina en pineal de rata alcanza su máximo aproximadamente a la 4<sup>a</sup> hora de oscuridad. Para “enseñar” a la pineal a responder a un nuevo tipo de estímulo se utilizó la disponibilidad de agua restringida desde 10 minutos antes hasta 10 minutos después de apagar la luz como estímulo condicionado. Los resultados fueron sorprendentes. Después de un período de entrenamiento de 7 días a la disponibilidad restringida de agua, los niveles de melatonina pineal aumentaron significativamente al exponerse a las ratas al agua, aunque hubieran sido mantenidas bajo luz continua (Golombek et al., 1994). Esta fue la primera demostración que la producción de melatonina pineal puede ser manipulada en un paradigma de condicionamiento clásico.



## Referencias

### (Para otras referencias del laboratorio del autor, véase el Adendo)

- Brusco L. I., Márquez M., Cardinali D. P. (1998a). Melatonin treatment stabilizes chronobiologic and cognitive symptoms in Alzheimer's disease. *Neuroendocrinol Lett* 19, 111-115.
- Brusco L. I., Márquez M., Cardinali D. P. (1998b). Monozygotic twins with Alzheimer's disease treated with melatonin: Case report. *J Pineal Res* 25:260-263.
- Cardinali D. P., Bortman G. P., Liotta G., Pérez Lloret S., Albornoz L. E., Cutrera R. A., Batista J., Ortega Gallo P. (2002). A multifactorial approach employing melatonin to accelerate resynchronization of sleep-wake cycle after a 12 time-zone westerly transmeridian flight in elite soccer athletes. *J Pineal Res* 32, 41-46.
- Cardinali D. P., Brusco L. I., Liberczuk C., Furio A. M. (2002). The use of melatonin in Alzheimer's disease. *Neuroendocrinol Lett* 23 (suppl. 1), 20-23.
- Cardinali D. P., Furio A. M., Reyes M. P., Brusco L. I. (2006). The use of chronobiotics in the resynchronization of the sleep/wake cycle. *Cancer Causes & Control* 17, 601-609.
- Cardinali D. P., Vigo D. E., Olivar N., Brusco L. I. (2014). Melatonin therapy in patients with Alzheimer's disease. *Antioxidants* 3, 245-277; doi:10.3390/antiox3020245.
- Citera G., Arias M. A., Maldonado-Cocco J. A., Lazaro M. A., Rosemffet M. G., Brusco L. I., Scheines E. J., Cardinali D. P. (2000). The effect of melatonin in patients with fibromyalgia: A pilot study. *Clin Rheumatol* 19, 9-13.
- de Jonghe A., Korevaar J. C., van Munster B. C., de Rooij S. E. (2010). Effectiveness of melatonin treatment on circadian rhythm disturbances in dementia. Are there implications for delirium? A systematic review. *Int J Geriatr Psychiatry* 25, 1201-1208.

- Fainstein I., Bonetto A., Brusco L. I., Cardinali D. P. (1997). Effects of melatonin in elderly patients with sleep disturbance. A pilot study. *Curr Ther Res* 58, 990-1000.
- Ferracioli-Oda E., Qawasmi A., Bloch M. H. (2013). Meta-analysis: melatonin for the treatment of primary sleep disorders. *PLoS One* 8, e63773.
- Golombek D. A., Chuluyan H. E., Kanterewicz B. I., Cardinali D. P. (1994). Increased pineal melatonin content coupled to restricted water availability in a Pavlovian conditioning paradigm in rats. *J Neural Transm Gen Sect* 98, 237-246.
- Pandi-Perumal S. R., Bahammam A. S., Brown G. M., Spence D. W., Bharti V. K., Kaur C., Hardeland R., Cardinali D. P. (2013). Melatonin antioxidative defense: therapeutical implications for aging and neurodegenerative processes. *Neurotox Res* 23, 267-300.
- Pérez-Chada D., Pérez Lloret S., Videla A. J., Cardinali D. P., Bergna M. A., Fernández-Acquier M., Larrateguy L., Zabert G. E., Drake C. L. (2007). Sleep disordered breathing and daytime sleepiness are associated with poor academic performance in teenagers. A study using the pediatric daytime sleepiness scale (PDSS). *Sleep* 55 (3-4), 219-224.
- Siegrist C., Benedetti C., Orlando A., Beltrán J. M., Tuchscher L., Nosedá C. M. J., Brusco L. I., Cardinali D. P. (2001). Lack of changes in serum prolactin, FSH, TSH and estradiol after melatonin treatment in doses that improve sleep and reduce benzodiazepine consumption in sleep-disturbed, middle aged and elderly patients. *J Pineal Res* 30, 34-42.
- Wilson S. J., Nutt D. J., Alford C., Argyropoulos S. V., Baldwin D. S., Bateson A. N., Britton T. C., Crowe C., Dijk D. J., Espie C. A. et al. (2010). British Association for Psychopharmacology consensus statement on evidence-based treatment of insomnia, parasomnias and circadian rhythm disorders. *J Psychopharmacol* 24, 1577-1601.

## Capítulo X:

### Melatonina y las “Enfermedades del Alma”: el Retorno de la Piedra de la Locura.

“Corsi e ricorsi” fueron palabras de Giambattista Vico en el s. XVII para definir el proceso histórico que tendía a repetirse, oscilando entre los extremos pero al mismo tiempo buscando siempre un punto de equilibrio hacia el centro. Así en este corse e ricorsi del relato de la Piedra no podía faltar su retorno en el tratamiento de las “enfermedades del alma”. Recordemos que el primer vínculo de la glándula pineal fue con ellas. Son dos los ejemplos que pueden darse al respecto de este retorno.

El primero tiene que ver con el insomnio, un mal de nuestra época. Definimos así a la dificultad para iniciar y o mantener el sueño, con despertares durante la noche y calidad del sueño no reparadora. Su diagnóstico se subdivide en insomnio primario, en ausencia de otras condiciones médicas que lo justifiquen, y en insomnio secundario, asociado con otras condiciones (causas ambientales físicas, mentales, etc.). Están asociados con el insomnio problemas de salud mental (reducción de las capacidades cognitivas, habilidades, la memoria y la atención), secuelas cardiovasculares y trastornos respiratorios y metabólicos.

La prevalencia del insomnio primario varía entre el 1 % a 10 % de la población general y hasta un 25-30 % en los ancianos, para los cuales el tratamiento del insomnio es una clara necesidad médica. Así los costos directos e indirectos del insomnio representan una carga económica social sustancial. Las BZP y los agonistas del receptor de BZP (drogas Z: zolpidem, zaleplon, zopiclona) son los fármacos más comúnmente prescritos para el tratamiento del insomnio.

Varios meta-análisis de los riesgos y beneficios de estas opciones terapéuticas en pacientes de edad avanzada han reportado mejorías estadísticamente significativas del sueño, pero también han

reportado un riesgo estadísticamente significativo de varios eventos adversos entre ellos algunos que constituyen una amenaza para la vida. De hecho estos medicamentos sólo están aprobados por las autoridades regulatorias en tratamientos de no más 2 a 4 semanas debido a razones de seguridad.

Las drogas Z se usan, a diferencia de las BZP, exclusivamente para el tratamiento del insomnio y se supone que tienen una menor tendencia a inducir dependencia física y adicción que las BZP. Sin embargo, su seguridad sigue siendo motivo de preocupación. Ambos tipos de drogas producen a largo plazo tolerancia y adicción. Se han reportado efectos adversos en más del 40 % de los usuarios de ambos tipos de drogas sin diferencia entre las BZP y las drogas Z. En varios países se constata el consumo en exceso de BZP y de drogas Z, usadas por tiempos mucho más largos que las 4 semanas indicadas.

Uno de ellos es la Argentina. En el año 2011 se prescribieron en nuestro país más de 3 millones de recetas de medicamentos para dormir: un 22% más que 5 años atrás según registros del Sindicato Argentino de Farmacéuticos y Bioquímicos. Por año se venden 28 millones de unidades y unos 5 millones de argentinos consumen regularmente medicamentos para dormir (recetados y de venta libre). En el año 2013 el consumo de BZP creció más de 5% con respecto al año previo.

Según un informe reciente, el clonazepam lidera el ranking de medicamentos con receta archivada más vendidos en el país entre enero y septiembre de 2013, con 6,4 millones de cajas seguido por el alprazolam (5,6 millones de cajas). El consumo de clonazepam, calculado por número de habitantes, es uno de los más altos del mundo, aunque se trata de una medicación con indicaciones muy precisas. Así es claro que existe un uso abusivo de las BZP y drogas Z, que son los medicamentos más recetados para dormir. Existe por lo tanto la necesidad de programas de educación masiva que alerten sobre estas consecuencias de la automedicación y sistemas de control más elaborados para evitar la venta ilegal sin receta archivada.

En Europa, más y más las autoridades sanitarias están iniciando políticas y recomendaciones con el fin de disminuir el consumo de BZP y drogas Z. Sin embargo, las campañas no han tenido en general éxito, y a pesar de las directrices y recomendaciones nacionales, el uso de estas drogas ha seguido en aumento.

Aquí irrumpe la melatonina y su acción tiene como antecedente directo el estudio de Fainstein y colaboradores, publicado en 1997 y que fue pionero en identificar la eficacia de la melatonina para interrumpir o reducir el consumo de BZP en pacientes usuarios crónicos (Fainstein et al., 1997). Cabe destacar que la base experimental para dichos estudios fue sentada en las Tesis Doctorales de Pedro Lowenstein, Ruth Rosenstein y Diego Golombek de las cuales hablamos en previos Capítulos. Estos trabajos dieron fundamento a una acción central de la melatonina primaria sobre el sistema gabaérgico central.

Ya mencionamos que en el año 2007 la melatonina fue aprobada como medicamento por la European Medicines Agency debido a sus propiedades cronobióticas de hipnótico no sedante con demostrada eficacia clínicamente relevante sobre la calidad del sueño y el estado de alerta por la mañana y con un óptimo perfil de seguridad. Es claro que con la melatonina no hay evidencia de dependencia, síndrome de abstinencia, insomnio de rebote o influencia negativa en el estado de alerta durante el día.

La eficacia de la melatonina para reducir el consumo de BZP ha adquirido por lo tanto gran relevancia. En un estudio retrospectivo de los datos de prescripción de melatonina de una base de datos longitudinal alemana se incluyeron a todos los pacientes que la utilizaron en el periodo abril de 2008 - febrero de 2009. De los 512 pacientes elegibles, 112 (22 %) eran usuarios de BZP/drogas Z. Aproximadamente un tercio de los pacientes interrumpieron el tratamiento con dichas drogas después de la administración de melatonina avalando así los efectos observados tempranamente en nuestro laboratorio (Kunz et al., 2012).

Otro reciente estudio farmacoepidemiológico tuvo como objetivo analizar y evaluar el impacto de la disponibilidad en el mercado de melatonina en las campañas para reducir el consumo de BZP/drogas Z vigentes en varios países europeos. En su conclusión se destaca que las campañas fracasaron cuando no se asociaron con la disponibilidad y reembolso de melatonina como agente de reemplazo (Clay et al., 2013).

Estos datos avalan el uso de melatonina en pacientes que ingieren crónicamente BZP o drogas Z. La melatonina carece de efectos adictivos y de tolerancia y se convierte así en la terapéutica de elección en el tratamiento del insomnio en adultos mayores. Lo mostrado constituye un ejemplo de medicina traslacional llevada a cabo totalmente en el país y con el apoyo del CONICET, la Universidad de Buenos Aires y la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (Cardinali et al., 2015; Golombek et al., 2015).

La melatonina es así un arma esencial en la “Sociedad 24/7” crispada y privada de sueño, apuntando en forma directa a las “enfermedades del alma”. A través de este efecto la melatonina tiene la capacidad de mejorar el estado de ánimo en situaciones de estrés, un efecto que apoya el vínculo inicial de la Piedra de la Locura.

La introducción como fármaco antidepresivo de la agomelatina, un análogo de síntesis de la melatonina desarrollado en Francia por Laboratorios Servier, provee otra evidencia del *corsi e ricorsi* de esta historia sobre el vínculo entre la glándula pineal y las “enfermedades del alma”. La agomelatina es el primer antidepresivo melatoninérgico en el mercado. Por décadas el tratamiento de la depresión había girado alrededor de drogas que aumentan las cantidades sinápticas de neurotransmisores monoaminérgicos (serotonina, noradrenalina) y la incorporación de la agomelatina ha sido un enfoque novedoso para lograr una recuperación completa y sostenida de la depresión. En varios estudios la agomelatina ha producido una restauración no sólo de la sintomatología depresiva sino del funcionamiento social y profesional del paciente.

Aunque actualmente la mayoría de las guías de tratamiento reconocen un estado libre de síntomas como la mejor “definición” de la remisión de la enfermedad, es sabido que la recuperación funcional a menudo va a la zaga de la mejoría de los síntomas. Por lo tanto, el logro de la recuperación funcional se ha convertido en un objetivo central de la terapia con antidepresivos. Dada la importancia de las tres dimensiones del funcionamiento (emocional, cognitivo y social) en las actividades cotidianas como el trabajo, y el impacto que la alteración de funcionamiento puede tener en la vida de un paciente, es

evidente que se le debe prestar más atención en la evaluación de la respuesta al tratamiento y no sólo limitarlo a la desaparición de síntomas (Cardinali et al., 2012).

La alteración en el ritmo sueño-vigilia constituye una de las manifestaciones clínicas más frecuentes de la depresión. Se ha demostrado la existencia de una desincronización interna del oscilador circadiano y avances de fase en la secreción de melatonina en los pacientes con trastorno depresivo mayor y trastorno bipolar y un retraso de fase de los trastornos con hipersomnia y despertar tardío, como el trastorno afectivo estacional.

Por otra parte, la alteración del ritmo sueño-vigilia es uno de los criterios diagnósticos de depresión mayor de acuerdo al DSM-IV y la mayoría de los pacientes experimentan cambios en la regulación del ciclo sueño-vigilia: alteración de la duración total del sueño, menor eficiencia de sueño, perturbaciones durante la fase del sueño REM (movimiento oculars rápidos) y despertar temprano.

Teniendo en cuenta que la melatonina está implicada en la regulación del ritmo de sueño-vigilia, se postula que las drogas antidepresivas con efectos sobre los receptores de melatonina como la agomelatina podrían ejercer una ventaja adicional en el tratamiento de la depresión, especialmente en la depresión mayor, la depresión del trastorno bipolar y trastorno afectivo estacional. Carecen también de efectos colaterales indeseados vistos con los antidepresivos tradicionales (Figura 10.1).

Además de su acción antidepresiva, el efecto más estudiado para la agomelatina es su actividad ansiolítica. Si bien se ha intentado explicar las propiedades ansiolíticas de la agomelatina a través de su acción antagonista sobre los receptores 5-HT<sub>2c</sub> debe notarse que los estudios de Pedro Lowenstein, Ruth Rosenstein y Diego Golombek en nuestro laboratorio han sentado las bases para la acción ansiolítica de la melatonina (que carece de efectos sobre los 5-HT<sub>2c</sub>), en modelos animales a través de mecanismos relacionados con el GABA.

¿Cuáles son las evidencias clínicas de la eficacia antidepresiva de la agomelatina?



Numerosos estudios doble ciego placebo controlados indican que la agomelatina a dosis de 25-50 mg/día es eficaz en la reducción de los síntomas depresivos en pacientes con trastorno depresivo mayor, en los cuales la agomelatina tendría una eficacia igual o superior sobre otros antidepresivos tradicionales. La eficacia de la agomelatina en pacientes con depresión severa es particularmente significativa, ya que este grupo de pacientes tiende a ser resistente a la medicación clásica.



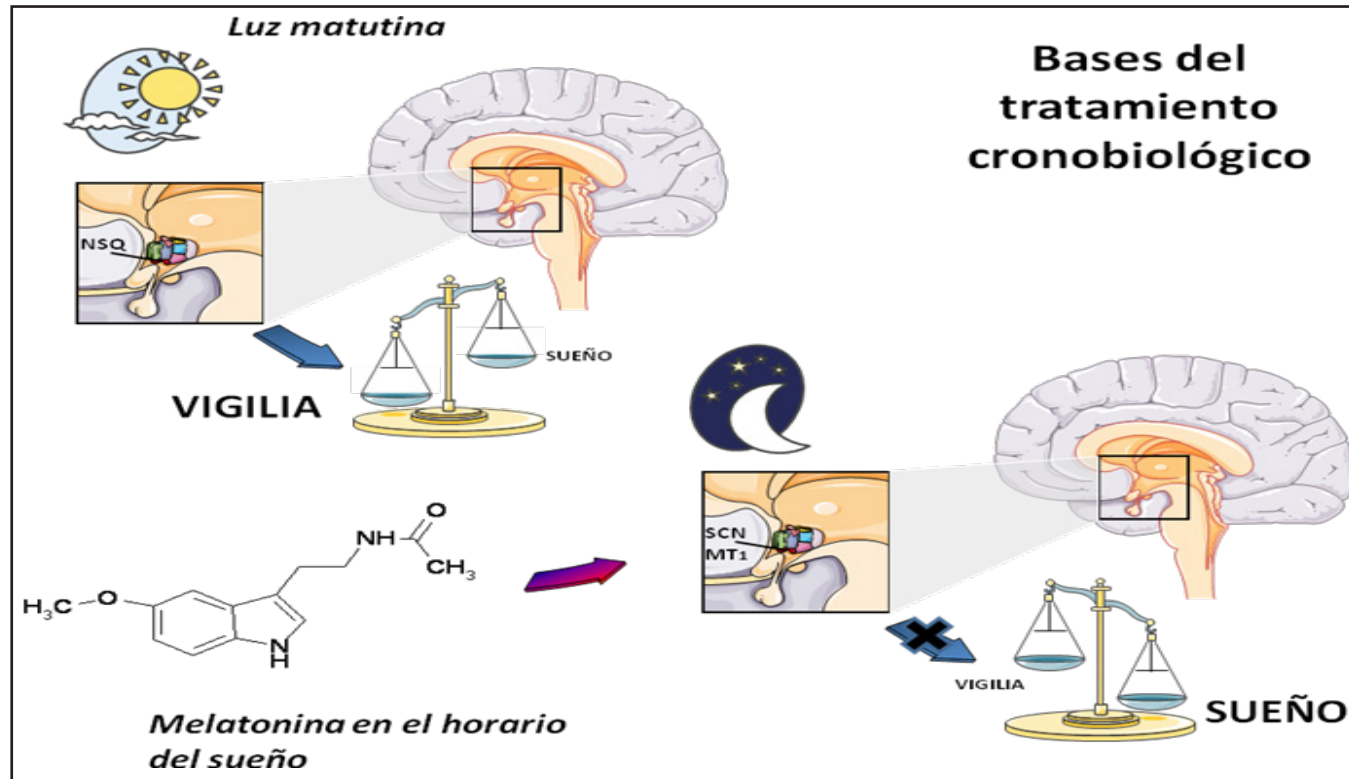
Como hemos dicho, y en vista de la importancia de las tres dimensiones del funcionamiento (emocional, cognitivo y social) en las actividades cotidianas del paciente es evidente que debe prestarse más atención al funcionamiento en la evaluación de la respuesta al tratamiento. La evaluación periódica y continua de los síntomas y la función es así crucial en términos de los resultados del tratamiento y para determinar si es necesaria una intervención adicional. El funcionamiento social es de particular importancia dado su papel en las actividades cotidianas como el trabajo, y el aislamiento social, en particular, es un síntoma importante a tener en cuenta (Cardinali et al., 2012).

En los ensayos clínicos con agomelatina, los pacientes experimentan mejoría en el funcionamiento social y alivio de los síntomas ya desde la primera semana de tratamiento y estos efectos se mantienen e incluso mejoran a lo largo del período de tratamiento. La acción rápida, continua y potente de la agomelatina no sólo proporciona alivio de los síntomas, sino que también mejora las tres dimensiones funcionales de la depresión: emocional, cognitiva y social.

A través de esta acción, la agomelatina puede muy bien ser la clave para una recuperación completa de una condición tan debilitante como lo es la depresión.

Sin embargo no puede dejar de mencionarse que la agomelatina es un superanálogo de la melatonina, y que no crea nada nuevo, sino amplifica el efecto de la molécula madre. Y es así claro que cuando un paciente toma melatonina existe un efecto estabilizador del humor, no despreciable cuando constatamos la enervación social de una Sociedad 24/7, privada de sueño y soliviantada por el estrés. Se ha introducido hoy el concepto de jet lag social para describir la dificultad para adaptarse a ella.

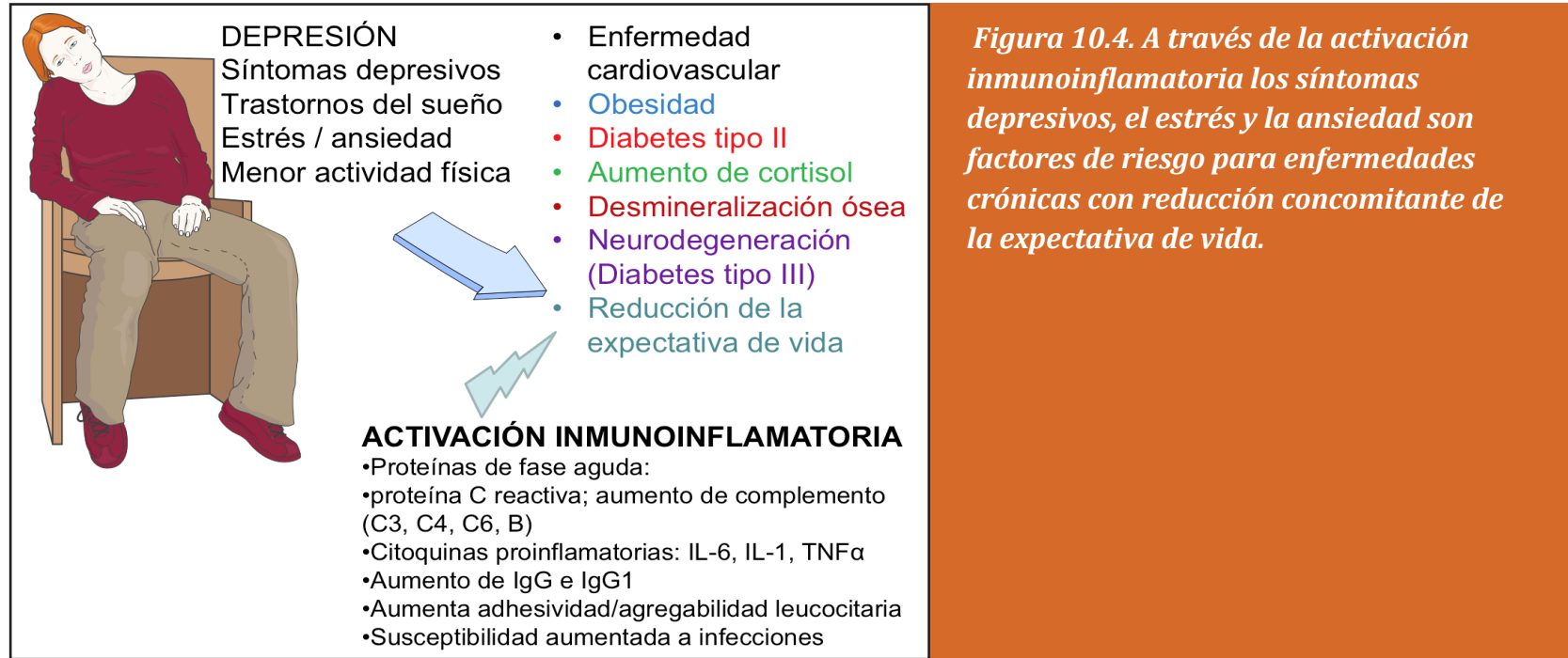
El mantenimiento de un ritmo de sueño/vigilia robusto es la forma de adaptación ante esta demanda, y la adecuada manipulación de la luz ambiental y de la melatonina lo permiten (Figuras 10.2 y 10.3). La susceptibilidad aumentada a infecciones, enfermedad cardiovascular, obesidad, diabetes tipo II, hipercortisolemia, desmineralización ósea y la neurodegeneración (diabetes tipo III) son algunas de las consecuencias de la depresión a través de la activación inmunoinflamatoria que produce (Figura 10.4). Al actuar sobre la mayoría de estos mecanismos, la melatonina se transforma en un arma insuperable en la sociedad del siglo XXI. En la práctica existe un concepto de “reserva circadiana”, similar al de “reserva cognitiva”.



