

Sıçanlarda ovarektominin ve ovarektomi sonrası uygulanan östrojenin pineal bez üzerine etkisi: Işık mikroskopik çalışma

İlter KUŞ*, Hakan ÖNER**, Ahmet SONGUR*, Mustafa SARSILMAZ*

* Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, ELAZIĞ

** Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, ELAZIĞ

ÖZET

Bu çalışma, ovarektominin ve ovarektomi sonrası uygulanan östrojenin pineal bez üzerine etkisinin ışık mikroskop düzeyde araştırılması amacıyla yapıldı. Bu amaçla 15 adet Wistar-Albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Hayvanlar üç gruba ayrıldı. Grup I ve Grup II sırasıyla kontrol (Sham-ovarektomi) ve ovarektomili sıçanlar olarak düzenlendi. Bu hayvanlara günlük olarak ve derialtı yolla 0.1 ml susamyağı enjekte edildi. Grup III deki sıçanlara da ovarektomi sonrası günlük olarak ve derialtı yolla 0.1 ml susam yağı içerisinde 0.5 mg Estradiol Beonzoate enjekte edildi. Bir aylık deney süresi sonunda tüm hayvanlar vasküler perfüzyonla öldürüldü. Sıçanların pineal bezleri çıkartılarak rutin histolojik yöntemlerle ışık mikroskopik preparatları hazırlandı. Çalışmamızda, ovarektomi sonrası pinealositlerde hipertrofinin olduğu ve bez yapısında lipid damlacıklarında artış meydana geldiği gözlemlendi. Ovarektomi sonrası östrojen enjeksiyonu sonucunda ise, ovarektomi sonrası gözlenen hipertrofinin ve lipid damlacıklarındaki artışın kaybolduğu tespit edildi. Ayrıca, parankimal hücreler arasındaki bağ dokuda artış gözlemlendi. Sonuç olarak, ovarektomi sonrası pinealosit hücre aktivasyonunda artış meydana geldiği ve bu artışın östrojen enjeksiyonu ile baskılandığı görüldü.

Anahtar Kelimeler: Sıçan, pineal bez, ovarektomi, östrojen, ışık mikroskop

SUMMARY

Effect of ovariectomy and ovariectomy followed by administration of estrogen on the pineal gland: A light microscopic study.

This study was aimed to examine the effects of ovariectomy and ovariectomy followed by estrogen administration on the pineal gland by light microscopy. For this purpose 15 female Wistar rats were used. Animals were divided into three groups. Group I and II were designated as sham-ovariectomised (Control) and ovariectomised, respectively. They received sesame oil (0.1 ml subcutaneously) alone. The rats in Group III were ovariectomised and daily injected with Estradiol Benzoate (0.5 mg/0.1 ml sesame oil per day s.c) for 1 months. At the end, all animals were killed by vascular perfusion. The pineal glands of rats were removed, then processed for light microscopy. Ovariectomy caused hypertrophy in pinealocytes and an increase of lipid droplets in the structure of pineal gland. It was observed that Estradiol administration following ovariectomy inhibited ovariectomy induced hypertrophy and increase of lipid droplets. Additionally, the connective tissue between parenchymal cells was increased in this group. In conclusion, increased of cell activity was seen in the pinealocytes after ovariectomy and this increase was suppressed following the administration of Estradiol benzoate.

Key Words: Rat, pineal gland, ovariectomy, estrogen, light microscopy

Pineal bez parankimasında pinealositler ve glia hücreleri olmak üzere iki tip hücre bulunur. Nöroendokrin fonksiyona sahip olan pinealositlerden melatonin, serotonin ve bazı pineal peptidleri salgılanmaktadır. Glia hücreleri ise destekleyici hücrelerdir (1-5).

Melatonin hormonunun hipotalamus-hipofiz-gonadlar sistemi üzerinde inhibitör bir etkiye sahip olduğu kabul edilmektedir. Pineal bezin çıkartılması durumunda gonadal fonksiyonlarda artış meydana geldiği bildirilmiştir (4, 6-11). Diğer yandan gonadal hormonların da pineal bez yapısında ve fonk-

Haberleşme Adresi: Dr. İlter KUŞ, F.Ü.T.F. Anatomi Anabilim Dalı, ELAZIĞ

Geliş Tarihi : 27.07.2001

Yayına Kabul Tarihi : 16.10.2001

siyonlarında değişikliklere neden olduğu belirtilmiştir (8). Gonadal hormonların (androjen, östrojen) ve gonadotropinlerin (FSH, LH) pineal bezdeki spesifik reseptörlerine bağlanmak suretiyle melatonin sekresyonunu etkilediği ifade edilmiştir (12). Morfolojik ve biyokimyasal olarak yapılan çalışmalarda, gonadektomi sonrası pinealositlerin aktivasyonunda artış meydana geldiği, gonadal hormon uygulaması ile de bu aktivasyon artışının baskılandığı gösterilmiştir (10, 13-22). Klinik olarak da bu görüşü destekleyen çalışmalar (7, 23-26) bulunmasına rağmen, tamamen aksi yönde bir görüşü ortaya koyan çalışmalar da mevcuttur (27-36).

Çalışmamızda ovarektominin ve ovarektomi sonrası uygulanan östrojen hormonunun pineal bez üzerine etkisinin ışık mikroskop düzeyde incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya 150-180 gr ağırlığında toplam 15 adet Wistar-Albino cinsi dişi sıçan alındı. Hayvanlar üç gruba ayrıldı. Grup I (n=5) ve Grup II (n=5) sırasıyla kontrol (Sham-ovarektomi) ve ovarektomili sıçanlar olarak düzenlendi. Bu hayvanlara günlük olarak ve derialtı yolla sadece 0.1 ml susam yağı enjekte edildi. Grup III'deki (n=5) sıçanlarada ovarektomi sonrası günlük olarak ve derialtı yolla 0.1 ml susam yağı içerisinde 0.5 mg dozunda östrojen hormonu (Estradiol Benzoate, Sigma Chemical Co.) bir ay süresince enjekte edildi. Deney süresi sonunda kontrol grubuna ait sıçanlarda vaginal smear yapılarak siklusun östrus evresinde bulunan hayvanlar ışık mikroskopik çalışma için ayrıldı. Östrus evresinde bulunan kontrol sıçanlar ile birlikte diğer iki gruba ait bütün hayvanlar Rompun/Ketamin kombinasyonu ile genel anestezi altına alındıktan sonra, 0.2 M fosfat tamponunda hazırlanmış %2.5'lük glüteraldehit kullanılarak vasküler perfüzyonla öldürüldü. Hayvanların pineal bezleri çıkartıldıktan sonra bir bölümü normal ışık mikroskopik prosedürlerden geçirilerek parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak haematoxylen-eosine ile boyandı. Pineal doku örneklerinin bir kısmından da yarı-ince kesitler hazırlanarak toluidin blue ile boyandı. Hazırlanan ışık mikroskopik preparatlar Olympus BH-2 araştırma mikroskopunda incelendi.

