

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Efectos antagónicos de los receptores
dopaminérgicos sobre
la conducta copulatoria masculina y el testículo
de la rata CII-ZV

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

MVZ Pablo Isaac Martínez Aguilar

Co-Directores

Dr. José Luis Morán Perales

Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio

Tlaxcala, Tlax.

Enero 2021



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Efectos antagónicos de los receptores
dopaminérgicos sobre
la conducta copulatoria masculina y el testículo
de la rata CII-ZV

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

MVZ Pablo Isaac Martínez Aguilar

Comité Tutorial

Codirectores: Dr. José Luis Morán Perales

Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio

Tutores: Dra. Marcela Arteaga Silva

Dra. Leticia Nicolás Toledo

Tlaxcala, Tlax.

Enero 2021

El trabajo se realizó bajo la dirección de los Dres. Rosa Angelica Lucio Lucio y José Luis Moran Perales. Contamos con la asesoría de las Dras. Leticia Nicolas Toledo y Marcela Arteaga Silva, durante la elaboración de todo el trabajo.

Los experimentos se realizaron en el departamento de Biología y Toxicología de la Reproducción en el instituto de ciencia fisiológicas BUAP.

El trabajo fue financiado por BUAP que designo recursos a través de la dependencia VIEP que proporciono recursos para la adquisición, alojamiento y mantenimiento de los animales de experimentación.

**COORDINACIÓN POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
P R E S E N T E**

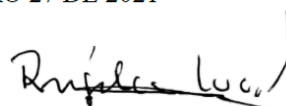
Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que **Pablo Isaac Martínez Aguilar** realiza para la obtención del grado de Maestro en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es: **“Efectos del antagonismo de los receptores dopaminérgicos sobre los tejidos testiculares y la conducta copulatoria masculina”**.

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., ENERO 27 DE 2021



DR. JULIO CÉSAR MORALES MEDINA



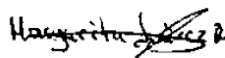
DRA. ROSA ANGÉLICA LUCIO LUCIO



DRA. LETICIA NICOLÁS TOLEDO



DR. RENÉ ZEMPOALTECA RAMÍREZ



DRA. MARGARITA JUÁREZ ROMERO



*Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado
Coordinación de la División de Ciencias
Biológicas*

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
COMITÉ ACADÉMICO**

Estimados Miembros del Comité Académico:

Sirva este medio para hacer constar que después de la revisión por el Comité de Grado, la Tesis de Maestría **“Efectos antagónicos de los receptores dopaminérgicos sobre la conducta copulatoria masculina y el testículo de la rata CII-ZV”** se sometió al Programa Turnitin. El resultado con fecha de 2 de febrero de 2021 evidenció 1% de similitud total, excluyendo la sección de referencias. Se trata de un porcentaje aceptable para este tipo de documentos. De este modo, se confirma que no se incurrió en ninguna práctica no deseable en la escritura de la mencionada Tesis del **MVZ Pablo Isaac Martínez Aguilar**.

Sin más por el momento, reciban atentos saludos.

CORDIALMENTE
TLAXCALA, TLAX., A 2 DE FEBRERO DE 2021.

DR. JOSÉ LUIS MORÁN PERALES
CO-DIRECTOR

DRA. ROSA ANGÉLICA LUCIO
CO-DIRECTORA DE TESIS



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado bajo la Norma:
ISO 9001:2015-NMX-CC-9001-IMNC-2015



Agradecimientos

Al posgrado en Ciencias Biológicas, del centro Tlaxcala de Biología de la Conducta que pertenece a la Universidad Autónoma de Tlaxcala por permitirme estudiar la Maestría en Ciencias Biológicas.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por otorgar la beca 926494 (PIMA).

Al bioterio Claude Bernard y a su director Francisco Ramos Collazo por todas las atenciones prestadas.

A los codirectores de la tesis Rosa Angelica Lucio Lucio y José Luis Moran Perales por su arduo esfuerzo en el desarrollo del proyecto, su constancia y paciencia durante mi formación como estudiante de posgrado.

A los tutores del trabajo las Dras. Leticia Nicolas Toledo y Marcela Arteaga Silva por estar siempre como apoyo e impulso para la correcta realización del trabajo.