*Figura 10.2. La luz matutina y la melatonina en horas de la noche son los recursos más naturales para restablecer la ritmicidad adecuada del ritmo sueño/vigilia.*

Los sujetos sanos con ritmicidad circadiana mantenida tienen una mayor capacidad para hacer frente a las agresiones patológicas que aquellos con reserva circadiana baja. Estas diferencias individuales explican el diferente grado de evolución de una enfermedad, aún en presencia de biomarcadores semejantes (Stern, 2009). Abordaremos estos temas en el próximo Capítulo.

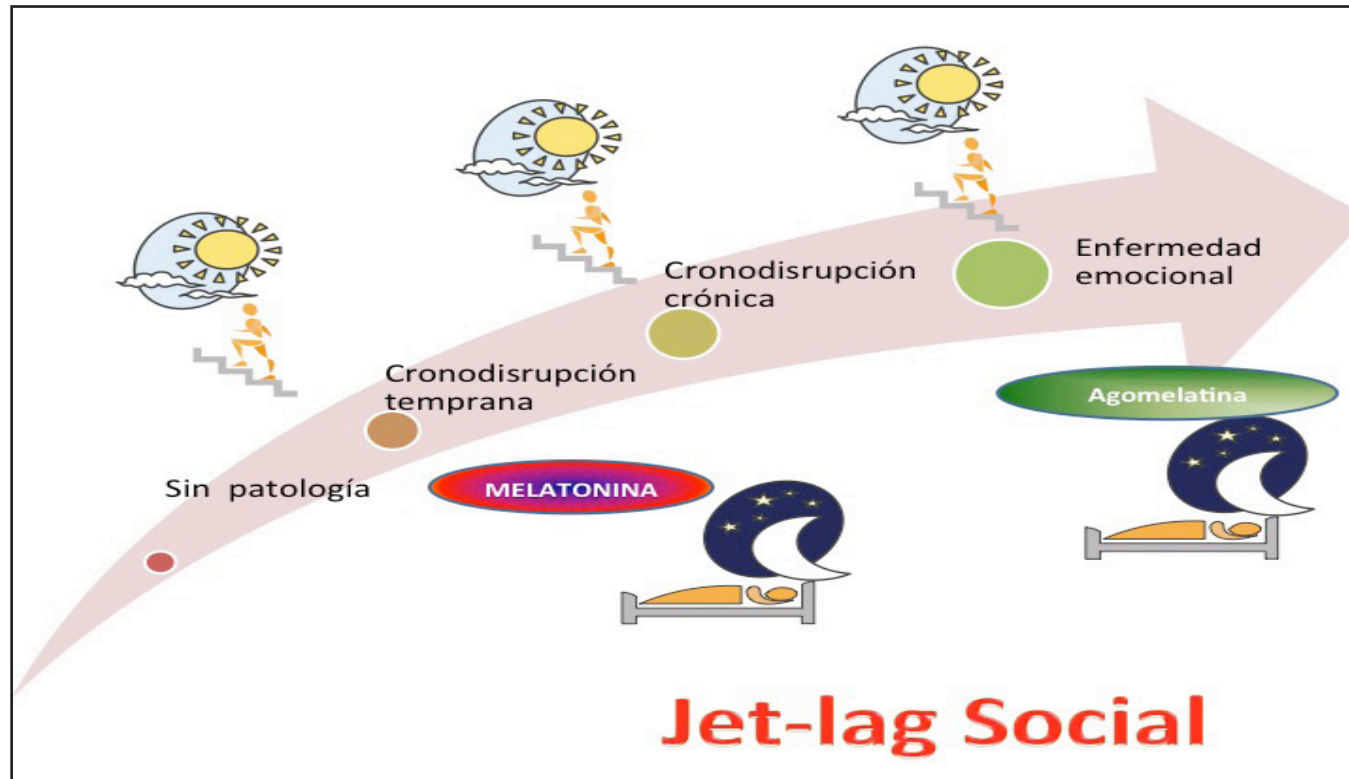
Un punto final que quiero tratar en este Capítulo es el de las dosis de melatonina autorizadas para su uso clínico (2 mg en Europa, 3 mg en la Argentina, variadas en EEUU, donde se usa como suplemento



dietario). Dado que la melatonina tiene una vida media corta (menos de 30 min) se consideró necesario desarrollar análogos de mayor potencia y vida media (Tabla 10.1).

Así el ramelteon (Rozerem<sup>R</sup>, Takeda Pharmaceuticals, Japón) análogo hipnótico melatoninérgico aprobado por la FDA para el tratamiento del insomnio en 2005, ha demostrado en estudios in vitro ser 3-16 veces más afín en la unión a receptores MT<sub>1</sub> y MT<sub>2</sub> que el compuesto madre. La dosis autorizada llega a 32 mg/día.

Como hemos visto, la agomelatina es un antidepresivo melatoninérgico recientemente introducido que, actúa tanto en los receptores MT<sub>1</sub> y MT<sub>2</sub> melatoninérgicos con una afinidad similar a la de la melatonina y también actúa como un antagonista de los receptores 5-HT<sub>2c</sub> en una concentración



*Figura 10.3. La evolución del “jet-lag social” lleva a disrupción crónica de los ritmos circadianos y en última instancia al riesgo de enfermedad emocional. La agomelatina emerge como una nueva terapéutica para la depresión resultante.*

3 órdenes de magnitud mayor. La agomelatina ha sido autorizada por la EMEA y el ANMAT para el tratamiento del trastorno depresivo mayor en dosis de 25 - 50 mg/día.

El tasimelteon es un agonista  $MT_1/MT_2$  desarrollado por Vanda que completó ensayo de fase III en el año 2010 y fue aprobada por la FDA en noviembre de 2013. En los estudios clínicos en seres humanos sanos, tasimelteon se administra en dosis de 10 a 100 mg/día.

Este mismo rango de dosis fue autorizado por la FDA para el Tik- 301 que ha estado en ensayo clínico de fase II en los EE.UU. desde 2002. La FDA concedió Tik- 301 la designación de fármaco huérfano en 2004, para su uso como tratamiento para el trastorno del sueño del ritmo circadiano en personas ciegas y sin percepción de la luz y de las personas con disquinesia tardía.

	<b>Afinidad por MT<sub>1</sub> (Ki, nM)</b>	<b>Afinidad por MT<sub>2</sub> (Ki, nM)</b>	<b>T-max (h)</b>	<b>Vida media (h)</b>	<b>Dosis aprobada</b>
<b>Melatonina</b>	0.081	0.383	0.3-2.0	0.5	<b>3 mg</b>
<b>Circadin<sup>R</sup></b>	0.120	0.310	0.75-3.0	3.5-4.0	<b>2 mg</b>
<b>Ramelteon</b>	0.014	0.045	0.75	1.0-2.6	<b>8-32 mg</b>
<b>Agomelatina</b>	0.062	0.268	1.0-2.0	1.0-2.0	<b>25-50 mg</b>
<b>Tasimelteon</b>	0.350	0.170	1.9-3.0	2.0-2.5	<b>20 mg</b>
<b>TIK-301</b>	0.081	0.042	1.1	1.0	<b>20-100 mg</b>
<b>Neu P11</b>	22.00	34.00	0.8-1.3	1.5-3.0	<b>6-50 mg</b>

Tabla 10.1. Propiedades Farmacodinámicas y Farmacocinéticas de la Melatonina y Sus Análogos vs. Dosis Aprobadas

Como se demuestra por las afinidades de unión, vida media y potencias relativas de los diferentes agonistas de melatonina es evidente que los estudios que utilizan 2-5 mg de melatonina/día son inadecuados para dar una comparación apropiada con el efecto del ramelteon, agomelatina, tasimelteon o Tik- 301, que además de ser generalmente más potentes que la molécula nativa se emplean en cantidades considerablemente más altas.

No hay razón para usar dosis de melatonina tan insólitamente bajas. La melatonina tiene un alto perfil de seguridad y por lo general es muy bien tolerada. Se la administrado en dosis de 300 mg/día durante un máximo de 3 años para disminuir el estrés oxidativo en pacientes con esclerosis lateral amiotrófica (Weishaupt et al., 2006). En niños con distrofia muscular, la administración de 70 mg/día de melatonina redujo los niveles de citoquinas inflamatorias y la peroxidación de lípidos (Chahbouni et al., 2010). En voluntarios sanos dosis de hasta 80 mg de melatonina por hora durante 4 h no produjo efectos indeseables (Waldhauser et al 1990). En mujeres sanas una dosis de 300 mg de melatonina/día durante 4 meses no produjo efectos colaterales negativos (Silman, 1993). En un ensayo clínico controlado en 50 pacientes remitidos para cirugía hepática se observó que una única dosis enteral preoperatoria de 50 mg/kg de melatonina (es decir, un equivalente a 3 g para un adulto de 60 kg) fue segura y bien tolerada (Nickkholgh et al., 2011)

Por lo tanto, se necesitan más estudios que empleen dosis de melatonina en el rango de los 100 mg/día para aclarar sus posibles implicaciones terapéuticas en seres humanos. De los estudios en animales, está claro que un número de efectos preventivos de la melatonina, como los que se observan en trastornos neurodegenerativos, necesitan altas dosis de melatonina para ser evidentes. Si uno espera que la melatonina actúe como neuroprotector eficaz es probable que las dosis bajas de melatonina empleadas hasta hoy (2-5 mg/día) no sean beneficiosas.

## Referencias

### (Para otras referencias del laboratorio del autor, véase el Adendo)

Cardinali D.P., Golombek D.A., Rosenstein R.E., Brusco L.I., Vigo D.E. (2015). Assessing the efficacy of melatonin to curtail benzodiazepine/ Z drug abuse. *Pharmacol Res* <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2015.08.016>.

Cardinali D. P., Vidal M. F., Vigo D. E. (2012). Agomelatine: Its role in the management of major depressive disorder. *Clinical Medicine Insights: Psychiatry* 4, 1–23.

Chahbouni M., Escames G., Venegas C., Sevilla B., Garcia J. A., Lopez L. C., Muñoz-Hoyos A., Molina-Carballo A., Acuña-Castroviejo D. (2010). Melatonin treatment normalizes plasma pro-inflammatory cytokines and nitrosative/oxidative stress in patients suffering from Duchenne muscular dystrophy. *J Pineal Res* 48, 282-289.

Clay E., Falissard B., Moore N., Toumi M. (2013). Contribution of prolonged-release melatonin and anti-benzodiazepine campaigns to the reduction of benzodiazepine and Z-drugs consumption in nine European countries. *Eur J Clin Pharmacol* 69, 1-10.

Fainstein I., Bonetto A., Brusco L. I., Cardinali D. P. (1997). Effects of melatonin in elderly patients with sleep disturbance. A pilot study. *Curr Ther Res* 58, 990-1000.

Golombek D. A., Pandi-Perumal S. R., Brown G.M., Cardinali D. P. (2015). Some implications of melatonin use in chronopharmacology of insomnia. *Eur J Pharmacol*, 762, 42–48

Kunz D., Bineau S., Maman K., Milea D., Toumi M. (2012). Benzodiazepine discontinuation with prolonged-release melatonin: hints from a German longitudinal prescription database. *Expert Opin Pharmacother* 13, 9-16.

Nickkholgh A., Schneider H., Sobirey M., Venetz W. P., Hinz U., Pelzl I. H., Gotthardt D. N., Cekauskas A., Manikas M., Mikalauskas S. et al. (2011). The use of high-dose melatonin in liver resection is safe:

first clinical experience. *J Pineal Res* 50, 381-388.

Silman R. E. (1993). Melatonin: a contraceptive for the nineties. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 49, 3-9.

Stern Y. (2009). Cognitive reserve. *Neuropsychologia* 47, 2015-2028.

Waldhauser F., Saletu B., Trinchard-Lugan I. (1990). Sleep laboratory investigations on hypnotic properties of melatonin. *Psychopharmacology (Berl)* 100, 222-226.

Weishaupt J. H., Bartels C., Polking E., Dietrich J., Rohde G., Poeggeler B., Mertens N., Sperling S., Bohn M., Huther G. et al. (2006). Reduced oxidative damage in ALS by high-dose enteral melatonin treatment. *J Pineal Res* 41, 313-323.



### **Siglo XXI. ¿La Melatonina como Medicamento de la Sociedad 24/7?**

He mencionado en el Capítulo 8 los avatares de mi incorporación como Profesor Titular de Fisiología en la Facultad de Medicina de la UBA. A lo que no me he referido hasta ahora es a la tarea docente desarrollada en la UBA y a mi participación como educador médico en los organismos directivos de la Facultad. Entre 1994 y 2000 fui miembro del Consejo Directivo y Presidente de la Comisión de Enseñanza de la Facultad de Medicina.

Estuve persuadido siempre que la excelencia en la investigación y en la docencia transcurre por caminos separados. No garantiza la calidad de la docencia el ser buen investigador, ni viceversa. Ambas habilidades son independientes, y lamentablemente a veces, contrapuestas. En mi caso, y manteniendo mi rol de investigador, poco a poco me convertí en educador médico. Participé en la fundación de la carrera de medicina de la Universidad Favaloro y actué como educador médico en diversas funciones curriculares en la UBA, Universidad Favaloro y actualmente en la Pontificia Universidad Católica Argentina, donde trasladé mi grupo de investigación habiendo alcanzado el límite de edad reglamentario como Profesor Titular de la UBA en 2009.

Entre 1997 y 2002 fui uno de los 5 miembros de la Comisión Asesora del Área Médica de la Comisión Nacional de Evaluación y Acreditación Universitaria (CONEAU) que elaboró los instrumentos técnicos con los que hoy se evalúan las Carreras de Medicina en el país. Mi incorporación a la Facultad de Ciencias Médicas de la UCA como Director del Departamento de Docencia e Investigación en marzo de 2009 tuvo por objeto la coordinación del proceso que llevó a la acreditación de la Carrera de Medicina. Esta acreditación estuvo basada en un nuevo e innovador currículum para la formación de médicos, en estrecho vínculo con el Hospital Británico de Buenos Aires como Hospital Escuela de

la UCA. También coordiné el proyecto de Doctorado en Ciencias Biomédicas que fuera finalmente acreditado por CONEAU en octubre del 2011 y del cual soy Director.

Ya en la UCA, nuestro grupo de investigación se interesó en el entorno social de hábitos de sueño en el cual se dan las aplicaciones actuales y posibles de la melatonina. Daniel Vigo, un médico que se acercó a nuestro laboratorio luego de haber completado su residencia en Clínica Médica, y con gran vocación para la investigación aplicada, ha sido el líder de estos estudios centrados en las condiciones de sueño de grupos particulares de nuestra sociedad, tales como trabajadores en profesiones demandantes (conducción de vehículos de transporte de pasajeros en la corta y larga distancia, médicos residentes), poblaciones de bajos recursos y grupos de edad vulnerables (adolescentes).

Ya mencionamos, sin definir, el término “Sociedad 24/7” y llegó el momento de salvar la omisión. Hay muchas razones para la insuficiencia de sueño en nuestra sociedad que funciona 24 horas/7 días a la semana. Entre los factores desencadenantes pueden citarse los tempranos horarios de la escuela o el trabajo, las programaciones de TV que desplazan más y más el “prime time” a horas avanzadas de la noche, el estrés cotidiano o el amplio uso de comidas y bebidas ricas en cafeína, entre otros. Pero el principal factor precipitante, a menudo poco apreciado, ha sido el avance tecnológico a partir del desarrollo de la iluminación artificial de nuestra noche.

Y aquí aparece nuevamente nuestra Piedra de la Locura, ya que la pineal es el principal transductor neuroendocrino de la información luminosa ambiental. Más y más pasamos una parte de nuestras noches ante pantallas iluminadas de monitores (LCD, smartphones) que producen por lo menos dos fenómenos de trascendencia para los ritmos de sueño / vigilia: 1. Expolían al periodo natural de sueño reduciéndolo a niveles de peligro. 2. Agregan un factor disruptor: la luz del monitor en ese momento del periodo circadiano produce una inhibición marcada de la secreción de melatonina pineal y retardos de fase del reloj biológico, lo que en forma práctica se exterioriza en un sueño más tardío en las noches subsiguientes, tendiendo a perpetuar la situación de nocturnidad y privación de sueño.

La luz artificial, en especial en el rango del azul, que incide sobre la retina desde el anochecer hasta el amanecer ejerce una fuerte actividad inhibitoria de las neuronas hipotalámicas que inducen el sueño y una fuerte actividad excitatoria de los mecanismos cerebrales que mantienen la vigilia. Se produce la supresión de la liberación nocturna de melatonina pineal, responsable de promover la entrada en el sueño. El GABA, que como hemos visto es el sistema de neurotransmisión efector de varias acciones de la melatonina, es el neurotransmisor más representado en las neuronas de los núcleos supraquiasmáticos, coexistiendo según los grupos celulares con distintos neuropéptidos. El aumento brusco de propensión al sueño dado por la melatonina se debe a la inhibición gabaérgica de los circuitos neuronales de los núcleos supraquiasmáticos.

Como consecuencia, tanto estadísticas longitudinales en países del hemisferio norte como datos regionales en América Latina indican que en apenas 40-50 años hemos reducido un 25 % las horas de sueño. En el año 2000 llevamos a cabo el único estudio en nuestra Región en áreas urbanas de Buenos Aires, San Pablo y Ciudad de Méjico. Este cronista era entonces vicepresidente de la Sociedad Latinoamericana del Sueño, presidida por la Dra. Margarita Blanco, una pionera de la Medicina del Sueño en nuestro país. Nos contactó Wyeth, por entonces una de las compañías farmacéuticas más grandes del mundo, que planeaba la introducción de un hipnótico, para que los asesoráramos en el cuestionario a estudiar. Habían encomendado a Nielsen Bases, una empresa de información y medios a nivel global líder en información de mercado, la realización de la encuesta. Pudimos entonces introducir preguntas sobre condiciones del sueño, desconocidas hasta ese momento en Latinoamérica. Se pudo verificar que el 65 % de la población, independientemente de la edad, reportó haber experimentado trastornos del sueño en los últimos 12 meses; que el 40% de estos trastornos fueron identificados como moderados a graves, y que ante la pregunta sobre las horas efectivamente dormidas y las deseadas existió un déficit de sueño de unas 2 horas diarias. El estrés fue identificado como la causa principal del trastorno del sueño, seguida por problemas de salud. Todos los encuestados reconocieron como negativas las consecuencias de un mal dormir para su salud y calidad de vida (Blanco et al., 2004).

Recientemente Daniel Vigo condujo el estudio que verificó que existe una fuerte inequidad entre estratos socioeconómicos en el impacto de esta privación de sueño. La urbanización de la pobreza se refleja principalmente por la proliferación y expansión de los asentamientos precarios. Más de mil millones de personas (alrededor del 14% de la población mundial) son habitantes de villas de emergencia y de acuerdo con el pronóstico de las Naciones Unidas, el número de habitantes de barrios marginales se duplicará hacia el año 2030. El estudio de Vigo y col. aplicó en su primera parte una versión breve del índice de calidad de sueño de Pittsburgh a la población de la muestra examinada por el Barómetro de la Deuda Social Argentina de la Pontificia Universidad Católica Argentina, compuesta por 5766 entrevistados. El análisis de la distribución de los trastornos del sueño en función de la situación socioeconómica, el tipo de residencia y el lugar de residencia indicó que el estrato socioeconómico más bajo tuvo un mayor porcentaje de sujetos con mala calidad de sueño y somnolencia diurna. La residencia en villas de emergencia se asoció con falta de sueño y obesidad.

En la segunda parte del estudio Vigo y col. evaluaron el impacto del cambio de vivienda sobre la calidad del sueño y la calidad de vida de los habitantes de villas de emergencia. Un total de 150 habitantes de barrios de emergencia del Gran Buenos Aires beneficiados por el programa “Un Techo Para mi País” fueron entrevistados antes y después de reafincarse en una vivienda prefabricada de 18 m<sup>2</sup> de tipo modular. Los resultados demostraron que la calidad del sueño aumentó significativamente después el programa “Techo” y que también mejoró la calidad de vida. Es decir, una mejoría mínima de la vivienda básica puede aumentar significativamente la calidad del sueño y la calidad de vida de los habitantes de villas de emergencia (Simonelli et al. 2013).

Ya mencionamos que un problema serio de la privación de sueño se da a nivel escolar. En general, los niños duermen alrededor de 1,2 horas menos los días de semana de actividad escolar que hace un siglo (Figura 9.2). La necesidad de sueño de un adolescente excede la de los adultos y si duermen menos de 8-9 h pueden llegar a la privación de sueño. El poco sueño reduce la capacidad del adolescente de manejar dos importantes situaciones al mismo tiempo: pensar y controlar sus emociones. En efecto los jóvenes somnolientos tienden a sentimientos menos controlados y más exagerados. Asimismo, la

mayoría de los adolescentes requiere 8-9 h de sueño para fijar memorias de largo plazo, algo crucial en esas edades.

Como ya mencionamos, en comparación a los niños en edad escolar los adolescentes tienen fuerte tendencia a retardar el horario de inicio y fin del sueño, su sueño es más corto y por lo tanto la necesidad de sueño es mayor. Se computan con frecuencia diferencias pronunciadas entre el sueño de días de semana y el del fin de semana (sobre todo cuando se asiste al colegio por la mañana). Curiosamente hay cambios relevantes en el alerta diario aun en aquellos adolescentes con “nivel óptimo” de sueño. Es que el reloj circadiano funciona diferentemente en adolescentes. Esto se debe al efecto de las hormonas implicadas en la pubertad sobre el periodo del oscilador circadiano. Un 75% de los adultos pero sólo 30% de los adolescentes prefieren la mañana para actividades intelectuales y físicas. Lo que es más serio, en las primeras horas de clase es experiencia de los maestros el nivel desastroso de alerta de los alumnos: 80% de los jóvenes están técnicamente dormidos, a los que se agrega un porcentaje creciente de maestros somnolientos por motivos de la “Sociedad 24/7”.

¿Qué puede hacerse en la Argentina ante el desolador panorama que se nos plantea en el sistema educativo? Sin duda es necesaria la modificación de los hábitos de sueño y la promoción de escuelas con estándares de “Defensoras del Sueño”.

Otro aspecto que Daniel Vigo ha impulsado en estos años en nuestro Laboratorio es el del impacto de la privación de sueño y la seguridad vial. Los accidentes de tránsito son una causa importante de mortalidad precoz en la sociedad occidental. Durante años, el público, los medios y las autoridades reguladoras han responsabilizado a los efectos de la excesiva velocidad y el consumo de alcohol como las principales causas de accidentes viales. Sin embargo es importante destacar que la falta de sueño produce los mismos efectos sobre la capacidad de conducir un vehículo que el consumo de alcohol. En estudios psicométricos se ha demostrado que mantenerse despierto 17-18 horas perturba la capacidad de conducir un vehículo de forma similar al efecto producido por una concentración de alcohol en la sangre de 0.05 g/dL.

Ha sido demostrado que entre el 20 y 25% de los accidentes viales son causados por la fatiga y somnolencia de los conductores, siendo más frecuentes entre las 02:00-08:00 h. Esta tendencia es particularmente evidente en autopistas y carreteras con recorridos monótonos. En diversas investigaciones sobre este tema, se ha demostrado alto número de conductores refieren somnolencia habitual al volante. En realidad hay muchos más conductores al volante somnolientos que alcoholizados.

Los accidentes viales en los transportes públicos de pasajeros constituyen un problema complejo en el que se encuentran involucrados distintos actores sociales, incluyendo a los trabajadores del área, sindicatos, empresas de transporte, organismos de regulación y fiscalización del estado, diversas ONG y, por supuesto, la comunidad toda. Junto con estas condiciones laborales comunes a todos los conductores profesionales algunos choferes pueden sufrir enfermedades que facilitan la somnolencia en horarios en que el sujeto requiere de un alto nivel de alerta para desarrollar su actividad profesional.