BULGULAR

Kontrol (Sham-ovarektomi) grubuna ait sıçanların pi-

neal bezleri normal görünümdeydi. Pineal bez parankimasında pinealositler ve glia hücreleri gözlemlendi. Pinealosit çekirdekleri daha iri ve ökromatikti. Hücre sitoplazmalarında soluk renkte boyanmıştı. Glia hücre çekirdekleri ise kromatinin yoğunluğundan dolayı koyu renkte boyanmıştı. Hücre sitoplazmasında koyu görünümüydü. Parankimal hücreler arasında da kapillerler gözlemlendi (Şekil 1, 2).

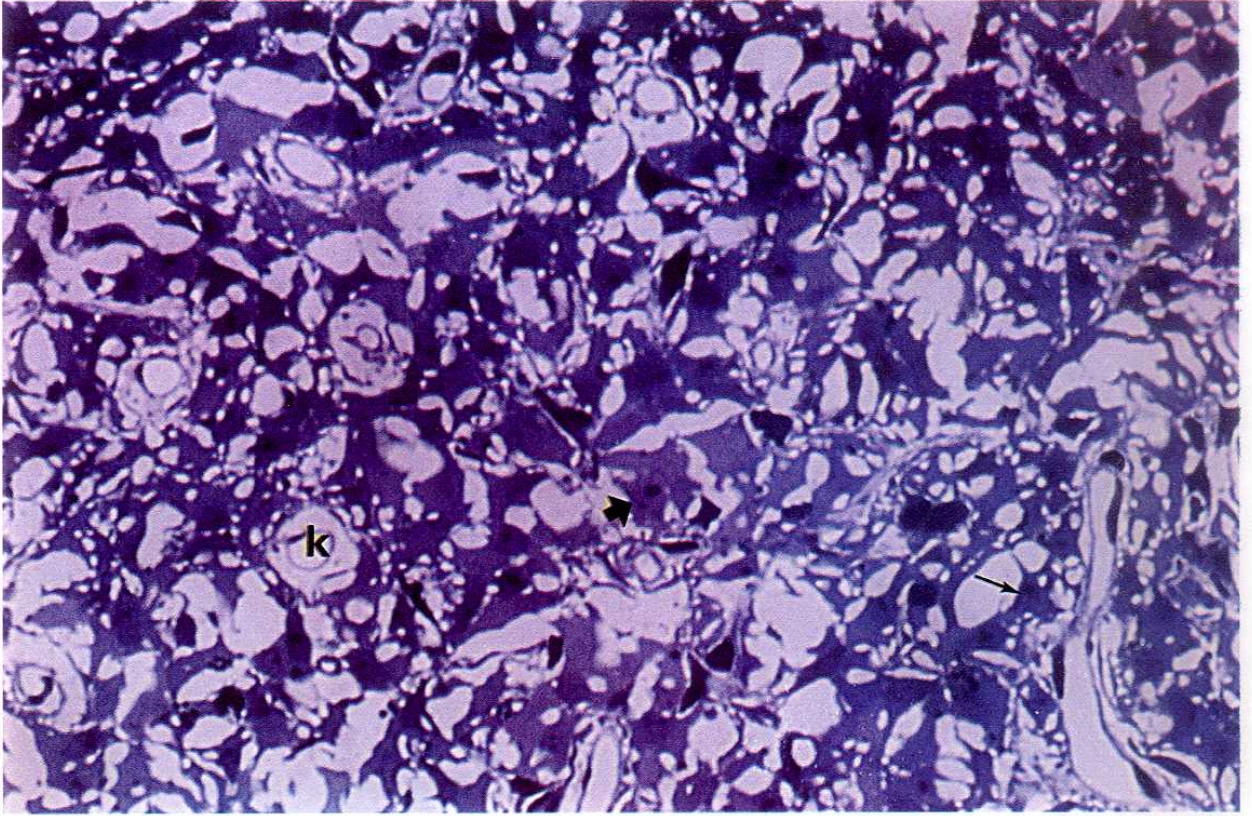
Ovarektomi sonrası pineal dokusu incelendiğinde, pinealositlerde hipertrofinin meydana geldiği gözlemlendi (Şekil 3). Bez yapısında yoğun olarak pinealositlerin mevcut olduğu dikkati çekti (Şekil 4, 5). Pinealosit hücre çekirdeklerinin kontrol grubuna göre daha geniş olduğu ve bazı çekirdeklerin çift çekirdekçik ihtiva ettiği tespit edildi (Şekil 4). Ayrıca lipid damlacıklarında belirgin bir şekilde artışın olduğu gözlemlendi (Şekil 3, 4, 6).

Ovarektomi sonrası östrojen uygulanan grupta ise, ovarektomi sonrası oluşan hipertrofinin kaybolduğu ve lipid damlacıklarındaki artışın azaldığı tespit edildi (Şekil 7). Ayrıca parankimal hücreler arasında ayrılmaların yanısıra bağ dokusunda artışın olduğu dikkati çekti (Şekil 8).