RESUMEN

Las funciones del testículo son la espermatogénesis y la esteroidogénesis. La producción de células espermáticas maduras es un proceso continuo que inicia en los túbulos seminíferos y culmina en el conducto epididimario. Se ha mostrado que el tejido testicular presenta receptores dopaminérgicos de tipo 2, principalmente en las células germinales y en el intersticio del testículo, lo que sugiere que la dopamina puede participar como mediador químico en la fisiología testicular. Para estudiar el papel de la dopamina en el tejido testicular y en la expresión de la conducta copulatoria, se utilizaron ratas macho adultas de la cepa CII-ZV, mantenidas en el bioterio con fotoperiodo controlado (14 h luz/10 h oscuridad), con libre acceso al agua y al alimento. Se consideraron dos partes, la primera para el análisis de la histología testicular; la segunda, para la evaluación de la conducta copulatoria. En cada parte hubo tres grupos de machos: SHAM (inyección simulada), DMSO (vehículo) y HLP (haloperidol), cada uno de ellos con animales Control (ellos mismos, antes de la manipulación), cada grupo contara con 10 animales. Al grupo de machos (HLP) se les administró 50 µg del antagonista dopaminérgico, mediante una inyección bilateral intratesticular y fueron sacrificados a los 4, 8, 12 y 16 días. Los animales de los otros grupos también fueron sacrificados en esos mismos días. Al grupo DMSO, se le administraron 50 µL del vehículo por gónada. El grupo SHAM fue sometido al mismo procedimiento quirúrgico que el grupo DMSO, sin administrar el antagonista. La inyección con HLP indujo cambios morfológicos severos, particularmente en el día 12 después de la administración del fármaco. Se observó el desprendimiento de numerosas células inmaduras en la luz del túbulo seminífero, desarreglo en la estructura del tejido intersticial. Así como, signos de pérdida en la continuidad de la membrana basal de los túbulos y ensanchamiento del lumen. Las alteraciones histológicas y morfológicas por la inyección intratesticular del HLP nos permiten sugerir que las señales dopaminérgicas testiculares cumplen un papel importante en el mantenimiento de la citoarquitectura testicular. Por otro lado, se analizaron los parámetros copulatorios convencionales (Latencias de Monta, de Intromisión y de Eyaculación, Número de Montas y de Intromisiones y se calcularon el Intervalo interintromisión, así como el *Hit Rate*). Los machos de todos los grupos copularon hasta la eyaculación, sin cambios en ningún parámetro. Esto nos hace suponer que pese al desarreglo citoarquitectónico y funcional del testículo, comprometiendo seguramente la esteroidogénesis no se daña la expresión copulatoria. Estos hallazgos confirman que la ausencia de testosterona en machos con experiencia sexual no altera la expresión copulatoria.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Aparato Reproductor Masculino	2
1.1.1 Morfología testicular	2
1.1.2 Túbulos seminíferos	3
1.1.3 Tejido intersticial	4
1.1.4 Sistema de conductos excretores del testículo	5
1.1.5 Glándulas sexuales accesorias	7
1.2 Función Testicular en la Rata Adulta	8
1.2.1 Esteroidogénesis	8
1.2.2 Acciones de la hormona luteinizante (LH) en el testículo	10
1.2.3 Acciones de la hormona folículo estimulante (FSH) en el testículo	11
1.2.4 Biosíntesis de hormonas esteroides	14
1.2.5 Acciones de los andrógenos en la rata macho	15
1.2.6 Espermatogénesis	16
1.2.7 Control hormonal en la espermatogénesis	18
1.3 Conducta Copulatoria Masculina	18
1.3.1 Patrones motores de la conducta copulatoria de la rata macho	18
1.4 Dopamina	19
1.4.1 Sistemas dopaminérgicos	20
1.4.2 Síntesis de dopamina	21
1.4.3 Receptores dopaminérgicos	22
II. ANTECEDENTES	23
III. HIPÓTESIS	25
IV. OBJETIVOS	25
4.1 Objetivo General	25
4.2 Objetivos Particulares	25
V. MATERIAL Y MÉTODOS	26
5.1 Animales de Experimentación	26
5.2 Ovariectomías e Inducción del Estro	26
5.3 Pruebas Histológicas y Copulatorias	26
5.4 Administración del Fármaco	27
5.5 Histología Testicular	28
5.6 Parámetros Copulatorios	30
5.7. Análisis Estadístico	31
VI. RESULTADOS	32
6.1 Histología Testicular	32
6.2 Conducta Copulatoria	42
VII. DISCUSIÓN	45
VIII. CONCLUSIONES	51
IX. REFERENCIAS	52
X. ANEXOS	59