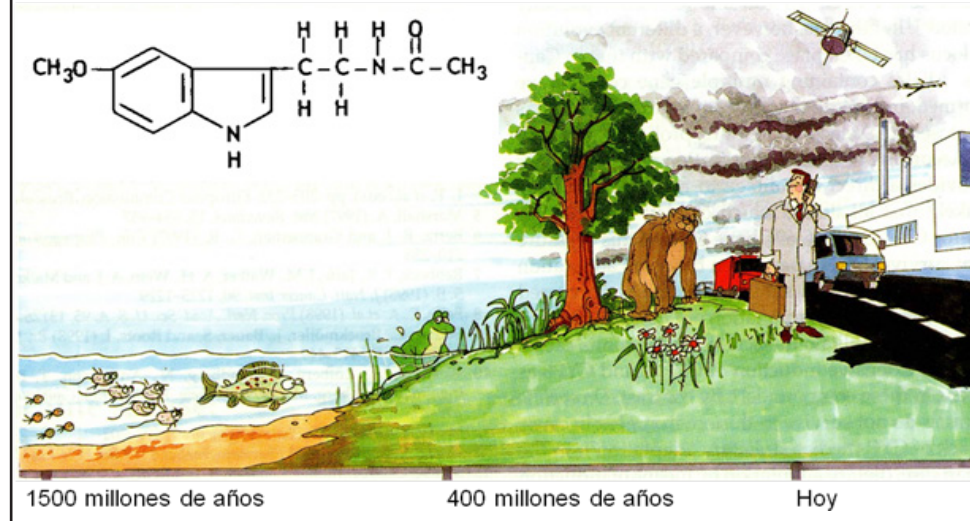
El objetivo de una serie de estudios recientes en nuestro laboratorio fue examinar diversas condiciones de sueño y vigilia en el transporte de pasajeros de corta y larga distancia. El estudio en colectiveros fue solicitado por la entidad que los agremia (Unión Transporte Automotor, UTA) mientras que el de larga distancia fue requerido al CONICET por la Superintendencia de Riesgos de Trabajo, denotando ya una preocupación oficial por el tema. Se estudiaron muestras de conductores de corta distancia del Área Metropolitana de la Ciudad de Buenos Aires y de conductores de larga distancia que abarcaron distintos corredores geográficos del país, se implementó una encuesta y se realizaron mediciones objetivas que incluyeron: la evaluación del ritmo sueño/vigilia mediante actigrafía, de ritmicidad circadiana mediante el ritmo periférico de temperatura corporal, de alerta mediante la determinación de la respuesta psicomotora ante un estímulo, de actividad autonómica mediante variabilidad de la frecuencia cardíaca y de respuesta endócrina al estrés mediante determinaciones de cortisol en saliva (Diez et al., 2002).

En los conductores de corta distancia se observó una alta prevalencia de estrés laboral, sobrepeso, obesidad, sedentarismo e hipertensión. La cantidad y calidad de sueño en los días laborables fue pobre, con parcial recuperación en los fines de semana, con alta frecuencia de somnolencia diurna y alto riesgo de apneas. El patrón neurohormonal en los días laborables fue compatible con estrés y se observó una caída significativa en el rendimiento psicomotor promediando la jornada laboral, especialmente los del turno mañana. El luctuoso accidente ocurrido el 13 de setiembre de 2011 en nuestra ciudad que involucró a un colectivo de la línea 92 a primera hora de la mañana y que no se detuvo ante una barrera semibaja en Flores puede incluirse en la lista de ejemplos sobre la privación de sueño en este horario. El conductor pagó con su vida este error, lo mismo que otros once pasajeros del colectivo muertos y 225 accidentados por el choque de trenes ulterior.

En los conductores de larga distancia también se observó una alta prevalencia de factores de riesgo cardiovascular como trastornos de peso, sedentarismo y tabaquismo. Se observaron patrones de sueño de mala calidad con pocas horas de sueño en la casa, durante el viaje, y en el destino, con una disminución en la amplitud y fortaleza del ritmo circadiano. El patrón neuroendocrino fue compatible con situaciones de estrés, con poca recuperación en los días de franco, y una caída del alerta al final de los viajes de regreso. Estos estudios, en el cual jugaron un papel fundamental Diego Golombek y sus colegas de la Universidad de Quilmes, constituyeron la base de la tesis doctoral del médico Joaquín J. Diez, presentada con la dirección del Dr. Pérez Chada y de este cronista en el Doctorado en Ciencias Biomédicas de la Universidad Austral y que recibiera la calificación de sobresaliente en 2013.

El impacto de la privación de sueño es amplio y repercute no sólo en lo físico, sino en lo psicológico y social. A las alteraciones del desempeño cognitivo en las esferas de la atención, memoria y funciones ejecutivas, se suman las emocionales y conductuales, que en gran parte explican conductas sociales exasperadas como las que vivimos a diario.

## Melatonina: Una molécula de 5000 millones de años



*Figura 11.1. La melatonina está presente en todas las formas de vida.*

Pero uno de los aspectos más relevantes para una sociedad privada de sueño tiene que ver con las consecuencias somáticas de esta privación.

Numerosos estudios epidemiológicos señalan la asociación de la privación de sueño con enfermedad cardiovascular, síndrome metabólico, obesidad y diabetes tipo II. Más aún hoy se enfatiza la asociación de estos síntomas con las demencias, en particular la demencia de Alzheimer, a la que se suele llamar “diabetes tipo III”. Hay también evidencias epidemiológicas del vínculo entre trabajo en turnos y cáncer en especial, de mama.

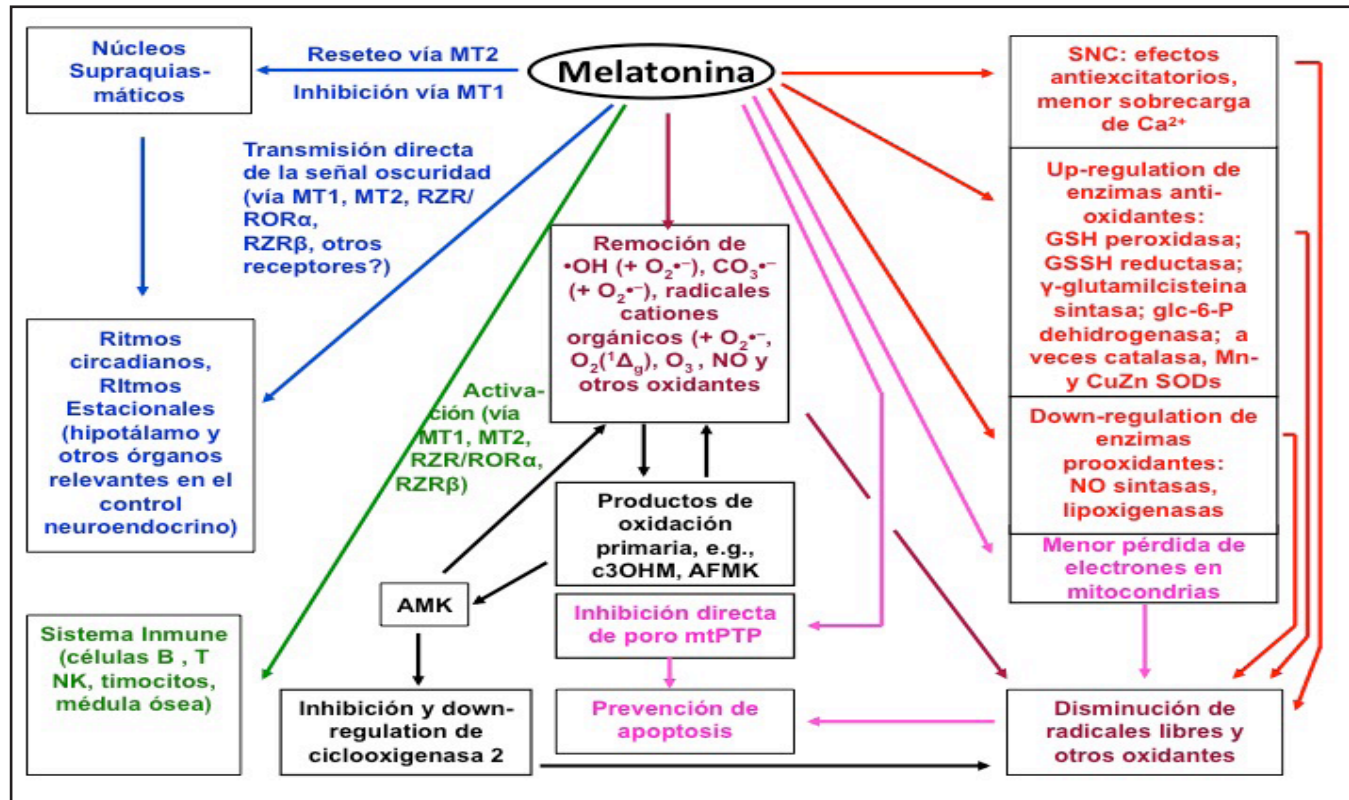
Y aquí aparece uno de los aspectos más promisorios de aplicación del producto de la Piedra de la Locura: la poderosa actividad citoprotectora de la melatonina para prevenir estos cuadros. Hasta acá hemos enfatizado los aspectos cronobiológicos de la melatonina como brazo o manecilla del reloj



circadiano maestro de los núcleos supraquiasmáticos. Pero existe otra función más universal de este compuesto y es la citoprotección.

Esta función de molécula indispensable para el desarrollo de la vida está indicada por su conservación a lo largo de toda la escala filogenética. La melatonina está presente en bacterias, algas y en forma amplia en los reinos vegetal y animal. Puede decirse que esta simple molécula se originó con la vida misma, unos 4 500 millones de años atrás (Figura 11.1).

Las acciones de la melatonina son múltiples y están mediadas por la interacción con receptores de membrana (receptores  $MT_1$  y  $MT_2$ ) y nucleares (receptores  $RZR/ROR\alpha$  y  $RZR\beta$ ), por interacción

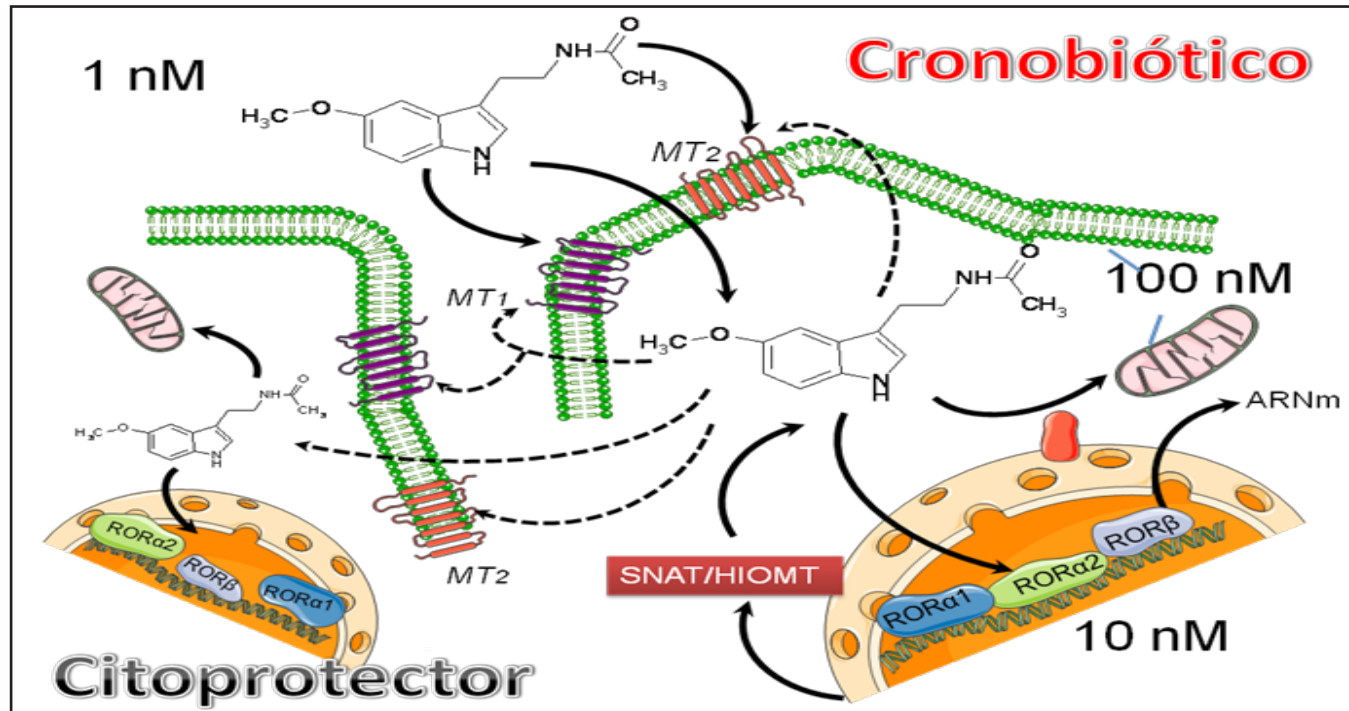


*Figura 11.2. Efectos de la melatonina. Los mediados por receptores se representan a la izquierda.*

con proteínas intracelulares y por interacciones químicas como las vinculadas con la actividad antioxidante del compuesto y sus metabolitos (Figura 11.2). Más recientemente, se ha prestado atención a los efectos mitocondriales de la melatonina, incluida la salvaguarda del flujo de electrones en la cadena de oxidación intermedia, la reducción de la formación de radicales libres mediante la reducción de la fuga de electrones, y la inhibición de la apertura del poro de transición de permeabilidad mitocondrial.

En esta caracterización han sido líderes Darío Acuña-Castroviejo y su esposa Germaine Escames, ambos catedráticos de Fisiología de la Universidad de Granada, España (Acuña-Castroviejo et al., 2012; Escames et al., 2012). Ellos han sentado las bases para la existencia de niveles intracelulares relevantes de melatonina universalmente distribuidos en las células de nuestro organismo, que no ganan la circulación periférica y que para ser modificados requieren de la administración de cantidades de melatonina unas 50 – 100 veces mayores que las usadas como cronobiótico (Figura 11.3). Una búsqueda en Medline de los trabajos que relacionan a la melatonina con actividad antioxidante y citoprotectora en los últimos 3 años indica la existencia de más de 1700 publicaciones.

La magnitud del problema es grande. Las enfermedades cardiovasculares dan cuenta de, aproximadamente, el 25 % de todas las muertes en el mundo entero. El conjunto de obesidad visceral, hipertensión arterial, hiperglucemia, hiperinsulinemia y dislipidemia es hoy reconocido como una entidad fisiopatológica única o Síndrome Metabólico. Su incidencia es elevada y responde entre otras causas a los dramáticos cambios que durante el último siglo ha experimentado el estilo de vida. La comida se ha vuelto abundante, la ingesta es arrítmica y ha tendido a predominar hacia el fin del día, la necesidad para el esfuerzo físico se redujo y la actividad física no necesita ya coincidir con el período diurno de luz. Además modificamos radicalmente nuestro medio ambiente lumínico. Como resultado, las señales internas y ambientales relevadas por el cerebro han perdido ritmicidad. Desde una perspectiva evolutiva, ésta es la “mutación medioambiental” que ya mencionamos. Aproximadamente un 8 % de la población mundial sufre de diabetes. Son hoy unos 371 millones de personas que aumentarán a 552 millones para el año 2030. Como consecuencia, 12 % de la economía mundial está ya relacionada con gastos en salud derivados del Síndrome Metabólico.



**Figura 11.3. La melatonina pineal ejerce efectos cronobióticos en concentraciones en el rango nanomolar. La melatonina intracelular localmente sintetizada y de acción citoprotectora se encuentra en concentraciones 10-100 veces mayores (Acuña-Castroviejo et al., 2012; Escames et al., 2012).**

Es de destacar que el sistema nervioso autónomo no actúa “in toto” sino con una gran especificidad de región y la homeostasis requiere de un sistema nervioso autónomo equilibrado y flexible que pueda oscilar en su actividad. Durante el sueño de tipo lento existe una desviación hacia un control con predominancia parasimpática y aumento de la secreción de insulina y se acumula por lo tanto grasa en los depósitos abdominales. Daniel Vigo completó su Tesis Doctoral en la Facultad de Medicina, UBA, en 2007 sobre los aspectos lineales y no lineales de la variabilidad de la frecuencia cardíaca como indicadores de los cambios en actividad simpática y parasimpática dando la base a la aplicación

de este instrumento en la investigación clínica del Síndrome Metabólico. En este cuadro se pierde el balance autonómico con excesiva predominancia parasimpática visceral y excesiva predominancia simpática torácica y muscular.

En línea con otros grupos internacionales de investigación hemos verificado en nuestro laboratorio la capacidad de la melatonina en ratas para reducir la obesidad y la diabetes tipo 2 en modelos de Síndrome Metabólico. Esta fue la temática de la Tesis Doctoral del médico Pablo A. Scacchi Bernasconi, presentada en 2012 en el Doctorado en Ciencias Biomédicas de la UCA y que recibiera la calificación de sobresaliente. En este estudio la administración de melatonina en el agua de bebida en una dosis equivalente a una dosis humana de aproximadamente 50 mg/día, fue eficaz para revertir los

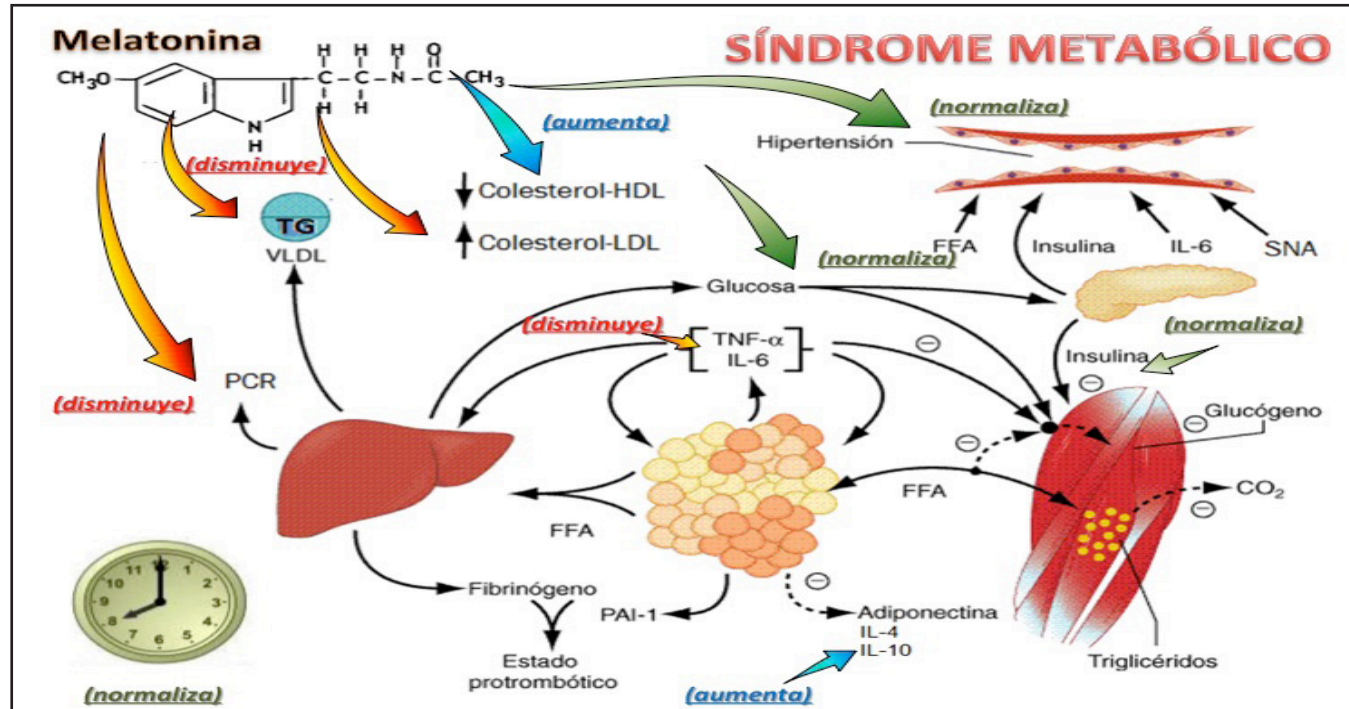


Figura 11.4. Efectos de la melatonina en el síndrome metabólico experimental en ratas.

aumentos de peso y de presión arterial sistólica, la anormal resistencia a la insulina, la dislipemia y la hiperuricemia que se producen tanto en el Síndrome Metabólico por ingesta de una dieta rica en grasa como en el producido por la administración de fructosa (Figura 11.4). Este efecto correctivo de la melatonina es ya evidente en la etapa inicial de sensibilidad aumentada a la insulina que se observa en el Síndrome Metabólico incipiente por administración de 5% de fructosa. La melatonina fue también eficaz para normalizar las alteraciones en los ritmos diarios de adipocitoquinas y señales metabólicas circulantes que se observan en el Síndrome Metabólico (Figura 11.4).

Debe destacarse que existen datos clínicos que vinculan a la melatonina con el Síndrome Metabólico humano (Tabla 11.1). Se presentan niveles más bajos de melatonina circulante en pacientes con diabetes tipo II, concomitantemente con la disregulación de la expresión del ARNm de receptores melatoninérgicos y existen mutaciones en el gen del receptor de melatonina asociadas con el aumento del riesgo de diabetes tipo II.

<b>OBSERVACIÓN</b>	<b>REFERENCIA (S)</b>
<b>Bajos niveles de melatonina en plasma de pacientes con diabetes tipo 2</b>	Tutuncu et al. 2005. J Pineal Res 39, 43
<b>Aumento de receptores de melatonina en pacientes con diabetes tipo 2</b>	Peschke et al. 2007. J Pineal Res 42, 350.
<b>Polimorfismos en gen que codifica receptores para melatonina asociados con mayor riesgo de diabetes tipo 2</b>	Prokopenko et al., 2009. Nat Genet 41, 77
<b>Secreción nocturna de melatonina más baja en pacientes coronarios, independientemente del tratamiento con bloqueantes beta adrenérgicos</b>	Sakotnik et al. 1999. Eur. Heart J 20, 1314; Girotti et al. 2000. J Pineal Res 29, 138; Dominguez-Rodriguez et al. 2002. J Pineal Res 33, 248; Yaprak et al. 2003. Int J Cardiol. 89, 103.
<b>La administración de melatonina reduce la presión arterial nocturna en hipertensos</b>	Cagnacciet al. 2005. Am J Hypertens. 18, 1614. Scheer et al. 2004. Hypertension 43, 192. Grossman et al. 2006. Am J Med. 119, 898
<b>Melatonina reduce presión arterial nocturna en adolescentes con diabetes tipo 1</b>	Cavallo et al. 2004. J Pineal Res 36, 262-266.
<b>La administración de melatonina mejora indicadores de SM en pacientes obesos</b>	Koziroget al. J Pineal Res 2011 50, 261
<b>La administración de melatonina mejora el perfil enzimático en pacientes con esteatosis hepática no alcohólica</b>	Gonziarz et al. J Physiol Pharmacol 2010, 61, 705; J Physiol Pharmacol 2012 63, 65
<b>Melatonina mejora el SM producido por tratamiento del trastorno bipolar o esquizofrenia con antipsicóticos de 2a generación</b>	Romo- Nava et al, Bipolar Disord. 2014 doi: 10.1111/bdi.12196. Modabbernia A. J Psychiatr Res. 2014, 53,133
<b>La administración de melatonina previene la hipercoagulabilidad por catecolaminas ante el estrés en voluntarios</b>	Wirtz PH, Spillmann M, Bartschi C, Ehlert U, von Kanel R. 2008. J Pineal Res 44, 127-133.
<b>Inhibición por melatonina de la agregación plaquetaria in vitro</b>	Del Zar et al. 1990. Acta Endocrinol. (Copenh) 123, 453-458; Vacas et al. 1991. J Pineal Res 11, 135-139.

Tabla 11.1. Melatonina y Síndrome Metabólico (SM) Humano.