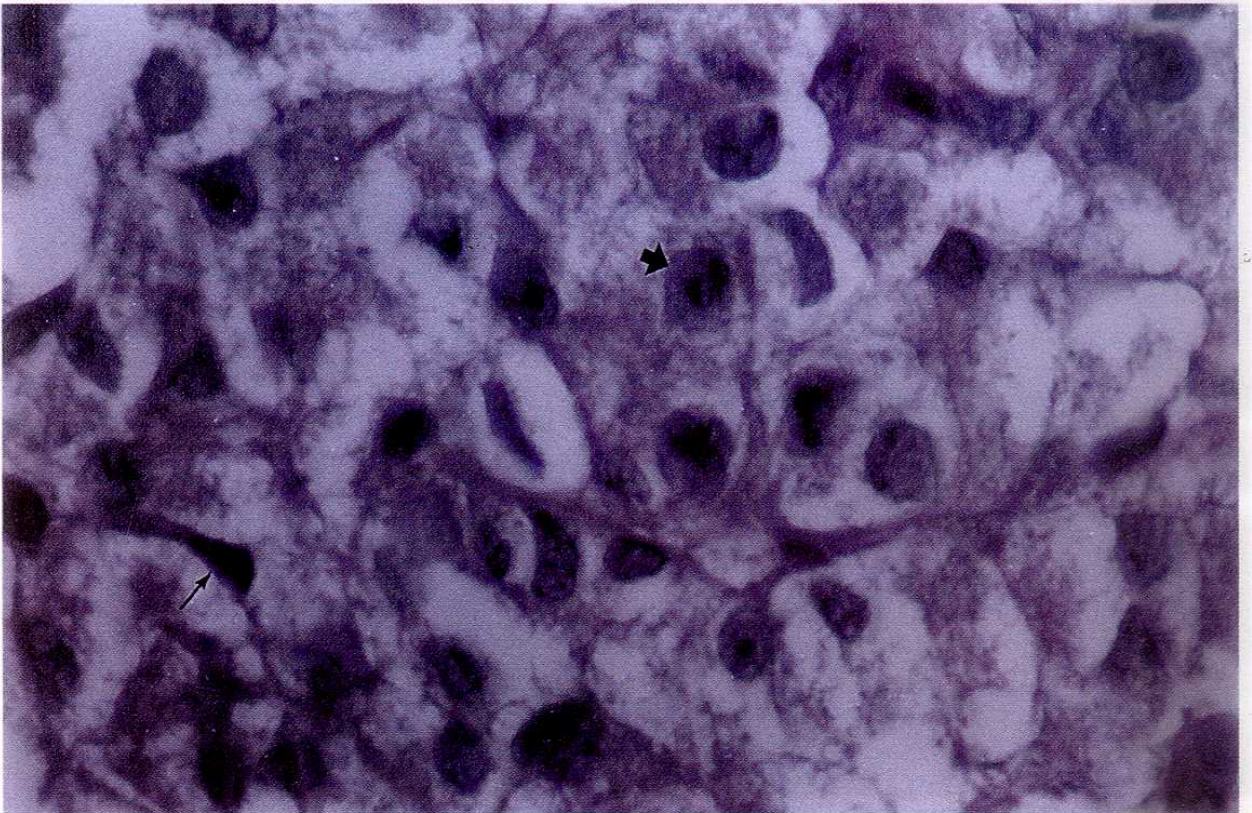
TARTIŞMA VE SONUÇ

Gonadal hormonların pineal bez yapısında ve fonksiyonlarında değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir (8). Morfolojik ve biyokimyasal olarak yapılan bir çok deneysel çalışmada (10, 13-22), gonadektomi sonrası pinealositlerin aktivasyonunda artış meydana geldiği, gonadal hormon enjeksiyonu ile de bu aktivasyon artışının baskılandığı belirtilmiştir. Klinik olarak da bu görüşü destekleyen çalışmalar mevcuttur (7, 23-26).

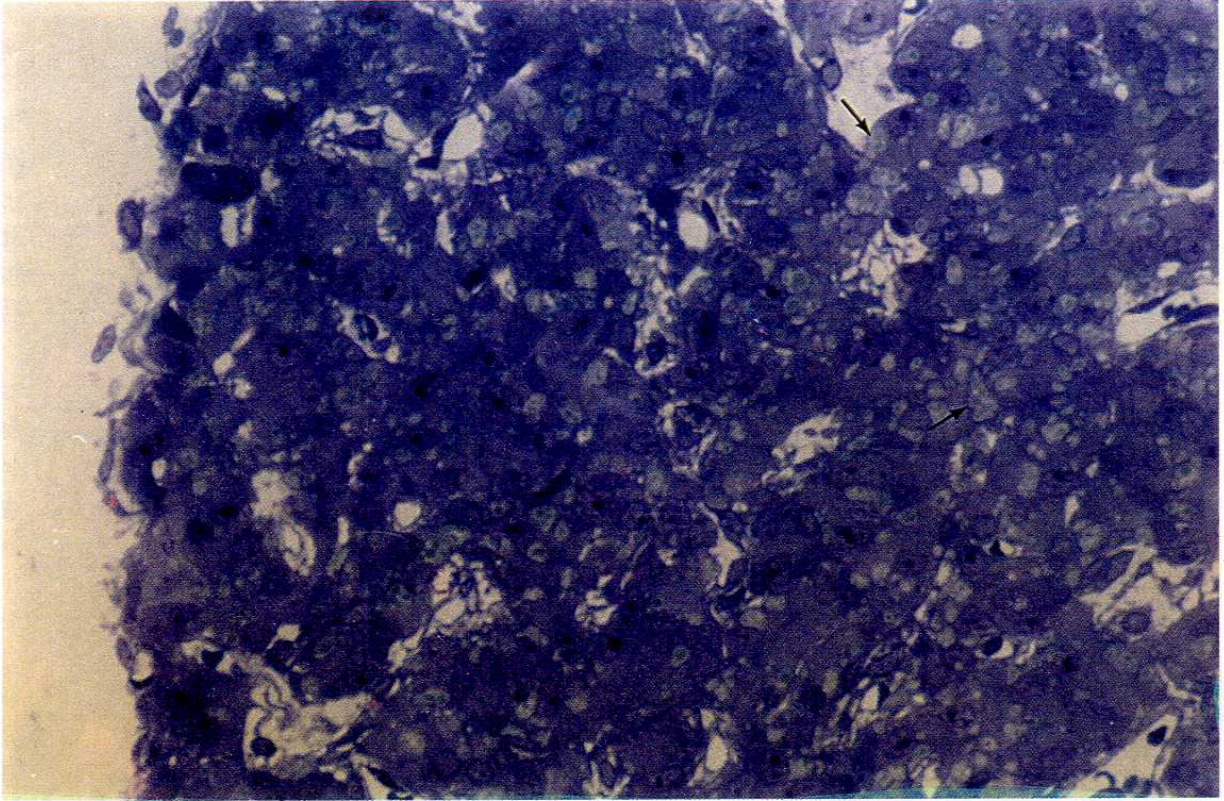
Yaptığımız bu çalışmada da, ovarektomi sonrası pinealositlerin aktivasyonunda artış meydana geldiği ve bu artışın östrojen enjeksiyonu ile baskılandığına dair mikroskopik değişiklikler gözlemlendi. Karasek ve ark. (16), sıçanlar üzerinde yaptıkları elektron mikroskopik çalışmalarında, gonadektomi sonrası pinealositlerde protein sentezi artışını gösteren ultrastruktürel değişiklikler gözlemişlerdir. Daha önce erkek sıçanlar üzerinde yaptığımız bir çalışmada da (10), orşidektomili sıçanların pinealosit sitoplazmalarında mitokondri, lipid damlacıkları, sitoplazmik yoğun cisimciklerde artış meydana geldiği ve sitoplazmada yaygın olarak lizozomların bulunduğunu gözlemledik. Benzer şekilde Pevet ve ark.



