



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO
INSTITUTO DE CIENCIAS



TESIS:

ESTUDIO DEL BLOQUEO FARMACOLÓGICO DE LOS
RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS SOBRE EL CICLO ESTRAL
Y LA OVULACIÓN EN EL MODELO DE LA RATA ADULTA
HEMICASTRADA.

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

DULCE ELENA LETRAS LUNA

DIRECTOR:
D.C. JOSÉ LUIS MORÁN PERALES
INSTITUTO DE CIENCIAS
BUAP

ASESOR:
D.C. ALFONSO DANIEL DÍAZ FONSECA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
BUAP

Puebla, Pue., Junio 2015

INDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
3. MARCO TEÓRICO	3
3.1. Morfología y Función del Ovario	3
3.2. Inervación Ovárica.....	5
3.3. Síntesis de Esteroides Sexuales.....	7
3.4. Desarrollo Folicular.....	10
3.5. Ovulación	12
3.6. Formación del Cuerpo Lúteo.....	13
3.7. Eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario	14
3.7.1. Ciclo Estral.....	16
3.8. Sistema Dopaminérgico.....	19
3.8.1. Propiedades Farmacológicas de Sulpiride	22
3.9. Asimetría Ovárica.....	24
3.9.1. Hemiovariectomía.....	25
3.9.2 .Hipertrofia Compensadora y Ovulación Compensadora del Ovario.....	26
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	28
5. JUSTIFICACIÓN	29
6. HIPÓTESIS.....	29
7. OBJETIVO GENERAL.....	29
7.1. OBJETIVOS PARTICULARES.....	30
8. MÉTODOS GENERALES.....	30
8.1. Análisis Estadístico.....	33
9. RESULTADOS.....	33
10. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	42
11. CONCLUSIONES	45
11.1. Perspectivas de Trabajo Experimental	48
12. Referencias	46

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

FIGURAS

<i>Ilustraciones</i>	
1. Estructura del ovario y sus principales componentes	5
2. Inervación simpática del ovario vía nervio ovárico superior.....	6
3. Biosíntesis de hormonas esteroides	8
4. Eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario	15
5. Perfiles de la secreción de las principales hormonas adenohipofisarias y ováricas.....	19
6. Fórmula, estructura y nombre químico del sulpiride.....	23

<i>Gráficas</i>	
1. Porcentaje de ovulación compensadora del ovario in situ	36
3. Porcentaje de ovulación compensadora en los diferentes días del ciclo estral	37
2. Porcentaje de hipertrofia compensadora del ovario in situ.	39
3. Porcentaje de hipertrofia compensadora en los diferentes días del ciclo estral	41

TABLAS

Marco Teórico:

1. Características del ciclo estral	17
2. Sistemas dopaminérgicos en SNC.....	20

Resultados:

1. Peso corporal	33
2. Número de ovocitos liberados y peso de la gónada extirpada	34
3. Número de ovocitos liberados por el ovario in situ	35
4. Porcentaje de ovulación compensadora en los diferentes días del ciclo estral.....	38
5. Pesos relativos y absolutos del ovario in situ	39
6. Porcentaje de hipertrofia compensadora en los diferentes días del ciclo estral	40

Agradecimientos

Al Doctor José Luis Moral Perales por su incondicional apoyo en la realización de este trabajo de tesis.

Al Doctor Alfonso Daniel Díaz Fonseca por su tiempo y dedicación para que este trabajo se llevara a cabo.

A mis sinodales y revisores de tesis por su tiempo para mejorar este trabajo, muchas gracias.

D.C. Carolina Moran Raya

D.C. Berenice Venegas Meneses

D.C. Israel Camacho Abrego

A todos lo que conforman el Laboratorio de Biología y Toxicología de la Reproducción, así como a mis compañeros: Karla, Monserrat, Adrián y Doctora Berenice Venegas por todo lo que aprendí junto a ella.

A todo el personal del bioterio Claude Bernard por su ardo trabajo que permitió el uso de los animales experimentales de esta tesis.

A los amigos que hice a lo largo de cinco años de carrera, con especial aprecio a Elesban Lima Santamaría por quitarme el tiempo y traer mala suerte a mi vida.

A mi familia: mis hermanos y sobre todo a mis padres, Sara Luna Jiménez y José Martin Letras Méndez, a los que dedico este trabajo de tesis. Gracias por sus veinticuatro años de patrocinio y por no correrme de casa en todo este tiempo.

Ver lo que tenemos delante de nuestras narices requiere una lucha constante
George Orwell

RESUMEN

La hemiovariectomía es una técnica que permite analizar asimetrías funcionales y fisiológicas entre los ovarios. Se sabe que la administración local de una dosis de Sulpiride, antagonista dopaminérgico de los receptores DA₂, bloquea la ovulación espontánea cuando se inyecta dentro de las bolsas ováricas derecha e izquierda en ratas adultas con ciclos estrales de cuatro días de duración (estro, diestro-1, diestro-2 y proestro: ratas cíclicas) con efectos que dependen del día y hora en que los que fueron tratados. Con el fin de aclarar los efectos del bloqueo farmacológico del receptor DA₂ en el ovario, se analizó el efecto de la microinyección de Sulpiride en el ovario que permanece *in situ* en el modelo del animal hemiovariectomizado sobre el desarrollo de la ovulación compensadora (OC) e hipertrofia compensadora del ovario (HCO) derecho (OD) o izquierdo (OI).

Ratas hembra adultas de la cepa CII-ZV cíclicas, hemiovariectomizadas a las 09:00 h de la mañana del estro, recibieron una microinyección de Sulpiride (200 µg/20µl; 0.00625 µg/µL; 10 µL/min) dentro de la bursa del ovario *in situ* a las 13:00 h en uno de los diferentes días del ciclo estral. Los animales se sacrificaron en la mañana del siguiente estro vaginal observado. Como grupos testigo se utilizaron animales hemicastrados a los que se les administró el vehículo (Ácido Ascórbico 0.1%) a las 13:00 h en los diferentes días del ciclo estral. El grupo control lo formaron ratas cíclicas hemiovariectomizadas del ovario izquierdo o derecho, los cuales fueron sacrificados luego de cuatro ciclos estrales completos.

En número de ovocitos liberados por OD extirpado de todos los grupos experimentales reunidos fue mayor respecto al OI (OD: 7.2±0.3 ovocitos vs OI: 6.3±0.3 ovocitos, p<0.02; U de Mann-Whitney) lo que se relaciona con la disminución de peso en el OD respecto al OI (OD: 12.2±0.3 vs OI: 13.2±0.3, p<0.03; U de Mann-Whitney). La microinyección del vehículo no afectó la duración del ciclo estral en ninguno de los grupos mientras que en el grupo tratado con Sulpiride en diestro-1, la presencia del estro vaginal se retrasó un día. En todos los animales que recibieron la microinyección de sulpiride, el OD permanece *in situ* ovuló menos en relación a su grupo testigo (Sulpiride: 13.2±0.9 ovocitos vs Vehículo: 16.6±0.7 ovocitos; p<0.008, U Mann-Whitney). Dicha disminución en el número de ovocitos liberados se atribuye al tratamiento con el antagonista en diestro-1 en grupo con OD *in situ* (Sulpiride: 12.1±0.7 ovocitos vs Testigo: 17.4±1.1 ovocitos; p<0.02, U de Mann-Whitney).

Sin tomar en cuenta el día en el que se realizó la microinyección de Sulpiride, la OC del OD disminuyó respecto a su grupo testigo (Sulpiride: 88.9±9.5 % vs. Vehículo: 129.8±9.1 %, p<0.02, U de Mann-Whitney), siendo la caída más notoria en el diestro-1 (Sulpiride: 70.0±18.1 % vs. Vehículo: 156.7±26.2 %, p<0.03, U de Mann-Whitney). La HCO se incrementó cuando la microinyección del antagonista dopaminérgico se realizó en el OD *in situ* respecto a su testigo (Sulpiride: 78.4±4.8 % vs Vehículo: 57.6±4.7 %, p<0.003; U de Mann-Whitney), la cual se atribuye al aumento de la HCO en los días del estro (Sulpiride: 95.7±6.7% vs Vehículo: 36.0±3.0%; p<0.004; prueba de Kruskal Wallis) y diestro-1 (Sulpiride: 83.5±12.9 % vs Vehículo: 50.7±4.8%, p<0.03; U de Mann-Whitney). Estos cambios no fueron observados cuando el OI permanece *in situ*.

Los resultados del presente estudio indican que la microinyección de una dosis única de sulpiride en el ovario remanente de animales hemiovariectomizados disminuye el número de ovocitos liberados, disminuye la OC e incrementa la HCO sólo cuando el ovario derecho permanece *in situ*, cambios que dependen del día en el que se realiza la microinyección. Este bloqueo farmacológico del receptor DA₂ afecta los mecanismos que controlan el proceso OC y de HCO.

INTRODUCCIÓN

La regulación de las funciones del sistema reproductor en la hembra, es el resultado de la interacción de diferentes hormonas secretadas por la adenohipófisis, los ovarios e incluso por otras glándula endocrinas (neurohipófisis, adrenales y timo), interrelación que ocurre durante el ciclo estral o menstrual (Fink, 1988; Feder, 1991; Conn, 1994) además de los efectos moduladores que ejerce el sistema nervioso por medio de la inervación hacia estos órganos (Bahr et al., 1974; Burden, 1978; Domínguez et al., 1989). Se sabe que el ovario recibe fibras nerviosas que ingresan por la médula y se distribuyen hacia la corteza hasta alcanzar el estroma ovárico y la teca folicular (Burden, 1985). Esta inervación proviene del plexo ovárico y del nervio ovárico superior (Lawrence & Burden, 1980). Este último está íntimamente relacionado con el control de la esteroidogénesis ya que sus fibras alcanzan la teca externa de los folículos (Aguado, 2002). Otras fibras se introducen en el estroma ovárico y contactan con células intersticiales que indirectamente se relacionan con las células del cuerpo lúteo (Erickson et al., 1985). La mayoría de sus fibras que viajan por el nervio ovárico superior provienen de las neuronas simpáticas post-ganglionares ubicadas en el ganglio celiaco (Klein & Burden, 1988).

La secreción de las gonadotropinas es regulada por la hormona hipotalámica liberadora de las gonadotropinas: *gonadoliberina* (GnRH), cuya secreción es controlada por diferentes sistemas de neurotransmisores (noradrenalina, adrenalina, dopamina, serotonina, acetilcolina, ácido γ -amino butírico, opioides, encefalinas, sustancia P, péptido intestinal vasoactivo-VIP-, angiotensina II) que ejercen sus efectos sobre las neuronas peptidérgicas localizadas principalmente en la región preóptica e hipotalámica anterior, así como en el hipotálamo medio (Freeman, 1988; Freeman, 1994; Kordon et al., 1994). Según la información que se posee, la participación de los diversos sistemas de neurotransmisores en la regulación de la secreción de la GnRH varía durante el ciclo estral (Domínguez et al., 1982; Domínguez et al., 1985; Domínguez et al., 1987; Morán & Domínguez, 1995).

Todo parece indicar que la dopamina es una señal neuroquímica indispensable para que los eventos neuroendócrinos y endocrinos que conducen a la ovulación (Schneider & McCann, 1970; Clemens et al., 1976; Vijayan & McCann, 1978; Weiner & Ganong, 1978; MacKenzie et

al., 1988; MacKenzie, 1989; Sanhera et al., 1991). A partir de resultados obtenidos en nuestro laboratorio postulamos que los sistemas dopaminérgicos del hipotálamo anterior y los periféricos tienen funciones variantes a lo largo del ciclo reproductor que determinan la ovulación espontánea en la rata (Domínguez et al., 1987; Morán & Domínguez, 1995; Venegas et al., 2012; 2013; 2014).

MARCO TEÓRICO

Morfología y Función del Ovario.

El ovario es un órgano par ubicado en la cavidad peritoneal de los mamíferos que se encuentra a cada lado del útero, está ligado por el mesovarium, al ligante superior ancho desde el útero hasta la pared de la cavidad pélvica (Leung & Adashi, 2004). Constituye la unidad estructural y funcional del sistema reproductor femenino, cuyas principales funciones son la síntesis de hormonas y la producción de gametos, ambas funciones son reguladas por las gonadotropinas hipofisarias, hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH), y están coordinadas con las propias secreciones del ovario (Chedrese, 2003).

La superficie ovárica se encuentra recubierta por una sola capa de células cúbicas que recibe el nombre de epitelio germinal, que a su vez se encuentra invaginada por una cubierta de tejido conectivo colagenoso denominado túnica albugínea. Por debajo se encuentran dos zonas bien diferenciadas, la zona medular y la zona cortical. La medula ovárica es una zona vascularizada e inervada que se compone por tejido conectivo laxo. Mientras la corteza ovárica se caracteriza por la presencia de folículos, cuerpos lúteos y células intersticiales (Espey & Richards, 2006) (Figura 2).

En el estroma ovárico se encuentran cuatro clases principales de células intersticiales que se clasifican por sus características y posición en el ovario en: primarias, tecales, secundarias e hiliares. Las células intersticiales primarias comienzan a aparecer en el ovario fetal y desaparecen más tarde. Las células intersticiales tecales son las más importantes del ovario y proceden del estroma; migran hacia la membrana basal del folículo donde se disponen en bandas para formar después de su diferenciación (cuando adquieren receptores a la LH) a las tecas interna y externa (Erickson, 1995). Esta migración hacia la membrana basal

tiene lugar cuando el ovocito está madurando y el folículo contiene 2 ó 3 capas de células de la granulosa (Greenwald & Roy, 1994). Cuando los folículos no ovulan y entran en atresia, las *células intersticiales tecales* se transforman en células *intersticiales secundarias* formando grupos de células glandulares esparcidas en el estroma. Conjuntamente estas células conforman la llamada *glándula intersticial* (Ham & Cormack, 1983). Finalmente, las células *intersticiales hiliares* se localizan en el hilio y son muy similares a las células de *Leydig* del testículo (Erickson, 1995).

La mayoría de los folículos se encuentran en la periferia de la corteza inmediatamente por debajo de la túnica albugínea. Los folículos son la unidad funcional del. La función de cada folículo es proveer el sistema de soporte necesario para la célula germinal femenina (ovocito). Las células somáticas contribuyen en varias maneras a cumplir este objetivo, esencial para la reproducción y supervivencia de la especie. El folículo está conformado por un ovocito, que se encuentra rodeado por células de la granulosa que se encuentran formando a su vez las células de la corona radiada, cúmulos ooforo, antro folicular, células de la teca interna, tejido conectivo y teca externa. Figura 1 (Gore-Langton & Armstrong, 1994; Espey & Richards, 2006).

El cuerpo lúteo es una glándula endocrina transitoria formada por células foliculares que permanecen después de la ovulación. Es el resultado de una serie de cambios morfológicos y bioquímicos en las células de la teca interna y la membrana granulosa del folículo preovulatorio. Se encuentra asociado al incremento sérico de LH. Su formación se caracteriza por la hipertrofia de las células lúteas y el aumento de la vascularización (angiogénesis). El cuerpo lúteo es el principal productor de progesterona. Sus principales funciones son la regulación del ciclo estral y el mantenimiento de la preñez. Si la fecundación no ocurre, el cuerpo lúteo entra en regresión a través de un proceso denominado luteolisis. En roedores la regresión del cuerpo lúteo incluye dos fases, la fase funcional y la estructural. La fase funcional está asociada al descenso en la producción de progesterona, el cual es seguido por la fase estructural en la cual las células lúteas mueren. La regresión estructural es caracterizada por una reducción tanto en el tamaño como el peso. Finalmente el cuerpo lúteo se convierte en un grupo de células denominado el corpus albicans (XueJing et al., 2013).

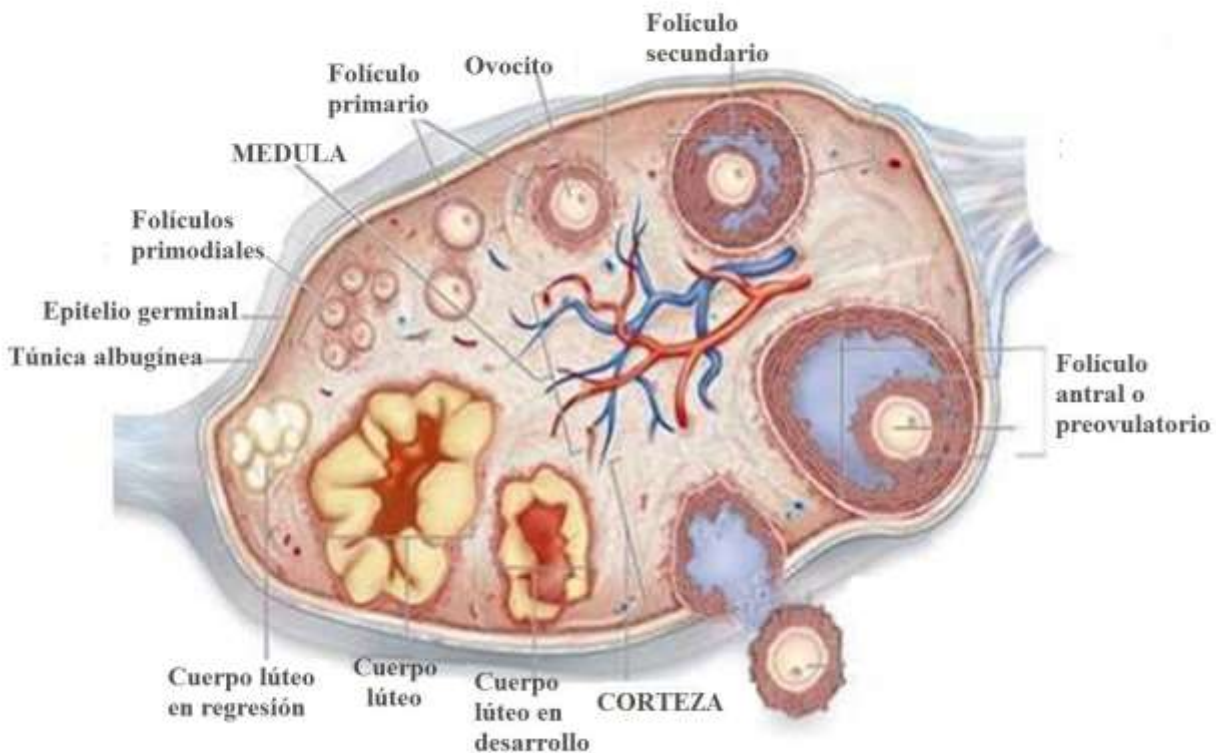


Figura 1. Estructura del ovario y sus principales componentes anatómico-funcionales. Adaptado de McGraw Hill. Tomado de Irusta, 2008.

Inervación Ovárica.

Las funciones de los ovarios son reguladas por las hormonas del eje hipotálamo-hipófisis y por el sistema nervioso autónomo (Burden, 1985; Doganay et al., 2009). El ovario es inervado por una extensa red de nervios del sistema nervioso autónomo que provienen de fibras pre- y postganglionares de tipo simpático y parasimpático. En cuyas terminales se liberan una serie de neurotransmisores al interior del ovario, algunos de los cuales se consideran reguladores de la esteroidogénesis, el desarrollo folicular temprano y la ovulación (Leung & Adashi, 2004). Las fibras preganglionares simpáticas se originan de cuerpos celulares en el asta intermediolateral del cordón espinal en los segmentos T_{10} y T_{11} , mientras que las fibras postganglionares se originan del *plexo ovárico* y *celiaco* (Erickson, 1995) (Figura 2).