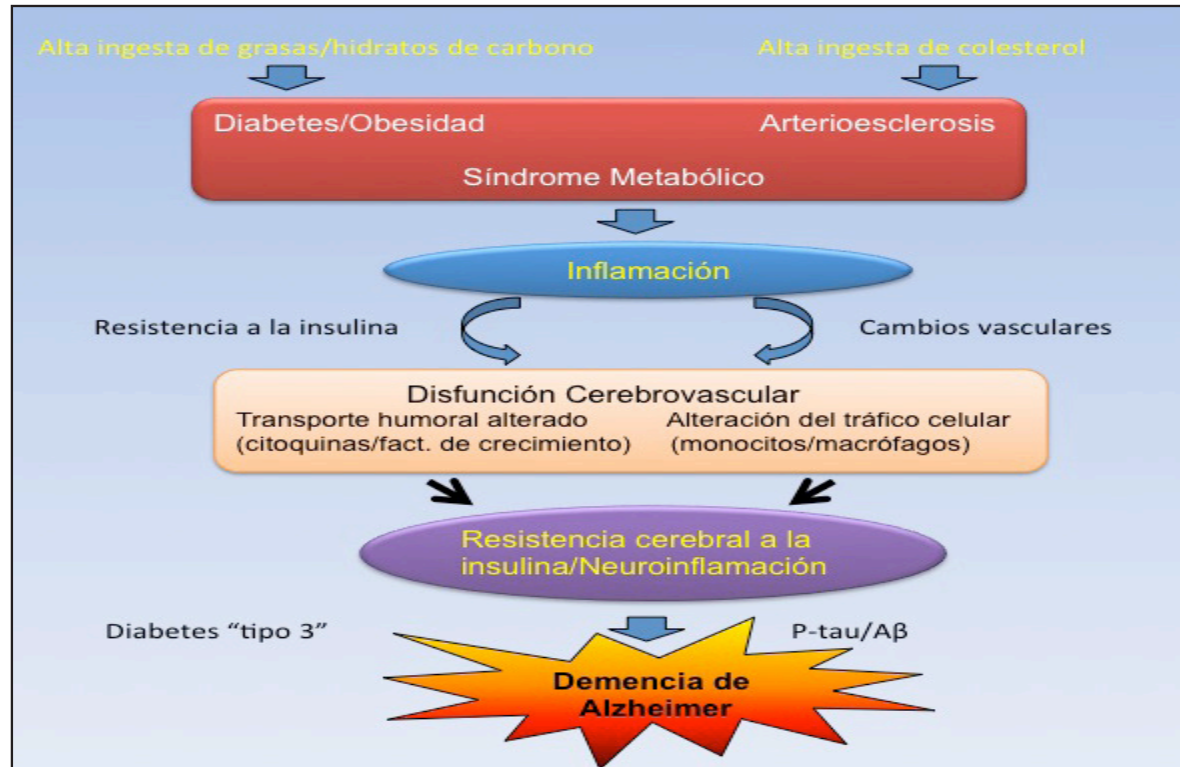
Estos resultados clínicos indican que la melatonina puede participar en la homeostasis de la glucosa en sangre y que los niveles bajos de melatonina podrían estar relacionados con el desarrollo de diabetes de tipo II. Como verificamos en colaboración con el Dr. Luis Girotti, del grupo de Cardiología del Hospital Ramos Mejía de Buenos Aires, la secreción nocturna de melatonina es menor en pacientes con enfermedad coronaria.

En pacientes con síndrome metabólico se ha verificado la eficacia del tratamiento con melatonina para normalizar en parte su sintomatología. Por ejemplo, la administración de melatonina durante la noche redujo la presión arterial nocturna en pacientes hipertensos y en adolescentes con diabetes tipo I. Así la aplicación terapéutica de la melatonina emerge como efectiva ante una de las pandemias más importantes de nuestra época (Tabla 11.1).

La privación del sueño es comorbilidad de relevancia no sólo de enfermedades metabólicas sino también neurodegenerativas. Es por ello que estamos actualmente examinando la correlación entre calidad de sueño, producción diaria de melatonina y desbalance simpátovagal torácico en la llamada “diabetes tipo III”: los pacientes con síndrome metabólico y deterioro cognitivo. Este cuadro evoluciona a enfermedad de Alzheimer en aproximadamente un 12% por año y requiere adecuado diagnóstico y rápido tratamiento. Asimismo, otro tesista del Laboratorio, Santiago Pérez Lloret, ha examinado los vínculos entre el ritmo de sueño-vigilia y la enfermedad de Parkinson, en donde la prevalencia de enfermedades del sueño es muy alta y en un porcentaje cercano al 30% es precedida por una parasomnia, los trastornos del sueño asociados con el sueño de movimientos oculares rápidos (REM behavior disorder, RBD). La tesis doctoral de Santiago, codirigida por este cronista y el Dr. Marcelo Merello, un distinguido neurólogo del FLENI, fue presentada en 2009 para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, UBA con calificación sobresaliente.

La prevalencia de las enfermedades neurodegenerativas, en especial de la enfermedad de Alzheimer es alarmante. La proyección mundial es de 65,7 millones de pacientes de Alzheimer en 2030 y de 115,4 millones en 2050, estimándose en 11,2 años la discapacidad promedio para estos enfermos. Distintos estudios revelan que hasta un 80% de los pacientes con enfermedad de Alzheimer presentan factores

de riesgo vascular. Por ello hoy se considera que lo que se había abandonado años atrás (hablar de “arterioesclerosis cerebral”) vuelve a ser de relevancia. El riesgo de demencia en personas que tienen cambios típicos de enfermedad de Alzheimer en su cerebro (confirmados por anatomía patológica) aumenta un 90% si además tienen lesiones vasculares (infartos o microinfartos). Así el vínculo de la enfermedad de Alzheimer con el síndrome metabólico es estrecho (Figura 11.5).



**Figura 11.5** Un modelo para el vínculo del Síndrome Metabólico con la demencia. Los dos procesos patogénicos asociados con trastornos metabólicos (inflamación y resistencia a la insulina) se expresan en el cerebro debido a la disfunción cerebrovascular con aumento de la permeabilidad que permite la entrada de macrófagos/citoquinas y la reducción del transporte de factores tróficos.

El proceso degenerativo en el cerebro de la enfermedad de Alzheimer se inicia 20-30 años antes de la aparición clínica de la enfermedad. Durante esta fase, los depósitos de  $\beta$ -amiloide y los ovillos de neurofilamentos aumentan y a un cierto umbral aparecen los primeros síntomas. Hay una disminución de los niveles de melatonina en el líquido cefalorraquídeo incluso en las fases preclínicas de la

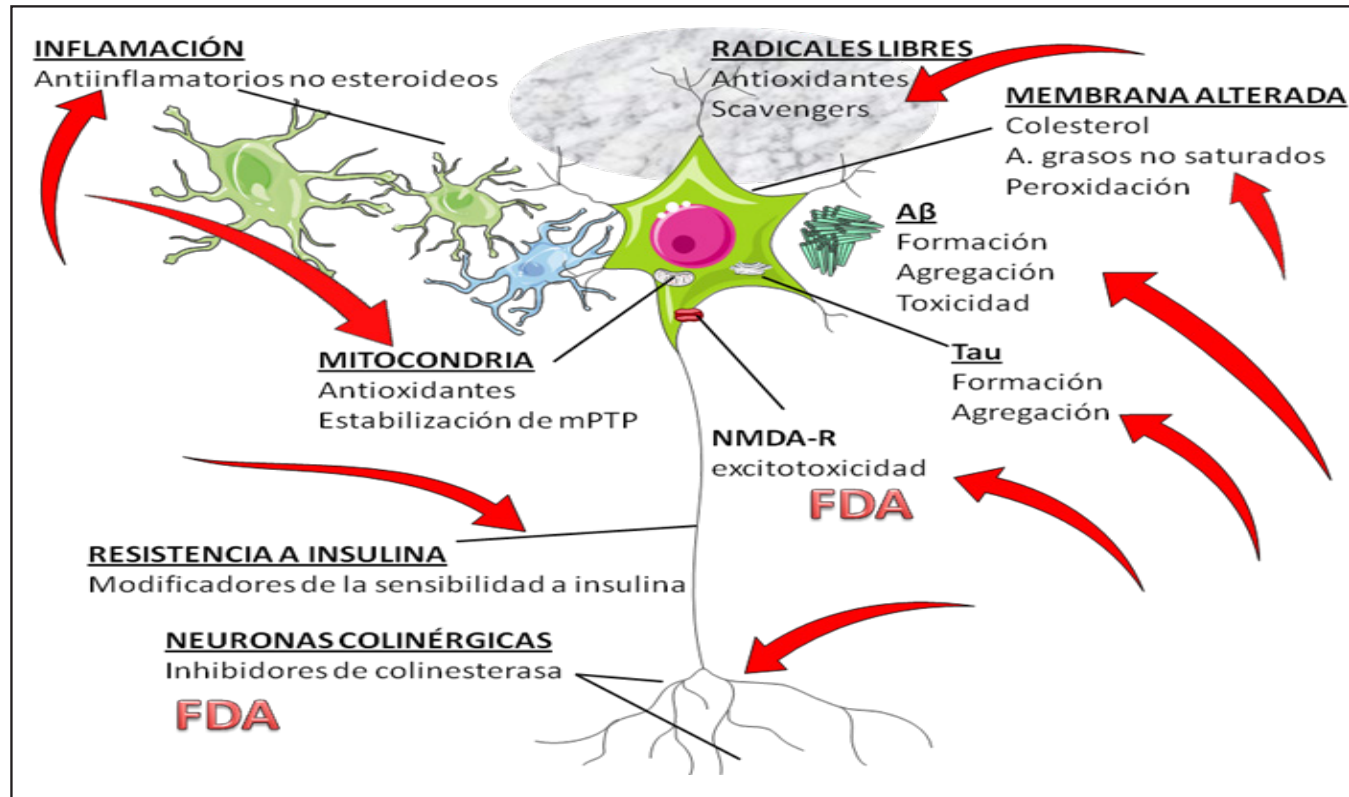


enfermedad de Alzheimer, cuando los pacientes no manifiestan ningún deterioro cognitivo (estadios de Braak I-II), lo que sugiere que la reducción en la secreción de melatonina puede ser un disparador temprano y marcador de la enfermedad (Cardinali et al., 2013).

Como hemos ya mencionado la melatonina ha sido utilizada en el tratamiento de los trastornos cronobiológicos del sueño (agitación vespéral) en pacientes con enfermedad de Alzheimer a partir de estudios iniciales de nuestro grupo de trabajo. También discutimos los resultados tanto en apoyo como negando dicha actividad de la melatonina. Por lo tanto no hay unanimidad en que melatonina tenga valor terapéutico en la enfermedad de Alzheimer ya constituida. Este hecho nos llevó a preocuparnos por los estadios iniciales de la enfermedad de Alzheimer, conocidos como de deterioro cognitivo mínimo.

En colaboración con Ignacio Brusco hemos publicado años atrás un análisis retrospectivo de 25 pacientes con deterioro cognitivo mínimo que en los últimos 3 años habían recibido una dosis diaria de 3 a 9 mg de melatonina junto con su medicación habitual. En comparación con un grupo no tratado con melatonina los pacientes tratados mejoraron significativamente el rendimiento cognitivo y emocional y la calidad de ritmo sueño / vigilia (Furio et al, 2007). Recientemente hemos informado otra serie de 96 pacientes ambulatorios con diagnóstico de deterioro cognitivo mínimo, 61 de los cuales habían recibido diariamente 3-24 mg de melatonina durante 15 a 60 meses. Los pacientes tratados con melatonina mostraron un rendimiento significativamente mejor en diversas pruebas neuropsicológicas. Además tuvieron menores puntuaciones en el Inventario de Depresión de Beck en forma concomitante con la mejoría de la calidad del sueño y de la vigilia (Cardinali et al., 2012).

Un análisis de los datos publicados con melatonina en la fase inicial de deterioro cognitivo indica que 6 ensayos doble ciego placebo controlados y 2 estudios retrospectivos (N= 782) mostraron consistentemente que la administración de melatonina por la noche todos los días mejora la calidad del sueño y el rendimiento cognitivo en esta fase de la enfermedad. Por lo tanto, el tratamiento con melatonina puede ser eficaz en las primeras etapas de la enfermedad neurodegenerativa (Figura 11.6).



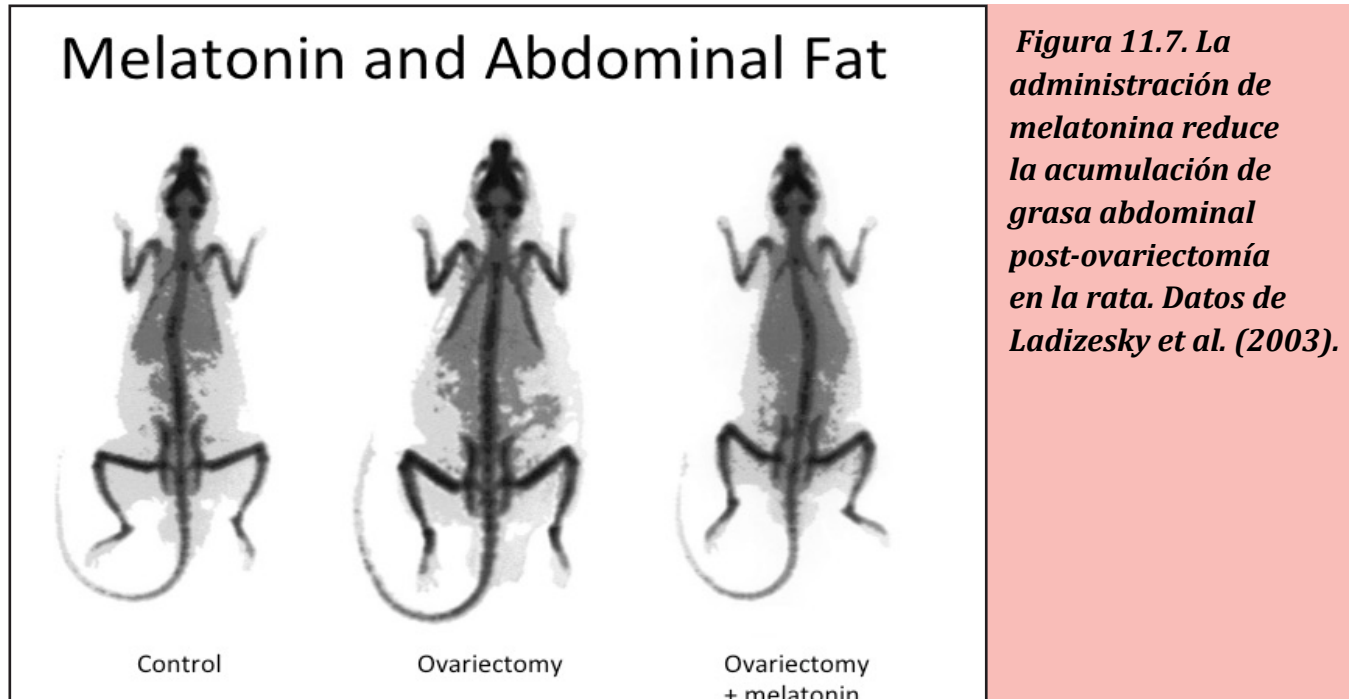
**Figura 11.6. La melatonina tiene efectos sobre la mayoría de los trastornos vinculados con la neurodegeneración en la enfermedad de Alzheimer (flechas rojas). Hasta hoy las únicas dos estrategias reconocidas por la FDA son los inhibidores de la acetilcolinesterasa y los bloqueantes de receptores NMDA.**

Los mecanismos que explican el efecto terapéutico de la melatonina en el deterioro cognitivo mínimo no está aún definidos. El tratamiento con melatonina promueve principalmente sueño de ondas lentas, es decir donde ocurren diversos fenómenos restauradores como la secreción aumentada de neurotrofinas o la remoción de proteína  $\beta$ -amiloide por el sistema linfático. Además y como se

ha mencionado, la melatonina actúa como antioxidante y protector mitocondrial y ejerce efectos antiamiloides que pueden ser vistos como una posibilidad de interferir con el inicio de la enfermedad. Por lo tanto el momento de comienzo del tratamiento con melatonina puede ser decisivo para la respuesta.

Como discutimos ya otro aspecto de importancia es la dosis de melatonina a emplear, la que suele ser innecesariamente baja si se tiene en cuenta las afinidades de unión, vida media y potencias relativas de los diferentes agonistas de la melatonina autorizados en el mercado (Tabla 10.1).

En nuestro laboratorio se estudió también otro aspecto de la citoprotección por melatonina: el vinculado con la osteoporosis, de gran significado terapéutico en la sociedad contemporánea. La Dra. Marta Ladizesky examinó como modelo de osteoporosis la rata ovariectomizada en distintos



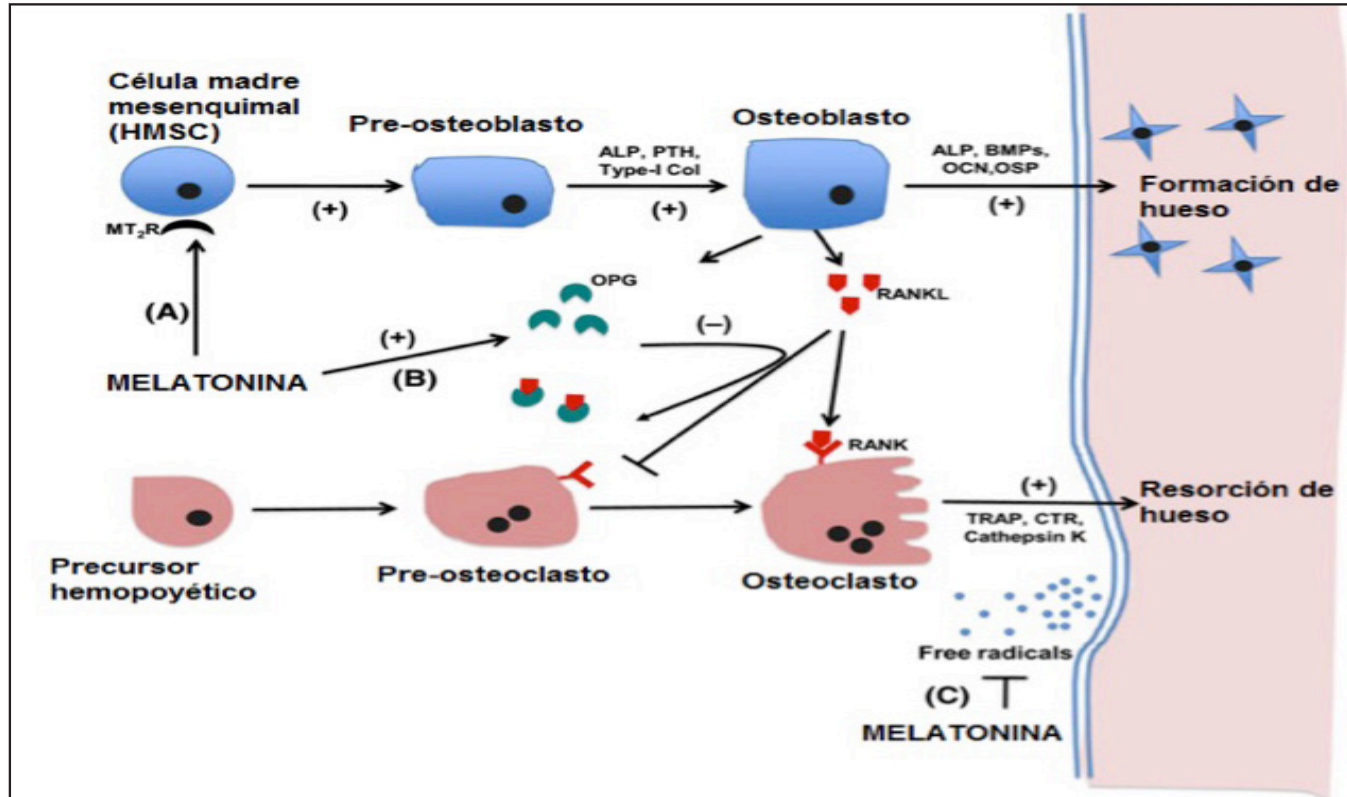
momentos de la insuficiencia ovárica, seguida por la reducción de los niveles circulantes de estradiol. Se utilizaron dosis diarias de melatonina equivalentes a 15 mg diarios en una mujer de 60 kg.

Verificamos que la melatonina era efectiva tanto para aumentar indicadores de la osteogénesis como para reducir indicadores de la resorción ósea (Ladizesky et al., 2003). En nuestros estudios la melatonina demostró la misma eficacia que la terapia hormonal para aumentar la densidad ósea, además de reducir el tejido graso abdominal (Figura 11.7).

Existe una acción positiva directa de la melatonina en la diferenciación y proliferación de los osteoblastos (Figura 11.8). La melatonina aumenta los niveles de fosfatasa alcalina ósea y la mineralización, promueve la síntesis de colágeno tipo I, un importante factor determinante de la resistencia ósea, y aumenta la masa ósea. También facilita el crecimiento de hueso y la osteointegración, por lo que la melatonina se ha transformado en una molécula atractiva para su uso en implantes óseos, sola o en combinación con otros factores de crecimiento.

A nivel mundial ocurren unos 9 millones de fracturas relacionadas con la osteoporosis por año, algo así como una fractura cada 3 segundos. Más de 200 millones de mujeres de todo el mundo sufren osteoporosis, siendo la mayoría de ellas mayores a 60 años. Estudios epidemiológicos indican que aproximadamente el 30 % de todas las mujeres posmenopáusicas tienen osteoporosis y 40 % de ellas se prevé que sufrirán una o más fracturas durante su vida. Los pronósticos indican que estas cifras aumentarán en un 25% para el año 2025.

Y acá entra la importancia del efecto tanto promotor de la osteogénesis como inhibidor de la resorción ósea de la melatonina ya que la mayor parte de los fármacos utilizados en el tratamiento de la osteoporosis atenúan y normalizan la resorción ósea pero no afectan la formación de hueso nuevo. Tienen, además, efectos colaterales indeseados, tales como la osteonecrosis de mandíbula o femoral de los bisfosfonatos o el eczema y fracturas atípicas del fémur observados con el denosumab (Witt-Enderby, 2013).



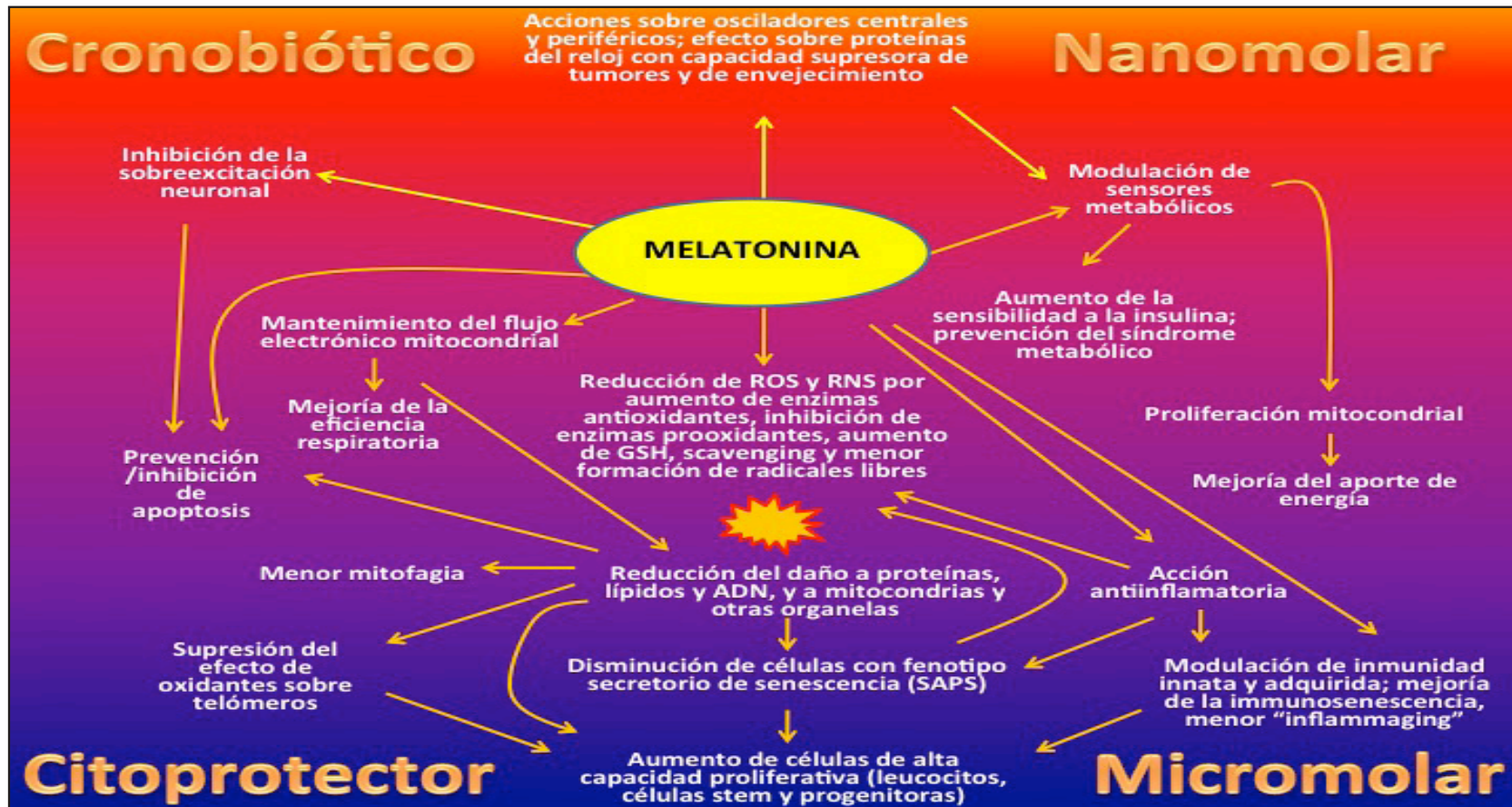
**Figura 11.8. La melatonina actúa en el hueso para regular tanto la osteoblastogénesis como la osteoclastogénesis. Lo hace a través de su capacidad para: (A) inducir la diferenciación de las células madre mesenquimatosas humanas (hMSC) a osteoblastos, (B) inducir la expresión de osteoprotegerina (OPG) en preosteoblastos la que inactiva RANKL y conduce a la supresión de la osteoclastogénesis, y (C) como scavenger de radicales libres reduce la actividad de los osteoclastos. Type I col (colágeno tipo I); OSP (osteopontina); BMP-2 (bone morphogenetic protein 2); ALP (fosfatasa alcalina); OCN (osteocalcina); TRAP (fosfatasa ácida resistente a tartrato); RANKL (activador del receptor del ligando NFkB).**

Existe evidencia de que una interrupción en la señalización mediada por melatonina (luz en la noche, señalización alterada de  $MT_2$  en osteoblastos) puede ser responsable del mayor riesgo de la fractura de cadera y muñeca y de la baja densidad ósea en los trabajadores por turnos o en el desarrollo de la escoliosis idiopática del adolescente. Distintos estudios en animales han indicado que la pinealectomía o la reducción de los niveles circulantes de melatonina por exposición a luz en la noche aumentan el recambio óseo y disminuyen la masa ósea, efectos revertidos por la administración de melatonina.