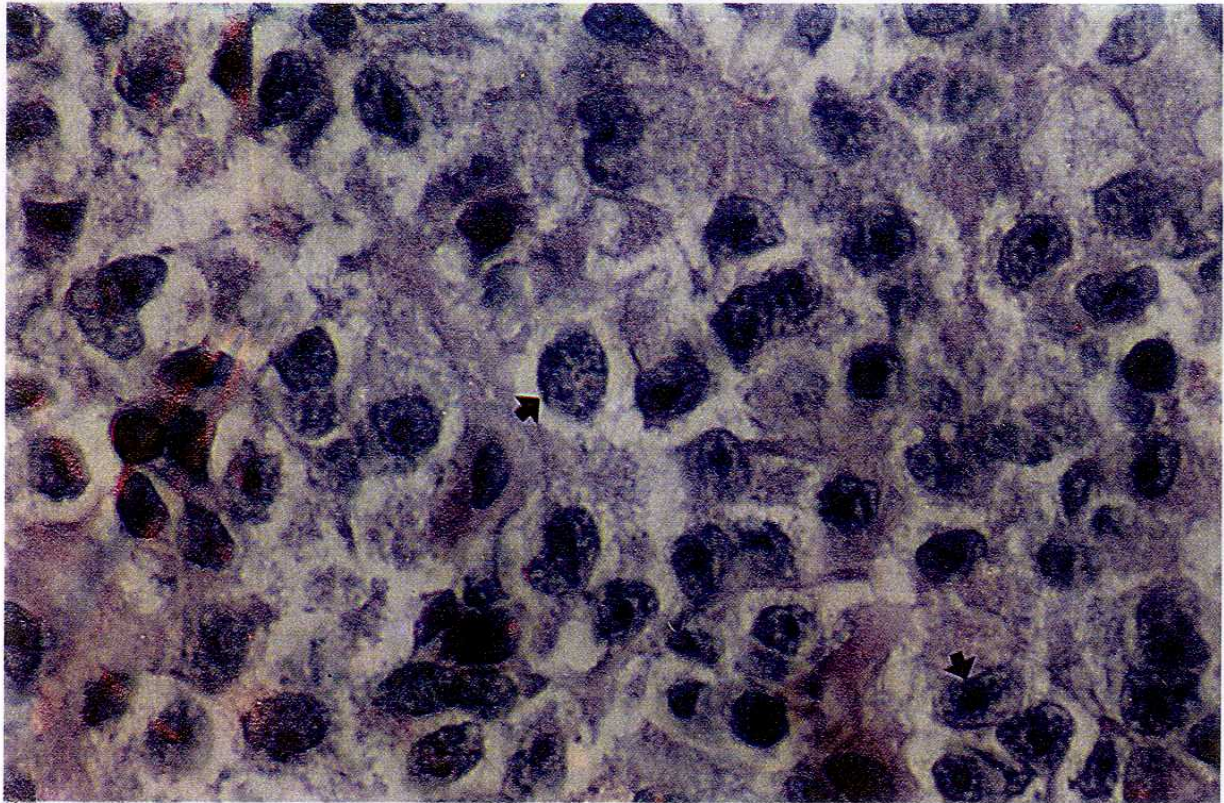
Şekil 1: Kontrol (Sham-ovarektomi) grubunun toluidin blue ile boyanmış yarı ince kesit görünümü. (→): pinealositler, (→): glia hücreleri, (k): kapiller. X40.



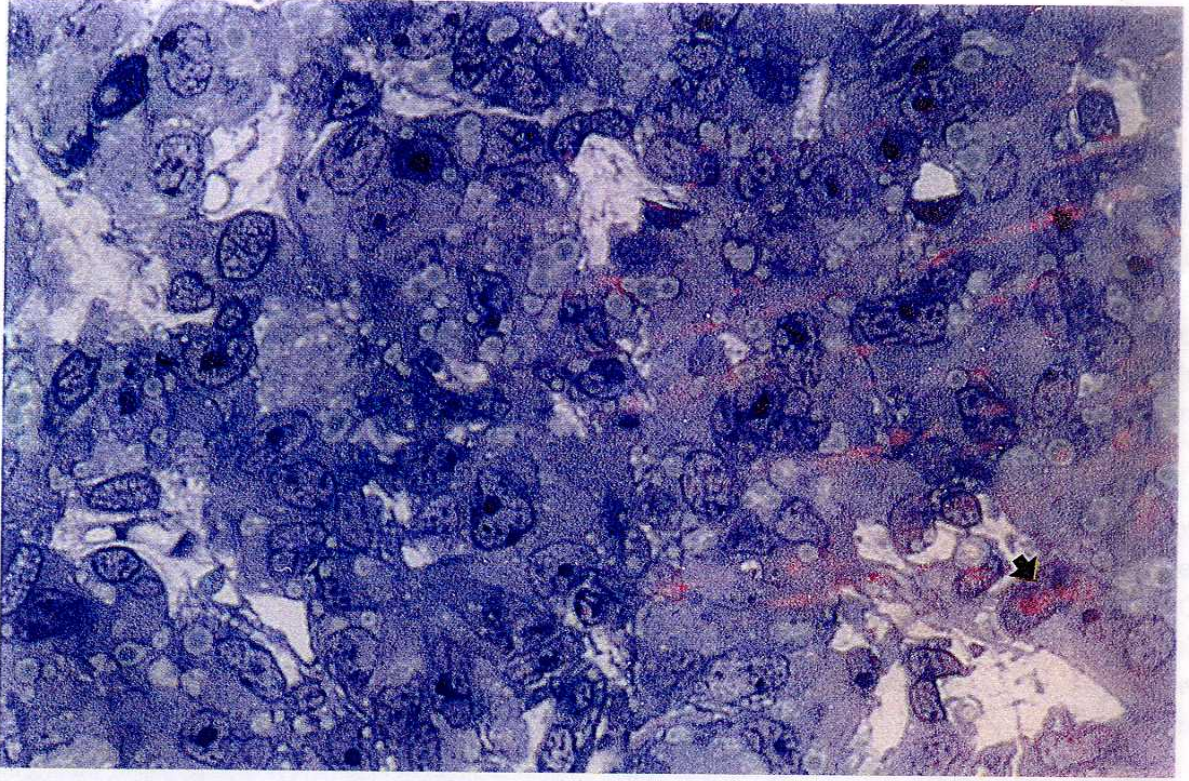
Şekil 2: Kontrol grubuna ait pineal bezde, pinealositler (→) ve glia hücreleri (→) gözlenmekte. H.E. X40