I. INTRODUCCIÓN

El testículo es la gónada masculina, estructuralmente se compone de dos partes anatómico-funcionales. El primero es el intersticio; en donde se encuentran células intersticiales, abundantes vasos sanguíneos y las células de Leydig; el segundo es el túbulo seminífero, donde se encuentran las células germinales en diferentes estadios y, además, las células de Sertoli. Las funciones del testículo son la espermatogénesis y esteroidogénesis. La primera es la producción de espermatozoides; la segunda, la esteroidogénesis es la producción de hormonas esteroideas (Bellido-Gómez 1999). Es posible que estas funciones estén reguladas por la dopamina ya que se ha descubierto que el testículo presenta receptores dopaminérgicos de tipo 2, principalmente en las células germinales y en el intersticio. Esto sugiere que la dopamina puede participar como mediador químico en la fisiología testicular (Oth 2007). Urru et al. (2014) mostraron la presencia de transportadores de dopamina, noradrenalina y serotonina, revelando un sistema dopaminérgico con influencias directas en las células espermáticas, lo que sugiere que los gametos masculinos contienen moduladores o moléculas captadoras de señales indicando que estos receptores catecolaminérgicos son capaces de recibir y generar los efectos moduladores de la viabilidad, la capacidad y la motilidad de los espermatozoides.

Se sabe que la dopamina, a nivel cerebral, participa como neurotransmisor en la expresión de diferentes aspectos de la conducta sexual, incluida la actividad sexual (Hyun et al. 2002, Kandel et al. 2000). La dopamina, en la rata macho induce la erección del pene e incluso la emisión seminal (Hyun et al. 2002).

Estos resultados muestran que la dopamina ejerce efectos importantes en la regulación del mantenimiento de los tejidos testiculares, aunque sus funciones no son del todo claras.

En el presente proyecto se analizó el papel de los receptores de la dopamina en los tejidos testiculares, estudiando los efectos de la administración local de antagonistas de la dopamina en el testículo de la rata macho, y sus efectos sobre la conducta sexual.

1.1 Aparato Reproductor Masculino

El aparato reproductor masculino de la rata cumple con funciones primordiales como la formación, maduración y transporte de los gametos masculinos. Estas funciones pueden llevarse a cabo por una serie de tejidos estructurales distribuidos ordenadamente ya que cada uno de ellos se desempeña de manera específica (Ortega et al. 2017).

1.1.1 Morfología testicular

Los testículos, en la mayoría de los mamíferos, se localizan fuera del abdomen, son dos órganos ovoides cubiertos por el escroto. Estructuralmente los testículos están rodeados por una cápsula gruesa de tejido conectivo, la túnica albugínea la cual se engrosa hacia el interior del testículo dando origen al mediastino testicular. Desde el mediastino divergen tabiques de tejido conectivo denominados tabiques testiculares, estos son encargados de generar una separación del tejido glandular y dan como resultado a los lobulillos testiculares que se comunican entre sí a causa de que los tabiques están incompletos en sus extremos, orientados hacia la túnica albugínea (Bellido-Gómez 1999) (Figura 1).

En cada lobulillo se encuentran múltiples túbulos seminíferos contorneados que consisten en un epitelio poliestratificado. Cada túbulo seminífero continúa en un túbulo recto que da origen a la primera parte del sistema de conductos excretores, mientras que la túnica albugínea da origen a la capa visceral de la túnica vaginal del testículo y se mantiene en contacto con una capa interna de tejido laxo dando como resultado al intersticio testicular que rodea a los túbulos seminíferos y contiene a las células de Leydig (Geneser et al. 2000) (Figura 1).