En uno de los pocos estudios clínicos en mujeres perimenopáusicas la suplementación con melatonina durante la noche (3 mg diarios) durante 6 meses restauró el equilibrio entre marcadores de osteoclastos y osteoblastos pero no afectó la masa ósea, probablemente por la dosis insuficiente a deducir de los datos en animales (Kotlarczyk et al., 2012).

Por último cabe mencionar que hemos colaborado por muchos años con la Dra. Ana Esquifino y su grupo de investigación en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid, sobre distintos temas de la neuroinmunología, su regulación por el sistema nervioso autónomo y la melatonina y en este último tiempo en relación a la toxicidad de cadmio.

Este metal pesado es uno de los metales más tóxicos se ubica en el puesto 8º en la lista de sustancias peligrosas que se liberan en el agua como un subproducto de fundición, en el aire por la combustión de carbón y petróleo, y en los suelos como impurezas. Los principales usos de Cd son para la fabricación de baterías níquel-cadmio, de pigmentos y de estabilizadores de plástico. En distintos estudios hemos verificado el rol protector de la melatonina en la intoxicación experimental por este metal pesado.



*Figura 11.9. Resumen de la actividad cronobiótica y citoprotectora de la melatonina.*

Ya mencionamos en el Capítulo previo que la melatonina actúa como buffer del sistema inmune: lo estimula en el estado basal, en la inmunodepresión (por corticoides, envejecimiento, metales pesados, etc.), en el estado temprano de la infección viral o parasitaria, en la vacunación o en el cáncer. Lo inhibe en las enfermedades inflamatorias (encefalitis alérgica, lupus experimental, en modelos experimentales de diabetes tipo 1 y en los distintos tipos de trasplante).

En síntesis, Síndrome Metabólico, enfermedad de Alzheimer, osteoporosis, tóxicos ambientales, alteraciones inmunológicas,... ¿Cómo no definir a la melatonina como la medicación del siglo XXI? (Figura 11.9) (Hardeland et al., 2015).

## Referencias

### (Para otras referencias del laboratorio del autor, véase el Adendo)

- Acuña-Castroviejo D., Carretero M., Doerrier C., Lopez L. C., Garcia-Corzo L., Tresguerres J. A., Escames G. (2012). Melatonin protects lung mitochondria from aging. *Age (Dordr)* 34, 681-692.
- Blanco M., Kriber N., Cardinali D. P. (2004). Encuesta sobre dificultades del sueño en una población urbana latinoamericana. *Rev Neurol*, 39, 115-119.
- Cagnacci A., Cannoletta M., Renzi A., Baldassari F., Arangino S., Volpe A. (2005). Prolonged melatonin administration decreases nocturnal blood pressure in women. *Am J Hypertens* 18, 1614-1618.
- Cardinali D. P., Pagano E. S., Scacchi P. A., Reynoso R., Scacchi P. (2013). Melatonin and mitochondrial dysfunction in the central nervous system. *Horm Behav*, 63, 322-330.
- Cardinali D. P., Vigo D. E., Olivar N., Vidal M. F., Furio A. M., Brusco L. I. (2012). Therapeutic application of melatonin in mild cognitive impairment. *AmerJ Neurodegen Dis* 1, 280-291.
- Cavallo A., Daniels S. R., Dolan L. M., Bean J. A., Khoury J. C. (2004). Blood pressure-lowering effect of melatonin in type 1 diabetes. *J Pineal Res* 36, 262-266.
- Del Zar M. M., Martinuzzo M., Falcon C., Cardinali D. P., Carreras L. O., Vacas M. I. (1990). Inhibition of human platelet aggregation and thromboxane B2 production by melatonin. Evidence for a diurnal variation. *J Clin Endocrinol Metab* 70, 246-251.



- Diez J. J. (2014). Alerta, Sueño y Estrés en Conductores de Colectivo, Buenos Aires, Tesis Doctoral en Ciencias Biomédicas, Universidad Austral.
- Diez J. J., Vigo D. E., Pérez Lloret S., Ritgers S., Rolé N., Cardinali D. P., Pérez-Chada D. (2011). Sleep habits, alertness, cortisol levels and cardiac autonomic activity in short distance bus drivers. Differences between morning and afternoon shifts. *J Occup Environm Med* 36, 806-811.
- Domínguez-Rodríguez A., Abreu-González P., García M. J., Sánchez J., Marrero F., de Armas-Trujillo D. (2002). Decreased nocturnal melatonin levels during acute myocardial infarction. *J Pineal Res* 33, 248-252.
- Escames G., López L. C., García J. A., García-Corzo L., Ortiz F., Acuña-Castroviejo D. (2012). Mitochondrial DNA and inflammatory diseases. *Hum Genet* 131, 161-173.
- Furio A. M., Brusco L. I., Cardinali D. P. (2007). Possible therapeutic value of melatonin in mild cognitive impairment. A retrospective study. *J Pineal Res* 43, 404-409.
- Girotti L., Lago M., Yanovsky O., Carbajales J., Elizari M., Brusco L. I., Cardinali D. P. (2000). Low urinary 6-sulphatoxymelatonin levels in patients with coronary artery disease. *J Pineal Res* 29, 138-142.
- Gonciarz M., Bielanski W., Partyka R., Brzozowski T., Konturek P. C., Eszyk J., Celinski K., Reiter R. J., Konturek S. J. (2013). Plasma insulin, leptin, adiponectin, resistin, ghrelin, and melatonin in nonalcoholic steatohepatitis patients treated with melatonin. *J Pineal Res* 54, 154-161.
- Gonciarz M., Gonciarz Z., Bielanski W., Mularczyk A., Konturek P. C., Brzozowski T., Konturek S. J. (2012). The effects of long-term melatonin treatment on plasma liver enzymes levels and plasma concentrations of lipids and melatonin in patients with nonalcoholic steatohepatitis: a pilot study. *J Physiol Pharmacol* 63, 35-40.
- Grossman E., Laudon M., Yalcin R., Zengil H., Peleg E., Sharabi Y., Kamari Y., Shen-Orr Z., Zisapel N. (2006). Melatonin reduces night blood pressure in patients with nocturnal hypertension. *Am J Med* 119, 898-902.

- Hardeland R., Cardinali D.P., Brown G.M., Pandi-Perumal S.R. (2015). Melatonin and brain inflammaging. *Progr Neurobiol* 127–128, 46–63.
- Kotlarczyk M. P., Lassila H. C., O’Neil C. K., D’Amico F., Enderby L. T., Witt-Enderby P. A., Balk J. L. (2012). Melatonin osteoporosis prevention study (MOPS): a randomized, double-blind, placebo-controlled study examining the effects of melatonin on bone health and quality of life in perimenopausal women. *J Pineal Res* 52, 414-426.
- Kozirog M., Poliwczak A. R., Duchnowicz P., Koter-Michalak M., Sikora J., Broncel M. (2011). Melatonin treatment improves blood pressure, lipid profile, and parameters of oxidative stress in patients with metabolic syndrome. *J Pineal Res* 50, 261-266.
- Ladizesky M. G., Boggio V., Albornoz L. E., Castrillón P., Mautalen C. A., Cardinali D. P. (2003). Melatonin increases oestradiol-induced bone formation in ovariectomized rats. *J Pineal Res* 34, 143-151.
- Modabbernia A., Heidari P., Soleimani R., Sobhani A., Roshan Z. A., Taslimi S., Ashrafi M., Modabbernia M. J. (2014). Melatonin for prevention of metabolic side-effects of olanzapine in patients with first-episode schizophrenia: Randomized double-blind placebo-controlled study. *J Psychiatr Res* 53, 133-140.
- Peschke E., Stumpf I., Bazwinsky I., Litvak L., Dralle H., Muhlbauer E. (2007). Melatonin and type 2 diabetes - a possible link? *J Pineal Res* 42, 350-358.
- Prokopenko I., Langenberg C., Florez J. C., Saxena R., Soranzo N., Thorleifsson G., Loos R. J., Manning A. K., Jackson A. U., Aulchenko Y. et al. (2009). Variants in MTNR1B influence fasting glucose levels. *Nat Genet* 41, 77-81.
- Romo-Nava F., Alvarez-Icaza G. D., Fresan-Orellana A., Saracco A. R., Becerra-Palars C., Moreno J., Ontiveros Uribe M. P., Berlanga C., Heinze G., Buijs R. M. (2014). Melatonin attenuates antipsychotic metabolic effects: an eight-week randomized, double-blind, parallel-group, placebo-controlled clinical trial. *Bipolar Disord* 16, 410-421.

Sakotnik A., Liebmann P. M., Stoschitzky K., Lercher P., Schauenstein K., Klein W., Eber B. (1999). Decreased melatonin synthesis in patients with coronary artery disease. *Eur Heart J* 20, 1314-1317.

Scacchi Bernasconi, P. A. (2012). Síndrome metabólico y melatonina: estudio de dos modelos experimentales en ratas, Tesis Doctoral en Ciencias Biomédicas, Pontificia Universidad Católica Argentina. Sitio web:

<http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/greenstone/cgi-bin/library.cgi?a=d&c=tesis&d=sindrome-metabolico-melatonina-estudio-modelos>

Scheer F. A., Van Montfrans G. A., Van Someren E. J., Mairuhu G., Buijs R. M. (2004). Daily nighttime melatonin reduces blood pressure in male patients with essential hypertension. *Hypertension* 43, 192-197.

Simonelli G., Leanza Y., Boilard A., Hyland M., Augustinavicius J., Cardinali D. P., Vallieres A., Pérez-Chada D., Vigo D. E. (2013). Sleep and quality of life in urban poverty: the impact of a slum-housing upgrading program. *Sleep* 36, 1669-1676.

Tutuncu N. B., Batur M. K., Yildirim A., Tutuncu T., Deger A., Koray Z., Erbas B., Kabakci G., Aksoyek S., Erbas T. (2005). Melatonin levels decrease in type 2 diabetic patients with cardiac autonomic neuropathy. *J Pineal Res* 39, 43-49.

Vacas M. I., Del Zar M. M., Martinuzzo M., Falcon C., Carreras L. O., Cardinali D. P. (1991). Inhibition of human platelet aggregation and thromboxane B2 production by melatonin. Correlation with plasma melatonin levels. *J Pineal Res*, 11, 135-139.

Venegas C., Garcia J. A., Doerrier C., Volt H., Escames G., Lopez L. C., Reiter R. J., Acuña-Castroviejo D. (2013). Analysis of the daily changes of melatonin receptors in the rat liver. *J Pineal Res* 54, 313-321.

Wirtz P. H., Bartschi C., Spillmann M., Ehlert U., von K. R. (2008). Effect of oral melatonin on the procoagulant response to acute psychosocial stress in healthy men: a randomized placebo-controlled study. *J Pineal Res* 44, 358-365.

Wirtz P. H., Spillmann M., Bartschi C., Ehlert U., von K. R. (2008). Oral melatonin reduces blood coagulation activity: a placebo-controlled study in healthy young men. *J Pineal Res* 44, 127-133.

Witt-Enderby P. A. (2013). Could the fountain of youth be all in your bones? *J Oral Implantol* 39, 1-2.

## **Cuando los Alumnos Superan al Maestro.**

Al esforzado lector que ha llegado hasta acá, mi profundo agradecimiento y mi disculpa por el tedio. Pero quiero recordarle que como se expresa en el Prólogo mi objetivo era recapitular, no minuciosa sino desordenadamente el sentido de la obra de un científico a través de casi 50 años y su vínculo con un tema fascinante.

Quisiera terminar este relato con dos reflexiones. La primera concierne al concepto de alma máter. Alma máter (“madre nutricia”) es un término que define desde hace cientos de años a la universidad en la cual uno se formó. La idea detrás es que la sabiduría era dada en ese momento y que luego persistía por toda la vida del egresado. Para un científico alma máter representa mucho más.

En mi caso, estrictamente identifico dos instituciones que representan lo que alma máter quiere expresar. Una es el CONICET, al cual estuve vinculado por casi medio siglo desde mi Beca de Iniciación en 1968 y lo sigo estando como Investigador Superior contratado. Esto tiene una cierta imprecisión, porque el CONICET no es una universidad, pero su meritocrático sistema de evaluación permanente fue un constante estímulo en mi carrera, y de alguna manera la “madre nutricia” que esculpió mi perfil científico y alimentó mi accionar. Si el sistema de evaluación permanente del CONICET se hubiera extendido a otras áreas de gestión y gobierno de la Argentina, otro hubiera sido el destino de nuestro país.

La segunda alma máter es la Universidad de Buenos Aires, también aquí utilizando el término con imperfección porque yo no me gradué en ella (alma madrastra definiría con más precisión esta relación). Comencé mi vínculo con la UBA como Profesor Adjunto de Fisiología en la Facultad de Odontología en 1983 y luego de mi incorporación como Profesor Titular de la misma materia en la Facultad de Medicina pude experimentar cuál era la verdadera acepción del término alma máter para un científico y docente.

Mi primera experiencia fue la casual elección del laboratorio dónde ubicar mis equipos, en el Instituto de Fisiología, sito en el 7º piso de la Facultad. El Profesor Alejandro Paladini, distinguido docente y excepcional científico, entonces Director del Departamento de Química Biológica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, quien sufría en el 6º piso las obras de refacción de mi laboratorio, me dijo un día “Mire Cardinali, en ese laboratorio que Ud. está modificando Leloir, Fasciolo, Taquini, Muñoz y Braun Menéndez purificaron la angiotensina, y yo, como ayudante alumno, los asistía”. No sé si este comentario se trataba de una advertencia para que no alejara a los espíritus célebres de su sitio de reposo, pero me hizo experimentar la primera sensación de alma máter en el lugar.

Una frase muy repetida de Bernardo de Chartres, un maestro de la Filosofía del siglo XII, señala que cuando tenemos la fortuna de subirnos como enanos a los hombros de gigantes, podemos ver más, y más lejos que ellos, no por la agudeza de nuestra vista ni por la altura de nuestro cuerpo, sino porque somos levantados por su gran altura. Una experiencia plena de esta sensación la tuve cuando pude pasar horas en la antigua biblioteca del Instituto de Fisiología. El cuadro era surrealista: uno entraba y veía los anaqueles polvorientos de lo que había sido la biblioteca más importante de América Latina en el área, hasta los ´60, etapa en que no sólo esta biblioteca sino la cultura toda se detuvo en el país. Fue un gran placer leer los debates sobre por ejemplo, el control neural de las glándulas endocrinas, en textos de Walter Cannon o Harry Friedgood, que inspiraron fuertemente nuestro trabajo.

Ciertamente los “enanos a hombros de gigantes” no se limitan a repetir lo ya dicho, sino que al apoyarse en sus predecesores ven efectivamente más cosas y llegan más lejos (si bien es cierto que no olvidan lo que deben a quienes les abrieron camino en el pensamiento). En ese sentido ya he mencionado la gran influencia que tuvo en mi carrera el contacto con Richard J. Wurtman en mi estadía en Boston (Fig. 4.2). Wurtman había sido un dilecto discípulo de Julius Axelrod y yo tuve la posibilidad de admirar la extraordinaria visión fisiológica de ambos en aquel momento. Un recurso interesante para estudiar estos vínculos es Neurotree ([www.neurotree.org](http://www.neurotree.org)) una base de datos en línea que documenta el linaje de la tutoría académica en la neurociencia. Modelado en el formato usado para describir árboles genealógicos el sitio web Neurotree proporciona un resumen conciso

de la historia intelectual de la neurociencia y de las relaciones entre los individuos en la comunidad neurocientífica actual. En el sitio:

<http://neurotree.org/neurotree/tree.php?pid=1691&fontsize=0&pnodecount=4&cnodecount=2>

puede verse el árbol genealógico de Julius Axelrod y su “hijo” Wurtman, con este cronista como “nieto” de Premio Nobel.

Al pasar, quisiera transmitir al ocasional lector joven interesado en la ciencia la pérdida que sin casi percibirlo hemos experimentado con los extraordinarios avances de las fuentes bibliográficas digitalizadas. ¡Qué daño irreparable ha sido perder aquellas visitas periódicas a la biblioteca, con sus paneles en los que se exhibía el último número recibido de las revistas, que permitían que un tema no buscado entrara por el rabillo del ojo en una típica visión lateral, haciéndonos prestar atención a un insospechado tema nuevo! Todo eso se ha perdido hoy, y para colmo de males, hemos perdido también la herencia de los gigantes: ¿qué científico joven se preocupa hoy por los trabajos que no están digitalizados, la gran mayoría de la producción en la ciencia de antes de los '60?

En todo caso, el alma máter de la UBA inspiró por casi un cuarto de siglo la actividad científica y docente de mi laboratorio, que he tratado de relatar en este libro. La libertad académica con la que pude llevar a cabo esta tarea ha sido impecable y por ello estoy muy agradecido a la UBA como institución.

Cualquier obra científica, por brillante que sea, es incompleta si no está vinculada con la formación de discípulos. Siempre sostuve que para alcanzar el estamento más alto de la carrera de investigador, lo decisivo debía ser, ya no la producción individual sino la calidad de los discípulos formados. En ello he sido afortunado. Muchos de mis discípulos tesistas y posdoctorandos ocupan hoy posiciones de importancia en Universidades e Institutos de Investigación del país y en el exterior (<http://neurotree.org/neurotree/tree.php?pid=4692>)

Dentro del país debe mencionar a la Dra. María I. Vacas, Profesora de Bioquímica, Facultad de Medicina, Instituto Universitario del Hospital Italiano, Buenos Aires, a la Dra. Ruth E. Rosenstein,

Profesora Titular de Bioquímica, Facultad de Medicina, UBA, Investigador Principal del CONICET y merecedora de la Beca Guggenheim, al Dr. Diego A. Golombek. Profesor Titular de Fisiología, Universidad de Quilmes e Investigador Principal del CONICET, quien también recibiera la Beca Guggenheim, al Dr. Horacio E. Romeo, Profesor Titular, Facultad de Ciencias Médicas, Pontificia Universidad Católica Argentina e Investigador Independiente, CONICET, al Dr. Eduardo Chuluyan, Investigador Principal del CONICET, Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFYBO), Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, a la Dra. Mónica N. Ritta, Profesora Asociada de Química Orgánica y Biológica, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora e Investigador Independiente del CONICET, al Dr. Salvador Guinjoan, Jefe de la Sección de Neuropsiquiatría, FLENI, Buenos Aires, Investigador Clínico Independiente, CONICET, Profesor Adjunto de Psiquiatría, Facultad de Medicina, UBA, al Dr. Luis Ignacio Brusco, Investigador Clínico Independiente, CONICET, Profesor Titular de Psiquiatría, Facultad de Medicina, UBA y al Dr. Daniel E. Vigo, Profesor Titular, Facultad de Ciencias Médicas, Pontificia Universidad Católica Argentina, Investigador Adjunto, CONICET.

Otros ocupan posiciones expectantes en el exterior, como el Dr. Pedro R. Lowenstein, Professor of Neurosurgery and Professor of Cell and Developmental Biology, University of Michigan, el Dr. Pablo V. Gejman, Professor of Psychiatry, Director, Center for Psychiatric Genetics, Department of Psychiatry, The Pritzker School of Medicine, The University of Chicago, el Dr. Javier Stern, Professor of Physiology, Georgia Health Sciences University, Augusta, el Dr. Guillermo González Burgos, Associate Professor, Translational Neuroscience Program, Department of Psychiatry, University of Pittsburgh, el Dr. Darío Acuña Castroviejo, Catedrático de Fisiología. Facultad de Medicina, Universidad de Granada y la Dra. Ana I. Esquifino, Catedrático de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid.

Una última reflexión tiene que ver con el término serendipia. ¿Hubiera sido posible esta historia sin la ayuda de la fortuna, independientemente del talento que el investigador pudiera haber tenido? Según la wikipedia una serendipia es un descubrimiento o un hallazgo afortunado e inesperado que se produce cuando se está buscando otra cosa.



También puede referirse a la habilidad de un sujeto para reconocer que ha hecho un descubrimiento importante aunque no tenga relación con lo que busca. En términos más generales se puede denominar así también a la casualidad, coincidencia o accidente, o más en criollo, “chiripa”.

Este cronista reconoce que su historia no sería posible sin la fortuna de haber coincidido cronológicamente con el nacimiento de un tema, el de la melatonina. En el relato tradicional que dio origen al término Horace Walpole (1754) habla de los “Los tres príncipes de Serendip”, en el que los protagonistas, unos príncipes de la isla Serendip (nombre árabe de la isla de Ceilán) solucionaban sus problemas a través de increíbles casualidades. Por serendipia, o por chiripa, la historia de este cronista no puede dejar de señalar dicha connotación.

En la Figura E.1 puede verse cómo el bajo número de trabajos científicos sobre melatonina o pineal en la base de datos PubMed coincide con la producción relatada en esta obra.

Para este cronista la melatonina es la medicación de la Sociedad 24/7 y tiene en el futuro amplios usos. ¿Cómo prevendremos la insostenible carga de la enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades neurodegenerativas si no contáramos con un recurso casi sin costo e inocuo como la melatonina? ¿Por qué no probióticos o lácteos fortalecidos con la Piedra de la Locura?