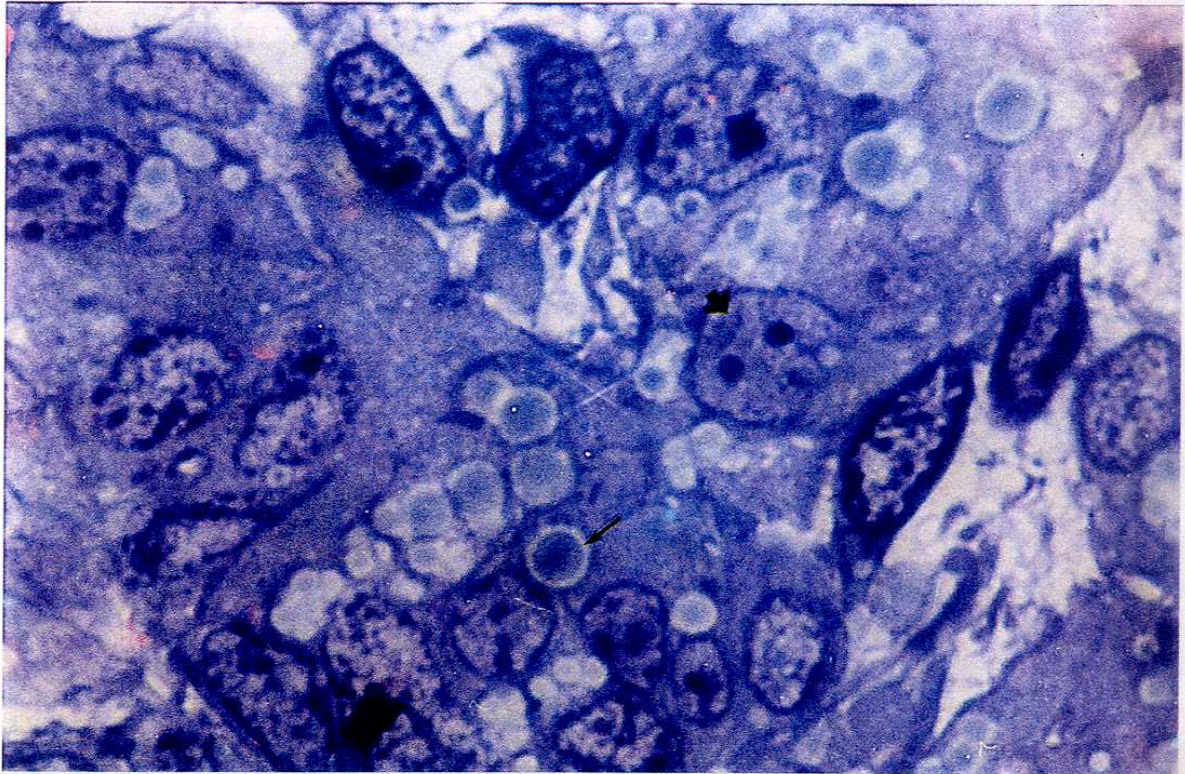
Şekil 3: Ovariectomi sonrası pinealositlerde meydana gelen hipertrofi ve bez yapısında artmış olan lipid damlacıkları (→) gözlenmekte. Toluidin blue. X20.



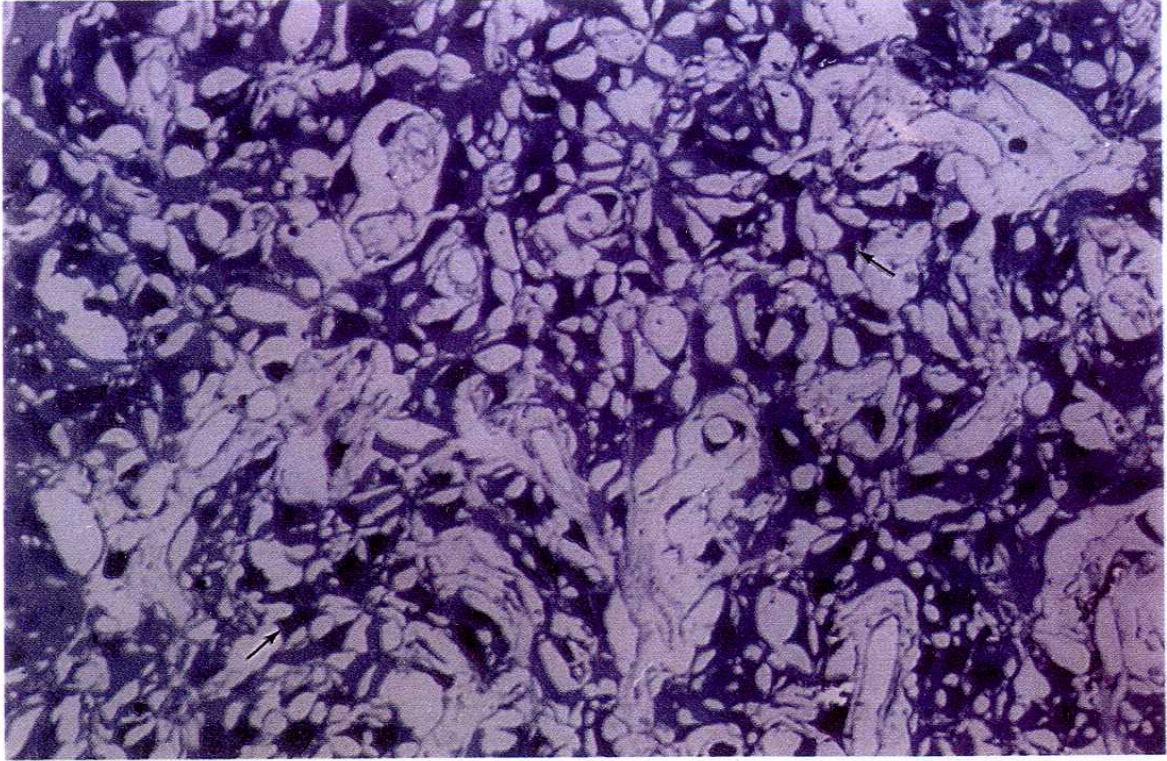
Şekil 4: Ovariectomi sonrası pineal bezde daha çok pinealositler (→) gözlenmekte. H.E. X40.