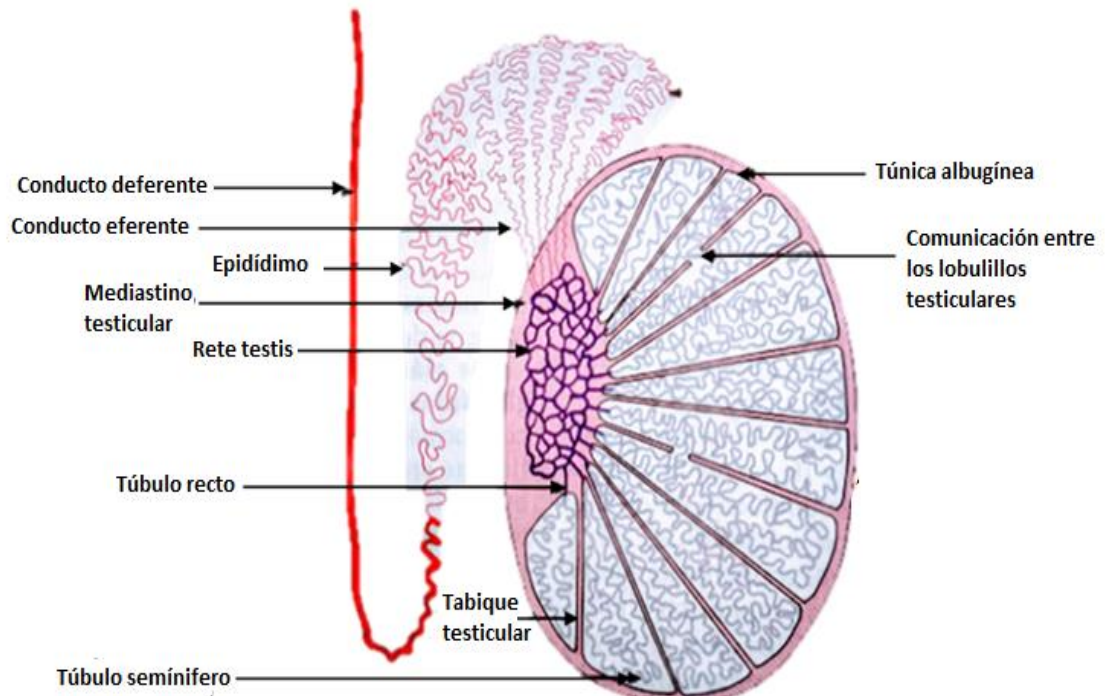


Figura 1. Esquema de un corte sagital de testículo que muestra la organización anatómica interna y a los conductos excretores (Modificado de Geneser et al. 2000).

1.1.2 Túbulos seminíferos

Los túbulos seminíferos se encuentran rodeados por una membrana basal y células mioideas, la cuales le otorgan contractilidad. El interior de los túbulos seminíferos está revestido por epitelio estratificado que contiene dos tipos de células: las células de Sertoli y las células espermáticas (Bellido-Gómez 1999).

Células de Sertoli: Se encuentran dispersas y escasas entre las células espermáticas en diferentes estadios, se extienden desde la membrana basal hasta la superficie luminal del túbulo, estas células se encargan de darle sostén mecánico y protección a las células espermáticas por medio de numerosas prolongaciones laterales y estrechas que se encuentran entre las células. Estas prolongaciones se encuentran unidas mediante contactos cerrados que representan la base estructural de la barrera hematotesticular que mantiene un microambiente especial a través de su membrana selectiva regulada por las células de Sertoli. Estas células tienen la capacidad de producir estrógenos debido a que poseen aromatasas que convierten a los precursores androgénicos en estrógenos. Además, las células de Sertoli sintetizan la proteína ligadora de

andrógenos (ABP) encargada de fijar la testosterona para mantener el medio que rodea a las células germinales y mantenerlas viables. Estas células también son capaces de producir inhibina para frenar la síntesis de la hormona folículo estimulante (FSH). Las células de Sertoli son estimuladas por la FSH y por la testosterona que producen las células de Leydig en el intersticio (Bellido-Gómez, 1999, Geneser et al. 2000, Köning et al. 2005).

Células espermatogénicas: En los túbulos seminíferos se lleva a cabo el proceso de espermatogénesis el cual contiene todas las células germinales masculinas; espermatogonias, espermatocitos primarios, espermatocitos secundarios, espermátides y espermatozoides (Bellido-Gómez, 1999, Geneser et al. 2000, Köning et al. 2005).

1.1.3 Tejido intersticial

El tejido intersticial es el espacio intracelular que proporciona sostén y apoyo a las células. Se compone de células intersticiales, vasos sanguíneos, vasos linfáticos y células de Leydig, que representan la parte endocrina del testículo dado que sintetizan y secretan testosterona como consecuencia de la captación de lípidos. La testosterona se transforma en dihidrotestosterona en reacción catalizada por la enzima 5α reductasa. La dihidrotestosterona se une con los receptores nucleares de esteroides y a través de estos se produce el efecto de la hormona (Bellido-Gómez 1999).