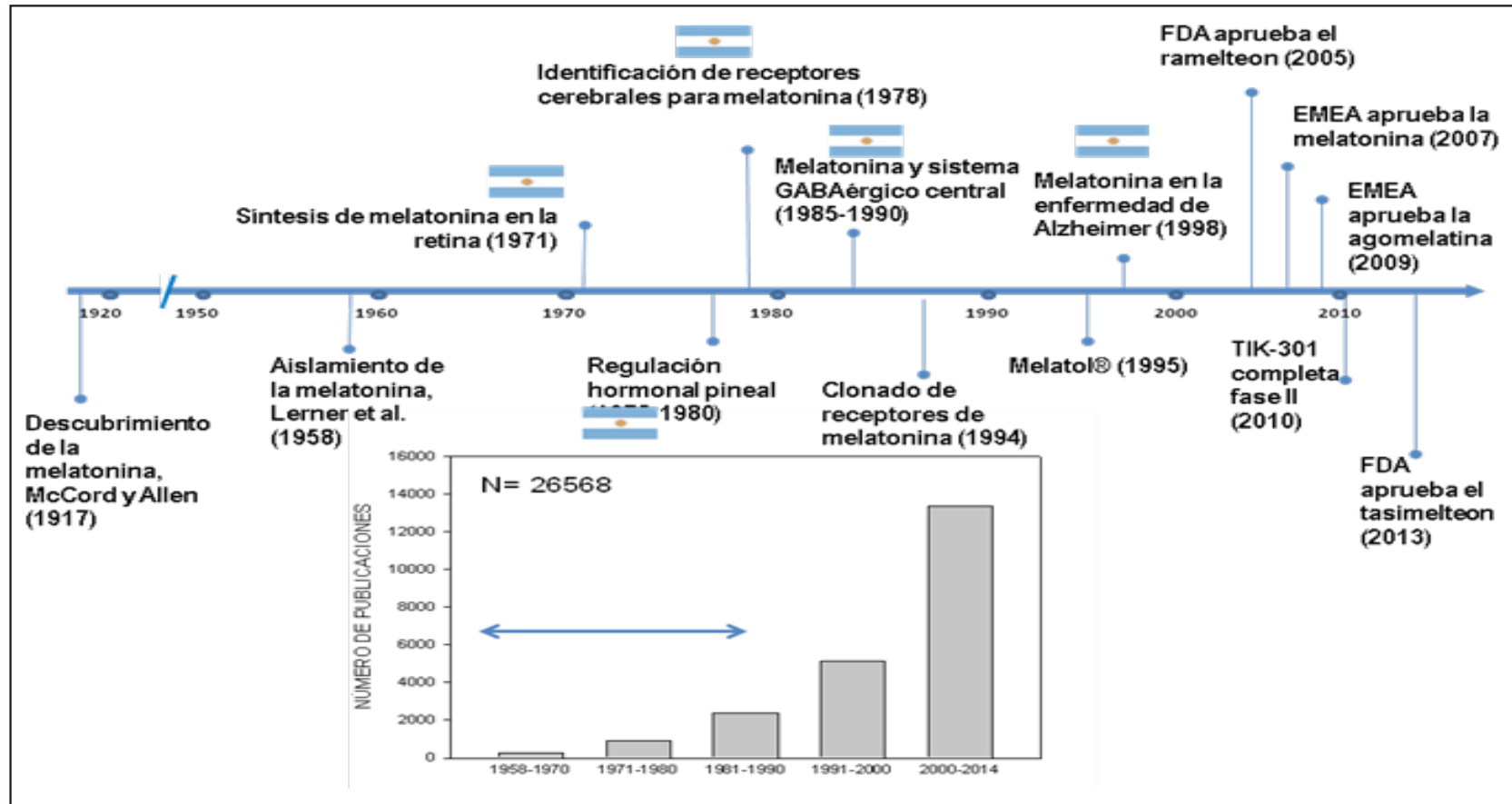


Figura E.1. La flecha denota la coincidencia de hallazgos básicos sobre la melatonina por parte del cronista con el bajo interés general en el tema (serendipia o chiripa).

O más vernáculamente, ¿un dulce de leche cronobiológico? La historia juzgará si esto no es más que la manifiesta infección con la Piedra de la Locura sospechada desde el Prólogo de esta obra.

## Los Guijarros de la Piedra de la Locura.

Este adendo es un listado de la bibliografía con los trabajos originales del Laboratorio correspondientes a los distintos temas tratados en este libro. En sí pueden considerarse como los fragmentos de esta historia, algo así como los guijarros de la Piedra de la Locura.

### **PRIMER CONTACTO CON LA PINEAL. LA ADRENOGLOMERULOTROPINA DE FARRELL**

Argüelles A. E., Chekherdemian M., Ricca A., Cardinali D.P. (1964). Effect of a new synthetic tetracosapeptide on the cortisol levels, and aldosterone, dehydroepiandrosterone and catecholamine excretion. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 24, 1277-1282.

### **PRIMER CONTACTO CON LA MELATONINA: RETINA**

Cardinali D.P., Rosner J.M. (1971). Metabolism of serotonin by the rat retina "in vitro". *J Neurochem.* 18, 1769-1770.

Cardinali D.P., Rosner J.M. (1971). Retinal localization of hydroxyindole O methyl transferase (HIOMT) in the rat. *Endocrinology* 89, 301-303.

Cardinali D.P., Wurtman R.J. (1972). Hydroxyindole O methyl transferases in rat pineal, retina and harderian gland. *Endocrinology* 91, 247-252.

Nagle C.A., Cardinali D.P., Rosner J.M. (1972). Light regulation of rat retinal hydroxyindole O methyl transferase (HIOMT) activity. *Endocrinology* 91, 423-426.

## **LA TESIS DOCTORAL**

Cardinali D.P., Cuello A.E., Tramezzani J.H., Rosner J.M. (1971). Effects of pinealectomy on the testicular function of the adult male duck. *Endocrinology*. 89, 1082-1093.

Cardinali D.P., Rosner J.M. (1971) Effect of melatonin, serotonin and N acetylserotonin on the production of steroids by duck testicular homogenates. *Steroids*. 18, 25-37.

Rosner J.M., Bedes G.D.P, Cardinali D.P. (1971). Direct effect of light on duck pineal explants. *Life Sciences (II)*. 10, 1065-1069.

Hisano N., Cardinali D.P., Rosner J.M., Nagle C.A., Tramezzani J.H. (1972). Pineal role in the duck extraretinal photoreception. *Endocrinology*. 91, 1318-1322.

## **¿QUÉ LUZ VE LA PINEAL?**

Cardinali D.P., Larin F., Wurtman R.J. (1972). Control of the rat pineal gland by light spectra. *Proceedings of the National Academies of Sciences USA*. 69, 2003-2005.

Cardinali D.P., Larin F., Wurtman R.J. (1972). Action spectra for effects of light on hydroxyindole O methyl transferases in rat pineal, retina and harderian gland. *Endocrinology*. 91, 877-886.

Cardinali D.P., Nagle C.A., Denari J.H., Bedes G.D.P., Rosner J.M. (1973). Lack of effects of light on the rat pineal in organ culture. *General and Comparative Endocrinology*. 21, 573-577.

Rosner J.M., Bedes G.D.P, Cardinali D.P. (1971). Direct effect of light on duck pineal explants. *Life Sciences (II)*. 10, 1065-1069.

## **¿CÓMO SE TRANSPORTA LA MELATONINA EN PLASMA?**

Cardinali D.P., Lynch H.J., Wurtman R.J. (1972). Binding of melatonin to human and rat plasma proteins. *Endocrinology*. 91, 1213-1218.

## ¿CÓMO RESPONDE LA PINEAL ANTE SEÑALES ENDOCRINAS?

- Nagle C.A., Neuspiller N.R., Cardinali D.P., Rosner J.M. (1972). Uptake and effect of 17  $\beta$  estradiol on pineal hydroxyindole O methyl transferase (HIOMT) activity. *Life Sciences (II)*. 11, 1109-1116.
- Nagle C.A., Cardinali D.P., Rosner J.M. (1974). Effects of castration and testosterone administration on pineal and retinal hydroxyindole O methyl transferases of male rats. *Neuroendocrinology*. 14, 14-23.
- Cardinali D.P., Nagle C.A., Rosner J.M. (1974). Metabolic fate of androgens in the pineal organ, uptake, binding to cytoplasmic proteins and conversion of testosterone into 5 $\alpha$  reduced metabolites. *Endocrinology*. 95, 179-187.
- Nagle C.A., Cardinali D.P., Rosner J.M. (1973). Uptake of estradiol by the rat pineal organ. Effects of cervical sympathectomy, stage of the estrous cycle and estradiol treatment. *Life Sciences*. 13, 1089-1103.
- Cardinali D.P., Nagle C.A., Rosner J.M. (1974). Effects of estradiol on melatonin and protein synthesis in the rat pineal organ. *Hormone Research*. 5, 304-310.
- Cardinali D.P., Nagle C.A., Rosner J.M. (1974). Aromatization of androgens to estrogens by the rat pineal gland. *Experientia*. 30, 1222-1223.
- Nagle C.A., Cardinali D.P., Rosner J.M. (1975). Testosterone effects on protein synthesis in the rat pineal gland. Modulation by the sympathetic nervous system. *Life Sciences*. 16, 81-91.
- Cardinali D.P., Nagle C.A., Rosner J.M. (1975). Control of estrogen and androgen receptors in the rat pineal gland by catecholamine transmitter. *Life Sciences*. 16, 93-106.
- Cardinali D.P., Nagle C.A., Gómez E., Rosner J.M. (1975). Norepinephrine turnover in the rat pineal gland. Acceleration by estradiol and testosterone. *Life Sciences*. 16, 1717-1724.

- Cardinali D.P., Nagle C.A., Rosner J.M. (1976). Gonadotropin and prolactin induced increase of rat pineal hydroxyindole O methyl transferase, Involvement of the sympathetic nervous system. *The Journal of Endocrinology*. 68, 341-342.
- Cardinali D.P., Gómez E., Rosner J.M. (1976). Changes in 3H leucine incorporation into pineal proteins following estradiol or testosterone administration. Involvement of the sympathetic superior cervical ganglion. *Endocrinology*. 98, 849-858.
- Scardapane L., Cardinali D.P. (1977). Effect of estradiol and testosterone on catechol O methyl transferase activity of rat superior cervical ganglion, pineal gland, anterior hypophysis and hypothalamus. *Journal of Neural Transmission*. 40, 81-86.
- Cardinali D.P., Nagle C.A., Rosner J.M. (1974). Changes in the pineal indole metabolism and plasma progesterone levels during the estrous cycle in ewes. *Steroids and Lipids Research*. 5, 308-315.
- Cardinali D.P. (1977). Nuclear receptor estrogen complex in the pineal gland. Modulation by sympathetic nerves. *Neuroendocrinology*. 24, 333-346.
- Cardinali D.P., Vacas M.I. (1978). Progesterone induced decrease of pineal protein synthesis in rats. Possible participation in estrous related changes of pineal function. *Journal of Neural Transmission*. 42, 193-205.
- Vacas M.I., Cardinali D.P. (1979). Effects of castration and reproductive hormones on pineal serotonin metabolism in rat. *Neuroendocrinology*. 28, 187-195.
- Cardinali D.P., Vacas M.I. (1979). Norepinephrine turnover in pineal gland and superior cervical ganglia. Changes after gonadotropin administration to castrated rats. *Journal of Neural Transmission*. 45, 273-284.
- Vacas M.I., Lowenstein P.R., Cardinali D.P. (1979). Characterization of a cytosol progesterone receptor in bovine pineal gland. *Neuroendocrinology*. 29, 84-89.

Vacas M.I., Cardinali D.P. (1980). Effect of estradiol on  $\alpha$  and  $\beta$  adrenoceptor density in medial basal hypothalamus, cerebral cortex and pineal gland of ovariectomized rats. *Neuroscience Letters*. 17, 73-77.

Cardinali D.P., Vacas M.I., Ritta M.N. (1981). A biphasic effect of estradiol on serotonin metabolism in rat pineal organ culture. *Experientia*. 37, 203-204.

Vacas M.I., Lowenstein P.R., Cardinali D.P. (1982). Testosterone decreases  $\beta$  adrenoceptor sites in rat pineal gland and brain. *Journal of Neural Transmission*. 53, 49-57.

Cardinali D.P., Ritta M.N., Gejman P.V. (1982). Norepinephrine stimulates testosterone aromatization and inhibits  $5\alpha$  reduction via  $\beta$  adrenoceptors in rat pineal gland. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 28, 199-209.

Cardinali D.P., Gejman P.V., Ritta M.N. (1983). Further evidence of adrenergic control of translocation and intracellular levels of estrogen receptors in rat pineal gland. *Endocrinology*. 112, 492-498.

Vacas M.I., Keller Sarmiento M.I., Pereyra E.N., Etchegoyen G.S., Cardinali D.P. (1987). In vitro effects of adenohipofisial hormones on rat pineal melatonin content and release. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 50, 23-27.

Cardinali D.P., Vacas M.I., Keller Sarmiento M.I., Etchegoyen G.S., Pereyra E.N., Chuluyan H.E. (1987). Neuroendocrine integrative mechanisms in mammalian pineal gland, Effect of steroid and adenohipofisial hormones on melatonin synthesis in vitro. *Journal of Steroid Biochemistry*. 27, 565-571.

### **PLURALIDAD VÉDICA DE SEÑALES INTRAPINEALES**

Vacas M.I., Lowenstein P.R., Cardinali D.P. (1980). Dihydroergocryptine binding sites in bovine and rat pineal glands. *Journal of the Autonomic Nervous System*. 2, 305-313.

- Cardinali D.P., Ritta M.N., Speziale N.S., Gimeno M.F. (1979). Release and specific binding of prostaglandins in bovine pineal gland. *Prostaglandins*. 18, 577-589.
- Ritta M.N., Cardinali D.P. (1981). Prostaglandin E2 increases adenosine 3',5' monophosphate concentration and binding site occupancy, and stimulates serotonin N acetyltransferase activity in rat pineal glands in vitro. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 23, 151-159.
- Cardinali D.P., Ritta M.N., E. Pereyra, González Solveyra C. (1982). Role of prostaglandins in rat pineal neuroeffector junction. Changes in melatonin and norepinephrine release in vitro. *Endocrinology*. 111, 530-534.
- Vacas M.I., Keller Sarmiento M.I., Etchegoyen G.S., Pereyra E.N., Gimeno M.F., Cardinali D.P. (1987). Involvement of the 5 lipoxygenase pathway in norepinephrine stimulation of rat pineal melatonin synthesis. *Neuroendocrinology*. 46, 412-416.
- Lowenstein P.R., Cardinali D.P. (1983). Benzodiazepine receptor sites in bovine pineal. *European Journal of Pharmacology*. 86, 287-289.
- Lowenstein P.R., Cardinali D.P. (1983). Characterization of flunitrazepam and beta carboline high affinity binding in bovine pineal gland. *Neuroendocrinology*. 37, 150-154.
- Lowenstein P.R., González Solveyra C., Cardinali D.P. (1984). In vitro uptake of benzodiazepines by rat pineal gland. *Journal of Pineal Research*. 1, 207-213.
- Lowenstein P.R., Rosenstein R., Caputti E., Cardinali D.P. (1984). Benzodiazepine binding sites in human pineal gland. *European Journal of Pharmacology*. 106, 399-403.
- Lowenstein P.R., González Solveyra C., Keller Sarmiento M.I., Cardinali D.P. (1985). Benzodiazepines decrease norepinephrine release from rat pineal nerves by acting on peripheral type binding sites. *Acta Physiologica et Pharmacologica Latinoamericana*. 35, 441-449.



- Rosenstein R.E., Sanjurjo C., Cardinali D.P. (1989). Gamma aminobutyric acid uptake, release and effect on  $^{36}\text{Cl}$  influx in bovine pineal gland. *Journal of Neural Transmission*. 77, 141-152.
- Rosenstein R.E., Chuluyan H.E., Pereyra E.N., Cardinali D.P. (1989). Release and effect of  $\gamma$  aminobutyric acid (GABA) on rat pineal melatonin production in vitro. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 9, 207-219.
- Chuluyan H.E., Rosenstein R.E., Cardinali D.P. (1989). Serotonin release mechanisms in bovine pineal gland, Stimulation by norepinephrine and dopamine. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 64, 71-80.
- Chuluyan H.E., Rosenstein R.E., Stern J., Cardinali D.P. (1990). Regional differences in norepinephrine and dopamine concentration and effect on serotonin uptake and release in bovine pineal gland. *Journal of Pineal Research*. 8, 255-267.
- Rosenstein R.E., Chuluyan H.E., Cardinali D.P. (1990). Presynaptic effects of gamma aminobutyric acid on norepinephrine release and uptake in rat pineal gland. *Journal of Neural Transmission Gen. Sect.* 82, 131-140.
- Rosenstein R.E., Chuluyan H.E., Diaz M.C., Cardinali D.P. (1990). Gaba as a presumptive paracrine signal in the pineal gland. Evidence on an intrapineal GABAergic system. *Brain Research Bulletin*. 25, 339-344.
- Chuluyan H.E., Rosenstein R.E., Chang S.M., Galvez M.M., Cardinali D.P. (1991). Presynaptic effects of melatonin on norepinephrine release and uptake in rat pineal gland. *Journal of Pineal Research*. 10, 165-173.
- Chuluyan H.E., Rosenstein R.E., Kanterewicz B.I., Chan S.M., Cardinali D.P. (1992). GABA activity in dispersed bovine pineal cells. Effect of serotonin release and calcium and chloride uptake. *Biological Signals*. 1, 3-11.

## MELATONINA Y PROTEÍNAS DEL CITOESQUELETO

Orsi L., Denari J.H., Nagle C.A., Cardinali D.P., Rosner J.M. (1973). Effects of melatonin on the synthesis of proteins by the rat hypothalamus, hypophysis and pineal organ. *The Journal of Endocrinology*. 58, 131-132.

Cardinali D.P., Nagle C.A., Rosner J.M. (1973). Uptake and effects of melatonin on the synthesis of proteins by the rat cerebral cortex. *Life Sciences*. 13, 823-833.

Cardinali D.P., Freire F. (1975). Melatonin effects on brain. Interaction with microtubule protein, inhibition of fast axoplasmic flow and induction of crystalloid and tubular formations in the hypothalamus. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2, 317-330.

Cardinali D.P., Freire F., Nagle C.A., Rosner J.M. (1975). Effects of environmental lighting, superior cervical ganglionectomy and adrenergic drugs on microtubule protein levels of the rat hypothalamus. *Neuroendocrinology*. 19, 44-53.

Freire F., Cardinali D.P. (1975). Effects of melatonin treatment and environmental lighting on the ultrastructural appearance, melatonin synthesis, norepinephrine turnover and microtubule protein content of the rat pineal gland. *Journal of Neural Transmission*. 37, 237-257.

Prevedello M.R., Ritta M.N., Cardinali D.P. (1979). Fast axonal transport in rat sciatic nerve. Inhibition by pineal indoles. *Neuroscience Letters*. 13, 29-34.

Iovanna J., Dusetti N., Cadenas B., Cardinali D.P. (1990). Time dependent effect of melatonin on actin mRNA levels and incorporation of 35S methionine into actin and proteins by the rat hypothalamus. *Journal of Pineal Research*. 9, 51-63.

Iovanna J., Dusetti N., Calvo E., Cardinali D.P. (1990). Diurnal changes in actin mRNA levels and incorporation of 35S methionine into actin in the rat hypothalamus. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 10, 207-216.

## **IDENTIFICACIÓN DE LOS RECEPTORES DE MELATONINA**

Cardinali D.P., Hyyppa M.T., Wurtman R.J. (1973). Fate of intracisternally injected melatonin in the rat brain. *Neuroendocrinology*. 12, 30-40.

Cardinali D.P., Vacas M.I., Boyer E.E. (1978). High affinity binding of melatonin in bovine medial basal hypothalamus. *IRCS Medical Science*. 6, 357.

Cardinali D.P., Vacas M.I., Boyer E.E. (1979). Specific binding of melatonin in bovine brain. *Endocrinology*. 105, 437-441.

Vacas M.I., Cardinali D.P. (1980). Binding sites for melatonin in bovine pineal gland. *Hormone Research*. 13, 121-131.

Vacas M.I., Cardinali D.P. (1979). Correlation with neuroendocrine responsiveness to melatonin. *Neuroscience Letters*. 15, 259-263.

Cardinali D.P., Nagle C.A., Freire F., Rosner J.M. (1975). Effects of melatonin on neurotransmitter uptake and release by synaptosome rich homogenates of the rat hypothalamus. *Neuroendocrinology*. 18, 72-85.

Cardinali D.P. (1975). Changes in hypothalamic neurotransmitter uptake following pinealectomy, superior cervical ganglionectomy or melatonin administration to rats. *Neuroendocrinology*. 19, 91-95.

Rosenstein R.E., Golombek D., Kanterewicz B.I., Cardinali D.P. (1991). Time dependency for the bimodal effect of melatonin on calcium uptake in rat hypothalamus. *Journal of Neural Transmission Gen Sect*. 85, 243-247.

Vacas M.I., Berria M.I., Cardinali D.P., Lascano E.F. (1984). Melatonin inhibits  $\beta$  adrenoceptor stimulated cyclic AMP accumulation in rat astroglial cell cultures. *Neuroendocrinology*. 38, 176-181.

Vacas M.I., Keller Sarmiento M.I., Cardinali D.P. (1984). Pineal methoxyindoles depress calcium uptake by rat brain synaptosomes. *Brain Research*. 294, 166-168.

### **LA MELATONINA COMO ANTIINFLAMATORIO Y ANTIAGREGANTE PLAQUETARIO**

Ritta M.N., Cardinali D.P. (1980). Effect of indomethacin on monoamine metabolism and melatonin synthesis in rat pineal gland. *Hormone Research*. 12, 305-312.

Gimeno M.F., Landa A., Speziale N.S., Cardinali D.P., Gimeno A.L. (1980). Melatonin blocks in vitro generation of prostaglandins by the uterus and hypothalamus. *European Journal of Pharmacology*. 62, 309-317.

Cardinali D.P., Ritta M.N., Fuentes A.M., Gimeno M.F., Gimeno A.L. (1980). Prostaglandin E release by rat medial basal hypothalamus in vitro. Inhibition by melatonin at submicromolar concentrations. *European Journal of Pharmacology*. 67, 151-153.

Gimeno M.F., Ritta M.N., Bonacossa A., Lazzari M., Gimeno A.L., Cardinali D.P. (1980). Inhibition by melatonin of prostaglandin synthesis in hypothalamus, uterus and platelets. *Advances in the Biosciences*. 29, 147-150.

Franchi A.M., Gimeno M.F., Cardinali D.P., Vacas M.I. (1987). Melatonin, 5 methoxytryptamine and some of their analogs as cyclooxygenase inhibitors in rat medial basal hypothalamus. *Brain Research*. 405, 384-388.

Del Zar M., Martinuzzo M., Falcon C., Cardinali D.P., Carreras L.O., Vacas M.I. (1990). Inhibition of human platelet aggregation and thromboxane B<sub>2</sub> production by melatonin. Evidence for a diurnal variation. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 70, 246-251.

Del Zar M., Martinuzzo M., Cardinali D.P., Carreras L.O., Vacas M.I. (1990). Diurnal variation in melatonin effect on adenosine triphosphate and serotonin release by human platelets. *Acta Endocrinologica*. 123, 453-458.

Vacas M.I., DelZar M., Martinuzzo M., Falcon C., Carreras L.O., Cardinali D.P. (1991). Inhibition of human platelet aggregation and thromboxane B2 production by melatonin. Correlation with plasma melatonin levels. *Journal of Pineal Research*. 11, 135-139.

Martinuzzo M., Del Zar M., Cardinali D.P., Carreras L.O., Vacas M.I. (1991). Melatonin effect on arachidonic acid metabolism to cyclooxygenase derivatives in human platelets. *Journal of Pineal Research*. 11, 111-115.

Vacas M.I., Del Zar M., Martinuzzo M., Cardinali D.P. (1992). Binding sites for [3H] melatonin in human platelets. *Journal of Pineal Research*. 13, 60-65.

### **LA MELATONINA Y EL SISTEMA GABAÉRGICO CENTRAL. EXPLICACIÓN DE SU ÉXITO EN LAS CAMPAÑAS DE REDUCCIÓN DEL USO DE BENZODIACEPINAS**

Lowenstein P.R., Gonzalez Solveyra C., Cardinali D.P. (1984). Micromolar benzodiazepine binding sites of central type characteristics are present in the cerebral cortex of the rat. *Acta Physiologica et Pharmacologica Latinoamericana*. 34, 441-443.

Lowenstein P.R., Rosenstein R., Cardinali D.P. (1985). Melatonin reverses pinealectomy induced decrease of benzodiazepine binding in rat cerebral cortex. *Neurochemistry International*. 7, 675-681.

Acuña Castroviejo D., Lowenstein P.R., Rosenstein R., Cardinali D.P. (1986). Diurnal variations of benzodiazepine binding in rat cerebral cortex, Disruption by pinealectomy. *Journal of Pineal Research*. 3, 101-109.

Acuña Castroviejo D., Rosenstein R., Romeo H.E., Cardinali D.P. (1986). Changes in gamma-aminobutyric acid high affinity binding to cerebral cortex membranes after pinealectomy or melatonin administration to rats. *Neuroendocrinology*. 43, 24-31.