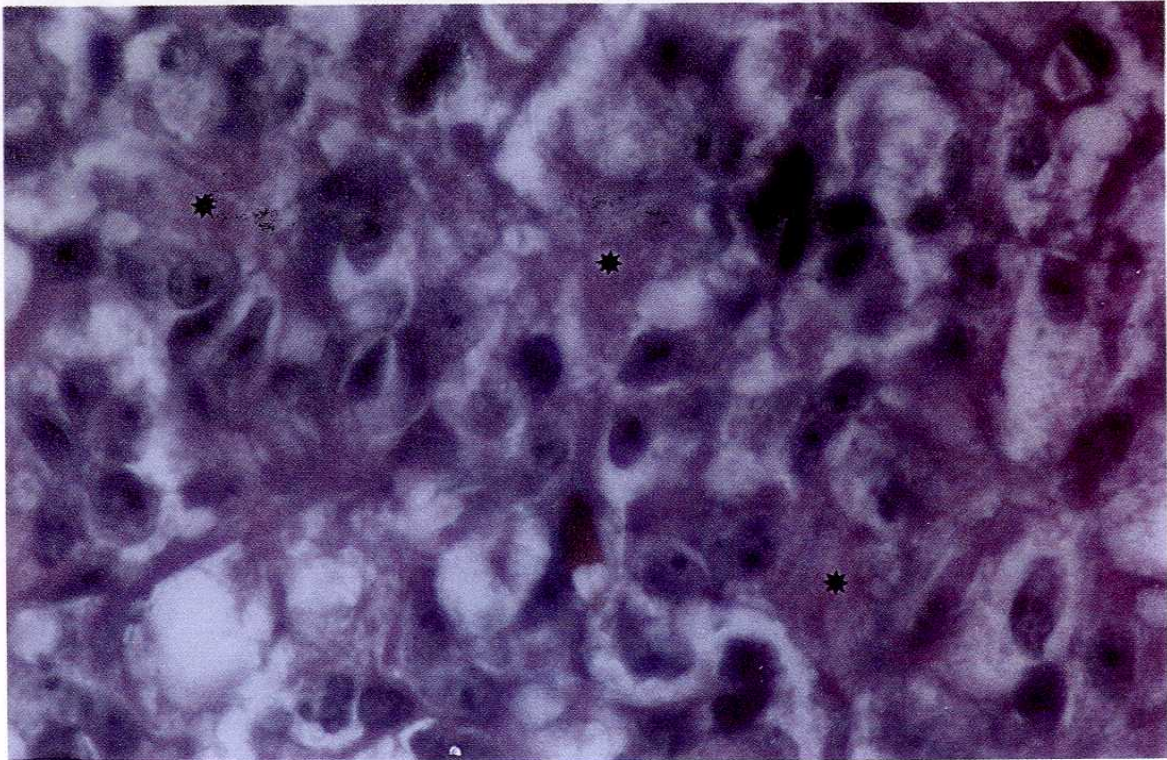
Şekil 5: Ovariectomili sıçanlara ait bez yapısında yoğun olarak pinealositler gözlenmekte. Pinealosit hücre çekirdeklerinin kontrol grubuna göre daha geniş olduğu ve bazı çekirdeklerin çift çekirdekçik içerdiği (→) dikkati çekmekte. Toluidin blue. X40.



Şekil 6: Kontrol (Sham-ovarectomi) grubunun toluidin blue ile boyanmış yarı ince kesit görünümü. (→): pinealositler, (→): glia hücreleri, (k): kapiller. X40.



Şekil 7: Ovarektomi sonrası östrojen uygulanan gruba ait pineal bez yapısı incelendiğinde, paraneuronal hücreler arasında şiddetli ayrılımların olduğu ve daha çok glia hücrelerinin (→) varlığı dikkati çekmekte. Toluidin blue. X20.



Şekil 8: Ovarektomi sonrası östrojen enjekte edilen grupta, paraneuronal hücreler arasındaki bağ dokusu artışı (*) göze çarpmakta. H.E. X40.

(17) gonadektomili sıçanların pinealositlerinde protein sentezinin arttığını ifade etmişlerdir. Işık mikroskop düzeyinde yapmış olduğumuz bu çalışmada, ovarektomi sonrası pinealositlerde hipertrofinin olduğu, hücre çekirdeklerinin genişlediği ve bazı çekirdeklerin çift çekirdekçik içerdiği ayrıca lipid damlacıklarında bir artışın meydana geldiği gözlemlendi. Ovarektomi sonrası pinealositlerde aktivasyon artışını gösteren bulgularımız, yukarıdaki çalışmalarla (10, 16, 17) uygunluk göstermektedir.

Benzer şekilde Gusak (14) de gonadektomili sıçanların pinealositlerinde aktivasyon artışına dair bulgular olarak, sitoplazmada lizozom, mitokondri ve ribozomlarda artış meydana geldiğini bildirmiştir. Das Gupta (13) da, gonadektomi sonrası pinealositlerde hipertrofi olduğu, histokimyasal olarak da total lipid ve fosfolipidlerin arttığını bildirmiştir. Yine domuzlar üzerinde yapılan çalışmalarda, ovarektomi sonrası pinealosit çekirdeklerinin hacminde ve sitoplazmadaki yoğun cisimciklerde artış meydana geldiği bildirilmiştir (18, 20). Işık mikroskop düzeyinde yapmış olduğumuz bu çalışma, daha önce yapılan araştırmaların bulguları ile paralellik göstermektedir. Yani ovarektomi sonrası pinealositlerde aktivasyon artışını ortaya koyan bulgular tespit edilmiştir.

Çalışmamızda, ovarektomi sonrası östrojen uygulanan gruba ait pinealositler incelendiğinde, aktivasyon azalmasına dair değişiklikler gözlemlendi. Bu sıçanlarda ovarektomi sonrası oluşan hipertrofinin ve lipid damlacıklarındaki artışın kaybolduğu tespit edildi. Ayrıca parankimal hücreler arasında ayrılımların ve bağ dokusu artışının olduğu tespit edildi.