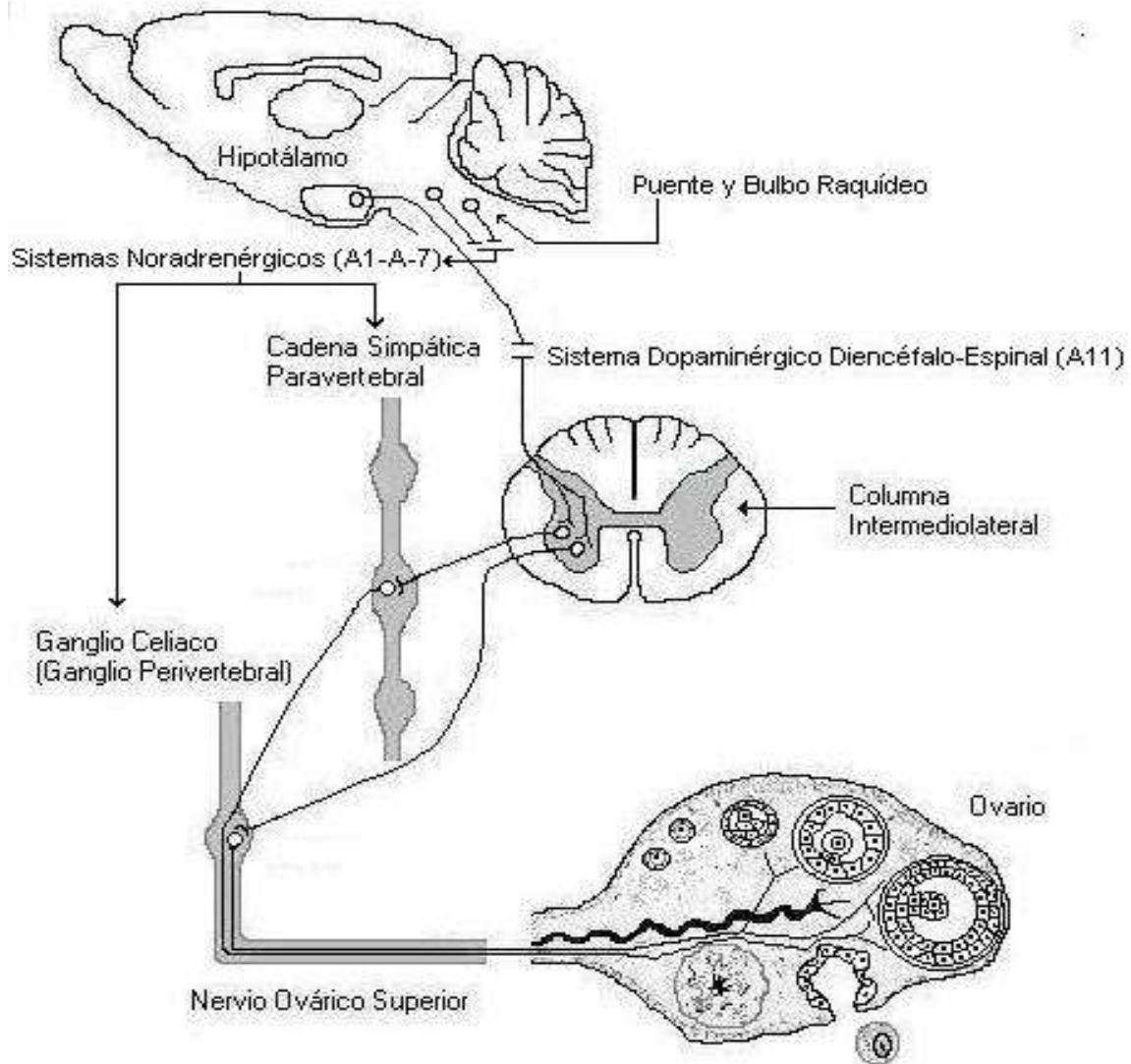


Figura 2. Inervación simpática del ovario vía nervio ovárico superior. Los cuerpos neuronales de las neuronas de primer orden que proyectan al ovario se localizan en el ganglio celiaco y los ganglios de la cadena simpática paravertebral. Estas reciben proyecciones desde neuronas que se localizan: 1) al nivel del tallo cerebral (somatos noradrenérgicos A₁ al A₇); y 2) al nivel de la columna intermediolateral de la médula espinal y que se conectan con neuronas dopaminérgicas (somatos A₁₁) desde el hipotálamo (Modificado de Dissen & Ojeda, 1999).

La inervación simpática que recibe el ovario de la rata proviene de dos rutas: nervio del plexo ovárico (NPO) que acompaña a la arteria ovárica y el nervio ovárico superior (NOS) que viaja junto con el ligamento suspensorio e inerva, vasos sanguíneos, células de la glándula

intersticial y células de la teca interna (Gerenday & Halasz, 1997). Mientras que la inervación parasimpática proviene del nervio vago, el cual contiene pépticos como la somatostatina, sustancia P, gastrina y el péptido intestinal vasoactivo (VIP) (Ojeda et al., 1983; Dissen & Ojeda, 1999). Las neuronas que dan origen al nervio se localizan en: el núcleo ambiguo; el núcleo cardio-neumo-entérico; el núcleo dorsal del vago y la parte inferior del núcleo del fascículo solitario (Bouchet y Willeret, 1978).

La capacidad de los neurotransmisores contenidos en los nervios ováricos para estimular la esteroidogénesis en ovarios de ratas, ha conducido a la hipótesis de que estos intervienen en el desarrollo prepuberal del ovario. Estudios semi-cuantitativos que evaluaron los cambios en la densidad de fibras nerviosas durante el desarrollo postnatal en ovarios de *Macaca mulatta* le han aportado credibilidad a esta teoría, ya que mostró un incremento significativo en la densidad de fibras nerviosas simpáticas y VIP-enérgicas entre el periodo neonatal y el tiempo esperado hasta la pubertad, aproximadamente de 3 años. No se encontraron cambios durante la etapa adulta ni tampoco en el desarrollo de la inervación sensorial (Leung & Adashi, 2004).

Síntesis de Esteroides Sexuales.

Los principales órganos que llevan a cabo la síntesis de hormonas esteroides: estrógenos, andrógenos, progestinas, glucocorticoides y mineralcorticoides; son la adrenales, ovario y testículos. Solo durante el embarazo, la unidad placenta-feto puede servir como una fuente de estrógenos (Norman & Litwak, 1997). Las células de la granulosa, células de la teca y células del cuerpo lúteo, son las principales células productoras de esteroides en el ovario.

Las hormonas esteroideas suelen ser clasificadas de acuerdo a su estructura química o sus acciones fisiológicas. Las principales tres hormonas esteroides sexuales de acuerdo a sus funciones biológicas son progestinas (gestagenos y progestágenos), andrógenos y estrógenos, las cuales son producidas por los folículos en una o más etapas del desarrollo (Richards, 1978). La biosíntesis de las hormonas esteroides sexuales tiene como principal precursor al colesterol el cual proviene de tres principales fuentes: 1) lipoproteínas que sitúan en la

circulación, 2) síntesis de *novo* y 3) reservas intracelulares en forma de ésteres de colesterol (Carr & Simpson, 1981).

Con la ruptura del colesterol (unión c-20,22) por la enzima p250ssc o CYP11A resulta un compuesto de 21 carbonos que recibe el nombre de pregnenolona. La pregnenolona es la progestina más importante porque es el principal precursor de todas las hormonas esteroides. La pregnenolona es convertida a progesterona por la enzima 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa/4δ-5δ- isomerasa (3β-HSD), la cual es secretada principalmente por las células del cuerpo lúteo durante la fase lútea.

La enzima limitante en la síntesis de andrógenos es la 17α-hidroxilasa: complejo enzimático C-17,20 liasa. La reacción puede utilizar tanto pregnenolona o progesterona como sustrato dando como productos: dehidroepiandrosterona (DHEA) o androstenediona. Estas dos alternativas se denominan como vía delta 5 y vía delta 4 respectivamente. Androstenediona y testosterona son transformados a los estrógenos, estrona y estradiol-17β respectivamente por un complejo enzimático localizado en la membrana del retículo endoplásmico liso conocido como aromatasa. Las células de la granulosa constituyen la mayor fuente de estrógenos (Richards, 1978) (Figura 3).

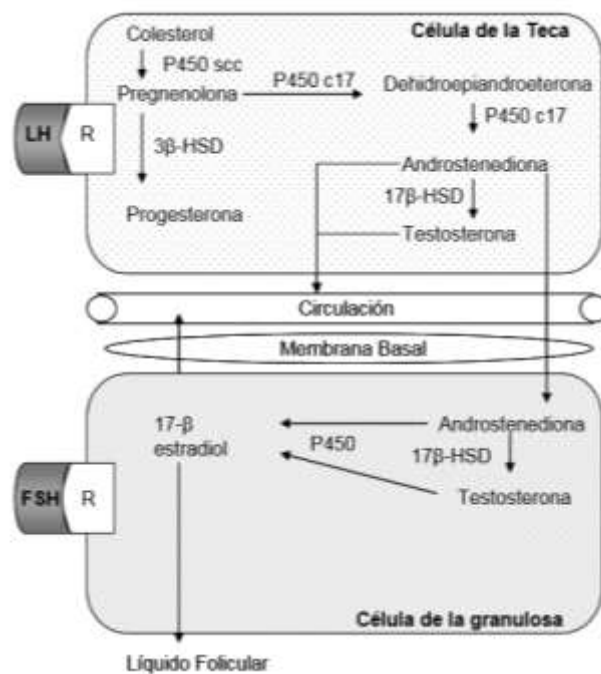


Figura 3. Biosíntesis de hormonas esteroides en las células de la teca y de la granulosa ováricas. Modificado de Van Voohrs, 1999

Estrógenos

Fisiológicamente los estrógenos, estradiol y estriol-17 β son los más importantes esteroides foliculares. Sus nombres se derivan de su papel de inducir la receptividad sexual, *estro*, en los mamíferos femeninos pero tienen varias funciones en otros aspectos de la fisiología reproductiva femenina (Richards, 1978).

Los estrógenos promueven las características sexuales secundarias, estimulan el crecimiento del endometrio, del útero y del tejido mamario, regulan el ciclo menstrual, aceleran el crecimiento del cuerpo, disminuyen la masa muscular, aumentan el metabolismo de las grasas, intervienen en el mantenimiento de los vasos sanguíneos y en el de la piel, favorecen el crecimiento del vello y de las uñas, disminuyen la resorción del hueso y aumentan su formación. Por otra parte, elevan los niveles de las HDL, los de la antitrombina III y los del plasminógeno, mientras disminuyen los de las LDL, reducen la motilidad intestinal incrementan la HCr y el cortisol e intervienen en las funciones cerebrales (Becerro, 2008).

Andrógenos

Los andrógenos son esteroides de 17 carbonos. La androstenediona y testosterona son los precursores de esteroides estrogénicos, estradiol y estriol-17 β respectivamente y para su formación son sometidas a aromatización (Richards, 1978). Los andrógenos inducen el desarrollo folicular y el crecimiento del tejido tecal e intersticial del ovario y estimulan síntesis de progesterona. Aunque debido a que los andrógenos son aromatizados a estrógenos, no es fácil discernir si sus efectos se deben a su acción o son producidos por los estrógenos.

Los receptores de andrógenos se localizan en células de la granulosa, estromales, tecales humanas (Horie et al., 1992) y más recientemente se ha observado en oocitos de ratas, cerdos, y ratón (Szoltys & Slomczynska, 2000; Gill et al., 2004) Se encuentran altamente expresados en los folículos preantrales y antrales de primates (Weil et al., 1998; Hillier et al., 1997); así como en folículos antrales tempranos y pequeños de rata (Tetsuka et al., 1995; Tetsuka & Hillier, 1996).

Progestinas

La pregnenolona es la más importante de las progestinas producidas por los folículos ováricos ya que es el precursor de todas las hormonas esteroideas pero la más abundante es progesterona. Durante la ovulación, la progesterona interviene en la regulación de la función de las células granulosas y en la ruptura del folículo (Richards, 1978).

La progesterona participa de forma activa en la ovulación, implantación y mantenimiento de la gestación. Se ha observado un aumento de progesterona previo al incremento de gonadotropinas característico de la ovulación. Los receptores de dicha hormona se encuentran en las células tecaes de los folículos antrales pequeños y en células de la granulosa de folículos preovulatorios expuestos previamente a LH/hCG (Hild-Petito et al., 1988; Iwai et al., 1991). La progesterona aumenta también la respuesta a FSH en células de la granulosa (Goff et al., 1979).

Durante la lactancia el desarrollo de la glándula mamaria ocurre hacia el final de la gestación cuando los niveles séricos de progesterona son elevados, entre otras hormonas, estimula a su vez la formación del alveolo en la glándula mamaria (Kon & Cowie, 1978).

Desarrollo Folicular.

La foliculogénesis es un proceso que comprende el crecimiento del folículo y las etapas de su desarrollo, desde que emerge del reservorio de folículos formado durante la ovogénesis hasta el momento de la ovulación o atresia (regresión o muerte del folículo); este proceso se desarrolla en la corteza ovárica. Debido al continuo crecimiento y a la regresión de los folículos, la relación volumen/contenido del ovario, se encuentra en constante cambio (Thibault et al., 1993).

El desarrollo de los folículos es complejo y envuelve la integración de señales de múltiples sistemas. Entre especies existen diferencias en cuanto al número de folículos formados durante la ovogénesis. Al nacimiento, el ovario contiene alrededor de 20.000, 160.000, y 1.000.000 folículos en ratas, ovejas y humanos respectivamente (Thibault et al., 1993). En la mayoría de los mamíferos antes o luego del nacimiento, la ovogonia es transformada a ovocitos primarios. La transformación de ovogonia a ovocito se encuentra

determinada por la interrupción del proceso de mitosis que llevan a cabo las células primordiales germinales y la entrada en la fase meiótica: profase, en el cual los ovocitos quedan arrestados. Después de este proceso, los ovocitos se encuentran rodeados por una capa única de células foliculares aplanadas que reciben el nombre de pregranulosa (Irving-Rodgers et al., 2000). Los folículos primordiales, se ubican en la periferia de la corteza ovárica principalmente, por debajo de la túnica albugínea formando el cúmulo de folículos en reposo y que durante la vida reproductiva serán eliminados progresivamente (Peters et al., 1973). Para que estos folículos primordiales inicien su crecimiento, es necesaria una compleja interacción entre factores estimulatorios e inhibitorios.

Los folículos dejan el reservorio para transformarse en folículos primarios. Este cambio lleva consigo modificaciones citológicas en el ovocito, en las células foliculares y el tejido conectivo adyacente. Según el ovocito incrementa de tamaño, la capa de células aplanadas se transforma en una capa de células cúbicas y cilíndricas, formando mediante mitosis las células de la granulosa que posteriormente formaran un epitelio estratificado. Se originan espacios entre el ovocito y las células de la granulosa que representan el inicio de la zona pelúcida, en los cuales se depositan mucopolisacáridos secretados por la granulosa. La zona pelúcida está formada por tres glucoproteínas y su adquisición es una característica del folículo preantral primario (Elvin & Matzuk, 1998).

Según los folículos aumentan de tamaño, se desplazan progresivamente hacia el interior de la corteza ovárica. El folículo primario unilaminar pasa a un estadio preantral, multilaminado con dos o más capas de células de la granulosa rodeando al ovocito, al cabo de sucesivas divisiones mitóticas de las células de la granulosa, formando el folículo secundario o preantral (Hirshfield, 1991). En esta etapa las células de la granulosa se conforman por una población homogénea y presentan receptores de alta afinidad para la hormona folículo estimulante y hormonas esteroideas (Adashi et al., 1993). Al mismo tiempo se lleva a cabo el desarrollo alrededor del folículo de una capa de células originada del estroma que conforma la teca folicular. La capa tecal se diferencia en una teca interna y otra externa.

Mientras el folículo aumenta en tamaño la zona pelúcida termina su formación. Esta fase es denominada fase preantral, al final de dicha fase el ovocito detiene su crecimiento y vuelve a ser competente para realizar la meiosis. Cuando el folículo alcanza un diámetro

aproximado de 0.2 mm y posee de seis a doce capas de células (en humanos), surgen espacios irregulares entre las células de la granulosa que se encuentran llenos de un líquido claro. A medida que el folículo incrementa su tamaño la cantidad de líquido aumenta y los espacios formados entre las células de la granulosa convergen para formar una sola cavidad. Se forma, entonces, una cavidad central: el antro folicular, rodeado de células de la granulosa murales, localizadas en la periferia. Con la formación la cavidad antral, el folículo se transforma en un folículo terciario o folículo antral (Thibault et al., 1993).

El folículo antral se encuentra tapizado por un epitelio estratificado de células granulosas que presentan un engrosamiento localizado en uno de sus lados llamado células del cumulus. La aparición de los receptores de LH en las células de la granulosa ocurre durante la transición del folículo antral hacia el folículo preovulatorio, debido a la estimulación de FSH (Oxberry & Greenwal, 1982). Este paso es fundamental para que el folículo progrese hacia el paso final, la ovulación. Los folículos preovulatorios son aquellos que han alcanzado los estadios finales de crecimiento y maduración del folículo antral y han adquirido la habilidad para ovular ante los adecuados niveles de LH o la administración de hCG (Amsterdam et al., 1975).

Ovulación.

La ovulación es un proceso dinámico que conlleva cambios en la integridad de la superficie del folículo, que después de la iniciación por el pico preovulatorio de LH implica cascadas de varias vías y la interacción de distintos tipos de células y compartimentos celulares. Las funciones principales de estas vías son promover la permeabilidad y aumento del flujo sanguíneo, acelerar la remodelación de la matriz extracelular que conduce a la degradación del ápice folicular y la reestructuración del folículo a cuerpo lúteo, inducir la expansión dentro del cúmulo en las células de la granulosa, modificar la esteroidogénesis en las células de la granulosa y de la teca hacia secreción de progesterona, y para mantener una presión intrafolicular positiva. La pared folicular finalmente se rompe y el ovocito es expulsado acompañado de células granulosas (*corona radiata*) (Carrel & Peterson, 2010).

Cerca de la mitad del ciclo, ocurre un considerable aumento en los niveles de estrógenos por sobre el umbral, con el fin de estimular por retroalimentación positiva, un pico

de gonadotropinas principalmente de LH y en menor medida de FSH. El pico de LH es el estímulo dominante para que el folículo ovule y de origen al cuerpo lúteo. Después del pico preovulatorio de LH, la síntesis de estradiol disminuye mientras que se produce un incremento en la producción de progesterona que es estimulado por la misma LH. Desaparecen uniones estrechas, que mantenían unidas las células de la granulosa y la lámina basal. Siendo el único sitio donde estas uniones no se ven afectadas en las células que forman parte de la corona radiada. En este fenómeno existe también un componente mecánico por el rápido incremento en el tamaño del folículo ovárico, luego del cual el folículo emerge desde la corteza. Se lleva a cabo la digestión proteolítica de la pared folicular, así como la disolución de la membrana basal y el tejido tecal asociado a la ovulación. Las prostaglandinas de la serie E y F (PGE y PGF_{2α}) son algunos de los componentes involucrados en la degradación de la pared folicular y la formación del cuerpo lúteo. Se ha demostrado que los niveles de prostaglandinas en el tejido ovárico incrementa durante los cambios metabólicos que ocurren en el proceso ovulatorio (Leonardi et al., 2012; Alison et al., 2012). Luego de la ovulación, el folículo ovárico se transforma en cuerpo lúteo. En este proceso, el ovocito que estaba detenido en profase I, reanuda la meiosis y es ovulado en el estadio de metafase II (XueJing et al., 2013).

Formación del Cuerpo Lúteo.

El cuerpo lúteo se desarrolla de la compresión de las células de la pared del folículo ovulatorio, su formación da inicio antes de la ovulación pero se hace más notoria después de la ruptura del folículo y se prolonga durante un número de días específico para cada especie hasta que el cuerpo lúteo está completamente formado (Espey & Lipner, 1994).

La luteinización es un evento que envuelve la proliferación, diferenciación celular y la remodelación tisular. Se compone de dos importantes procesos 1) hipertrofia y diferenciación de las células esteroideogénicas de los folículos a células luteales; y 2) crecimiento rápido de vasos sanguíneos, angiogénesis, y en algunas especies linfogénesis (Espey & Lipner, 1994). Este fenómeno inicia a través de cambios bioquímicos y morfológicos que se llevan a cabo en las células de la teca interna y en las células de la granulosa de los folículos preovulatorios. El incremento en los niveles séricos de LH desarrolla el proceso de luteinización.

Las células del cuerpo lúteo se originan de dos tipos diferentes de células secretoras de esteroides provenientes del folículo ovulatorio, las células de la granulosa y las células de la teca. Así, el cuerpo lúteo se compone de dos tipos de células luteales: células granulosa-luteínicas y células teca-luteínicas. Las primeras contienen todos los elementos de las células secretoras de esteroides como numerosas mitocondrias y abundante retículo endoplasmático liso. Por el contrario, las células teca-luteínicas tienen moderada cantidad de mitocondrias pero abundante retículo endoplasmático liso. Ambos tipos celulares constituyen el 50 % del cuerpo lúteo, ya que éste contiene además abundantes elementos del tejido conectivo (Espey & Lipner, 1994; XueJing et al., 2013).

Eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario.

El hipotálamo y la hipófisis guarda relaciones anatómicas y funcionales estrechas, a su vez, estas estructuras regulan la función de diversas glándulas endocrinas, como la tiroides, las glándulas adrenales y las gónadas. La hipófisis se compone de dos áreas principales: 1) el lóbulo anterior o adenohipófisis, que deriva embriológicamente de una invaginación ascendente de la cavidad bucal: la bolsa de Rathke, y 2) el lóbulo posterior o neurohipófisis, que procede de una invaginación descendente del piso del tercer ventrículo. La hipófisis se comunica con el hipotálamo a través del tallo hipotalámico o hipofisario (Guyton & Hall, 2012).

La GnRH es un decapeptido hipotalámico que regula la secreción de las hormonas hipofisarias LH y FSH. La GnRH se libera de forma pulsátil hacia al sistema circulatorio portal hipotálamo-hipofisario para luego ser transportada a la hipófisis anterior (Neil et al., 2001; Gründker et al., 2002). Las hormonas gonadotrópicas hipofisarias LH, FSH, prolactina y gonadotropina coriónica humana (hCG) llevan a cabo la regulación de la función ovárica. Las dos primeras proceden de las células basófilas de la adenohipófisis y tienen una estructura glucoproteica, con dos cadenas α y β . La cadena α es común en ambas, siendo la β específica de cada una de ellas. FSH estimula la maduración del folículo del ovario mientras LH provoca la ruptura del folículo durante la ovulación y la formación del cuerpo lúteo (Tresguerres & Castillo, 1993).

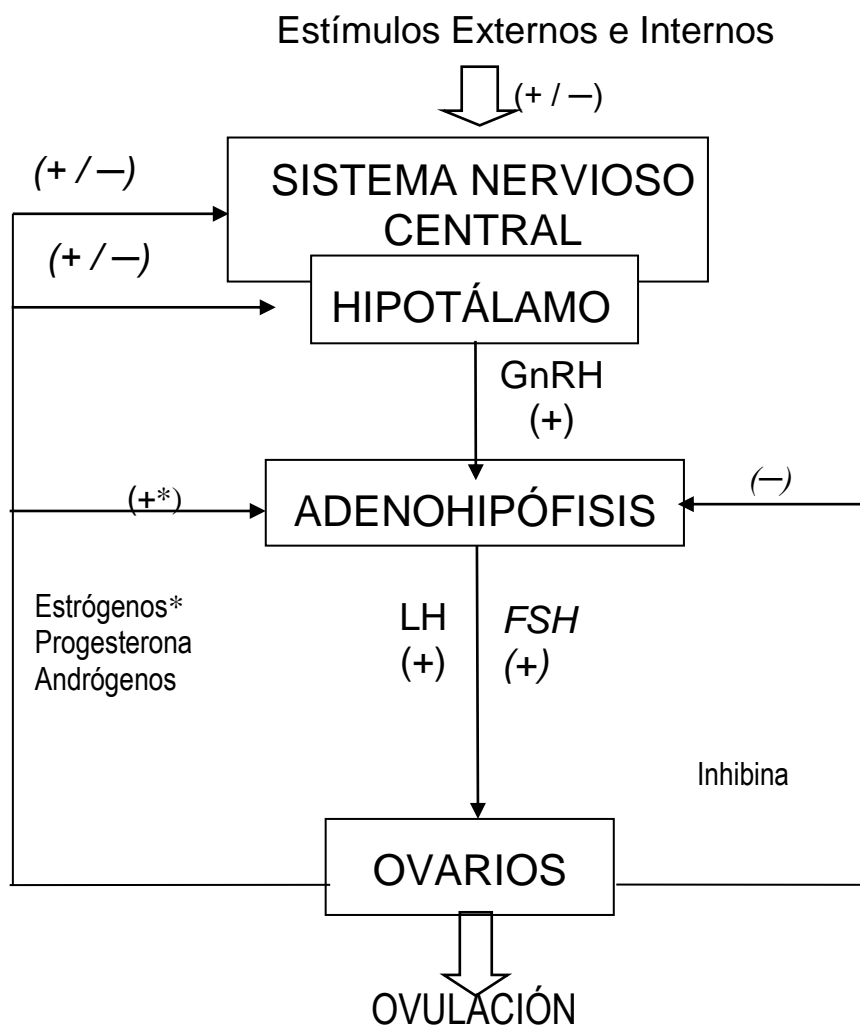


Figura 4. Representación esquemática de la interacción neuroendocrina y endocrina de los componentes del eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario. La GnRH induce la secreción de las hormonas LH y FSH que a su vez estimulan la secreción de hormonas ováricas de retrocontrol (esteroides sexuales: estrógenos, progestágenos y andrógenos; e inhibina) así como la maduración de los folículos y la ovulación. Las flechas indican las acciones estimulantes (+) ó inhibitorias (-) sobre su órgano blanco (Tomado de Sánchez-Criado, 1999).

Los folículos primordiales y primarios son insensibles a la acción de las gonadotropinas. Al llegar a la pubertad la FSH ejerce una acción estimulante del desarrollo folicular a la vez que produce aromatización estrogénica y síntesis de inhibina. El incremento en la secreción de FSH produce la maduración de la reserva de folículos de primarios a secundarios. Los folículos que maduran producen estrógenos, principalmente estradiol. La hormona es transportada en la

circulación hasta la hipófisis y al hipotálamo. Concentraciones bajas de estradiol mantienen a las células productoras de FSH y LH en un nivel de baja sensibilidad para la acción de GnRH, retroalimentación negativa. Con la maduración del folículo aumentan los niveles de estradiol séricos. Inmediatamente antes de la ovulación los niveles de estradiol son altos y aumentan la sensibilidad del receptor de GnRH en células gonadotropas de la hipófisis, retroalimentación positiva. La LH provoca el proceso de ovulación y la posterior luteinización, por lo que las células de la granulosa que antes producían estradiol ahora sintetizan principalmente progesterona. El folículo se transforma en cuerpo lúteo. El estradiol junto con la progesterona inhibe por retroalimentación negativa la producción de FSH y LH en la hipófisis (Schmidt & Thews, 1992; Tresguerres & Castillo, 1993) (Figura 4).

Ciclo Estral.

El ciclo estral de la rata dura de 4 a 5 días, la ovulación se produce espontáneamente. Las fases del ciclo son: proestro, estro (al final del cual ocurre la ovulación), diestro-1 y diestro-2 (Gorbman et al., 1983; Hebel & Stromberg, 1986; Martin, 1979) (Tabla 1).

Estos cambios de la citología vaginal se repiten de manera cíclica durante la vida fértil de la rata hembra y son fiel reflejo de los cambios hormonales que ocurren en cada ciclo estral. Es importante señalar que la influencia del fotoperíodo es fundamental para que se presenten ciclos regulares de cuatro o de cinco días de duración (Figura 3). La presencia de un ciclo estral de mayor duración es relativamente anormal y reflejaría cambios importantes en el patrón de secreción de las hormonas a consecuencia de diversos factores (Montes & Luque, 1988).

El ciclo ovárico está bajo el control del eje hipotálamo-hipófisis-gónada. El crecimiento folicular ocurre por la estimulación de FSH, los folículos ováricos a su vez secretan estrógenos que tiene efecto de retroalimentación positiva sobre la secreción de LH por la adenohipófisis, alcanzándose un pico de LH al final del Proestro, disparando así la ovulación. Los estrógenos también estimulan el epitelio vaginal y la queratinización del mismo. En el útero inducen hiperemia y acumulación de fluido. Tras el estro, los folículos que han liberado óvulos se transforman en cuerpos lúteos durante la fase del diestro. El cuerpo lúteo secreta progesterona

y en menor grado estrógenos. La progesterona induce la mucificación del epitelio vaginal. En el útero se inicia en diestro la degeneración epitelio, si no ha habido fertilización del ovulo. Al final de la fase del diestro, vuelve a comenzar la maduración de otros folículos ováricos y a regenerar los epitelios vaginal y uterino (Gorbman et al., 1983; Hebel & Stromberg, 1986; Martin, 1979) (Figura 5).

Tabla 1. Resumen de los cambios a nivel de ovario, útero, epitelio vaginal y conducta en las distintas fases del ciclo estral de la rata. (Tomado de De la Cruz & Pasaro, 1998)				
Fase	Ovario	Útero	Vagina	Conducta y Duración
Estro	Maduración de folículos. Ovulación.	Máxima distención. Inicio de degeneración del epitelio uterino.	Epitelio grueso. Capa de células cornificadas en la superficie. Frotis vaginal con abundancia en células escamosas.	Receptividad máxima. Lordosis. Copulación. 25 a 27 horas.
Diestro-1	Formación de cuerpos lúteos.	Alguna degeneración vacuolar pero también regeneración.	Descamación del epitelio cornificado. Epitelio delgado. Invasión de leucocitos. Frotis vaginal con abundancia de células escamosas y leucocitos	No hay receptividad. 6 a 8 horas.
Diestro-2	Crecimiento de cuerpos lúteos. Folículos de varios tamaños.	Regeneración del epitelio uterino.	Epitelio delgado. Regeneración del epitelio. Frotis vaginal con abundancia de leucocitos y células epiteliales	No ha receptividad. 55 a 57 horas.
Proestro	Crecimiento rápido de folículos. Degeneración de los cuerpos lúteos del ciclo previo.	Útero distendido con fluido aumentando su tamaño.	Epitelio grueso. Células epiteliales superficiales. Frotis vaginal con abundancia de células epiteliales.	Estado receptivo a la copulación hacia el final del Proestro. 12 a 14 horas.

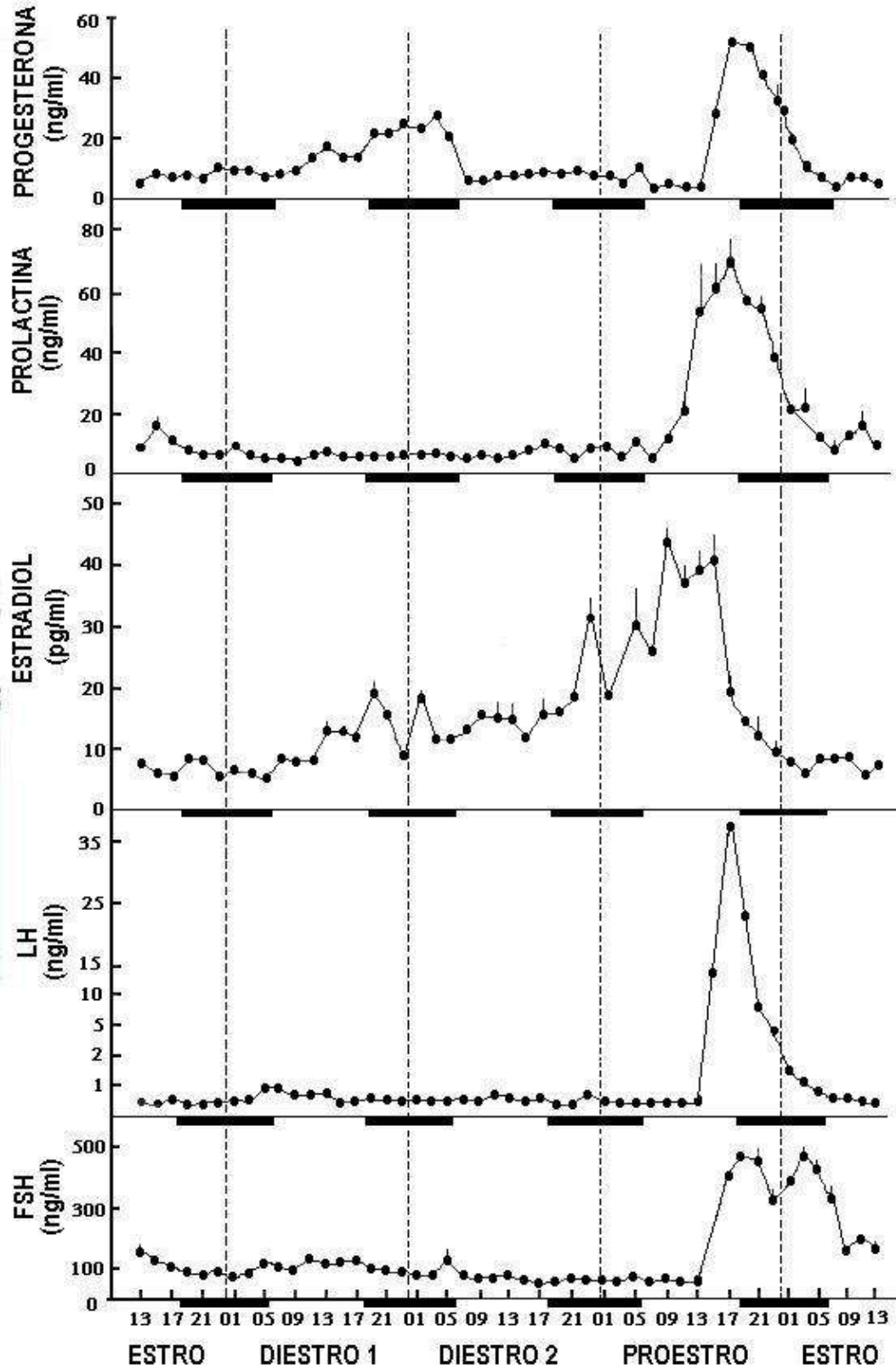


Figura 5. Perfiles de la secreción de las principales hormonas adenohipofisarias y ováricas durante el ciclo estral de 4 días en la rata adulta (Tomado de Smith et al., 1975).

Sistema Dopaminérgico.

En el sistema nervioso central (SNC) la distribución de neuronas dopaminérgicas es abundante, sin embargo también se encuentran en el sistema nervioso periférico (SNP). De acuerdo a los criterios anatómicos actuales se distinguen los siguientes sistemas de neuronas dopaminérgicas que de acuerdo a la clasificación de Bjöcklund & Lundvall (1984) corresponden a los grupos A₈ al A₁₇ (Tabla 2). A su vez, estos grupos de somas dopaminérgicas por la longitud de sus proyecciones pueden dividirse en (Lundvall, 1979; Alonso-Solís, 1992):

- *Vías Largas:* incluyen a: Sistema Nigroestriatal y Sistema Mesocortical, sus funciones se encuentran asociadas al control y la iniciación del movimiento voluntario. Sistema Mesolímbico, que participa en el control de las emociones y diversas conductas. Sistema Diencefaloespinal, sus funciones se relacionan con las señales del movimiento involuntario.
- *Vías Cortas e Intermedias:* incluyen a Sistema Tuberohipofisario y Sistema Tuberoinfundibular, sus funciones se relacionan fundamentalmente con el control de la secreción de prolactina. Sistema Incertohipotalámico, entre sus funciones se ha destacado su participación en la regulación de la secreción de la GnRH y la mediación de la conducta sexual. Sistema Periventricular, sus funciones se relacionan con la actividad motora.
- *Vías Ultracortas:* Incluyen a: Sistema de Células Amácrinas de la capa nuclear interna de la retina, relacionadas con el proceso de la información visual y, Sistema Periglomerular del bulbo olfatorio que participa en la transducción de las señales olfativas

Las neuronas dopaminérgicas varían de forma y tamaño según la región del SNC y del SNP (Tohyama & Takatsuji, 1998) (Tabla 2).

Las catecolaminas son monoaminas, están formados por un núcleo catecol (un anillo de benceno con dos hidroxilos) y una cadena de etilamina o alguno de sus derivados. Las catecolaminas dopamina, adrenalina y noradrenalina actúan como mensajeros químicos en el Sistema Nervioso de los mamíferos. Los principales sitios de producción de catecolaminas son el cerebro, la médula adrenal y las neuronas simpáticas (Bahena et al., 2000; Peaston & Weinkove, 2004).

Tabla 2. Principales sistemas dopaminérgicos descritos en el cerebro de la rata (Tohyama & Takatsuji, 1998).

- *Sistema Mesoestriatal.* Sus somas se originan en la sustancia nigra (A₉), área tegmental ventral (A₁₀), núcleo retrorubral (A₈) y proyectan hacia el área estriatal.
- *Sistema Mesolimbicortical.* Sus somas se originan en el área tegmental ventral, sustancia nigra, núcleo retrorubral y proyectan hacia las áreas límbica y cortical.
- *Sistema Diencefaloespinal.* Sus somas se originan en el hipotálamo posterior dorsal, zona incerta, tálamo caudal (A₁₁) y proyectan al médula espinal.
- *Sistema Periventricular.* Sus somas se originan en el área mesencefálica periaqueductal y periventricular del tálamo caudal (A₁₁). Sus proyecciones se dirigen hacia la zona gris periaqueductal, tálamo medial e hipotálamo.
- *Sistema Incertohipotalámico.* Sus somas se originan en la zona incerta y en el hipotálamo periventricular (A₁₂, A₁₃, A₁₄). Sus proyecciones se dirigen a la zona incerta, ala región preóptica medial , al hipotálamo anterior y periventricular.
- *Sistema Tuberohipofiseal.* Sus somas se originan en los núcleos arcuato y periventricular del hipotálamo (A₁₂, A₁₄) y se proyectan hacia la eminencia media, *pars nervosa* y *pars intermedia* de la hipófisis.
- *Neuronas Dopaminérgicas Periglomerulares.* Sus somas se localizan principalmente en el bulbo olfatorio (A₁₆) y sus proyecciones llegan a los procesos dendríticos dentro del glomérulo olfatorio.
- *Sistema Dopaminérgico Retinal.* Sus somas se encuentran principalmente en la capa nuclear de la retina y proyectan localmente al nivel de las dendritas en la retina.

La dopamina es un neurotransmisor catecolaminérgico que participa en la regulación de diversas funciones como la conducta motora, la emotividad y la afectividad así como en la comunicación neuroendócrina. Es sintetizada a partir del aminoácido L-tirosina y se ha identificado como enzima limitante para su producción a la tirosina hidroxilasa. Técnicas de clonación molecular han permitido detectar cinco tipos de receptores dopaminérgicos, los cuales se encuentran acoplados a proteínas G, se dividen en dos familias farmacológicas denominadas DA1 y DA2. Los receptores de la familia DA1 (subtipos DA1 y DA5) están acoplados a proteínas G_s y estimulan la formación de AMPc como principal mecanismo de transducción de señales. Los subtipos pertenecientes a la familia DA2 (DA2, DA3 y DA4) inhiben la formación de AMPc, activan canales de K⁺ y reducen la entrada de iones de Ca²⁺ a través de canales dependientes del voltaje, efectos mediados también por proteínas G (G_{ai} y G_{ao}). Varias enfermedades neurológicas humanas, incluyendo la enfermedad de Parkinson y la esquizofrenia, se cree que son manifestaciones de desequilibrios entre los receptores de

dopamina y la dopamina (Mayerhofer et al., 1999; Bahena et al., 2000; Banihashemi & Albert., 2002).

Los receptores DA1 son cadenas de 446 residuos de aminoácidos y específicamente el subtipo DA1 es el receptor dopaminérgico más abundante en el SNC (Jackson & Westlind, 1994; Weiner & Molinoff, 1989; Missale et al., 1998). Principalmente se encuentran en el túbulo olfatorio, el neostriado, el núcleo *accumbens*, las islas de Calleja, la amígdala, el núcleo subtalámico, la sustancia negra y el cerebelo. Niveles moderados han sido detectados en la corteza cerebral el tálamo y el globo pálido (Jackson & Westlind, 1994).

El receptor DA2 tiene 2 formas generadas por procesamiento alternativo ("splicing") del RNAm. La forma corta (DA2S) está formada por 414 aminoácidos en el humano y 415 en la rata, mientras que la forma larga (DA2L) tiene 443 y 444 aminoácidos respectivamente. El receptor DA2 ha sido detectado en alta densidad en el neostriado, el túbulo olfatorio, el núcleo *accumbens*, las islas de Calleja y el área tegmental ventral. Se encuentra también en moderadas cantidades en la sustancia negra reticulada, y la sustancia negra compacta, la corteza cerebral, el globo pálido, la amígdala, el tálamo y el hipotálamo (Mansour et al., 1990; Jackson & Westlind, 1994). Los receptores DA2 han sido descritos también en células endoteliales (Basic et al., 1991), linfocitos (Basu & Dasgupta, 2000) y en plaquetas (Emerson et al., 1999) y hasta existen evidencias que señalan que existe un sistema de señalización a través de la dopamina en el sistema circulatorio humano a través de las células inmunitarias (Mckenna et al., 2002).