- Rosenstein R.E., Cardinali D.P. (1986). Melatonin increases in vivo GABA accumulation in rat hypothalamus, cerebellum, cerebral cortex and pineal gland. *Brain Research*. 398, 403-406.
- Rosenstein R.E., Estevez A.G., Cardinali D.P. (1989). Time dependent effect of melatonin on glutamic acid decarboxylase activity and <sup>36</sup>Cl influx in rat hypothalamus. *Journal of Neuroendocrinology*. 1, 443-447.
- Golombek D., Escolar E., Cardinali D.P. (1991). Melatonin induced depression of locomotor activity in hamsters. Time dependency and inhibition by the central type benzodiazepine antagonist Ro 15 1788. *Physiology and Behavior*. 49, 1091-1097.
- Golombek D.A., E. Escolar, Burin L., De Brito Sanchez M., Cardinali D.P. (1991). Time dependent melatonin analgesia in mice, Inhibition by opiate or benzodiazepine antagonism. *European Journal of Pharmacology*. 194, 25-30.
- Golombek D.A., Fernandez Duque D., De Brito Sanchez M. G., Burin L, Cardinali D.P. (1992). Time dependent anticonvulsant activity of melatonin in hamsters. *European Journal of Pharmacology*. 210, 253-258.
- Golombek D.A., Escolar E., Burin L., De Brito Sanchez M.G., Fernandez Duque D., Cardinali D.P. (1992). Chronopharmacology of melatonin. Inhibition by benzodiazepine antagonism. *Chronobiology International*. 9, 124-131.
- Kanterewicz B.I., Golombek D.A., Rosenstein R.E., Cardinali D.P. (1993). Diurnal changes of GABA turnover rate in brain and pineal gland of Syrian hamsters. *Brain Research Bulletin*. 31, 661-666.
- Golombek D.A., Martini M., Cardinali D.P. (1993). Melatonin as an anxiolytic in rats, Time dependence and interaction with the central gabaergic system. *European Journal of Pharmacology*. 237, 231-236.

Golombek D.A., Cardinali D.P. (1993). Melatonin accelerates re entrainment after phase advance of the light dark cycle in Syrian hamsters. Antagonism by flumazenil. *Chronobiology International*, 10, 435-441.

Yannielli P.C., Kanterewicz B.I., Cardinali D.P. (1996). Daily rhythms in spontaneous and diazepam-induced anxiolysis in Syrian hamsters. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 54, 651-656.

Kanterewicz B.I., Rosenstein R.E., Golombek D.A., Yannielli P.C., Cardinali D.P. (1995). Daily variations in GABA receptor function in Syrian hamster cerebral cortex. *Neuroscience Letters*, 200, 211-213.

Yannielli P.C., Kanterewicz B.I., D.P. Cardinali. (1996). Circadian changes in anxiolysis-related behavior of Syrian hamsters. Correlation with hypothalamic GABA release. *Biological Rhythm Research*, 27, 365-373.

### **CUANDO LA PIEDRA DE LA LOCURA ENVEJECE**

Golombek D.A., Rosenstein R.E., Yannielli P.C., Keller Sarmiento M.I., Cardinali D.P. (1997). Aging attenuates diurnal variation in hamster locomotion, anxiolysis and gaba turnover *Neuroscience Letters* 233, 9-12.

Arce A., Castrillón P., Cardinali D.P., Esquifino A.I. (1997). Age-dependent effect of pituitary transplants on immune responses in rat spleen. Modulatory effect of cyclosporine. *Biological Signals* 6, 11-20.

Arce A., Castrillón P., Cardinali D.P., Esquifino A.I. (1997). Age-dependent effect of pituitary transplants on immune responses in rat submaxillary lymph nodes. Modulatory effect of the autonomic nervous system. *Neuroimmunomodulation* 4, 1-11.

Cardinali D.P., Brusco L.I., Selgas L., Esquifino A.I. (1998). Diurnal rhythms in ornithine decarboxylase activity and norepinephrine and acetylcholine synthesis in submaxillary lymph nodes and spleen of young and aged rats during Freund's adjuvant-induced arthritis. *Brain Research*, 789, 283-292.

- Cardinali D.P., Brusco L.I., García Bonacho M., Esquifino A.I. (1998). Effect of melatonin on 24-hour rhythms of ornithine decarboxylase activity and norepinephrine and acetylcholine synthesis in submaxillary lymph nodes and spleen of young and aged rats. *Neuroendocrinology*, 67, 349-362.
- García Bonacho M., Esquifino A.I., Castrillón P., Reyes Toso C., Cardinali D.P. (2000). Age-dependent effect of Freund's adjuvant on 24-hour rhythms in plasma prolactin, growth hormone, thyrotropin, insulin, follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone and testosterone in rats. *Life Sciences* 66, 1969-1977.
- García Bonacho M., Cardinali D.P., Castrillón P., Cutrera R.A., Esquifino A.I. (2001). Aging-induced changes in 24-h rhythms of mitogenic responses, lymphocyte subset populations and neurotransmitter and amino acid content in rat submaxillary lymph nodes during Freund's adjuvant arthritis. *Experimental Gerontology* 36, 267-282.
- Esquifino A.I., García Bonacho M., Arce A., Cutrera R.A., Cardinali D.P. (2001). Age-dependent changes in 24-hour rhythms of thymic and circulating growth hormone and adrenocorticotropin in rats injected with Freund's adjuvant. *Neuroimmunomodulation* 9, 237-246.
- Cano P., Cardinali D.P., Castrillón P., Reyes Toso C., Esquifino A.I. (2001). Age-dependent changes in 24-hour rhythms of catecholamine content and turnover in hypothalamus, corpus striatum and pituitary gland of rats injected with Freund's adjuvant. *BMC Physiology* 1, 14.
- Esquifino A.I., Cano P., F. Chacon, Reyes Toso C., Cardinali D.P. (2002). Effect of aging on 24-hour changes in dopamine and serotonin turnover, and amino acid and somatostatin content, of rat corpus striatum. *NeuroSignals* 11, 336-344.
- Cano P., Cardinali D.P., Jimenez V., Chacon F., Cutrera R.A., Esquifino A.I. (2003). Effect of aging on 24-hour changes in serotonin and dopamine turnover, and somatostatin and amino acid content, of the rat hypothalamus and pituitary gland. *Biological Rhythm Research* 34, 279-294.



Esquifino A.I., Cano P., Reyes Toso C., Cardinali D.P. (2004). Changes of prolactin regulatory mechanisms in aging, 24-hour rhythms of serum prolactin and median eminence and adenohipophysial concentration of dopamine, serotonin,  $\gamma$ -aminobutyric acid, taurine and somatostatin in young and aged rats. *Experimental Gerontology* 39, 45-52.

Cano P., Cardinali D.P., Spinedi E., Esquifino A.I. (2008). Effect of aging on 24-hour pattern of stress hormones and leptin in rats. *Life Sciences* 83, 142-148.

Vigo D.E., Guinjoan S.M., Scaramal M., Nicola Siri L., Cardinali D.P. (2005) Wavelet transform shows age-related changes of heart rate variability within independent frequency components. *Autonomic Neuroscience, Basic and Clinical* 123, 94-100.

Guinjoan S.M., Vigo D.E., Castro M.N., Tateosian E., Chuluyan H.E., Costanzo E., Fahrner R., Grancelli H., Leiguarda R., Cardinali D.P. (2009). Mood, Th-1/Th-2 cytokine profile, and autonomic activity in older adults with acute/decompensated heart failure. Preliminary observations. *World Journal of Biological Psychiatry* 10, 913-917.

### **CONEXIÓN NEUROINMUNE DE LA PIEDRA DE LA LOCURA**

Cardinali D.P., Brusco L.I., García Bonacho M., Esquifino A.I. (1998). Effect of melatonin on 24-hour rhythms of ornithine decarboxylase activity and norepinephrine and acetylcholine synthesis in submaxillary lymph nodes and spleen of young and aged rats. *Neuroendocrinology*, 67, 349-362.

Cardinali D.P., Cutrera R., Castrillón P., Esquifino A.I. (1996). Diurnal rhythms in ornithine decarboxylase activity and norepinephrine and acetylcholine synthesis of rat submaxillary lymph nodes, Effect of pinealectomy, superior cervical ganglionectomy and melatonin replacement. *Neuroimmunomodulation*, 3, 93-101.

Pazo D., Cardinali D.P., García Bonacho M., Reyes-Toso C., Esquifino A.I. (2000). Effect of melatonin treatment on 24-hour variations in hypothalamic serotonin and dopamine turnover during the preclinical phase of Freund's adjuvant arthritis in rats. *Biological Rhythm Research* 32, 202-211.

Esquifino A.I., Cardinali D.P. (1999). Effects of melatonin on 24-h rhythms of neuroendocrine and immune changes in Freund's adjuvant-induced arthritis. *Neuroendocrinology Letters* 20, 163-166.

Castrillon P., Esquifino A.I., Varas A., Zapata A., Cutrera R.A., Cardinali D.P. (2000). Effect of melatonin treatment on 24-hour variations in responses to mitogens and lymphocyte subset populations in rat submaxillary lymph nodes. *Journal of Neuroendocrinology*, 12, 758-765.

Cardinali D.P., Cutrera R.A., García Bonacho M., Esquifino A.I. (1997). Effect of pinealectomy, superior cervical ganglionectomy or melatonin treatment on 24-hour rhythms in ornithine decarboxylase and tyrosine hydroxylase activities of rat spleen. *Journal of Pineal Research* 22, 210-220.

Esquifino A.I., Castrillón P., García Bonacho M., Vara E., Cardinali D.P. (1999). Effect of melatonin treatment on 24-hour rhythms of serum ACTH, growth hormone, prolactin, luteinizing hormone and insulin in rats injected with Freund's adjuvant. *Journal of Pineal Research* 27, 15-23.

Bruno V.A., Scacchi P., Pérez-Lloret S., Esquifino A., Cardinali D.P., Cutrera R.A. (2005). Melatonin treatment counteracts the hyperthermic effect of lipopolysaccharide injection in the Syrian hamster. *Neuroscience Letters* 389, 169-172.

Agrasal C., Esquifino A.I., García Bonacho M., Reyes-Toso C.F., Cardinali D.P. (2001). Effect of melatonin on 24-hour changes in plasma protein levels during the preclinical phase of Freund's adjuvant arthritis in rats. *Chronobiology International* 18, 435-446.

### **LA PIEDRA DE LA LOCURA COMO PERRO DE PAVLOV**

Golombek D.A., Chuluyan H.E., Kanterewicz B.I., Cardinali D.P. (1994). Increased pineal melatonin content coupled to restricted water availability in a pavlovian conditioning paradigm in rats. *Journal of Neural Transmission, Gen. Sect.* 98, 237-246.

## **CUANDO LA MELATONINA LLEGA A LA FARMACIA, MELATOL**

Fainstein I., Bonetto A. J., Brusco L. I., Cardinali D.P. (1997). Effects of melatonin in elderly patients with sleep disturbance. A pilot study. *Current Therapeutic Research* 58, 990-1000.

Monti J.M., Alvarino F., Cardinali D., Savio I., Pintos A.. (1999). Polysomnographic study of the effect of melatonin on sleep in elderly patients with chronic primary insomnia. *Archives of Gerontology and Geriatrics* 28, 85-98.

Brusco L. I., Fainstein I., Márquez M., Cardinali D.P. (1999). Effect of melatonin in selected populations of sleep-disturbed patients. *Biological Signals and Receptors* 8, 126-131.

Fioravanti N. B., Pieroni T., Nosedo C., Cardinali D.P. (1999). Tratamiento de los trastornos del sueño en una población añosa con melatonina. *Geriatría Práctica* 9, 4-8.

Siegrist C., Benedetti C., Orlando A., Beltrán J.M., Tuchscher L., Nosedo C.M.J., Brusco L.I., Cardinali D.P. (2001). Lack of changes in serum prolactin, FSH, TSH and estradiol after melatonin treatment in doses that improve sleep and reduce benzodiazepine consumption in sleep-disturbed, middle aged and elderly patients. *Journal of Pineal Research*, 30, 34-42.

Citera G., Arias M.A., Maldonado- Cocco J.A., Lazaro M.A., Rosemffet M.G., Brusco L.I., Scheines E.J., Cardinali D.P. (2000). The effect of melatonin in patients with fibromyalgia, A pilot study. *Clinical Rheumatology* 19, 9-13.

Cardinali D.P., Gvozdenovich E., Kaplan M.R., Fainstein I., Shifis H.A., Pérez Lloret S., Albornoz L.E., Negri A.. (2002). A double blind-placebo controlled study on melatonin efficacy to reduce anxiolytic benzodiazepine use in the elderly. *Neuroendocrinology Letters* 23, 55-60.

## **LA MELATONINA, EL JET LAG DE BOCA JUNIORS Y LOS VIAJEROS TRANSPOLARES**

Cardinali D.P., Bortman G. P., Liotta G., Pérez Lloret S., Albornoz L. E., Cutrera R. A., Batista J., P. Ortega Gallo. (2002). A multifactorial approach employing melatonin to accelerate resynchronization of

sleep-wake cycle after a 12 time-zone westerly transmeridian flight in elite soccer athletes. *Journal of Pineal Research* 32, 41-46.

Cardinali D.P., Furio A. M., Reyes M. P., Brusco L. I. (2006) The use of chronobiotics in the resynchronization of the sleep/wake cycle. *Cancer Causes & Control* 17, 601-609;

### **LA PIEDRA DE LA LOCURA EN EL SÍNDROME METABÓLICO**

Esquifino A.I., Agrasal C., Velazquez E., Villanúa M., Cardinali D.P. (1997). Effect of melatonin on serum cholesterol and phospholipid levels, and on prolactin, thyroid-stimulating hormone and thyroid hormone levels, in hyperprolactinemic rats. *Life Sciences* 61, 1051-1058.

Reyes Toso C., Rosón M.I., Albornoz L.E., Damiano P.F., Linares L.M., Cardinali D.P. (2002). Vascular reactivity in diabetic rats, effect of melatonin. *Journal of Pineal Research*, 33, 81-86.

Reyes Toso, C.F., Ricci C.R., de Mignone I.R, Reyes P, Linares L.M., Albornoz L.E., Cardinali D.P., Zaninovich A. (2003). In vitro effect of melatonin on oxygen consumption in liver mitochondria of rats. *Neuroendocrinology Letters*, 24, 341-344.

Reyes Toso C., Linares L.M., Ricci C, Arán M., Pinto J.M., Rodríguez R.R., Cardinali D.P. (2004). Effect of melatonin on vascular reactivity in pancreatectomized rats. *Life Sciences* 74, 3085-3092.

Reyes-Toso C. F., Linares L. M., Ricci C. RObaya-Naredo., D., Pinto J. E., Rodríguez R. R., Cardinali D.P. (2005). Melatonin restores endothelium-dependent relaxation in aortic rings of pancreatectomized rats. *Journal of Pineal Research*, 39, 386-391.

Reyes-Toso C. F., Rebagliati I. R., Ricci C. R., Linares L. M., Albornoz L. E., Cardinali D.P., Zaninovich A. (2006). Effect of melatonin treatment on oxygen consumption by rat liver mitochondria. *Amino Acids* 31, 299-302.

- Fideleff H. L., Boquete H., Fideleff G., Albornoz L., Pérez Lloret S., Suarez M., Esquifino A.I., Honfi M., Cardinali D.P. (2006). Gender-related differences in urinary 6-sulfatoxymelatonin levels in obese pubertal individuals. *Journal of Pineal Research* 40, 214-218.
- Reyes-Toso C., Obaya-Naredo D., Ricci C. R., Planells F. M., Pinto J. E., Linares L. M., Cardinali D.P. (2007). Effect of melatonin on vascular responses in aortic rings of aging rats. *Experimental Gerontology* 42 (4) 337-342.
- Reyes-Toso C. F., Linares L. M., Albornoz L. E., Obaya-Naredo D., Wallinger M. L., Ricci C. R., Cardinali D.P. (2006). Comparative effects of melatonin and vitamin E in restoring aortic relaxation in pancreatectomized rats. *Journal of Physiology and Biochemistry* 62, 207-212.
- Subramanian P., Mirunalini S., Pandi-Perumal S.R., Trakht I., Cardinali D.P. (2007). Melatonin treatment improves the antioxidant status and decreases lipid content in brain and liver of rats. *European Journal of Pharmacology* 571, 116-119.
- Subramanian P., Mirunalini S., Dakshayani K, Pandi-Perumal S.R., Trakht I., Cardinali D.P. (2007). Prevention by melatonin of hepatocarcinogenesis in rats injected with N-nitrosodiethylamine. *Journal of Pineal Research*, 43, 305-312 .
- Reyes Toso, C.F., Linares L.M., Witriw A., Vázquez M.B., Ricci C.R., Cardinali D.P. (2007). Antioxidants restore aortic ring relaxation in pancreatectomized rats. *Life Sciences* 81, 1467-1472.
- Subramanian P., Dakshayani K. B., Pandi-Perumal S.R., Trakht I., Cardinali D.P. (2008). 24-Hour rhythms in oxidative stress during hepatocarcinogenesis in rats, effect of melatonin or  $\alpha$ -ketoglutarate. *Redox Report* 13, 78-86.
- Cano P., Jiménez-Ortega V., Larrad Á., Reyes Toso C. F., Cardinali D.P., Esquifino A.I. (2008). Effect of a high-fat diet on 24-hour pattern of circulating levels of prolactin, luteinizing hormone, testosterone, corticosterone, thyroid stimulating hormone and glucose, and pineal melatonin content, in rats. *Endocrine* 33, 118-125.

- Jiménez-Ortega V., Cano P., Cardinali D.P., Esquifino A.I. (2009). 24-Hour variation in gene expression of redox pathway enzymes in rat hypothalamus, effect of melatonin treatment. *Redox Report* 14, 132-138.
- Cano P., Cardinali D.P., Ríos-Lugo M. J., Fernández-Mateos M. P., Reyes Toso C. F., Esquifino A.I. (2009). Effect of a high-fat diet on 24-hour pattern of circulating adipocytokines in rats. *Obesity* 17, 1866-1871.
- Cano P., Cardinali D.P., Jiménez-Ortega V., Ríos-Lugo M.J., Scacchi P.A., Esquifino A.I. (2010). Effect of a high-fat diet on 24-hour pattern in expression of prolactin and redox pathway enzymes in the rat adenohypophysis. *The Open Obesity Journal* 2, 1-9.
- Ríos-Lugo M.J., Cano P., Jiménez-Ortega V., Fernández-Mateos M. P., Scacchi P. A., Cardinali D.P., Esquifino A.I. (2010). Melatonin effect on plasma adiponectin, leptin, insulin, glucose, triglycerides and cholesterol in normal and high fat-fed rats. *Journal of Pineal Research* 49, 342-348.
- Cardinali D.P., Cano P., Jiménez-Ortega V., Esquifino A.I. (2011). Melatonin and the metabolic syndrome. Physiopathologic and therapeutical implications. *Neuroendocrinology* 93, 133-142.
- Cardinali D.P., Scacchi Bernasconi P.A., Reynoso R., Reyes Toso C.F., Scacchi P. (2013). Melatonin may curtail the metabolic syndrome, studies on initial and fully established fructose-induced metabolic syndrome in rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 2502-2514.
- Scacchi Bernasconi P. A., Cardoso N. P., Reynoso R., Scacchi P., Cardinali D.P. (2013). Melatonin and diet-induced metabolic syndrome in rats. Impact on the hypophysial-testicular axis. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 16, 1010-1111.
- Karthikeyan R., Marimuthu G., Sooriyakumar M., BaHammam A. S., Spence D. W., Pandi-Perumal S.R., Brown G. M., Cardinali D.P. (2014). Per3 length polymorphism in patients with type 2 diabetes mellitus. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 18, 145-149.

- Cano P-Barquilla, Pagano E. S., Jiménez-Ortega V., Fernández-Mateos P., Esquifino A.I., Cardinali D.P. (2014). Melatonin normalizes clinical and biochemical parameters of mild inflammation in diet-induced metabolic syndrome in rats. *Journal of Pineal Research*, 57, 280–290.
- Ríos-Lugo M.J., Jiménez-Ortega V., Cano Barquilla P., Fernández Mateos P., Spinedi E. J., Cardinali D.P., Esquifino A.I. (2015). Melatonin counteracts changes in hypothalamic gene expression of signals regulating feeding behavior in high-fat fed rats. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation* 21, 175-183.
- Karthikeyan R., Marimuthu G., Spence D. W., Pandi-Perumal S.R., BaHammam A. S., Brown G. M., Cardinali D.P. (2014). Should we listen to our clock to prevent type 2 diabetes mellitus? *Diabetes Research and Clinical Practice*, 106, 182-90.
- Girotti L., Lago M., Ianovsky O., Carbajales J., Elizari M. V., Brusco L. I., Cardinali D.P. (2000). Low urinary 6-sulphatoxymelatonin levels in patients with coronary artery disease. *Journal of Pineal Research*, 29, 138-142.
- Girotti L., Lago M., Ianovsky O., Elizari M.V., Dini A., Pérez Lloret S., Albornoz L. E., Cardinali D.P. (2003). Low urinary 6-sulphatoxymelatonin levels in patients with severe congestive heart failure. *Endocrine* 22, 245-248.
- Perez Lloret S., García Aguirre A., Cardinali D.P., Toblli J. E.. (2004). Disruption of ultradian and circadian rhythms of blood pressure in non-dipper hypertensive patients. *Hypertension* 44, 1-5.
- D’Negri C.E., Marelich L., Vigo D., Acunzo R.S., Girotti L.A., Cardinali D.P., Nicola Siri L. (2005). Circadian periodicity of heart rate variability in hospitalized angor patients. *Clinical Autonomic Research* 15, 223-232.
- D’Negri C. E., Nicola-Siri L., Vigo D.E., Girotti L. A., Cardinali D.P. (2006). Circadian analysis of myocardial infarction incidence in an Argentine and Uruguayan population. *BMC Cardiovascular Disorders*, 6, 1 [http, //dx.doi.org/10.1186/1471-2261-6-1](http://dx.doi.org/10.1186/1471-2261-6-1).

Perez-Lloret S., Toblli J. E., Cardinali D.P., Malateste J. C., J. Milei. (2008). Nocturnal hypertension defined by fixed cut-off limits is a better predictor of left ventricular hypertrophy than non-dipping. *International Journal of Cardiology*, 127, 387-389.

Perez-Lloret S., Toblli J. E., Cardinali D.P., Milei J. (2010). Gender differences in age-related increase of asleep blood pressure. *Archives of Gerontology and Geriatrics* 50, 319-322.

Vigo D.E., Dominguez J., Guinjoan S.M., Scaramal M., Ruffa E., Solernó J., Nicola Siri L., Cardinali D.P. (2010). Nonlinear analysis of heart rate variability within independent frequency components during the sleep-wake cycle. *Autonomic Neuroscience, Basic and Clinical* 154, 84-88.

Drucaroff L., Ramirez A., Sanchez A., Cardinali DP, Perez-Lloret S. (2014). Assessment of arterial stiffness by 24-hour ambulatory blood pressure monitoring in nocturnal hypertensive or normotensive subjects. *Integrative Medicine International*, 1, 130-135

### **LA MELATONINA, PROTECTOR POTENCIAL EN LA OSTEOPOROSIS PERIMENOPÁUSICA**

Ladizesky M. G., Cutrera R. A., Boggio V., Somoza J., Centrella J. M., Mautalen C., Cardinali D.P. (2001). Effect of melatonin on bone metabolism in ovariectomized rats. *Life Sciences* 70, 557-565.

Ladizesky M.G., Boggio V., Albornoz L.E., Castrillón P., Mautalen C.A., Cardinali D.P. (2003). Melatonin increases oestradiol-induced bone formation in ovariectomized rats. *Journal of Pineal Research* 34, 143-151.

Ladizesky M. G., Boggio V., Cutrera R. A., Mondelo N., Mastaglia S., Somoza J., Cardinali D.P. (2006). Melatonin effect on bone metabolism in rats treated with methylprednisolone. *Journal of Pineal Research* 40, 297-304.

Oliveri B., Pellegrini GG, Di Gregorio S., Wittich A., Cardinali D.P., Zeni S.N. (2008). Daily rhythm in bone resorption in humans, preliminary observations on the effect of hypoparathyroidism or blindness. *Biological Rhythm Research*, 39, 13-19



## **CITOPROTECCIÓN POR MELATONINA EN EL INFARTO DE MIOCARDIO, NEURODEGENERACIÓN E INTOXICACIÓN POR CADMIO Y PESTICIDAS**

Castagnino H., Lago N., Centrella J.M., Calligaris S.D., Fariña S., Sarchi M.I., Cardinali D.P. (2002). Cytoprotection by melatonin and growth hormone in early rat myocardial infarction as revealed by Feulgen DNA staining. *Neuroendocrinology Letters*, 23, 391-395.