Daha önce yapılmış olan benzer çalışmalarda da Sahu ve Chakraborty (19), sıçanlarda ovarektomi sonrası pinealositlerde meydana gelen hipertrofinin, östrojen hormonu enjeksiyonu ile inhibe olduğunu, Przybylska ve ark. (18) ise ovarektomi yapılan domuzlarda tatbik edilen östrojenin pinealosit sitoplazmasındaki yoğun cisimciklerde azalmaya ve lizozom hacimlerinde küçülmeye neden olduğunu bildirmişlerdir. Dişi sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda da, ovarektomi sonrası oluşan melatonin sentezindeki artışın, östrojen hormonu enjeksiyonu ile engellendiğini bildirmişlerdir (21, 22). Okatani ve ark. (37, 38) yaptıkları benzer çalışmalarda, dişi sıçanlarda pubertenin başlaması ile birlikte serum melatonin seviyelerindeki düşüşün

östrojen hormonu düzeylerindeki artış ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Daha önce erkek sıçanlar üzerinde yaptığımız çalışmamızda da orşidektomi sonrası testosteron propionat uygulanan sıçanlarda, pinealosit sitoplazmasındaki mitokondri, lipid damlacıkları ve sitoplazmik yoğun cisimciklerde azalmanın olduğunu gözlemledik (10). Dişi sıçanlar üzerinde yapmış olduğumuz bu çalışmada, östrojen hormonunun pinealositler üzerine etkisi ile ilgili olarak tespit ettiğimiz bulgular, daha önce yapılmış olan benzer çalışmaların sonuçları ile uyum göstermektedir.

Klinik olarak da, stres ve eksersize bağlı olmuş hipotalamik amenoreli kadınlarda serum melatonin seviyelerinin yüksek olduğu bildirilmiştir (39). Okatani ve ark (26) da, postmenopozal kadınlarda günlük olarak ve oral yolla alınan konjuge östrojenin melatonin seviyelerinde düşüşe neden olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca GnRH ve gonadotropinlerin yetersiz olarak salgılandığı erkek hastalarda, oligozoospermi ya da azospermili infertil kişilerde geceleyin melatoninin aşırı olarak salgılandığı gözlenmiştir (23, 24, 40). Bu durumlarda testosteron tedavisi ile kan melatonin düzeylerinde düşüş olduğu ve normal seviyelere çekildiği tespit edilmiştir (23, 25).

Bununla birlikte, gonadal hormonların pineal bez üzerine etkisi ile ilgili olarak çalışmamıza uygunluk gösteren araştırmaların yanısıra, tamamen aksi yönde bir görüş ortaya koyan, yani gonadektomi sonrası pineal bez fonksiyonlarının baskılandığını, gonadal hormon enjeksiyonu ile de sitümüle olduğunu bildiren deneysel çalışmalar da bulunmaktadır (27-36). Satodate ve ark. (28, 29), ovarektomili sıçanların pinealosit hücre aktivasyonunda baskılanma olduğunu belirtmişlerdir. Vaughan ve ark. (36), gonadektomili hamsterlerin pinealositlerinde lizozomal enzim aktivasyonunun azaldığını, Rudeen ve Reiter (35) ise, sıçanlarda gonadektomi sonrası pineal bezde, serotonin'in melatonine dönüştürülmesinde rol oynayan N-asetiltransferaz (NAT) enzim aktivasyonunun baskılandığını bildirmişlerdir. Nagle ve ark. (34), erkek sıçanlar üzerinde yaptıkları biyokimyasal çalışmalarında, orşidektomi sonrası pineal HIOMT (Hidroksiindol-O-metil transferaz) enzim aktivitesinin azaldığını, enjekte edilen testosteron propionat ile de sitümüle olduğunu belirtmişlerdir. Nagle ve ark. (33) yaptıkları diğer bir çalışmada

da, orşidektomi sonrası uygulanan testosteron propionat'ın pineal protein sentezinde artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Benzer etkiler Cardinalli ve ark. (27, 30, 31)'nin yaptıkları çalışmalarda da ifade edilmiştir. Cardinalli ve ark. (27, 30, 31) dişi ve erkek sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarda, gonadektomi sonrası pineal protein ve melatonin sen-

tezinde azalmanın olduğunu, bu durumun östrojen ve testosteron uygulaması ile düzeldiğini bildirmişlerdir.

Işık mikroskop düzeyde yapmış olduğumuz bu çalışma sonucunda ise, ovarektomi sonrası pinealosit hücre aktivasyonunun arttığı, östrojen hormonu enjeksiyonu ile de bu aktivasyon artışının baskılandığı görüldü.