Se ha observado que la dopamina disminuye el crecimiento de varios tipos de tumores malignos en ratones y dicho efecto se atribuyó a la inhibición de la proliferación de células tumorales o a la estimulación de la inmunidad (Wick, 1978; 1981). Posteriormente se demostró la presencia de receptores dopaminérgicos en las células endoteliales (Basic et al., 1991). Incluso, se ha observado que ciertos tipos de tumores son más activos cuando pierden la actividad dopaminérgica medida en las células endoteliales de los vasos sanguíneos que los nutren (Basu et al., 1995). En un estudio sobre ratones singénicos con cáncer de ovario, el cual fue inducido al inyectar intraperitonealmente células tumorales ováricas secretoras de factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), resulta en un descenso de la angiogénesis al inyectar dopamina (Basu et al., 2001). Del mismo modo, mediante estudios con agonistas y

antagonistas dopaminérgicos, se pudo observar que el efecto anti-angiogénico de la dopamina se realiza a través de la activación del receptor DA2 y no a través de la modulación de otros receptores de la misma familia.

En el ovario humano se ha detectado la presencia de altos niveles de dopamina y de receptores DA1 en el cuerpo lúteo. El repertorio de receptores de dopamina presentes específicamente en las células de la granulosa ha sido descrito (Rey-Ares et al., 2007). Todos los receptores de dopamina están presentes a excepción el DA3, siendo el DA2 el de mayor expresión. Se ha observado la presencia de tirosina hidroxilasa en los ovocitos de *Macaca mulatta*, por lo que se ha postulado que la dopamina sea utilizada como precursor para la posterior síntesis de noradrenalina en los ovocitos (Gay et al., 2004). Se ha identificado la presencia receptores dopaminérgicos en el tejido ovárico de la rata (Mayerhofer et al., 2000; Gay et al., 2004) pero su papel funcional aún no ha sido esclarecido pero podría estar regulando las funciones ováricas.

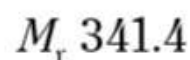
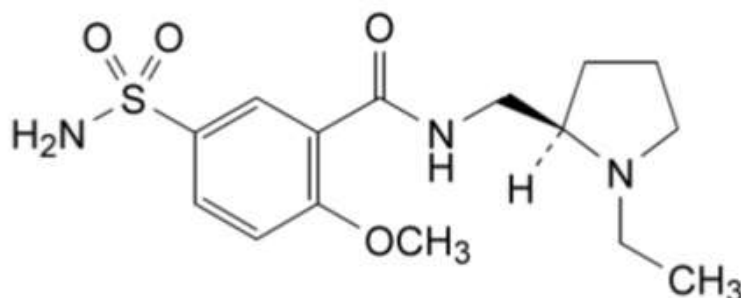
Otros trabajos en los que se ha analizado el papel de la dopamina en la periferia postulan que actúa como un modulador de las funciones renales y cardiovasculares (Amneta et al., 2002) y es factible que en los ovarios desempeñe funciones semejantes. Existe un creciente interés por dilucidar las causas de diferentes síndromes y patologías ováricas que producen infertilidad o cuadros de anovulación crónica, como la de tipo hiperandrogénico (síndrome del ovario poliquístico), aquellas causadas por desórdenes periféricos y las que se deben a disfunciones del eje SNC-hipotálamo-hipófisis (Yen, 1999a; 1999b; 1999c). Si bien una parte de estos trastornos de la función reproductiva de la mujer son ocasionados por deficiencia en los mecanismos de emisión o recepción de señales humorales, otros podrían ser explicados por alteraciones en las señales nerviosas de ingreso y salida por los ovarios, aunque esto último no ha sido demostrado (Parra et al., 2007; Speroff et al., 1999).

Propiedades Farmacológicas de Sulpiride.

Existe una gran variedad de fármacos antagonistas dopaminérgicos, que interactúan de manera selectiva, sobre un tipo o subtipo de receptor específico. El sulpiride, (RS)-N-[(1-etilpirrolidin-2-il)-metil]-2-metoxi-5-sulfamoilbenzamida, es un neuroléptico perteneciente al

grupo de las benzamidas que no produce efectos secundarios extrapiramidales en los seres humanos ni catalepsia en los animales experimentales (Figura 6). Actúa como antagonista del sistema dopaminérgico inhibiendo específicamente los receptores DA2 aunque muestra igualmente una alta afinidad por los receptores DA3 (Martin et al., 1996).

El efecto preferente del sulpiride sobre estructuras límbicas (relacionado con la acción antipsicótica de los neurolépticos), junto con su escasa actividad en áreas nigroestriadas (relacionada con los efectos extrapiramidales), podría estar favoreciendo una acción antipsicótica específica sin acompañarse de los importantes efectos extrapiramidales provocados por otros neurolépticos típicos como el haloperidol. Por otro lado, a diferencia de otros neurolépticos como la clozapina o el haloperidol, el sulpiride no interactúa significativamente con receptores de otros neurotransmisores, por lo que su perfil atípico no parece relacionarse con el bloqueo serotoninérgico, muscarínico o alfa-adrenérgico (Palomo, 1991).



N-((1-Etil-2-pirrolidinil)metil)-2-metoxi-5- sulfamoilbenzamida

Figura 6. Fórmula, estructura y nombre químico del antagonista del receptor a dopamina DA2, sulpiride.
Mr: Masa molecular. Modificado de *Council of Europe*, 2004.

El sulpiride se presenta como un polvo cristalino blanco o casi blanco, prácticamente insoluble en agua, poco soluble en metanol, ligeramente soluble en alcohol y en cloruro de metileno. Se disuelve en soluciones de ácidos minerales e hidróxidos alcalinos.

Asimetría Ovárica.

Los ovarios de las aves son asimétricos, el ovario izquierdo es el único que ovula y secreta estradiol mientras que el ovario derecho se encuentra atrofiado. Al extirpar el ovario ovulante quirúrgicamente, el ovario remanente no se desarrolla como tal sino que crece como un testículo y secreta testosterona (Álvarez et al., 2009; Genoveva & Morán, 2011).

En mamíferos poliovulantes, se han observado diferencias en la capacidad ovulatoria del ovario izquierdo y derecho. En murciélagos la asimetría es más notoria, siendo más frecuente que el ovario derecho sea el más dominante (Wimsatt, 1979).

En ratas el ovario izquierdo ovula dos ovocitos más comparado con el ovario derecho (Domínguez et al., 2003). El ovario izquierdo tiene una capacidad mayor para secretar progesterona (Barco et al., 2003; Flores et al., 2005) y testosterona en respuesta a una hemicastración (Flores et al., 2006).

En ratas hembras la cantidad de GnRH la cual se encuentra en el hipotálamo es mayor en el lado derecho respecto al izquierdo (Gerendai et al., 1978). La lesión de hipotálamo anterior sobre el lado derecho inhibe el desarrollo de la hipertrofia compensadora del ovario después de una hemiovariectomía (Fukuda et al., 1984). De manera similar, la lesión derecha del área preóptica da como resultado la disminución del número de ovocitos liberados (Moran et al., 1994) y un implante de atropina en el hipotálamo anterior derecho bloquea por completo la ovulación (Cruz et al., 1989).

El uso de técnicas de rastreo transneuronal ha permitido identificar la existencia de un camino multisináptico entre el cerebro y los ovarios de ratas. El marcaje de neuronas relacionadas con ambos ovarios fue detectado en el núcleo del tracto solitario, en el núcleo dorsal del vago, en el grupo celular A₅ noradrenérgico, en el magnus del rafe y en el núcleo paraventricular hipotalámico. Cuando la inyección del virus de pseudorabia se realiza en el ovario izquierdo se observa que el patrón de marcaje es diferente al observado para el ovario derecho, abarcando también el núcleo caudal del Rafe (Gerendai et al., 2005; Gerendai et al., 1998; Toth et al., 2007). Klein and Burden (1988) no encontraron diferencias en el número de neuronas entre el lado derecho o izquierdo del ganglio celiaco superior (origen de la mayoría de las fibras ostsinápticas del ovario) de ratas adultas pero estudios recientes indican lateralización en la

inervación. La inyección del trazador retrogrado (True Blue) dentro del ovario derecho o izquierdo pone de manifiesto que estas conexiones se producen de manera asimétrica, mientras que el ovario izquierdo proyecta de manera ipsi- y contralateral, el ovario derecho únicamente mantiene conexiones ipsilaterales. (Moran et al., 2005). La asimetría en la inervación entre el ovario izquierdo y derecho se ha estudiado por la denervación de las fibras nerviosas que llegan al ovario.

Hemiovariectomía.

La hemiovariectomía (ovariectomía unilateral) es un modelo experimental usado para analizar la existencia de asimetrías funcionales y fisiológicas entre los ovarios, incluyendo la habilidad de secreción de hormonas por cada ovario. La hemiovariectomía resulta en el incremento de peso en el ovario que permanece *in situ* que es atribuido a la hipertrofia del ovario remanente así como la restauración de la ovulación completa conocida como ovulación compensadora (Domínguez et al., 2003; Morales et al., 2007). En ratas adultas hemicastradas, cuando el ovario derecho permanece *in situ* 27/32 animales ovula en el día del estro esperado mientras que en el ovario izquierdo *in situ* sólo 16/38 lo hacen. La vagotomía unilateral y contralateral restaura la ovulación en el ovario izquierdo (Chávez et al., 1987).

La ovariectomía izquierda en ratas a las 13:00 horas del día del estro no causa cambios en la concentración de progesterona. Mientras tanto, la concentración sérica de testosterona incrementa y las concentraciones de estradiol disminuyen significativamente. Por otra parte, la ovariectomía derecha no muestra cambio en los niveles de progesterona, testosterona y estradiol séricos. La inyección de sulfato de atropina a ratas con ovariectomía izquierdo da como resultado el incremento en los niveles de progesterona, una significativa reducción en los niveles séricos de testosterona y a una reducción no significativa en los niveles de estradiol. Ratas con ovariectomía derecha, o con bloqueo colinérgico, no mostraron cambios en la concentración de progesterona y un incremento significativo en los niveles de testosterona y estradiol. Una adrenalectomía a ratas a las que se extirpó el ovario izquierdo mostró una disminución en los niveles de progesterona y testosterona, sin cambios en la concentración de estradiol. Veinticuatro horas después de la cirugía, los animales

adrenalectomizados con ovario izquierdo *in situ* tuvieron una concentración más alta de estradiol comparado con aquellas ratas con ovario derecho *in situ* (Barco et al., 2003; Domínguez et al., 2003)

Cuando la hemiovariectomía se realiza en ratas de 20 días de edad, el porcentaje de ovulación compensadora por el ovario izquierdo fue mayor que la del derecho. La destrucción de la innervación sensorial por administración de capsaicina resulta en el incremento de la ovulación compensadora en el ovario derecho y la disminución por el izquierdo. Estos resultados sugieren que la respuesta compensadora del ovario depende del ovario que permanece *in situ* (Apolonio et al., 2000). Además dichos resultados acerca de la innervación ovárica demuestran que el papel del ovario derecho o izquierdo son afectados por distintas vías (Domínguez et al., 2003).

Hipertrofia Compensadora y Ovulación Compensadora del Ovario.

En la rata al remover un ovario da como resultado el incremento en el peso (hipertrofia compensadora: HCO) y el número de ovocitos liberados por el ovario que permanece *in situ* (ovulación compensadora: OC). La hemiovariectomía causa la HCO remanente la cual resulta en el incremento de la población folicular y la disminución de atresia folicular. La HCO es resultado de la caída inicial en los niveles periféricos de estrógenos seguido por un incremento en la liberación de gonadotropinas las cuales restauran los niveles de estrógenos al nivel anterior a la operación (Benson et al., 1969).

Las funciones compensadoras del ovario pueden ser explicadas como el resultado de un desbalance funcional en el eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario causado por la ausencia de una de las gónadas productora de hormonas esteroideas. Donde la hipófisis libera una mayor cantidad de FSH y LH (Butcher, 1977) las cuales estimulan al ovario remanente e inducen el crecimiento folicular, disminuyen el porcentaje de atresia folicular y generan la liberación de un mayor número de ovocitos (Peppler & Greenwald, 1979).

Después de una hemiovariectomía temporalmente se reducen el efecto de retroalimentación negativa llevada a cabo por inhibina por lo cual la hipófisis aumenta la liberación de FSH lo que conlleva al reclutamiento de folículos pequeños (King et al., 1995).

Algunos autores señalan que tanto la FSH como la LH se incrementan cuatro horas posteriores a la cirugía (De Greef et al., 1975; Ackland et al., 1990) mientras que otros mencionan que la elevación es mayor para FSH que para la LH, cinco horas post-cirugía (Welschen & Dullaart, 1974).

La concentración de progesterona en la rata adulta hemiovariectomizada, resulta en una mayor concentración de la hormona dos horas después de la cirugía, mientras que la concentración de estradiol en el metaestro disminuye una hora después, con un aumento significativo a las veintidós horas post-operación, lo que sugiera que la concentración de progesterona depende del tiempo transcurrido entre la cirugía y la autopsia (Butcher, 1977). Contradictoriamente en otro estudio no se observaron cambios en la concentración de progesterona nueve días después de la hemiovariectomía sin embargo, en este estudio no se consideró la etapa del ciclo estral en la que se realizó la cirugía (Gerandai et al., 1995).

Los mecanismos que desarrollan la HCO y OC en ratas hemicastradas han sido analizadas a través de cambios en la secreción de gonadotropinas por la hipófisis y de hormonas esteroideas ováricas. Muchos de los resultados obtenidos de ratas hemiovariectomizadas no pueden ser completamente explicados en términos puramente endocrinológicos. Por ejemplo, la concentración de FSH en plasma de ratas cíclicas se incrementa durante las primeras 6-12 horas después de una hemiovariectomía cuando se realiza a las 8:00 h del día de diestro-2 comparado con los valores control, sin embargo, cuando la cirugía se realiza a las después de las 17:00 horas del diestro-2 la OC no ocurre al siguiente estro (Otani & Sasamoto, 1982).

En otro estudio se compararon los efectos de una ovariectomía izquierda contra la derecha, se encontró que el número de animales ovulantes disminuye cuando el ovario izquierdo permanece *in situ* pero es normal en ratas con el ovario derecho *in situ* y la sección de ambos nervios vago en ratas con hemiovariectomía derecha reduce la HCO. En cambio, la sección del nervio vago izquierdo solo induce efectos que depende del ovario que permanece *in situ*. Cuando el ovario izquierdo es el que permanece *in situ*, el porcentaje de animales ovulantes, HCO y número de ovocitos liberados incrementan después de la vagotomía izquierda. Mientras que el mismo procedimiento en ratas con ovario derecho *in situ* disminuye los mismos parámetros (Chávez et al., 1987).

Por otra parte, la denervación del NOS en ratas con hemiovariectomía afecta la HCO y tasa de animales ovulantes, efectos que dependen del día del ciclo y del ovario remanente. En animales con ovario izquierdo *in situ*, la denervación del NOS no afecta la tasa de animales ovulantes pero el número de ovocitos liberados es menor al control y la HCO aumenta solo en los animales a los que se realizó la denervación en proestro. En este mismo modelo, cuando el ovario derecho es el que permanece *in situ*, la denervación del NOS derecho disminuye la tasa de animales ovulantes y las ratas ovulan sólo un ovocito, pero la HCO aumenta cuando la sección del NOS se realiza en los días del diestro-2 y proestro (Chávez & Domínguez, 1994.)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La noradrenalina es la principal catecolamina detectada en el tejido ovárico y de acuerdo a la información anterior, modula el crecimiento folicular, el desarrollo de la HCO y las funciones del cuerpo lúteo. Sin embargo, se ha demostrado la presencia de dopamina y sus receptores en diferentes tejidos del ovario (Mayerhofer et al, 2000; Gay et al, 2004; King et al, 2005; Rey-Ares et al, 2007), pero su papel funcional en el tejido gonadal aún debe ser esclarecido.

Se ha evaluado los efectos fisiológicos de las catecolaminas ováricas, mediante el uso de antagonistas de sus receptores en los diferentes días del ciclo estral a distintas horas. En estos estudios, se ha demostrado que el bloqueo farmacológico de receptores a dopamina resulta en la ausencia de ovulación, que depende del día del ciclo estral y la hora en el que se realizó (Domínguez et al 1987, Venegas et al., 2015), además de interrumpir el desarrollo folicular e incrementar la atresia folicular (Ramírez-Ávila, 2001; Pastelín-Rojas, 2003).

Por otra parte existe evidencia de asimetrías entre los ovarios, en ratas el ovario izquierdo ovula más ovocitos comparado con la gónada contralateral. La inervación que llega al ovario se encuentra lateralizada, el número de fibras nerviosas que recibe el ovario derecho es mayor que las del izquierdo (Klein & Burden, 1988). Sin embargo, no existe información acerca de asimetrías en el sistema dopaminérgico entre el ovario izquierdo y derecho.

JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

No hay suficientes evidencias que describan el papel funcional de la dopamina presente en los ovarios. Los diferentes estudios que abordan el análisis del papel de la inervación ovárica sobre las funciones de la gónada se han enfocado en los sistemas noradrenérgicos y peptidérgicos (Aguado, 2002; Ahmed et al., 1986; Ben-Jonathan et al., 1982; Dees et al., 1985; Davoren & Hsueh, 1985; Dissen & Ojeda, 1999; Mayerhofer et al., 1997; McNeill & Burden, 1987), funciones que se afectan sensiblemente cuando se modifican las influencias nerviosas que llegan al ovario (Burden, 1985; Curry et al., 1984a; Curry et al., 1984b; Lara, 1990).

Por lo anterior, el presente trabajo pretende analizar el papel funcional de la dopamina presente intrínsecamente en los ovarios y que pudiera estar relacionada con los mecanismos que controlan el desarrollo folicular y la ovulación de la rata adulta. El propósito del presente trabajo fue analizar cómo se adapta el sistema dopaminérgico del ovario derecho o izquierdo ante la ausencia de la gónada contralateral y cómo responde el ovario remanente cuando se bloquea específicamente el receptor DA2 en el modelo del animal hemicastrado.

HIPÓTESIS

El antagonismo sobre el receptor DA2 en el ovario remanente de la rata adulta hemicastrada realizado en los diferentes días del ciclo estral inducirá cambios en el ciclo estral y en la ovulación espontánea, que dependerán de la fase del ciclo estral en que se realiza el bloqueo farmacológico y del ovario remanente.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el papel de los receptores DA2 del ovario remanente de ratas adultas hemicastradas, inducido por la administración de sulpiride en la bursa ovárica derecha o izquierda en los diferentes días del ciclo estral sobre la ovulación.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Evaluar los efectos de la microinyección de dosis única de sulpiride, en los diferentes días del ciclo estral, dentro de la bursa ovárica de ratas hemicastradas adultas con ciclos estrales regulares de cuatro días de duración (diestro-1, diestro-2, proestro y estro) sobre la ovulación compensadora e hipertrofia compensadora del ovario derecho o del izquierdo *in situ*.
- 2) Comparar el grado de ovulación compensadora entre los animales que recibieron la microinyección de dosis única de sulpiride, en los diferentes días del ciclo estral, dentro de la bursa ovárica derecha respecto a los que la recibieron en la izquierda.
- 3) Comparar el grado de hipertrofia compensadora del ovario entre los animales que recibieron la microinyección de una dosis única de sulpiride, en los diferentes días del ciclo estral, dentro de la bursa ovárica derecha respecto a los que la recibieron en la izquierda.

MÉTODOS GENERALES

Se utilizaron 84 ratas hembras adultas de la cepa *CII-ZV*, con edades de 90-120 días y con peso corporal de 200-250 g, mantenidas en condiciones de iluminación controlada (14 h luz / 10 h oscuridad; luces de las 05:00 a las 19:00 h) y con libre acceso al agua y al alimento balanceado.