Furio A.M., Cutrera R.A., Castillo Thea V. Pérez Lloret S, Riccio P, Caccuri R.L., Brusco L.I., Cardinali D.P. (2002). Effect of melatonin on changes in locomotor activity rhythm of Syrian hamsters injected with beta amyloid peptide 25–35 in the suprachiasmatic nuclei. *Cellular and Molecular Neurobiology* 22, 699-709.

Furio A. M., Fontao R., Falco N., Ruiz J. I., Caccuri R., Cardinali D.P. (2008). Neuroprotective effect of melatonin on glucocorticoid toxicity in the rat hippocampus. *The Open Physiology Journal*, 1, 23-27.

Poliandri A. H., Esquifino A.I., Cano P, Jimenez V, Lafuente A, Cardinali D.P, Duvilanski B. H. (2006). In vivo protective effect of melatonin on cadmium-induced changes in redox balance and gene expression in rat hypothalamus and anterior pituitary. *Journal of Pineal Research* 41, 238-246.

Bongiovanni B., De Lorenzi P., Ferri A., Konjuh C., Rassetto M., Evangelista de Duffard A. M., Cardinali D.P., Duffard R.. (2007). Melatonin decreases the oxidative stress produced by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in rat cerebellar granule cells. *Neurotoxicity Research* 11, 93-99.

Cano P, Poliandri A. H., Jimenez V, Cardinali D.P, Esquifino A.I. (2007). Cadmium-induced changes in Per 1 and Per 2 gene expression in rat hypothalamus and anterior pituitary, Effect of melatonin. *Toxicology Letters* 172, 131-136.

Jiménez-Ortega V, Cardinali D.P, Fernández-Mateos M.P, Ríos-Lugo M J, Scacchi P.A., Esquifino A.I. (2010) Effect of cadmium on 24-hour pattern in expression of redox enzyme and clock genes in medial basal hypothalamus. *Biometals* 23, 327–337.

Jiménez-Ortega V, Cano Barquilla P, Scacchi P. A., Cardinali D.P, Esquifino A.I. (2011). Cadmium-induced disruption in 24-h expression of clock and redox enzyme genes in rat medial basal hypothalamus. Prevention by melatonin. *Frontiers in Neurology (Sleep and Chronobiology)* Mar 16;2, art13, 1-9.

Jiménez-Ortega V, Cano Barquilla P, Fernández-Mateos P, Cardinali D.P, Esquifino A.I. (2012). Cadmium as an endocrine disruptor. Correlation with anterior pituitary redox and circadian clock mechanisms and prevention by melatonin. *Free Radical Biology & Medicine* 53, 2287–2297.

### **LA ESPERANZA DE LA PIEDRA DE LA LOCURA, PREVENCIÓN DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER**

Brusco L.I., Márquez M., Cardinali D.P. (1998) Monozygotic twins with Alzheimer's disease treated with melatonin. Case report. *Journal of Pineal Research* 25, 260-263.

Brusco L.I., Márquez M., Cardinali D.P. (1998). Melatonin treatment stabilizes chronobiologic and cognitive symptoms in Alzheimer's disease. *Neuroendocrinology Letters* 19, 111-115.

Cardinali D.P., Brusco L.I., Liberczuk C., Furio A.M.. (2002). The use of melatonin in Alzheimer's disease. *Neuroendocrinology Letters* 23 (suppl.1), 20-23.

Brusco L.I., Márquez M., Cardinali D.P. (2001). Monozygotic twins with Alzheimer's disease treated with melatonin (update). *Review Series Dementia, Helix Communications* 3, 6-8.

Furio A. I., Brusco L. I., Cardinali D.P., (2007). Possible therapeutic value of melatonin in mild cognitive impairment. A retrospective study. *Journal of Pineal Research* 43, 404-409.

Cardinali D.P., Furio A. M., Brusco L. I. (2010). Clinical aspects of melatonin intervention in Alzheimer's disease progression. *Current Neuropharmacology* 8, 218-227.

Cardinali D.P, Vigo D.E., Olivar N., Vidal M.F., Furio A.M., Brusco L.I. (2012). Therapeutic application of melatonin in mild cognitive impairment. *American Journal of Neurodegenerative Disease* 1, 280-291.

## **LA PIEDRA DE LA LOCURA VIVE EN UNA SOCIEDAD PRIVADA DE SUEÑO**

Blanco M., Kriguer N., Pérez Lloret, S., Cardinali D.P. (2003). Attitudes towards treatment among patients suffering from sleep disorders. A Latin American survey. *BMC Family Practice* 4, 17.

Blanco M., Kriber N., Cardinali D.P. (2004). Encuesta sobre dificultades del sueño en una población urbana latinoamericana. *Revista de Neurología* 39, 115-119.

Pérez Chada, D., Pérez Lloret S., Videla A J., Cardinali D.P., Bergna M. A., Fernández-Acquier M., Larrateguy L., Zabert G. E., Drake C. L. (2007). Sleep disordered breathing and daytime sleepiness are associated with poor academic performance in teenagers. A study using the pediatric daytime sleepiness scale (PDSS). *Sleep* 30, 1698-1703.

Pérez Chada, D., Drake C.L., Pérez-Lloret S., Videla A.J., Cardinali D.P. (2009). Diurnal rhythms, obesity and educational achievement in South American cultures, *International Journal of Neuroscience* 119, 1091-1104.

Pérez Lloret S., Videla A.J., Richaudeau A., Vigo D.E., Rossi M., Cardinali D.P., Pérez Chada, D. (2013). A multi-step pathway connecting short sleep duration to daytime somnolence, reduced attention and poor academic performance. An exploratory cross-sectional study in teenagers. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 9, 469-473.

Diez J.J., Vigo D.E., Pérez Lloret S., Rigtters S., Rolé N., Cardinali D.P., Pérez Chada D. (2011). Sleep habits, alertness, cortisol levels, and cardiac autonomic activity in short distance bus drivers. Differences between morning and afternoon shifts. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 36; 806-811.

Simonelli G, Leanza Y, Boilard A, Hyland M, Augustinavicius J, Cardinali DP, Vallières A, Pérez-Chada D, Vigo. D.E. (2013). Sleep and quality of life in urban poverty, the impact of a slum-housing upgrading program. *Sleep*, 36, 1669-76.

Diez J.J., Vigo D.E., Cardinali D.P., Pérez Chada D. (2014). Sleep habits, daytime sleepiness and working conditions in short-distance bus drivers. *International Journal of Workplace Health Management*, 7, 202-212.

Golombek D., Cardinali D.P., (2014). A time to learn, a time to teach. *Mind, Brain, and Education*, 8, 159-160.

Vigo D.E., Simonelli G., Tuñón I., Pérez Chada D., Cardinali D.P., Golombek D. (2014). School characteristics, child work, and other daily activities as sleep deficit predictors in adolescents from households with unsatisfied basic needs. *Mind, Brain, and Education*, 8, 175-181.

Simonelli G., Patel S.R., Rodríguez-Espínola S., Pérez Chada, D., Salvia A., Cardinali D.P., Vigo D.E. (2015). Sleep and neighborhood safety in a Latin American Country. *Sleep Health*, 1, 98–103.

### **NEUROENDOCRINOLOGÍA PERIFÉRICA, UNA PREGUNTA VIGENTE**

Cardinali D.P., Vacas M.I., Fortis A. L., Stefano F. J. (1981). Superior cervical ganglionectomy depresses norepinephrine uptake, increases the density of  $\alpha$  adrenoceptor sites and induces supersensitivity to adrenergic drugs in rat medial basal hypothalamus. *Neuroendocrinology*. 33, 199-206.

Pisarev M.A., Cardinali D.P., Juvenal G.J., Vacas M.I., Barontini M., Boado R.J.. (1981). Role of the sympathetic nervous system in the control of the goitrogenic response in the rat. *Endocrinology*. 109, 2202-2207.

Gejman P.V., Cardinali D.P., Finkielman S., Nahmod V.E.. (1981). Changes in drinking behavior caused by superior cervical ganglionectomy and pinealectomy in rats. *Journal of the Autonomic Nervous System*. 4, 249-259.

Cardinali D.P., Pisarev M.A., Barontini M., Juvenal G.J., Boado R.J., Vacas M.I. (1982). Efferent neuroendocrine pathways of sympathetic superior cervical ganglia. Early depression of the pituitary thyroid axis after ganglionectomy. *Neuroendocrinology*. 35, 248-254.

- Vacas M.I., Keller Sarmiento M.I., Pereyra E., Cardinali D.P. (1982). Early changes in cAMP and melatonin levels of rat pineal gland after superior cervical ganglionectomy. *Neuroendocrinology Letters*. 4, 267-271.
- Gejman P.V., Cardinali D.P. (1983). Hormone effects on muscarinic cholinergic binding in bovine and rat sympathetic superior cervical ganglia. *Life Sciences*. 32, 965-972.
- Pisarev M.A., Cardinali D.P., Juvenal G.J., Boado R.J., Barontini M., Vacas M.I. (1983). Ipsilateral thyroid growth and depressed thyroid hormone synthesis and content after unilateral superior cervical ganglionectomy in rats. *Acta Physiologica Latinoamericana*. 33, 165-170.
- Chiocchio S.R., Cardinali D.P., Vacas M.I., Tramezzani J.H. (1984). Acute superior cervical ganglionectomy depresses the postcastration rise of gonadotropins in male rats. *Brain Research*. 309, 354-356.
- Cardinali D.P., Ladizesky M.G.. (1985). Changes in parathyroid hormone and calcium levels after superior cervical ganglionectomy of rats. *Neuroendocrinology*. 40, 291-296.
- Romeo H.E., Boado R.J., Cardinali D.P. (1985). Role of the sympathetic nervous system in the control of compensatory thyroid growth of normal and hypophysectomized rats. *Neuroendocrinology*. 40, 309-315.
- Cardinali D.P., Boado R.J., Vacas M.I., Deza S.. (1986). Changes in growth hormone and prolactin release after superior cervical ganglionectomy of rats *Brain Research*. 363, 350-353.
- Cardinali D.P., Romeo H.E., Boado R.J., Deza S. (1986). Early inhibition and changes in diurnal rhythmicity of pituitary thyroid axis after superior cervical ganglionectomy of rats. *Journal of the Autonomic Nervous System*. 16, 13-21.
- Cardinali D.P., Sartorio G., Ladizesky M.G., Guillen C.G., Soto R.J. (1986). Changes in calcitonin release during sympathetic nerve degeneration after superior cervical ganglionectomy of rats. *Neuroendocrinology*. 43, 498-503.

- Romeo H.E., Gonzalez Solveyra C., Vacas M.I., Rosenstein R.E., Barontini M., Cardinali D.P. (1986). Origins of the sympathetic projections to rat thyroid and parathyroid glands. *Journal of the Autonomic Nervous System*.17, 63-70.
- Romeo H.E., Cardinali D.P., Boado R.J., Zaninovich A.A. (1986). Effect of superior cervical ganglionectomy on thyroidectomy induced increase of serum TSH and on survival of rats in a cold environment. *Neuroendocrinology Letters*. 8, 269-273.
- Romeo H.E., Since J., Mautalen C.A., Slatopolsky E, Cardinali D.P. (1987). Effect of superior cervical ganglionectomy on serum calcium and PTH levels in hemi-parathyroidectomized rats. Ladizesky M.G., *Neuroendocrinology Letters*. 9, 99-103.
- Barontini M., Romeo H.E. Armando A, Cardinali D.P. (1988). 24 Hour changes in catecholamine content of rat thyroid and submaxillary glands. *Journal of Neural Transmission*. 71, 189-194.
- Garcia J.B., Romeo H.E., Basabe J. C., Cardinali D.P. (1988). Effect of superior cervical ganglionectomy on insulin release by murine pancreas slices. *Journal of the Autonomic Nervous System*.22, 159-166.
- Romeo H.E., Diaz M. C., Ceppi J., Zaninovich A. A., Cardinali D.P. (1988). Effect of inferior laryngeal nerve section on thyroid function in rats. *Endocrinology*. 122, 2527-2532.
- Cardinali D.P., Romeo H.E., C. Ochatt, Moguilevsky J. A.. (1989). Estrous cycle delay and inhibition of gonadotropin and prolactin release during sympathetic nerve degeneration after superior cervical ganglionectomy of rats. *Neuroendocrinology*. 50, 59-65.
- Romeo H, Spinedi E., Vacas M.I., Estivariz F., Cardinali D.P. (1990). Increase in adrenocorticotropin release during wallerian degeneration of peripheral sympathetic neurons after superior cervical ganglionectomy of rats. *Neuroendocrinology*. 51, 213-218.

- Ladizesky M.G., Diaz M. C., Zeni S., Romeo H.E., Cardinali D.P., Mautalen C. A.. (1991). Compensatory parathyroid hypertrophy after hemiparathyroidectomy in rats feeding a low calcium diet. *Calcified Tissue International* 48, 63-67.
- Boado R.J., Romeo H.E., Chuluyan H.E., Callao L., Cardinali D.P., Zaninovich A. A.. (1991). Evidence suggesting that the sympathetic nervous system mediates thyroidal depression in turpentine induced nonthyroidal illness syndrome. *Neuroendocrinology*. 53, 360-364.
- Romeo H.E., Arias P., Szwarcfarb B., Moguilevsky J. A., Cardinali D.P. (1991). Hypothalamic luteinizing hormone releasing hormone content and serum luteinizing hormone levels in male rats during wallerian degeneration of sympathetic nerve terminals after superior cervical ganglionectomy. *Journal of Neural Transmission Gen Sect.* 85, 41-49.
- Romeo H.E., Spinedi E., Esquifino A.I., Estivariz F., Cardinali D.P. (1991). Anterograde nerve degeneration after superior cervical ganglionectomy co exists with a decrease of arginine vasopressin release in rats. *Neuroendocrinology*. 54, 346-352.
- Landa M. E., Gonzalez Burgos G., Cardinali D.P. (1991). In vitro effect of thyroxine on cholinergic neurotransmission in rat sympathetic superior cervical ganglion. *Neuroendocrinology*. 54, 552-558.
- Gonzalez Burgos G., Rosenstein R., Cardinali D.P. (1992). Neurochemical evidence for a neuronal gabaergic system in the rat sympathetic superior cervical ganglion. *Journal of Neural Transmission, Gen Sect.* 89, 27-40.
- Stern J.E., Ladizesky M.G., Keller Sarmiento M.I., Cardinali D.P. (1993). Involvement of the cervical sympathetic nervous system in the changes of calcium homeostasis during turpentine oil induced stress in rats. *Neuroendocrinology*. 57, 381-387.

- Stern J.E., Ladizesky M.G., Keller Sarmiento M.I., Cardinali D.P. (1993). Effect of sympathetic superior cervical ganglion ablation on parathyroid hormone and calcium levels in the rat. *Neuroendocrinology Letters*. 15, 221-226.
- Stern J.E., Keller Sarmiento M.I., Cardinali D.P. (1994). Parasympathetic control of parathyroid hormone and calcitonin secretion in rats. *Journal of the Autonomic Nervous System*. 48, 45-53.
- Cardinali D.P., Esquifino A.I., Arce A., Vara E., Ariznavarreta C., Tresguerres J. A. F. (1994). Changes in serum growth hormone and prolactin levels, and in hypothalamic growth hormone-releasing hormone, thyrotropin hormone-releasing hormone and somatostatin content after superior cervical sympathectomy in rats. *Neuro-endocrinology*. 59, 42-48.
- González Burgos G. R., Rosenstein R.E., Cardinali D.P. (1994). Daily changes in presynaptic cholinergic activity of rat sympathetic superior cervical ganglion. *Brain Research*. 636, 181-186.
- Rossano G.L., Stern J.E., Justo S. N., Szwarcfarb B., Moguilevsky J. A., Cardinali D.P. (1994). Peripheral autonomic regulation of gonadotropin secretion in pubertal rats. Inhibition of post castration rise of gonadotropins during wallerian degeneration after sympathetic superior cervical ganglionectomy. *Journal of Neural Transmission, General Section*. 96, 41-50.
- Stern J.E., Cardinali D.P. (1994). Influence of the autonomic nervous system on calcium homeostasis in the rat. *Biological Signals*. 3, 15-25.
- Stern J.E., Cardinali D.P. 1994. Effect of parathyroid hormone and calcitonin on acetylcholine release in rat sympathetic superior cervical ganglion. *Brain Research*. 650, 267-274.
- Gonzalez Burgos G. B., Biali F. I., Nicola Siri L. C., Cardinali D.P. (1994). Effect of  $\gamma$ -aminobutyric acid on synaptic transmission and long-term potentiation in rat superior cervical ganglion. *Brain Research*. 658, 1-7.



- Martín A.I., López-Calderón A., Tresguerres J.A.F., González-Quijano M.I., Cardinali D.P., (1995). Restraint-induced changes in serum luteinizing hormone, prolactin, growth hormone and corticosterone levels in rats, Effect of superior cervical ganglionectomy. *Neuroendocrinology*, 61, 173-179.
- Stern J.E., Cardinali D.P. (1995). Effect of parathyroid hormone and calcitonin on cholinergic markers in rat parathyroid gland. *Journal of Neuroendocrinology*, 7, 689-693.
- Esquifino A.I., Arce A., Muñoz R.M., Villanúa M.A., Cardinali D.P. (1996). Changes in mediobasal hypothalamic dopamine and indoleamine metabolism after superior cervical ganglionectomy of rats. *Journal of Neural Transmission, Gen. Sect.* 103, 287-298.
- Stern J.E., Esquifino A.I., García Bonacho M., Cardinali D.P. (1997). The influence of cervical sympathetic neurons on parathyroid hormone and calcitonin release in the rat. Independence of pineal mediation. *Journal of Pineal Research* 22, 9-15.
- Gil-Loyzaga P., Vicente-Torres M.A., Arce A., Cardinali D.P., Esquifino A.I. (1998). Effect of superior cervical ganglionectomy on catecholamine concentration in rat cochlea. *Brain Research* 779, 53-57.
- Ladizesky M.G., Cutrera R.A., Boggio V., Mautalen C., Cardinali D.P. (2000). Effect of unilateral superior cervical ganglionectomy on bone mineral content and density of rat's mandible. *Journal of the Autonomic Nervous System* 78, 113-116.
- Ladizesky M.G., Lama M. A., R. A. Cutrera, Boggio V., Giglio M. J., Cardinali D.P. (2001). Effect of unilateral superior cervical ganglionectomy on mandibular incisor eruption rate in rats. *Autonomic Neuroscience, Basic and Clinical* 93, 65-70.
- Ladizesky M.G., Lama M.A., Roldán E.J.A. Cutrera., R.A, Boggio V., Giglio M.J., Cardinali D.P., (2003). Effect of unilateral superior cervical ganglionectomy on mandibular bone in rats. *Neuroendocrinology Letters*, 24, 314-320.

- Alito A. E., Romeo H.E., Baler R., Chuluyan H.E., Braun M., Cardinali D.P. (1987). Autonomic nervous system regulation of murine immune responses as assessed by local surgical sympathetic or parasympathetic denervation. *Acta Physiologica et Pharmacologica Latinoamericana*. 37, 305-319.
- Esquifino A.I., Rosenstein R.E., Stern J., Cardinali D.P. (1991). Effect of cyclosporine on ornithine decarboxylase activity in rat submaxillary lymph nodes, Modulation by sympathetic nerves. *European Journal of Pharmacology*. 197, 161-165.
- Romeo H.E., Colombo L. L., Esquifino A.I., Rosenstein R.E., Chuluyan H.E., Cardinali D.P. (1991). Slower growth of tumors in sympathetically denervated murine skin. *Journal of the Autonomic Nervous System*. 32, 159-164.
- Esquifino A.I., Arce A., Stern J.E., Cardinali D.P. (1995). Effect of stress and cyclosporine on ornithine decarboxylase activity in rat submaxillary lymph nodes. *European Journal of Pharmacology*, 285, 143-149.
- Cardinali D.P., Della Maggiore V., Selgas L., Esquifino A.I. (1996). Diurnal rhythm in ornithine decarboxylase activity and noradrenergic and cholinergic markers in rat submaxillary lymph nodes. *Brain Research*, 711, 153-162.
- Arce A., Castrillón P., Cardinali D.P., Esquifino A.I. (1997). Effect of local autonomic denervation on in vitro responsiveness of lymphocytes from rat submaxillary lymph nodes. *Journal of the Autonomic Nervous System* 62, 155-162.
- Esquifino A.I., Selgas L., Della Maggiore V., Castrillón P.O., Cardinali D.P. (1997). Diurnal changes in cyclosporine effect on ornithine decarboxylase and noradrenergic and cholinergic activities in submaxillary lymph nodes. *European Journal of Pharmacology* 319, 181-189.
- Castrillón P. O., Arce A., García Bonacho M., Cardinali D.P., Esquifino A.I. (1998). Acute and chronic effects of superior cervical ganglionectomy on in vitro mitogenic responses of lymphocytes from submaxillary lymph nodes of pituitary-grafted rats. *Biological Signals and Receptors* 7, 25-32.

Esquifino A.I., Pazo D., Castrillón P., Cano P., Arce A., Cardinali D.P. (2000). Differential effect of interferon-gamma on mitogenic responses in sympathetically-denervated submaxillary lymph nodes of rats. *Journal of Neuroimmunology*, 105, 1-6.

Esquifino A.I., Castrillón P., Chacon F., Cutrera R.A., Cardinali D.P. (2001). Effect of local sympathectomy on 24-hour changes in mitogenic responses and lymphocyte subset populations in rat submaxillary lymph nodes during the preclinical phase of Freund's adjuvant arthritis. *Brain Research* 888, 227-234.

Castrillón P., Cardinali D.P., Arce A., Cutrera R.A., Esquifino A.I. (2000). Interferon-gamma release in sympathetically-denervated rat submaxillary lymph nodes. *Neuroimmunomodulation* 8, 197-202.

Castrillón P., Cardinali D.P., Pazo D., Cutrera R.A., Esquifino A.I. (2001). Effect of superior cervical ganglionectomy on 24-h variations in hormone secretion from anterior hypophysis and in hypothalamic monoamine turnover, during the preclinical phase of Freund's adjuvant arthritis in rats. *Journal of Neuroendocrinology* 13, 288-295.

Esquifino A.I., Castrillón P., Arce A., Cutrera R.A., Cardinali D.P. (2001). Effect of parasympathetic decentralization on interferon-gamma release from rat submandibular lymph nodes in vitro. *Autonomic Neuroscience, Basic and Clinical* 91, 10-15.

# CINCUENTA AÑOS CON LA PIEDRA DE LA LOCURA

## Apuntes Autobiográficos de un Científico Argentino

He escrito este relato movido por el irrefrenable deseo que acaece hacia el final de la vida de recapitular lo pasado. Mi objetivo es resumir para posibles interesados de las jóvenes generaciones cómo fue mi experiencia de practicar ciencia en la parte final del siglo '20 y principios del '21 en la Argentina. Lo hice a partir de relatar los vericuetos de la glándula pineal como entidad histórica, mística y médica y su entrada en la medicina contemporánea con la descripción de la melatonina. Traté de reflejar cómo impacta en la vida de un científico la fortuna de haberse vinculado en el inicio de su carrera con un tema inexplorado. Hoy sabemos que en el hombre la melatonina pineal comienza a liberarse cada día hacia el atardecer y existen pruebas de que ella es el disparo del proceso del sueño. Pero el aspecto más apasionante de la melatonina es que se trata de una sustancia que está presente en todos los seres vivos, desde los unicelulares, pasando por las plantas, a los mamíferos superiores, una prueba irrefutable de su importancia para la vida. La acción neuroprotectora de la melatonina promete ser crucial para el control de las enfermedades neurodegenerativas que enfrentamos como pandemia en este siglo. El descubridor de la melatonina, Aaron Lerner, la bautizó con ese nombre (melano, en griego, negro) por su acción sobre las células pigmentarias de la piel. Como *"La vie en rose"*, la inmortal canción que Édith Piaf escribió en 1946, mi vida con la melatonina podría bien llamarse *"Ma vie en noir"*.

**Daniel Pedro Cardinali**

ISBN Nº 978-987-28123-5-5