KAYNAKLAR

1. Bhatnagar KP. The ultrastructure of mammalian pinealocytes: A systematic investigation. *Microscopy Research and Technique* 1972; 21: 85-115.
2. Calvo J, Boya J. Postnatal evolution of the rat pineal gland: Light microscopy. *J Anat* 1984; 138 (1): 45-53.
3. Calvo J, Boya J. Ultrastructure of the pineal gland in the adult rat. *J Anat* 1984; 138 (3): 405-9.
4. Erlich SS, Apuzzo MLJ. The pineal gland: Anatomy, physiology and clinical significance. *J Neurosurg* 1985; 63: 321-341.
5. Reiter RJ. The mammalian pineal gland: Structure and function. *Am J Anat* 1981; 162: 287-313.
6. Arendt J. *Melatonin and the Mammalian Pineal Gland*, London, Chapman & Hall. 1995: 6-49.
7. Cagnacci A. Melatonin in relation to physiology in adult humans. *J Pineal Res* 1996; 21: 200-13.
8. Cardinalli DP. Hormone effects on the pineal gland. In: Reiter R.J. (editor). *The Pineal Gland. Anatomy and Biochemistry* 1981; 1: 244-67.
9. Sirotkin AV, Schaeffer HJ. Direct regulation of mammalian reproductive organs by serotonin and melatonin. *J Endocrinol* 1997; 154: 1-5.
10. Kus I, Sarsılmaz M, Ögetürk M, Yılmaz B, Kelestimur H, Öner H. Ultrastructural interrelationship between the pineal gland and the testis in the male rat. *Arch Androl* 2000; 45: 119-24.
11. Kuş İ, Sarsılmaz M., Ögetürk M., Özen OA, Pekmez H. Sıçanlarda melatoninin testisler üzerine etkisinin ışık mikroskop düzeyde incelenmesi. *Fırat Tıp Dergisi* 2000; 2(1): 13-21.
12. Luboshitzky R, Dharan M, Goldman D, Hiss Y, Herer P, Lavie P. Immunohistochemical localization of gonadotropin and gonadal steroid receptors in human pineal glands. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 977-81.
13. Das Gupta TK. Cellular hypertrophy in rat pineals after castration. *J Endocr* 1968; 41: 607-8.
14. Gusek W. The fine structure of the rat pineal and the influence of anti-androgens and castration. *Endokrinologie* 1976; 67 (2): 129-51.
15. Houssay AB, Barcela AC. Effect of testosterone upon the biosynthesis of melatonin by the pineal gland. *Acta Physiol Lat Am* 1972; 22 (4): 88-9.
16. Karasek M, Pawlikowski M, Ariens Kappers JA, Stepien H. Influence of castration followed by administration of LH-RH on the ultrastructure of rat pinealocytes. *Cell Tissue Res* 1976; 167: 325-39.
17. Pevet P, Smith AR, Van de Kar L, Van Bronswijk H. Effect of castration on the rat pineal gland: A fluorescence histochemical and biochemical study. *Experientia* 1975; 31: 1237-19.
18. Przybylska B, Wyrzykowski Z, Kaleczyc J. Effect of ovariectomy followed by administration of ovarian steroid hormones on the pig pinealocyte. *Steroids* 1993; 58: 466-71.
19. Sahu A, Chakraborty S. Estradiol modulation of pineal gland activity in the wild bandicoot rat. *Acta Anat* 1986; 125: 1-5.
20. Wyrzykowski Z, Przybylska B, Wyrzykowska K, Kaleczyc J. Influence of bilateral ovariectomy on the morphology and ultrastructure of the pineal gland in the pig. Quantitative and qualitative study. *Folia Morphol* 1992; 51 (2): 93-108.
21. Ishizuka B, Fusama S, Hirai K, Hosaka T, Hamada N, Amemiya A, Itoh MT. Melatonin secretion from organ-cultured pineal glands of rats: modulation by gonadectomy and gonadotropin-releasing hormone agonist administration. *Eur J Endocrinol* 2000; 142 (4): 387-92.
22. Okatani Y, Hayashi K, Watanabe K, Morioka N, Sagara Y. Estrogen modulates the nocturnal synthesis of melatonin in peripubertal. *J Pineal Res* 1998; 24 (4): 224-9.
23. Luboshitzky R, Herer P, Lavie P. Pulsatile patterns of melatonin secretion in patients with gonadotropin-releasing hormone deficiency: Effects of testosterone treatment. *J Pineal Res* 1997; 22 (2): 95-101.
24. Luboshitzky R, Lavi S, Thuma I, Lavie P. Increased nocturnal melatonin secretion in male patients with hypogonadotropic hypogonadism and delayed puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 2144-8.
25. Luboshitzky R, Lavi S, Thuma I, Lavie P. Testosterone treatment alters melatonin concentrations in male patients with gonadotropin-releasing hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 770-4.
26. Okatani Y, Morioka N, Wakatsuki A. Changes in nocturnal melatonin secretion in perimenopausal women: correlation with endogenous estrogen concentrations. *J Pineal Res* 2000; 28 (2): 111-8.
27. Cardinalli DP, Vacas MI. Feedback control of pineal function by reproductive hormones. *J Neural Transm* 1978; 13: 175-201.
28. Satodate R, Sasaki K, Minoru O. The pineal gland of intact, hypophysectomized, or ovariectomized rats. *Archs Neurol* 1970; 23: 278-86.
29. Satodate R, Hsich KS, Ota M. Morphological changes in the pineal gland of the Albino rat by hypophysectomy and ovariectomy. *Experientia* 1970; 26: 638-40.
30. Cardinalli DP, Nagle CA, Rosner JM. Effects of estradiol on melatonin and protein synthesis in the rat pineal organ. *Horm Res* 1974; 5: 304-10.
31. Cardinalli DP, Nagle CA, Rosner JM. Gonadal steroids as modulators of the function of the pineal gland. *Gen Comp Endocr* 1975; 26: 50-8.
32. Haldar C, Pevet P. Influence of testosterone on protein / peptide secretion as characterized by the formation of granular vesicles in rat and mouse pinealocytes. *J Neural Transm* 1983; 57 (1-2): 111-20.

33. Nagle CA, Cardinalli DP, Rosner JM. Effects of castration and testosterone administration on pineal and retinal hydroxyindole-o-methyltransferase of male rats. *Neuroendocrinology* 1974; 14: 14-23.
34. Nagle CA, Cardinalli DP, Rosner JM. Testosterone effects on protein synthesis in the rat pineal gland. Modulation by the sympathetic nervous system. *Life Sciences* 1974; 16: 81-91.
35. Rudeen PK, Reiter RJ. Depression of nocturnal pineal serotonin N-Acetyltransferase Activity in castrate male rats. *J Neural Transm* 1980; 48 (1): 1-8.
36. Vaughan MK, Vaughan GM, Little JC, Buzzel GR, Chambers JP, Reiter RJ. Pineal lysosomal enzymes in the syrian hamster: Circadian rhythm and effects of castration or short photoperiod treatment. *Brain Res* 1989; 489 (2): 318-24.
37. Okatani Y, Hayashi K, Sagara Y. Effect of estrogen on melatonin synthesis in female peripubertal rats as related to adenylate cyclase activity. *J Pineal Res* 1998; 25 (4): 245-50.
38. Okatani Y, Watanabe K, Morioka N, Hayashi K, Sagara Y. Nocturnal changes in pineal melatonin synthesis during puberty: relation to estrogen and progesterone levels in female rats. *J Pineal Res* 1997; 22 (1): 33-41.
39. Laughlin GA, Loucks AB, Yen SSC. Marked augmentation of nocturnal melatonin secretion in amenorrheic athletes, but not in cycling athletes: Unaltered by opioidergic or dopaminergic blockade. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73: 1321-16.
40. Karasek M, Pawlikowski M, Nowakowska Jankiewicz B, Kolodziej Maciejewska H, Zieleniewski J, Cieslak D, et al. Circadian variations in plasma melatonin, FSH, LH, prolactin and testosterone levels in infertile men. *J Pineal Res* 1990; 9: 149-157.