Con el fin de controlar las fases del ciclo reproductor, se realizaron los registros del ciclo estral por medio de frotis vaginales que se tomaron diariamente entre las 09:00 y las 10:00 h. Una vez que los animales presentaron tres ciclos consecutivos de cuatro días de duración (diestro-1, diestro-2, proestro y estro: animales cíclicos) en la mañana del día del estro, estos animales fueron hemicastrados del ovario derecho o del izquierdo.

Técnica de la Hemicastración.

Entre las 09:00 y 10:00h del día del estro, se formaron dos grupos de animales con hemicastración derecha e izquierda. La técnica consistió en sedar a los animales con éter etílico y una vez "adormecidos", los animales se colocaron sobre una tabla de disección; se rasuraron del costado derecho o izquierdo retirando el pelo de la zona intercostal, desde la

región de las costillas inferiores hasta la región pélvica donde se pliega la pata derecha o izquierda. En seguida, se limpió la piel con solución antiséptica de clorhexidina 2% y luego se sometieron a una laparotomía que consistió en una incisión sagital de aproximadamente 1 cm de piel y 0.5 cm del músculo abdominal. Posteriormente con ayuda de una pinza de punta fina, se exteriorizaron según el caso, el ovario derecho o el izquierdo que fue removido.

En el ovario extirpado se disecó el oviducto y se contó el número de ovocitos liberados; el ovario fue pesado en balanza de precisión y su peso expresado en miligramos/100 gramos de peso corporal.

A al día siguiente de la hemiovariectomía se reanudaron los registros de frotis vaginales. Todos los animales hemicastrados que cumplieron al menos tres ciclos estrales consecutivos de cuatro días fueron asignados a los siguientes grupos experimentales:

- 1) Grupo Control: animales cíclicos hemicastrados que se sacrificaron en la mañana del estro vaginal después de cuatro ciclos estrales completos luego de la hemicastración.
- 2) Grupos Testigo: animales cíclicos hemicastrados que a las 13:00 h del día del estro, diestro-1, diestro-2 o proestro fueron sometidos a la laparotomía unilateral para realizar la microinyección de solución de ácido ascórbico 0.1% (ver líneas más abajo).
- 3) Grupos con Sulpiride: animales cíclicos hemicastrados que a las 13:00 h del día del estro, diestro-1, diestro-2 o proestro fueron sometidos a la laparotomía unilateral para realizar la microinyección de solución sulpiride en ácido ascórbico 0.1% (ver líneas más abajo).

Técnica de la Microinyección dentro de la Bursa Ovárica.

Grupos de ratas cíclicas hemicastradas del ovario derecho o izquierdo se distribuyeron en dos grupos generales de animales hemiovariectomizados y a las 13:00 h de uno de los diferentes días del ciclo estral fueron sedados con éter etílico.

De modo semejante a la técnica de hemicastración, el ovario remanente fue exteriorizado y sometido a la microinyección de sulpiride de la siguiente forma:

Se localizó la bursa ovárica y se inyectaron 200 µg de sulpiride (disuelto en ácido ascórbico 0.1%) dentro de la bursa derecha o izquierda con una jeringa Hamilton. La microinyección se realizó con una bomba de perfusión nanomolar hasta infiltrar 20 µL de solución (2.12 µL/seg), seguida de 20 segundos de reposo antes de retirar de la bursa la aguja del microinyector. Los grupos testigo fueron sometidos al mismo procedimiento y recibieron 20 µL de ácido ascórbico 0.1% en solución salina isotónica (0.9%). Una vez realizada la microinyección, se limpió el campo quirúrgico con solución antiséptica de clorhexidina 2% y se devolvió el órgano a la cavidad peritoneal. Las heridas fueron suturadas con seda quirúrgica #00 y finalmente se colocó sobre la herida una gota de azul piritánico como cicatrizante.

Todos los animales fueron sacrificados por decapitación entre las 09:00-10:00 h de la mañana del primer estro vaginal observado.

A la autopsia, se disecó el ovario remanente y el oviducto. El oviducto fue inspeccionado para realizar el conteo directo de los ovocitos liberados y el ovario procesado para su análisis histológico de acuerdo al método de Luna (1975) (no incluido en el análisis de resultados).

Análisis de la Ovulación Compensadora (OC).

Para analizar el grado de OC en los animales hemicastrados sometidos a la microinyección del sulpiride, los datos del número de ovocitos liberados (NOL) por el ovario extirpado y del remanente se incorporaron en la siguiente fórmula:

$$OC = \frac{NOL \text{ por el Ovario Remanente (in situ)} - NOL \text{ por el Ovario Extirpado}}{NOL \text{ por el Ovario Extirpado}} \times 100$$

Análisis de la Hipertrofia Compensadora del Ovario (HCO).

Para analizar el grado de HCO en los animales hemicastrados sometidos a la microinyección del sulpiride, los datos del peso relativo (100 g/kg de peso corporal) del ovario extirpado y del remanente se incorporaron en la siguiente fórmula:

$$HCO = \frac{\text{Peso Relativo del Ovario Remanente (in situ)} - \text{Peso Relativo del Ovario Extirpado}}{\text{Peso Relativo del Ovario Extirpado}} \times 100$$

Análisis Estadístico.

Los resultados del conteo del número de ovocitos liberados, del total de días transcurridos desde la hemicastración hasta la autopsia, de los porcentajes de OC y de HCO fueron analizados por la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn; en aquellos en que se compararon pares de medias, se utilizó la U de Mann-Whitney. Los pesos corporales y de los ovarios fueron analizados por Análisis de Varianza Múltiple seguido de la prueba de Tukey. En todos los casos se consideró estadísticamente significativas aquellas diferencias cuya probabilidad sea menor o igual al 0.05.

RESULTADOS

Independientemente del ovario extirpado, el número total de días transcurridos desde el momento de la hemicastración hasta el día de la autopsia fue semejante entre los grupos hemiovariectomizados (HX) del ovario izquierdo (OI) o del derecho (OD) (HX-OI: 19.4 ± 0.7 días vs HX-OD: 20.9 ± 0.9 días; ns). El promedio de días transcurridos en todos los animales del presente trabajo fue de 20.2 ± 0.6 días.

No se encontraron diferencias significativas en el peso corporal promedio de los animales utilizados en el estudio al momento de la HX ni en el momento de la autopsia (Tabla 1).

HX	Peso Corporal el Día de la HX (g)	Peso Corporal el Día de la Autopsia (g)
Ovario Izquierdo (N=42)	250.7 ± 3.9	262.6 ± 4.1
Ovario Derecho (N=42)	258.3 ± 3.9	266.4 ± 3.7

Ovulación Espontánea del Ovario Extirpado.

En los 42 animales a los que se les extirpó el ovario izquierdo (OI) en la mañana del estro luego que presentaron tres ciclos estrales consecutivos de cuatro días, el OI ovuló un promedio 6.3 ± 0.3 ovocitos. En el otro grupo de 42 animales cíclicos, el ovario derecho (OD)

extirpado en la mañana del estro ovuló 7.2 ± 0.3 . El análisis estadístico mostró que el OD de un animal cíclico intacto ovula más que el OI (Tabla 2).

Se encontraron diferencias significativas tanto en el peso absoluto como en el peso relativo entre los ovarios extirpados de los 84 animales; el ovario derecho pesó menos en comparación al izquierdo (Peso Absoluto: OI: 33.6 ± 0.9 mg vs OD: 30.8 ± 0.9 mg; $p < 0.04$, prueba t de Student) (Tabla 2).

Tabla 2. Número de ovocitos liberados \pm e.e.m. de los animales con ciclos estrales regulares de cuatro días de duración sometidos a la hemiovariectomía. Estos animales fueron destinados a los diferentes experimentos para recibir una microinyección de sulpiride o su vehículo.		
Hemiovariectomía	Número de Ovocitos Liberados	Peso Relativo del Ovario Extirpado (mg/100 g)
Ovario Izquierdo (N=42)	6.3 ± 0.3	13.2 ± 0.3
Ovario Derecho (N=42)	$7.2 \pm 0.3^*$	$12.2 \pm 0.3^{**}$
* $p < 0.02$ comparado con el ovario izquierdo (U de Mann-Whitney)		
** $p < 0.03$ comparado con el ovario izquierdo (t de Student)		

Ovulación Espontanea del Ovario in situ Luego de la Microinyección de Sulpiride.

De modo general, al comparar con sus respectivos grupos testigo, no se encontraron diferencias significativas en el número de ovocitos liberados en los grupos con OI *in situ* que recibieron la microinyección con sulpiride a las 13:00 h en los diferentes días del ciclo estral y que se sacrificaron en la mañana del estro observado (OI *in situ*: Sulpiride: 14.7 ± 0.7 ovocitos vs Testigo: 15.7 ± 0.8 ovocitos, ns). Sin embargo, en los grupos con OD *in situ* y que recibieron una microinyección de sulpiride ovularon menos en relación a su vehículo (OD *in situ*: Sulpiride: 13.2 ± 0.9 ovocitos vs Vehículo: 16.6 ± 0.7 ovocitos; $p < 0.008$, U Mann-Whitney) (Tabla 3).

Al analizar la ovulación espontánea del ovario que permanece *in situ* respecto al día del ciclo en que se realizó la microinyección de sulpiride, se observó una tendencia a la disminución en el número de ovocitos liberados en los grupos tratados en el día del diestro-1 respecto a sus grupos testigo (Sulpiride: 12.1 ± 0.7 ovocitos vs Testigo: 17.4 ± 1.1 ovocitos; $p < 0.02$, U de Mann-Whitney), diferencia que es significativa únicamente cuando el OD es el que permanece *in situ*. De igual forma, solo en los grupos tratados con sulpiride en el diestro-

1 la presencia del estro vaginal se retrasó significativamente, independientemente del ovario que permanece *in situ* (Tabla 3).

Tabla 3. Media del número de ovocitos liberados \pm e.e.m. y media de los días de duración del ciclo estral \pm e.e.m. de las ratas hemiovariectomizadas que al recuperar un patrón regular de ciclicidad vaginal fueron sometidos a una microinyección dentro de la bursa ovárica.

Ovario <i>In Situ</i>	Grupo Experimental	Número de Ovocitos Liberados		Duración del Ciclo Estral (días)	
		Vehículo	Sulpiride	Vehículo	Sulpiride
Izquierdo	MIB en Estro	17.0 \pm 2.2	16.5 \pm 1.9	4.0 \pm 0.0	4.0 \pm 0.0
	MIB en Diestro-1	14.7 \pm 1.0	13.5 \pm 1.3	4.0 \pm 0.0	5.0 \pm 0.0*
	MIB en Diestro-2	14.5 \pm 2.3	14.3 \pm 0.9	4.0 \pm 0.0	4.0 \pm 0.0
	MIB en Proestro	16.5 \pm 0.5	14.5 \pm 1.6	4.0 \pm 0.0	4.0 \pm 0.0
	Control	14.5 \pm 0.7		4.0 \pm 0.0	
Derecho	MIB en Estro	14.8 \pm 0.5	14.8 \pm 1.1	4.0 \pm 0.0	4.0 \pm 0.0
	MIB en Diestro-1	18.5 \pm 1.1	12.2 \pm 1.4 ^δ	4.0 \pm 0.0	5.0 \pm 0.0*
	MIB en Diestro-2	16.2 \pm 1.1	12.0 \pm 0.8	4.0 \pm 0.0	4.0 \pm 0.0
	MIB en Proestro	16.7 \pm 1.1	13.8 \pm 3.1	4.0 \pm 0.0	4.0 \pm 0.0
	Control	15.1 \pm 0.9		4.0 \pm 0.0	

δ p<0.03 vs Vehículo; U de Mann-Whitney; * p<0.0001 vs todos; Prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn.

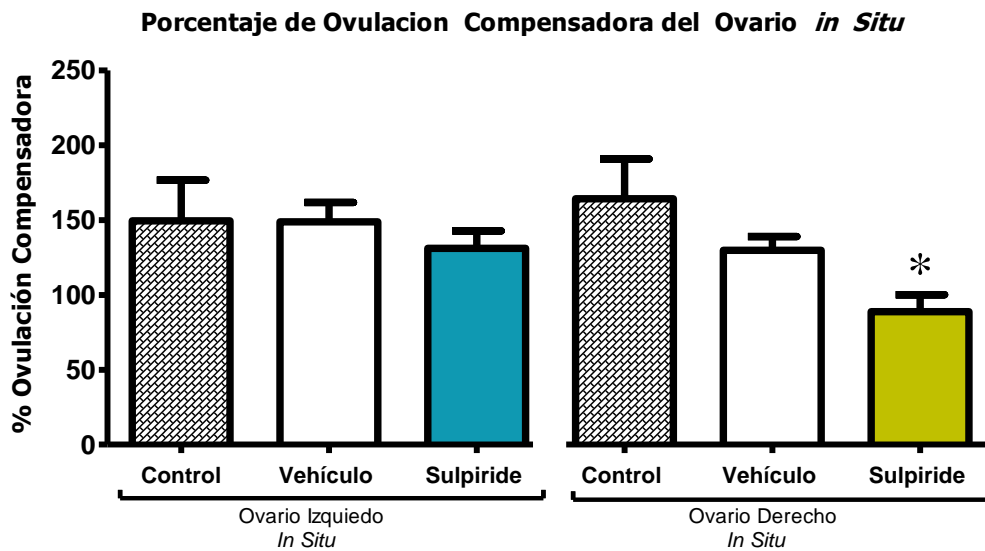
Al analizar la ovulación espontánea del OD *in situ* con relación a la fase del ciclo ovárico, en los grupos tratados con sulpiride en los días de diestro, existió una clara tendencia a la disminución en el número de ovocitos liberados respecto a sus grupos testigo (Sulpiride: 12.2 \pm 1.4 vs. Testigo: 18.5 \pm 1.1, p<0.03; U de Mann-Whitney), lo que no ocurrió en el grupo con OI *in situ* (Sulpiride: 13.5 \pm 1.3 vs. Testigo: 14.7 \pm 1.0, ns).

Ovulación Compensadora (OC) del Ovario in situ.

No se encontraron diferencias significativas en el grado de OC del OI *in situ* respecto al testigo en el grupo de animales en los que se realizó la microinyección de sulpiride a las 13:00 h en los diferentes días del ciclo estral (OI *in situ*: Sulpiride: 131.2 \pm 11.6 % vs Testigo: 148.9 \pm 12.9 %, ns).

En cambio, en el grupo donde la microinyección del antagonista dopaminérgico se realizó en el OD *in situ* se observó una caída en el grado de OC en referencia al testigo (OD *in*

situ: Sulpiride: 88.9±9.5 % vs. Vehículo: 129.8±9.1 %, p<0.02, U de Mann-Whitney) (Grafica 1).



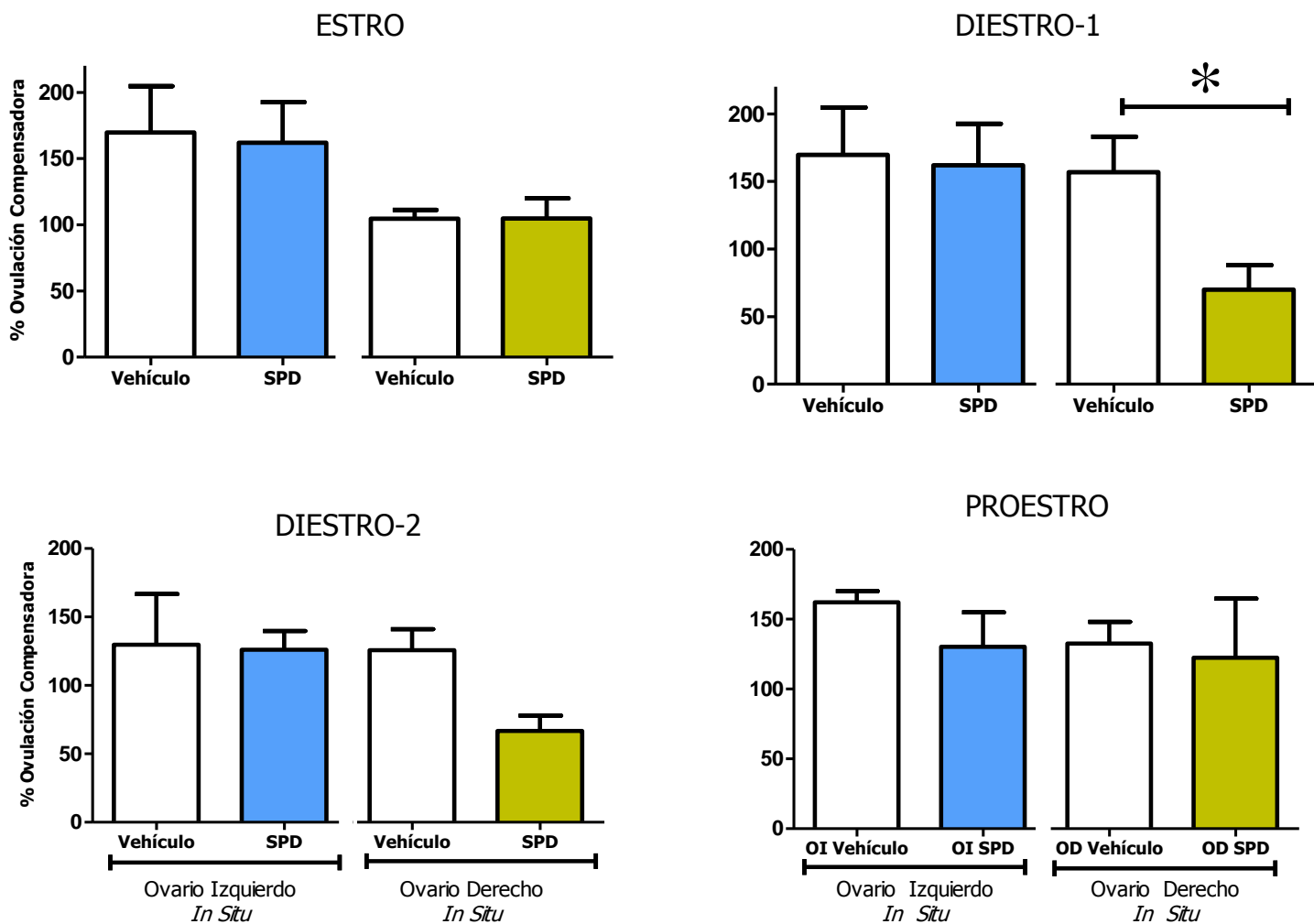
Gráfica 1. Porcentaje ovulación compensadora del ovario *in situ*±e.e.m de las ratas hemiovariectomizadas con un patrón regular de ciclicidad vaginal que fueron sometidas a una microinyección dentro de la bursa ovárica.

*p<0.03 comparado con todos los grupos; Prueba de U de Mann-Whitney.

Al analizar la OC del OD *in situ* con relación a la fase del ciclo ovárico, en los grupos tratados con sulpiride en los días de diestro, nuevamente se apreció una clara tendencia a la disminución en grado de OC respecto a sus grupos testigo (Sulpiride: 68.4±9.9 vs. Testigo: 141.2±15.2, p<0.002; U de Mann-Whitney), lo que no ocurrió cuando en grupo de animales con OI *in situ* (Sulpiride: 131.8±18.7 vs. Testigo: 116.9±11.9, ns).

Al analizar la OC del OD con relación al día del ciclo en que se realizó la microinyección de sulpiride, solo el grupo tratado con el antagonista en el día del diestro-1 mostró tendencia a la disminución en el grado de OC respecto a su testigo (Tabla 4).

Porcentaje de Ovulación Compensadora en los diferentes días del ciclo estral



Gráfica 3. Porcentaje ovulación compensadora del ovario *in situ* ± e.e.m de las ratas hemiovariectomizadas con un patrón regular de ciclicidad vaginal en los diferentes días del ciclo en los que fueron sometidas a una microinyección dentro de la bursa ovárica.

Diestro-1: * $p < 0.03$ comparado con su grupo con vehículo (U de Mann-Whitney).

Tabla 4. Porcentaje de ovulación compensadora±e.e.m de las ratas hemiovariectomizadas que al recuperar un patrón regular de ciclicidad vaginal fueron sometidos a una microinyección dentro de la bursa a las 13:00 h del Estro, Diestro-1, Diestro-2 o Proestro.

Ovario <i>In Situ</i>	Grupo Experimental	Ovulación Compensadora (porcentaje)	
		Vehículo	Sulpiride
Izquierdo	MIB en Estro	169.7±34.9	162.0±30.6
	MIB en Diestro-1	134.0±16.5	106.4±20.4
	MIB en Diestro-2	129.7±13.5	126.1±13.5
	MIB en Proestro	162.0±8.0	130.5±24.6
	Control	149.5±27.1	
Derecho	MIB en Estro	104.5±6.7	104.7±15.3
	MIB en Diestro-1	156.7±26.2	70.0±18.1 ^δ
	MIB en Diestro-2	125.7±15.3	66.7±11.2
	MIB en Proestro	132.5±15.5	122.3±42.4
	Control	164.3±26.6	

δ p<0.03 comparado con el vehículo; U de Mann-Whitney.

Hipertrofia Compensadora del Ovario (HCO) in situ.

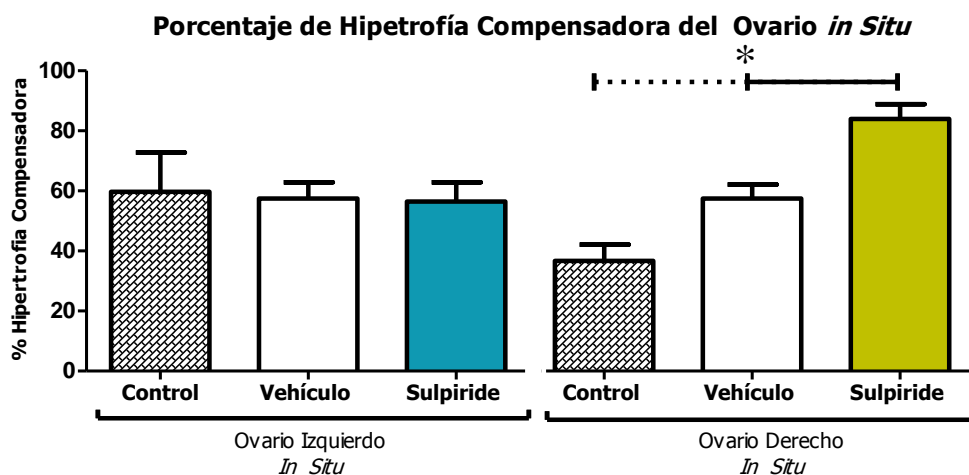
El análisis del peso de los ovarios que permanecieron *in situ*, se observaron algunas diferencias significativas en el desarrollo hipertrófico en la gónada remanente. Aparentemente, la microinyección del sulpiride en el día del estro indujo un incremento significativo en el peso del ovario, sin observarse cambios significativos en los grupos tratados en los otros días del ciclo estral (Tabla 5).

Sin tomar en cuenta el día del ciclo en que se realizó la microinyección del sulpiride, el análisis del grado de HCO en los animales de los diferentes grupos, sólo cuando el OD permanece *in situ* ocurrió un incremento significativo en el grado de HCO respecto a su grupo testigo y a los grupos con OI *in situ* (Gráfica 2).

Tabla 5. Pesos relativos del ovario *in situ*±e.e.m de las ratas hemiovariectomizadas con un patrón regular de ciclicidad vaginal que fueron sometidas a una microinyección dentro de la bursa a las 13:00 h del Estro, Diestro-1, Diestro-2 o Proestro.

Ovario <i>In Situ</i>	Grupo Experimental	Peso relativo (mg/100g)	
		Vehículo	Sulpiride
Izquierdo	MIB en Estro	20.4±0.6	20.6±1.9
	MIB en Diestro-1	21.1±1.4	17.5±0.9
	MIB en Diestro-2	20.2±2.4	23.5±0.7
	MIB en Proestro	21.3±1.5	21.0±2.4
	Control	17.8±0.9	
Derecho	MIB en Estro	16.6±0.4	23.9±0.8 *
	MIB en Diestro-1	18.4±0.6	22.4±1.6
	MIB en Diestro-2	20.2±0.7	22.7±1.6
	MIB en Proestro	21.7±0.8	20.8±0.2
	Control	16.9±0.8	

*p<0.02 respecto a su grupo vehículo (Análisis de varianza seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer).



Gráfica 2. Porcentaje de hipertrofia compensadora del ovario *in situ*±e.e.m de las ratas hemiovariectomizadas con un patrón regular de ciclicidad vaginal que fueron sometidas a una microinyección dentro de la bursa ovárica.

*p<0.01 comparado con su grupo vehículo; Prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn; *p<.0001 comparado con el grupo control, prueba de U Mann-Whitney)

En el grupo de animales en los que se llevó a cabo la microinyección del antagonista no se encontraron diferencias significativas en el grado de HCO cuando el OI permanece *in situ* respecto al testigo (Sulpiride: 56.4±6.4 % vs Testigo: 57.4±5.5 %, ns). En contraste, cuando la microinyección del antagonista dopaminérgico se realizó en el OD *in situ*, se incrementó significativamente en el grado de HCO respecto a su testigo (Sulpiride: 78.4±4.8 % vs Vehículo: 57.6±4.7 %, p<0.003, U de Mann-Whitney).

Si se toma en cuenta el día del ciclo en que se realizó la microinyección del sulpiride, el análisis estadístico reveló la existencia de diferencias entre los grupos tratados con el antagonista. Sin embargo, solo en el grupo tratado en el diestro-1, se observó un incremento relativo en el grado de HCO cuando el OD permanece *in situ* respecto al testigo y al mismo grupo con el OI *in situ* (Tabla 6 y Gráfica 3).

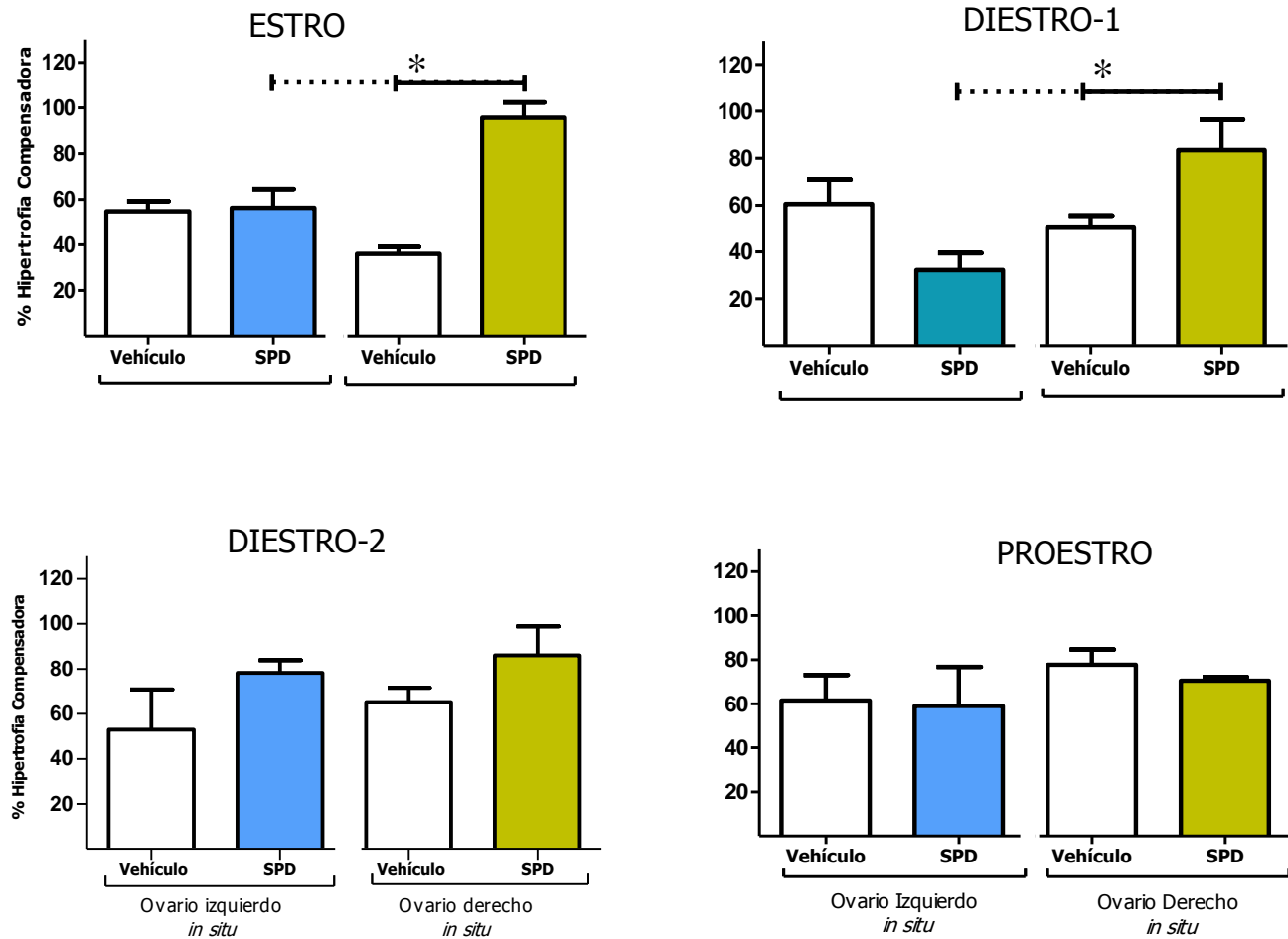
Tabla 6. Porcentaje de hipertrofia compensadora del ovario *in situ*±e.e.m de las ratas hemiovariectomizadas con un patrón regular de ciclicidad vagina que fueron sometidas a una microinyección dentro de la bursa ovárica a las 13:00 h del Estro, Diestro-1, Diestro-2 o Proestro.

Ovario <i>In Situ</i>	Grupo Experimental	Hipertrofia Compensadora (porcentaje)	
		Vehículo	Sulpiride
Izquierdo	MIB en Estro	54.7±4.5	56.2±8.2
	MIB en Diestro-1	60.5±10.4	32.5±7.2
	MIB en Diestro-2	53.0±17.9	78.2±5.6
	MIB en Proestro	61.5±11.5	59.0±17.7
	Control	59.7±13.1	
Derecho	MIB en Estro	36.0±3.0*	95.7±6.7
	MIB en Diestro-1	50.7±4.8	83.5±12.9 ^δ
	MIB en Diestro-2	65.2±6.4	86.0±12.8
	MIB en Proestro	77.7±6.9	70.5±1.7
	Control	36.7±5.4	

*p<0.004 comparada a su grupo con microinyección de sulpiride; prueba de Kruskal Wallis y p<0.03 comparada con el grupo tratado en mismo día del ciclo con ovario derecho *in situ* (U de Mann-Whitney)

δ p<0.03 comparado con el grupo tratado en mismo día del ciclo con ovario izquierdo *in situ* y su grupo con vehículo (U de Mann-Whitney).

Porcentaje de Hipertrofia Compensadora del Ovario en los diferentes días del ciclo estral



Gráfica 3. Porcentaje de hipertrofia compensadora del ovario *in situ* ± e.e.m de las ratas hemiovariectomizadas con un patrón regular de ciclicidad vaginal en los diferentes días del ciclo en los que fueron sometidas a una microinyección dentro de la bursa ovárica.

Estro:* $p < 0.01$ su grupo con vehículo (Prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn) y $p < 0.03$ comparado con el grupo en mismo día del ciclo con ovario izquierdo *in situ* (U de Mann-Whitney).

Diestro-1:* $p < 0.03$ comparado con el grupo tratado en mismo día del ciclo con ovario izquierdo *in situ* (Prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn) y su grupo con vehículo (U de Mann-Whitney).

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la rata adulta la capacidad ovulatoria es asimétrica, es decir un ovario ovula más que el otro (Domínguez et al., 2003), en nuestros resultados se encontró que el ovario derecho ovula casi un ovocito más en relación al izquierdo, hecho que se correlaciona directamente con la disminución en el peso de la gónada derecha respecto a la izquierda. Al momento de la ovulación el ovario derecho pierde más masa y volumen al ovular más reflejándose en un menor peso al compararlo con el ovario contralateral.

Independientemente de la gónada extirpada, en los grupos de ratas con microinyección de sulpiride en el ovario izquierdo o derecho en el día del diestro-1, la presencia del estro vaginal se retrasó 24 horas en todos los animales pero el 100% de los animales ovuló en la mañana del primer estro observado luego de la microinyección del antagonista. Resultados recientes de nuestro laboratorio, muestran consistentemente que en el animal entero, el bloqueo de los receptores dopaminérgicos por microinyección bilateral de diferentes antagonistas dopaminérgicos (haloperidol, EEDQ, SCH23390 o sulpiride) durante el diestro-1 afecta significativamente la ovulación espontánea (Venegas et al., 2015). Lo que nos permite sugerir que la dopamina y sus receptores durante el diestro-1 son indispensables para que los mecanismos que conducen a la ovulación espontánea acompañados de la presencia del estro vaginal se desarrollen de manera normal.

Si la dopamina ovárica actuara como un modulador de las acciones de otros neurotransmisores, tal y como lo hacen la noradrenalina y el VIP (Dissen et al 1993; Hsueh et al., 1984; Mayerhofer et al., 1997; Ojeda et al., 1989), y de las hormonas clásicas que participan en los mecanismos que regulan las funciones ováricas (Adashi & Hsueh, 1981; Aguado et al., 1982; Dyer & Erickson, 1985), ello explicaría los cambios sobre la respuesta ovulatoria y sus efectos sobre el desarrollo folicular observados en los estudios del bloqueo sistémico de sus receptores. Sin embargo, no hay estudios que confirmen la presencia de dopamina en terminales sinápticas, tanto aquellas de origen extrínseco (Lara et al., 2002; Lawrence & Burden; 1980; Ojeda & Aguado, 1985; Ojeda & Skinner, 2006) como la proveniente de neuronas ováricas intrínsecas (D'Albora et al., 2000; D'Albora et al., 2002; Dees et al., 2006) y de las que aún desconocemos su papel funcional en los ovarios.

En términos generales, se observó que la ovulación compensadora del ovario derecho disminuyó significativamente en los animales tratados con el antagonista de los receptores DA2 sin afectar la del ovario izquierdo. Estos resultados nos permiten sugerir que el ovario derecho de la rata queda afectado pese a que en el animal entero, el ovario derecho ovula más que el izquierdo.

Por otra parte, al analizar de modo general nuestros datos, el grado de hipertrofia compensadora del ovario derecho es significativamente mayor que la del izquierdo. Es decir, el ovario derecho desarrolla menor ovulación compensadora pero incrementa significativamente su peso. En diversos estudios, se mostraron que los ovarios de la rata están inervados de manera asimétrica (Gerendai et al., 1995, Gerendai et al., 1998, Thot et al., 2007); además, hemos observado que la incorporación del trazador en neuronas *True Blue* en el ganglio celiaco es significativamente mayor cuando se inyectó en la bursa del ovario izquierdo comparado con lo que ocurrió con la inyección del trazador en la del ovario derecho (Morán et al., 2005; Morán et al. 2009). Aparentemente, las conexiones están distribuidas de manera asimétrica: en el ovario izquierdo, se proyectan de manera ipsi- y contralateral pero en el ovario derecho son únicamente conexiones ipsilaterales (Morán et al., 2005). Se sabe que el número de fibras nerviosas que recibe el ovario derecho es mayor que las del izquierdo (Klein & Burden, 1988). Sin embargo, Toth y colaboradores (2007) demostraron que el ovario izquierdo manda más información neural al SNC que el ovario derecho (Toth et al., 2007).

La inervación ovárica del sistema autónomo influye en el desarrollo de la hipertrofia compensadora del ovario y de la ovulación compensadora del ovario remanente. Chávez y colaboradores (1987) mostraron que existen diferencias por la denervación por sección del nervio vago en ratas cíclicas enteras respecto a aquellas que son hemiovariectomizadas; en animales enteros, la sección del nervio vago izquierdo resulta en la disminución en la tasa de animales ovulantes respecto al grupo sham, mientras que la sección del nervio vago derecho no modifica la tasa de animales ovulantes. La sección de ambos nervios vago en ratas con hemiovariectomía derecha (ovario izquierdo *in situ*) redujo el grado de hipertrofia compensadora. En el mismo trabajo, se describió que la sección del nervio vago izquierdo induce diferentes efectos que dependen del ovario que permanece *in situ*: la vagotomía izquierda realizada a ratas hemicastradas del ovario derecho (OI *in situ*) resulta en el

incremento de la tasa de ovulación, de la hipertrofia compensadora del ovario y del número de ovocitos liberados, mientras que el mismo procedimiento para el ratas con ovariectomía izquierda (OD *in situ*) resulta en la disminución de los mismos parámetros (Chávez et al., 1987). Estos resultados permiten sugerir que los ovarios se rigen de manera asimétrica y los datos del presente trabajo parecen indicar que el sistema dopaminérgico de ovario actúa de igual manera, regulando el desarrollo de la hipertrofia compensadora y la ovulación compensadora del ovario derecho *in situ* de manera diferente a lo que hace en el ovario izquierdo *in situ*.

Si se toma en cuenta el día del ciclo en que se realizó la microinyección del sulpiride, nuevamente los cambios más significativos ocurren en los grupos de animales tratados a las 13:00 h del día del diestro-1, donde se apreció una disminución en la ovulación compensadora y un aumento en la hipertrofia compensadora del ovario derecho con microinyección del antagonista dopaminérgico comparada con los demás grupos experimentales. En trabajos recientes, el análisis del papel funcional de los receptores dopaminérgicos en los ovarios de ratas enteras adultas han mostrado de modo consistente, que este día del ciclo estral es particularmente crítico para el desarrollo de los eventos endócrinos y neuroendócrinos que conducen a la ovulación espontánea, ya que el bloqueo selectivo y genérico de los receptores a la dopamina en ambos ovarios resulta en la falla ovulatoria (Venegas et al., 2012; 2013; 2014). Por lo tanto, en el diestro-1 la dopamina y la interacción con los receptores de tipo DA2 regula el desarrollo de la hipertrofia compensadora y la ovulación compensadora del ovario *in situ* de manera asimétrica.

Finalmente, en el presente estudio es pertinente considerar la posibilidad de haber empleado una dosis subumbral de sulpiride que no haya sido suficiente para mostrar con mayor claridad la influencia del receptor DA2 sobre la ovulación compensadora y la hipertrofia compensadora del ovario. Llama nuestra atención que los efectos de la dosis utilizada del sulpiride en el día del estro son perceptibles en el grado de hipertrofia compensadora del ovario derecho pero no así en su ovulación compensadora, como lo observado en los grupos tratados con el antagonista en el diestro-1. La dosis empleada corresponde a lo observado al elaborar la curva dosis-respuesta en ratas cíclica enteras (datos no mostrados). El desarrollo de la hipertrofia compensadora del ovario supone el concomitante incremento en la masa

ovárica y con ello el incremento de receptores a dopamina, lo que nos lleva a plantear la posibilidad de que la dosis de sulpiride empleada en el presente trabajo haya sido insuficiente para bloquear la totalidad de los receptores tipo DA2.

CONCLUSIONES

- 1) Existe una asimetría en la capacidad ovulatoria de cada ovario de la rata adulta: el ovario derecho ovula más que el izquierdo y se correlaciona directamente con el incremento en el peso de la gónada izquierda respecto a la derecha.
- 2) En diestro-1, la participación del sistema dopaminérgico en ambos ovarios es crucial para que se presente el estro vaginal y la ovulación espontánea en la mañana del estro esperado además de que ejercería un papel relevante en los mecanismos que permiten el desarrollo de la ovulación compensadora solo cuando el ovario derecho permanece *in situ*.
- 3) En los días del estro y del diestro-1, la dopamina ejerce un papel importante en los mecanismos que permiten el desarrollo de la hipertrofia compensadora solo cuando el ovario derecho permanece *in situ*.

Perspectivas de Trabajo Experimental.

El modelo del animal hemiovariectomizado posee atributos muy interesantes para analizar los mecanismos neurales, endocrinos y neuroendocrinos que se despliegan cuando una de las gónadas está ausente. Por otra parte, analizar el papel funcional de la dopamina como señal local en los tejidos ováricos es algo de lo que se conoce poco.

Los resultados del presente trabajo de tesis profesional nos permiten plantear la inquietud de analizar con mayor detalle el papel del sistema dopaminérgico del ovario aplicando antagonistas selectivos en otras horas de los diferentes días del ciclo estral y sus efectos sobre la secreción de esteroides sexuales, de gonadotropinas u otras señales endocrinas con el fin de esclarecer el papel funcional de este sistema de señalización presente en el ovario rata. Queda por analizar la respuesta del ovario remanente al incrementar la dosis del antagonista usado en este trabajo sobre el desarrollo de la HCO y OC, así como sus efectos sobre el desarrollo folicular, síntesis y expresión funcional de tirosina hidroxilasa y de la proteína DARPP-32 en el ovario remanente. Por otra parte, es también interesante evaluar el efecto de la microinyección del sulpiride en una sola gónada en el animal entero y compararlo con lo que ocurriría en el animal hemiovariectomizado.

Referencias.

- ADASHI E.Y., C.E. RESNICK, R.G. ROSENFELD, D.R. POWELL, R. KOISTINEN, E.M. RUTANEN & M. SEPPALA. (1993). Insulin-like growth factor (IGF) binding protein-1 is an antigonadotropin: evidence that optimal follicle-stimulating hormone action in ovarian granulosa cells is contingent upon amplification by endogenously-derived IGFs. *Adv. Exp. Med. Biol.* 343: 377-385.
- ADASHI, E.Y. & A.J.W. HSUEH (1981). Stimulation of β -adrenergic responsiveness by follicle-stimulating hormone in rat granulosa cells in vitro and in vivo. *Endocrinology* 108: 2170-2178.
- AGUADO, L.I. (2002). Role of the central and peripheral nervous system in the ovarian function. *Microsc Res Tech* 59: 462-473
- AGUADO, L.I., S.L. PETROVIC & S.R. OJEDA (1982). Ovarian β -adrenergic receptors during the onset of puberty: characterization, distribution, and coupling to steroidogenic responses. *Endocrinology* 11: 1124-1132
- AHMED, C.E., W.L. DEES & S.R. OJEDA (1986). The immature rat ovary is innervated by vasoactive intestinal peptide (VIP)-containing fibers and responds to VIP with steroid secretion. *Endocrinology* 118: 1682-1689.
- ÁLVAREZ, D.A., E.H. PÉREZ, T. DE LA CRUZ, M. HERNÁNDEZ, J. Q. TORRES & A.P. SÁNCHEZ (2009). Fisiología animal aplicada. ED Universidad de Antioquia.
- AMNETA, F., A. RICCI, S.K. TAYEBATI & D ZACCHEO (2002). The peripheral dopaminergic system: morphological analysis, functional and clinical applications. *Ital J Anat Embryol* 107:145-67.
- AMSTERDAM, A., Y. KOCH, M.E. LIEBERMAN & H.R. LINDNER (1975). Distribution of binding sites for human chorionic gonadotropin in the preovulatory follicle of the rat. *J. Cell Biol.* 67: 894-900.
- ANESETTI, G., P. LOMBIDE, H. D'ALBORA & S.R. OJEDA (2001). Intrinsic neurons in the human ovarii. *Cell Tissue Res* 306: 231-237.
- BACIC, F., S. UEMATSU, R.M. MCCARRON & M. SPATZ (1991). Dopaminergic receptors linked to adenylate cyclase in human cerebrovascular endothelium. *J Neurochem*; 57: 1774-80.
- BAHENA, T.R, G. FLORES & J.A. ARIAS (2000). Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central. *Rev Biomed* 2000 11:39-60
- BAHR, J.M., L. KAO & A.V. NALBADOV (1974). The role of catecholamines and nerves in ovulation. *Biol Reprod* 10: 273-282.
- BANIHASHEMI, B. AND P. R. ALBERT (2002). Dopamine-D2S Receptor Inhibition of Calcium Influx, Adenylyl Cyclase, and Mitogen-Activated Protein Kinase in Pituitary Cells: Distinct Requirements. *Molecular Endocrinology* 16(10):2393-2404.
- BARCO, A.I., A. FLORES, R. CHAVIRA, P. DAMINA-MATSUMURA & R. DOMINGUEZ (2003). Asymmetric effects of acute hemiovariectomy on steroid hormone secretion by the in situ ovary. *Endocrine* 21:2091-16
- BASU, S., P.S. DASGUPTA & J.R. CHOWDHURY (1995) Enhanced tumor growth in brain dopaminodepleted mice following 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) treatment *J Neuroimmunol.* 60:1-8
- BASU, S., J.A. NAGY, S. PAL, E. VASILE, I.A. ECKELHOEFER, V.S. BLISS, E.J. MANSEAU, P.S. DASGUPA, H.F. DVORAK & D. MUKHOPADHYAY (2001) The neurotransmitter dopamine inhibits angiogenesis induced by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. *Nat Med*; 7(5):569-74.
- BECERRO, J.F.M. (2008). Las hormonas esteroideas sexuales, el envejecimiento y el ejercicio. *Revista Andaluza de Medicina del Deporte.* Pp. 22-36.
- BEN-JONATHAN, N., R.H. BRAW, N. LAUFER, R. REICH, J.N. BAHR & A. TSAFRIRI (1982). Norepinephrine in graafian follicles is depleted by follicle-stimulating hormone. *Endocrinology* 110:457-461.
- BENSON B., S. SORRENTINO & J. EVANS (1969). Increase in serum FSH following unilateral ovariectomy in the rat. *Endocrinology* 84, 369-374.
- BÓDIS J, BOGNÁR Z, HARTMANN G, TÖRÖK A, CSABA IF (1992). Measurement of noradrenaline, dopamine and serotonin contents in follicular fluid of human graafian follicles after superovulation treatment. *Gynecol Obstet Invest* 33:165-7.
- BÓDIS J, H.R TINNEBERG, A. TÖRÖK, P. CLEDON, V. HANF V & F. PAPENFUSS (1993). Effect of noradrenaline and dopamine on progesterone and estradiol secretion of human granulosa cells. *Acta Endocrinol (Copenh)* 129:165-168.
- BOUCHET, A. & J. WILLERET (1978). Anatomía descriptiva, topográfica y funcional. SNC. Ed. MédicaPanamericana.
- BURDEN, H.W. (1978). Ovarian Innervation. En: *The Vertebrate Ovary, Comparative Biology.* Ed. R.E Jones. Plenum Press. New York, pp. 615-338

- BURDEN, H.W. (1985). The adrenergic innervation of mammalian ovaries. En: Catecholamines As Hormone Regulators. Eds. N. Ben Jonathan, J.M. Bahr & R.I. Weiner. Serono Symposia Publications. Raven Press. New York, pp. 262-278.
- CARR, B.R. & E.R. SIMPSON (1981). Lipoprotein utilization and cholesterol synthesis by the human fetal adrenal gland. *Endocr. Rev.* 2: 306-326.
- CAVERO, J., R. MASSINGHAM. & F. LEFEVRE-BORG (1982). Peripheral dopamine receptors, potential targets for a new class of antihypertensive agents. Part I: Subclassification and functional description. *Life Sci* 31:939-948.
- CHAVEZ, R., M.E. CRUZ & R. DOMINGUEZ (1987). Differences in the ovulation rate of right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: effect of ipsi-and contralateral vagus nerves on the remaining ovary. *J Endocrinol* 113: 397-401 *Endocrinology* 99:728-735.
- CHOUDHURY, S., R. SHARPE & P. BROWN (1974). The effect of pimozide, a dopaminergic antagonist, on pituitary gonadotrophic function in the rat. *J Reprod Fert* 39: 275-283.
- CLEMENS, A.J., E.B. SMALSTING & B.D. SAWYER. (1976). Studies of the role of the preoptic area in the control of reproductive function in the Rat.
- COUNCIL OF EUROPE (2004). European Pharmacopoeia 5.0. 5th Edition. Main Volume 5.0. EDQM.p2521.
- CONN, M. (1994). The molecular mechanism of gonadotrophin-releasing hormone action in the pituitary. En: *Physiology of Reproduction*. 2th Edition. Vol. 1. Chapter 32. eds. E. Knobil & J. Neill. Raven Press. New York, pp 1815-1832.
- COOPER, J. R., F.E BLOOM & R.H. ROTH (1996). *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*. 7th Edition. Oxford University Press. New York. pp 293-251.
- CRUZ, M.E. R. CHAVEZ & R. DOMINGUEZ (1986). Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adults rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. *La Revista de Investigación Clínica* 38:167-171
- CURRY, T.E., I.E. LAWRENCE & H.W. BURDEN (1984a). Effect of ovarian sympathectomy on follicular development during compensatory ovarian hypertrophy in the guinea pig. *J Reprod Fert* 71: 39-44
- CURRY, T.E., I.E. LAWRENCE & H.W. BURDEN (1984b). Ovarian sympathectomy in the guinea pig: effects on follicular development during the prepuberal period and following exogenous gonadotrophin stimulation. *Cell Tissue Res* 236: 593-596.
- D'ALBORA H., P. LOMBIDE & S.R. OJEDA (2000). Intrinsic neurons in the rat ovarii: an immunohistochemical study. *Cell Tissue Res* 300: 47-56
- D'ALBORA, H. & J.J. BARCIA (1996). Intrinsic neuronal cell bodies in the rat ovary. *Neurosci Lett* 205:65-67
- D'ALBORA, H., G. ANESETTI, P. LOMBIDE, W.L. DEES & S.R. OJEDA (2002). Intrinsic neurons in the mammalian ovary. *Microsc Res Tech* 59:484-489.
- DAVOREN, J.B. & A.J.W. HSUEH (1985). Vasoactive intestinal peptide: a novel stimulator of steroidogenesis by cultured rat granulosa cells. *Biol Reprod* 33: 37-52
- DE LA CRUZ, R.R. & R. PASAR (1998). Control endocrino del ciclo reproductor en la rata: una experiencia docente utilizando un método de caracterización citológico. *Revista de enseñanza universitaria*. PP. 545-554.
- DEES, W.L., J.K.HINEY, N.H. McARTUR, G.A. JOHNSON, G.A. DISSE & S.R. OJEDA (2006). Origin and ontogeny of mammalian ovarian neurons. *Endocrinology* 147: 3789-3796.
- DEES, W.L., G.P. KOZLOWSKI, R. DEY & S.R. OJEDA (1985). Evidence for the existence of substance P in the prepuberal rat ovary. II. Immunocytochemical localization. *Biol Reprod* 33:471-476.
- DISSEN, G.A. & S. OJEDA (1999). Ovarian innervation. En: *Encyclopedia of Reproduction*. Eds. E.Knobil & J. D. Neill. Academia Press. New York, Vol 3:583-589.
- DISSEN, G.A., W.L. DEES & S.R. OJEDA (1993). Neuronal and neurotrophic control of ovarian development. En: *The Ovary*. Eds. E.Y. Adashi & P.C.K. Leung. Raven Press. New York, pp 1-19.
- DOGANAY, M., A. SIMSEK, O.L. TAPISIZ, B.S. MULAZIMOGLU, N. YUMUSAK N. & T. GUNGOR (2009) Superior ovarian nerve (SON) transection leads to stunted follicular maturation: a histomorphologic and morphometric analysis in the rat model. *Fertil Steril*. 1-4.
- DOMINGUEZ, R. MORALES L. & CRUZ M.E. (2003) Ovarian Asymmetry. *ARBS Anu Rev Biomed Sci* 5.95 104
- DOMÍNGUEZ, C, R. ZIPITRIA, D., RIBONI, L. & REVILLA, R (1985). Differences in the ability of reserpine and chlorpromazine to block ovulation throughout the oestrous cycle of the rat. *J Interdis Cycle Res* 16: 285-294.

- DOMÍNGUEZ, C. R., RIBONI, L., ZIPITRIA, D. & REVILLA, R (1982). Is there a cholinergic circadian rhythm throughout the oestrous cycle related to ovulation in the rat?. *Endocrinology* 95:175-180.
- DOMÍNGUEZ, C. R., GAITAN, C. M., MENDEZ, S. A. Y ULLOA-AGUIRRE, A. (1987). Effects of catecholaminergic blockade by haloperidol or propranolol at different stages of the oestrous cycle on ovulation and gonadotrophin levels in the rat. *Journal of Endocrinology* 113: 37-44.
- DOMINGUEZ, R., M.E. CRUZ & R. CHAVEZ (1989). Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. En:"Growth Factors and the Ovary". Edt. A.N. Hirshfield. Plenum Press. New York. pp.321-325
- DORSCH, M.M, J. OTTO & H.J. HEDRICH (2004). Does preoperative administration of metamizol (Novalgin) affect postoperative body weight and duration of recovery from ketamina xylazine anaesthesia in mice undergoing embryo transfer_ a preliminary report- *Laboartory Animals* 38:44-49.
- DOUGLAS, T., C. CARRELL & M. PETERSON (2010). *Reproductive Endocrinology and Infertility*. Dordrecht Heidelberg London Library. ISBN 978-1-4419-1435-4 e-ISBN 978-1-4419-1436-1 DOI 10.1007/978-1-4419-1436-1
- DYER, C.A. & G.F. ERICKSON (1985). Norepinephrine amplifies human chronic gonadotrophin-stimulated androgen biosynthesis by ovarian theca-interstitial cells. *Endocrinology* 116: 1645-1652.
- EDELMAN, A.B., T. J., C. DOOM & J.D. HENNEBOLD. (2013). Impact of the prostaglandin synthase-2 inhibitor celecoxib on ovulation and luteal events in women. *Contraception* 87 352–357.
- ELVIN, J.A. & M.M. MATZUK (1998) Mouse models of ovarian failure. *Rev. Reprod.* 3: 183-195.
- ERICKSON, G.F. (1995) The ovary: basic principles and concepts. En: *Endocrinology and Matabolism*. Capítulo 17. Eds. P. Felig, J.D Boxter y L.A Frohman. 3th Edition. McGraw-Hill. New York. pp. 973-1013.
- ERICKSON, G.F, D.A. MAGOFFIN, C.A DYER & C. HOFEDITZ (1985). The ovarian androgen producing cells: a review of structure/function relationships. *Endocr Rev* 6: 371-399.
- ERICKSON, G.F. (1995). The Ovary: Basic Principles and Concepts. En: *Endocrinology & Matabolism*. Capítulo 17. Eds. P. Felig, J.D Boxter & L.A Frohman. 3th Edition. McGraw-Hill. New York. pp 973-1013.
- ESPEY, L.L. & S.J. RICHARDS (2006). Ovulation. En: *The Phisiology of Reproduction*. Eds E. Knobil & J.D. Neil. Capítulo 11, Raven Press, New York, pp 425-469.
- ESPEY, L.L. & T.M. LIPNER (1994). Ovulation. En: *The Physiology of Reproduction*. Eds E. Knobil & J.D. Neil. Capítulo 13, Raven Press, New York, pp 725-780.
- FEDER, H.H. (1981). Estrous ciclicity in mammals. En: "*Neuroendocrinology of Reproduction: Physiology and Behavior*". Sección III. Capítulo 10. Eds. N.T. Adler. Plenum Press. New York & London. pp 279-308
- FINK, G. (1988). Gonadotropic secretion and its control. En: "*Physiology of Reproduction*". 1th Edition. Vol. I. Capítulo 32. Eds. E. Knobil & J. Neill. Raven Press, New York, pp 1349-1377
- FREEMAN, M.E. (1988). The ovarian cycle of the rat. En: "*Physiology of Reproduction*". 1th Edition. Vol.II. Capítulo 45. Eds. E. Knobil & J. Neill. Raven Press, New York, pp. 1893-1928
- FREEMAN, M.E. (1994). The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En: "*Physiology of Reproduction*". Vol. II. Capítulo 46. Eds. E. Knobil & J.D. Neill. Raven Press. New York. pp. 613-658.
- FUKUDA, M., K. YAMANOUCHI, Y. NAKANO, H. FURUYA & Y. ARAI (1984). Hypothalamic laterality in regulating gonadotropic function: Unilateral hypothalamic lesion and ovarian compensatory hypertrophy. *Neuroscience Letters* 51:365-370
- GAY E.A., J.D. URBAN, D.E. NICHOLS, G.S. OXFORD & B.R. MAILMAN (2004). Functional Selectivity of D2 Receptor Ligands in a Chinese Hamster Ovary hD2L Cell Line: Evidence for Induction of Ligand-Specific Receptor State. *Molecular pharmacology* 0026-895X/04/6601-97–105
- GERENDAI, I. & HÁLASZ (1997). Neuroendocrine Asymmetry. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 18: 354-391
- GORBMAN A, W.W. DICKOFF, R.S. VIGNA, N.B. CLARK ET AL. (1983) *Comprative Endocrinology*. New York, John Wiley & Sons.
- GERENDAI, I., Z.S. CSABA, Z. VOKO & V. CSERNUS (1995). Involvement of a direct neural mechanism in the control of gonadal functions. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 53 299–305.
- GERENDAI, I., I.E. THOT, Z. BOLDOGKOI, I. MEDVECZKY & B. HALASZ (1998). Neural labeling in the rat brain and spinal cord from the ovary using viral transneural tracing technique. *Neuroendocrinology* 68 244-256.
- GILL, A., M. JAMNONGJIT & S.R. HAMMES (2004). Androgens promote maturation and signaling in mouse oocytes independent of transcription: a release of inhibition model for mammalian oocyte meiosis. *Mol. Endocrinol.* 18: 97-104.

- GOFF, AK, P.C. LEUNG & D.T. ARMSTRONG (1979). Stimulatory action of follicle-stimulating hormone and androgens on the responsiveness of rat granulosa cells to gonadotropins in vitro. *Endocrinology* 104: 1124-1129.
- GONZALEZ-MORANTHE, M.G. (2011). Histological & Stereological Changes in Growing and Regressing Chicken Ovaries During Development. *Anatomical record* 294:893-904
- GORE-LANGTON, E.R & T.D. ARMSTRONG (1994). Follicular Steroidogenesis and Its Control. En: *The Physiology of Reproduction*. Eds E. Knobil & J.D. Neill. Capítulo 11, Raven Press, New York, pp 1143-1160
- GRÜNDKER, C., A.R. GÜNTHER & R.P. MILLAR (2002). Emons. Expression of Gonadotropin-Releasing Hormone II (GnRH-II) Receptor in Human Endometrial and Ovarian Cancer Cells and Effect of GnRH-II on Tumor Cell Proliferation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 87-3-8437.
- GUYTON, C.A & E.J. HALL (2012). *Compendio de Fisiología Médica*. 12^o Edición. Capítulo 75. ed. S.B. Bonet. Elsevier. Barcelona, pp. 564-568.
- GREENWALD, G. S. & S. K. ROY (1994). Follicular development and its control. En: *Physiology of Reproduction*. Capítulo 12. Eds. E. Knobil & J.D. Neill. Raven Press, New York. pp. 629-724.
- HAM, A. W. & CORMACK, D. H (1983). El Aparato Reproductor Femenino. En: *Tratado de Histología*. Capítulo 26. 8^a Edición. Interamericana, México. pp. 939-948.
- HEBEL, R. & M. W. STROMBERG (1986). *Anatomy and Embriology of the Laboratory Rat*. Worthsee, BioMed Verlag.
- HILD-PETITO, S., R.L. STOUFFER & R.M. BRENNER (1988). Immunocytochemical localization of estradiol and progesterone receptors in the monkey ovary throughout the menstrual cycle. *Endocrinology* 123: 2896-2905
- HILLIER, S.G., M.TETSUKA & H.M. FRASER (1997). Location and developmental regulation of androgen receptor in primate ovary. *Hum. Reprod.* 12: 107-111.
- IRUSTA G. (2008).
- HIRSHFIELD, A.N. (1991). Development of follicles in the mammalian ovary. *Int. Rev. Cytol.* 124: 43-101.
- HORIE, K., K. TAKAKURA K, H. FUJIWARA, H. SUGINAMI, S. LIAO, T. MORI (1992). Immunohistochemical localization of androgen receptor in the human ovary throughout the menstrual cycle in relation to oestrogen and progesterone receptor expression. *Hum. Reprod.* 7: 184-190.
- HSUEH, A.J.W., E.Y. ADASHI, P.B.C. JONES & T.H. WELSH (1984). Hormonal regulation of the differentiation of cultured ovarian granulosa cells. *Endocr Rev* 5: 76-127.
- IRUSTA, G. (2008). Mecanismos involucrados en la atresia del folículo ovárico: relación entre esteroidogénesis, angiogénesis y apoptosis, tesis doctoral.
- IRVING-RODGERS, H.F. & R.J. RODGERS (2000). Ultrastructure of the basal lamina of bovine ovarian follicles and its relationship to the membrana granulosa. *J. Reprod. Fertil.* 118: 221-228.
- VAUGHAN M., R. REITER, & G. VAUGHAN (1971) Effect of delaying melatonin injections on the inhibition of compensatory ovarian hypertrophy in mice. *Endocr.* 51, 787-788.
- IWAI, T., S. FUJII, Y. NANBU, H. NONOGAKI, I. KONISHI, T. MORI & H. OKAMURA (1991.) Effect of human chorionic gonadotropin on the expression of progesterone receptors and estrogen receptors in rabbit ovarian granulosa cells and the uterus. *Endocrinology* 129: 1840-1848.
- JACKSON, D.M. & A. D. WESTLIND (1994). Dopamine receptors: molecular biology, biochemistry and behavioral aspects. *Pharmacol Ther.* 64: 291-369.
- KING, B. F., J. H. BRITT, K. L. ESBENSHADE, W. L. FLOWERS & J. J. IRELAND (1995). Evidence for a local role of inhibin or inhibin a subunits in compensatory ovarian hypertrophy. *Journal of reproduction and fertility* 104,291-295
- KLEIN, J.T. & H.W. BURDEN (1988). Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating rat ovary. *Neuroscience Letters* 85:217-222
- KON S.K. & A.T. COWIE (1961). "Milk: the mammary gland and its secretion". New-York, London: Academic Press: Vol I et II.
- KORDON, C., S.V. DROUVA, G. MARTÍNEZ DE LA ESCALERA & R.I. WEINER (1994). Role of classic and peptide neuromediators in the neuroendocrine regulation of luteinizing hormone and prolactin. En: *The Physiology of Reproduction*. 2th. Edición. Vol. I. Capítulo 27. Eds. E. Knobil & J. Neill. Raven Press. New York, pp.1621-1681.
- KUDO, S & T. Ishizaki (1999). Pharmacokinetics of haloperidol: an update. *Clin Pharmacokinet* 37: 435-456.
- LARA, H.E, J.K. McDONALD, C.E. AHMED & S.R. OJEDA (1990). Guanethidine-mediated destruction of ovarian sympathetic nerves disrupts ovarian development and functioning rats. *Endocrinology* 127:2199-2209.
- LARA, H.E., A. PORCILE, J. ESPINOZA, C. ROMERO, S.M. LUZA, J. FUHRER, C. MIRANDA & BL. ROBLERO (2001). Release of norepinephrine from human ovary: coupling to steroidogenic response. *Endocrine* 15: 187-192.

- LARA, H.E., M. DOFMAN, M. VENEGAS, S.M. LUZA, S.L. LUNA, A. MAYERHOFER M.A. GUIMARAES, E. ROSA, A.A. SILVA & V.D. RAMÍREZ (2002). Changes in sympathetic nerve activity of the mammalian ovary during normal estrous cycle and the polycystic ovary syndrome: studies on norepinephrine release. *Microsc Res Tech* 59:495-502.
- LAWRENCE, I.E & H.W. BURDEN (1980). The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the ovary. *Anat Rec* 196:51-59.
- LEONARDI, C.E.P. , L.F.M. PFEIFERB , M.I.B. RUBINA,, J. SINGHC , R.J. MAPLETOFTC , G.A. PESSOAA , A.M. BAINYA & C.A.M. SILVAA.(2012). Prostaglandin F2 promotes ovulation in. *Theriogenology* 78 (2012) 1578 –1582
- LEUNG, P.C.K. & E.Y. ADASHI (2004). *The Ovary*, 2nd ed. Elsevier, Academic Press.
- LITTER, M. (1988). *Farmacología Especial*. En: *Farmacología Experimental y Clínica*. 7ª Edición. 2ª Parte. Sección I: *Farmacología del Sistema Nervioso*. El Ateneo, Buenos Aires. pp 179-429.
- LUNA, L.G. (1975). *Manual of histology staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. McGraw-Hill Book Co. New York. pp. 52.
- MACKENZIE, F.J., A.J. HUNTEWR, C. DALY & C.A. WILSON (1989). Evidence that the dopaminergic incertohypothalamic tract has a stimulatory effect on ovulation and gonadotrophin release. *Neuroendocrinol* 39: 289-295.
- MACKENZIE, F.J., M.D. JAMES & C.A. WILSON (1988). Changes in dopamine activity in the zona incerta (ZI) over the rat estrous cycle and the effect of lesions of the ZI on cyclicity: Further evidence that the incertohypothalamic tract has a stimulatory role in the control of LH release. *Brain Res* 444: 75-83.
- MANSOUR, A., J.H. MEADOR-WOODRUFF, J.R. BUNZOW , O. CIVELLI, H. AKIL & S.J. WATSON (1990) . Localization of Dopamine D2 Receptor mRNA and D1 and D2 Receptor Binding in the Rat Brain and Pituitary: An In Situ Hybridization-Receptor Autoradiographic Analysis. *J Neurosci* 10:2587-2600.
- MARTÍN, L.M., A. CAÑO & J. F. NAVARRO (1996). Efectos de la administración de dosis altas de sulpiride sobre la conducta agonística en ratones machos. *Psicothema*, ISSN 0214 - 9915
- MARTIN, C.R. (1979). *Textbook of Endocrine Physiology*. New York, Oxford University Press.
- MAYERHOFER, A., H.C. HEMMINGS, G. L. SNYDER, P. GREENGARD, S. BODDIEN, U. BERG & C. BRUCKER. Functional Dopamine-1 Receptors and DARPP-32 Are Expressed in Human Ovary and Granulosa Luteal Cells in Vitro. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 0021-972X/99.
- MAYERHOFER, A., S. FRITZ, R. GRÜNERT, S. L. SANDERS, D.M. DUFFY, S.R. OJEDA & R.L. STOUFFER (2000). D1-Receptor, DARPP-32, and PP-1 in the Primate Corpus Luteum and Luteinized Granulosa Cells: Evidence for Phosphorylation of DARPP-32 by Dopamine and Human Chorionic Gonadotropin. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*; 0021-972X/00
- MAYERHOFER, A., G.A DISSEN, M.E COSTA & S.R. OJEDA (1997). A role for neurotransmitters in early follicular development: induction of functional follicle-stimulating hormone receptors in newly formed follicles of the rat ovary. *Endocrinology* 178: 3320-3329.
- McNEILL, D.L. & H.W. BURDEN (1987). Neuroptides in sensory perykarya projecting to the ovary. *Am J Anat* 179: 269-276
- MISSALE, C, N.S.RUSSEL, S.W. ROBINSON, M. JABER & M.G. CARON (1998). Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* 78:189-225
- MIZUNUMA, H., L.R. De PALATIS & M. McCANN (1983). Effect of unilateral orchidectomy on plasma FSH concentration: Evidence for direct neural connection between testes and CNS. *Neuroendocrinolgy* 37:291-296
- MONTES, G.S. & E.H. LUQUE (1988). Effects of ovarian steroids on vaginal smears in the rat. En: *Acta Anatomica* 133: 192-199.
- MORALES, L., B. RICARDO, A. BOLAÑOS A. R. CHAVIRA & R. DOMÍNGUEZ (2007). Ipsilateral vagotomy to unilaterally ovariectomized pre-puberal rats modifies compensatory ovarian responses. *Reproductive Biology and Endocrinology* 10.1 186/1477-7827-5-24
- MORÁN, C., F. ZARATE, J. L. MORÁN, A. HANDAL & R. DOMÍNGUEZ (2009). Lateralization of the connections of the ovary to the celiac ganglia in juvenile rats. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 7:50 doi:10.1186/1477-7827-7-50.
- MORÁN, C., FRANCO A., MORÁN J.L., HANDAL A., MORALES L. & DOMÍNGUEZ R. (2005). Neural activity between ovaries and the prevertebral celiac-superior mesenteric ganglia varies during the estrous cycle of the rat. *Endocrine* 26: 147-152
- MORÁN, J.L. & A. DOMÍNGUEZ (1995). Effects of the unilateral implant of haloperidol at the preoptic-anterior

- hypothalamic area, ovulation. *Endocrine* 3:399-401
- NANCE, D.M. & W.H. MOGER (1982). Ipsilateral hypothalamic deafferentation blocks the increase in serum FSH following hemicastration. *Brain Research Bulletin* 8:299- 302
- NANCE, D.M., J.P. WHITE & W.H. MOGER (1983). Neural regulation of the ovary: Evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control. *Brain Research Bulletin* 10:353-355
- NEILL, J.D., L. W. DUCK, J. C. SELLERS L. & C. MUSGROVE (2001). A Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Receptor Specific for GnRH II in Primates. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 282, 1012–1018.
- NORMAN, W.A. & G.LITWACK (1997) *Hormones*. Academic Press.ISBN-13 978-0-12-521441-4.
- OJEDA, S.R., W.S. SMITH, L.L. AGUADO, J.P. ADVIS & J.M. ANDERSEN (1983). Abdominal vagotomy delays onset of puberty and inhibits ovarian function in the female rat. *Neuroendocrinology* 36: 261-267. 35
- OJEDA, S. & L. AGUADO (1985). Adrenergic control of the pubertal ovary: involvement of local innervation and circulating catecholamines. *Serono Symposia Publications*. Raven Press. New York.
- OJEDA, S. & M. SKINNER (2006). Puberty in the rat. En: *The Physiology of Reproduction*. Eds. J.D. Neill. 3th. Edition. Academic Press. San Diego, pp. 2061-2126.
- OJEDA, S.R., H. LARA & CE AHMED (1989). Potential relevance of vasoactive intestinal peptide to ovarian physiology. *Seminar in Reproductive Endocrinology* 7: 52-60.
- OXBERRY, A. & G.S. GREENWALD (1982). An autoradiographic study of the binding of 125 I-labeled follicle-stimulating hormone, human chorionic gonadotropin and prolactin to the hamster ovary throughout the estrous cycle. *Biol Reprod*.27: 505-516.
- PADMANABAN, S. SURESH, THANGARASU RAJAN & RIE TSUTSUMI (2011) New targets for old hormones: inhibins clinical role revisited. *Endocrine Journal* 58 (4), 223-235
- PALOMO, T. (1991). Bases neuroquímicas de la esquizofrenia, *Farmacología del SNC*, 5, 5- 16.
- PARRA, C. J.L. FIEDLER, S.L. LUNA, M. GREINER, V. PADMANABHAN & H. LARA (2007). Participation of vasoactive intestinal polypeptide in ovarian steroids production during the rat estrous cycle and in the development of estradiol valerate-induced polycystic ovary. *Reproduction* 133:147-154.
- PASTELÍN-ROJAS, C. (2003). Efectos del bloqueo farmacológico del sistema dopaminérgico durante la segunda mitad del ciclo estral sobre la función ovárica de la rata adulta. Tesis Profesional. Biología, BUAP.
- PAXINOS, G. & Ch. WATSON (1998). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 4th. Edition. Academic Press. San Diego.
- PEASTON, R.T. & C. WEINKOVE (2004). Measurement of catecholamines and their metabolites. *Ann Clin Biochem* 41: 17-38.
- PETERS, H., A.G. BYSKOV, S. LINTERN-MOORE, M. FABER & M. ANDERSEN (1973). The effect of gonadotrophin on follicle growth initiation in the neonatal mouse ovary. *J Reprod. Fertil.* 35: 139-141.
- RAMÍREZ, V.D., H.M. FEDER & C.H. SAWYER (1984). The role of brain catecholamines in the regulation of LH secretion: A Critical inquiry. En: "Frontiers of Neuroendocrinology". Vol.VIII. Capítulo 2. Eds. L. Martini & W.F. Ganong. Raven Press. New York. pp. 27-71.
- RAMÍREZ-ÁVILA, B. (2001). Efectos de la administración secuencial de GnRH sobre la ovulación en ratas adultas con bloqueo farmacológico del sistema dopaminérgico. Tesis Profesional. Biología, BUAP.
- REY-ARES, V., N. LAZAROV, D. BERG, U. BERG, L. KUNZ & A. MAYERHOFER (2007). A dopamine receptor repertoire of human granulosa cells. *Reprod Biol Endocrinol* 5:40-49
- RICHARDS, S.J (1978). Hormonal Control of Follicular Growth and Maturation in Mammals. En: *The vertebrate ovary. Comparative biology and Evolution* Eds. J.S. Richards. Capítulo 9. Plenum Press. New York and London, pp. 331-360.
- ROBERTSON, D.M., H.G. BURGER & P J FULLER (2004). Inhibin/activin and ovarian cancer. *Endocrine-Related Cancer* 11: 35–49
- SANHERA, M.K., J. ANSELMO-FRANCI & S.M. MCCANN (1991). Effect on medial zona incerta lesions on ovulatory surge of gonadotrophins and prolactin in the rat. *Neuroendocrinol* 53: 433-438.
- SAWYER, C.H. & D.K. CLIFTON (1980). Aminergic innervation of the hypothalamus. *Fed Proc* 39: 2889-2895.
- SCHMIDT, R.F. & G. THEWS (1992). *Fisiología humana*. Ed McGraw Hill. España.
- SCHNEIDER, H. & S.M. MCCANN (1970). Monoamines and indolamines on control of LH secretion. *Endocrinol* 86: 1127-1133.
- SEEMAN, P. & H.M.H. VAN TOL (1993). Pharmacology of dopamine receptor. *Curr Op Neurol Neurosur* 6: 602-608.

- SPEROFF, L., R.H. GLASS & N.G. KASE (1999). Anovulation and the polycystic ovary. En: *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. 6th. Edition. Eds. L. Speroff, R.H. Glass & N.G. Kase. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, pp. 487-521.
- STEFANO, L., F. PASQUALE, M.R. FERNANDO & F. PETRAGLIA (2005). Inhibins in female and male reproductive physiology: role in gametogenesis, conception, implantation and early pregnancy. *Human Reproduction Update*, Vol.11, No.2 pp.123-135
- SZOLTYS M. & M. SLOMCZYNSKA (2000) Changes in distribution of androgen receptor during maturation of rat ovarian follicles. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 108: 228-234.
- TASAKA, K., A. MIYAKE, T. SAKUMOTO & T. OANO (1985). Dopamine decreases release of luteinizing hormone releasing hormone from superfused mediobasal hypothalamus. *J Endocrinol Invest* 8: 373-376.
- TETSUKA, M. & S.G.HILLIER. (1996). Androgen receptor gene expression in rat granulosa cells: the role of follicle-stimulating hormone and steroid hormones. *Endocrinology* 137: 4392-4397.
- TETSUKA, M., P.F. WHITELAW, W.J. BREMNER, M.R. MILLAR, C.D. SMYTH, S.G.HILLIER. (1995). Developmental regulation of androgen receptor in rat ovary. *J. Endocrinol* 145: 535-543.
- THIBAUT, C., M.C. LEVASSEUR & R.H.F. HUNTER (1993). *Reproduction in Mammals and Man*, English revised edition.
- TOTH I.E., O. WIESEL, Z. BOLDOGKOI, K. BALINT, Z. TAPASZTI & I. GERENDAI (2007). Predominance of supraespal innervation of the left ovary. *Mycrosc ResTech* 70:710-718.
- TRESGUERRES, J.A.F. & C. Castillo (1993). Fisiología del eje hipotálamo-hipófiso-ovárico. En: *Fisiología Humana*. 7^o Edición. Capítulo 17.ed J.A.F. Tresguerres. Interamericana-McGrawhill. Madrid, pp 1015-1018.
- UCHIDA, S., Y. KATO, K. HIRANO, Y. KAGAWA & S. YAMADA (2007). Brain neurotransmitter receptor-binding characteristics in rats after oral administration of haloperidol, risperidone and olanzapina. *Life Sciences* 80: 1635-1640.
- VARGAS-TORRES, L. (2002). Efectos del bloqueo farmacológico de la información dopaminérgica sobre el ciclo estral de la rata: análisis de los mecanismos que inhiben la función de los ovarios. Tesis Profesional. Biología, BUAP.
- VENEGAS, B., JUÁREZ C.E., PADILLA J.F., MORÁN J.L., MORÁN C., HANDAL A. & DOMÍNGUEZ R. (2012) A study of ovarian dopamine system on spontaneous ovulation at different steps of estrous cycle of the rat. I Congreso de la Federación de Asociaciones Latinoamericanas y del Caribe de Neurociencias (FALAN). Cancún, QR, México. 8 Noviembre 2012. Poster 164.
- VENEGAS MENESES, B., J. F. PADILLA, C. E. JUÁREZ, J. L. MORÁN PERALES, C. MORÁN RAYA, A. HANDAL SILVA, ROSAS-MURRIETA N. H. & DOMÍNGUEZ CASALÁ R. (2012). Does ovarian dopamine involved in the regulation of ovarian function and spontaneous ovulation in the adult rat? 41th Annual meeting of the Society for Neuroscience. New Orleans, Louisiana, EUA. 15 Octubre 2012. Poster 382.07/YY1.
- VENEGAS MENESES, B., N. H. ROSAS-MURRIETA, C.E. JUÁREZ, F. PADILLA, J. L. MORÁN, C. MORÁN, A. HANDAL & R. DOMÍNGUEZ (2013) The dopamine is involved in the regulation of spontaneous ovulation and estrogen synthesis in the adult rat. 42th Annual Meeting of the Society for Neuroscience. San Diego, California, EUA. Noviembre 2013. Poster 752. 2013-S-10073-SfN.B.
- VENEGAS MENESES, E.M GARCÍA PORRAS, J.L. MORÁN, C. MORÁN, A. HANDAL, N. H. ROSAS-MURRIETA, & R. DOMÍNGUEZ (2014). Effects of the blockade of DA1 ovarian receptor on spontaneous ovulation and steroids hormones synthesis. 43th Annual Meeting of the Society for Neuroscience. Washington, Columbia, EUA. Noviembre 2014. Poster 752. 2014-S-15222-SfN
- VIJAYAN, E. & S.M. McCANN (1978). Re-evaluation of the role of catecholamines in the control of gonadotrophin and prolactin release. *Neuroendocrinol* 25: 150-165.
- WEIL, S.J., K. VENDOLA, J. ZHOU, O.O. ADESANYA, J. WANG, J. OKAFOR & C.A. BONDY (1998). Androgen receptor gene expression in the primate ovary: cellular localization, regulation, and functional correlations. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 83: 2479-2485.
- WEINER, N. & P.B. MOLINOFF (1989). Catecholamines. En: Siegel GJ, Agranoff B, Albers RW, Molinoff PB eds. *Basic Neurochemistry*. 4th Ed. New York: Raven Press.
- WEINER, N. & P. B. MOLINOFF (1994). Catecholamines. En: *Basic Neurochemistry*. Capítulo 12. Eds. G. J. Siegel, B. W. Agranoff, R. W. Albers & P. B. Molinoff. Raven Press, New York. pp. 211-281.
- WEINER, R. & W. GANONG (1978). Role of brain monoamines and histamine in regulation of anterior pituitary secretion. *Physiol Rev* 58: 905-976.
- WIMSATT, W.A. (1979). Reproductive asymmetry and unilateral pregnancy in Chiroptera. *J Reprod Fertil* 56:345-57.

- XUEJING, Z., L. JIANHUA , L. JIALI, L. HAOSHU, G. KEMIAN & C. SHENG. (2013). Prostaglandin F2a upregulates Slit/Robo expression in mouse corpus luteum during luteolysis. *Journal of Endocrinology* 218, 299–310.
- YEN, S.S.C. (1999a). Polycystic ovary syndrome (hyperandrogenic chronic anovulation). En: *Reproductive Endocrinology. Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management*. 4th. Edition. Chapter 17. W.B. Saunders Co. Philadelphia, pp. 436-477.
- YEN, S.S.C. (1999b). Chronic anovulation caused by peripheral endocrine disorders. En: *Reproductive Endocrinology. Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management*. 4th. Edition. Chapter 18. W.B. Saunders Co. Philadelphia, pp. 479-508.
- YEN, S.S.C. (1999c). Chronic anovulation due to CNS-Hypothalamic-Pituitary dysfunction. En: *Reproductive Endocrinology. Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management*. 4th. Edition. Chapter 19. W.B. Saunders Co. Philadelphia, pp. 510-560.