La testosterona estimula los túbulos seminíferos y está encargada del desarrollo de los caracteres sexuales secundarios extragenitales. Debido a la cercanía que tiene las células de Leydig con los túbulos son capaces de generar el incremento de testosterona sobre los túbulos y estimular la espermatogénesis y a las células de Sertoli. Desde el intersticio celular se transfieren cantidades grandes de testosterona a los túbulos seminíferos dado que las células de Sertoli por los contactos oclusivos a la barrera hematotesticular pueden crear gradientes osmóticos entre el intersticio y el compartimento adluminal, en consecuencia, el epitelio tubular queda expuesto a altas concentraciones de testosterona siempre reguladas por la proteína fijadora de andrógenos secretadas por la célula de Sertoli (Bellido-Gómez 1999, Geneser et al. 2000).

1.1.4 Sistema de conductos excretores del testículo

El sistema de conductos se constituye por numerosas estructuras anatómicamente unidas entre sí para transportar los espermatozoides desde el epidídimo hasta la uretra prostática (Bellido-Gómez 1999) (Figura 2).

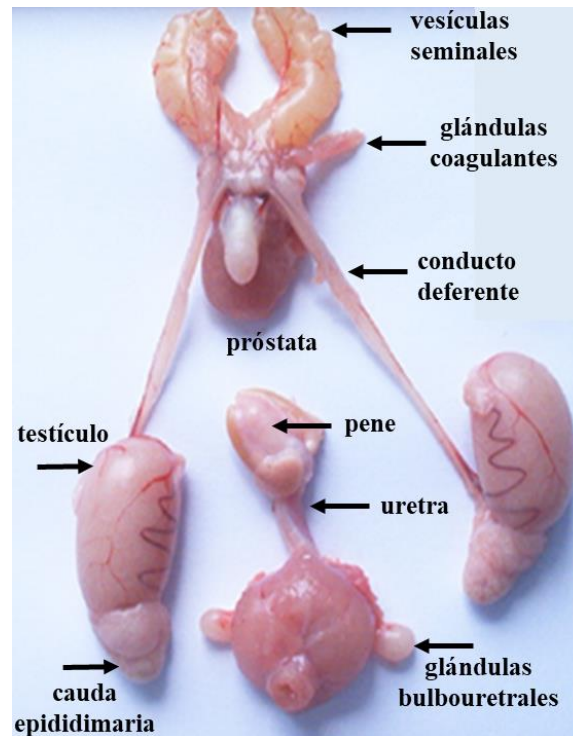


Figura 2. Fotografía del aparato reproductor que muestra las glándulas sexuales accesorias de la rata macho.

Túbulos rectos y rete testis: Los túbulos rectos son prolongaciones de los túbulos seminíferos que continúan en un segmento terminal el cual sufre un lento y descendente estrechamiento de la luz y el epitelio cambia su forma a cilíndrica generando al túbulo recto. Este túbulo recto continúa a la rete testis que se compone por múltiples canales anastomosados localizados en el mediastino testicular. En los túbulos rectos, los espermatozoides son transportados a través de flujo de líquidos, ya que el tejido intersticial transporta grandes cantidades de líquido hacia los túbulos seminíferos, este líquido fluye hacia los conductillos eferentes y el epidídimo donde es absorbido y los espermatozoides son liberados (Geneser et al. 2000).

Conductillos eferentes: Estos conductillos son la continuación y prolongación de la rete testis que atraviesa la túnica albugínea para poder atravesar hacia la cabeza del epidídimo, en esta zona los conductillos forman unas pequeñas estructuras denominadas conos del epidídimo. Los conductillos eferentes poseen un epitelio característico con un límite luminal, este epitelio está compuesto por grupos de células ciliadas alternadas con grupos de células absortivas. Las células ciliadas contribuyen al transporte de los espermatozoides mientras que las absortivas están recubiertas por microvellosidades las cuales forman invaginaciones tubulares que se comunicaran con vesículas que se encuentran en la membrana celular apical. Estas células absortivas son las encargadas de eliminar el líquido y sustancias de la luz (Geneser et al. 2000).

El epitelio de los conductillos eferentes se encuentra sobre una delgada membrana basal y alrededor de esta se encuentra una fina capa de células musculares lisas.

Conducto del epidídimo: Los conductillos eferentes que se prolongan de la rete testis desembocan en el conducto del epidídimo que consta de cabeza, cuerpo y cauda para dar origen al conducto deferente (Geneser et al. 2000).

En el epidídimo se lleva a cabo la reabsorción, maduración y almacenamiento de los espermatozoides y depende de los andrógenos para su maduración, funcionamiento y mantenimiento (Hafez et al. 2002, Hermo y Robaire 2002).

Cabeza del epidídimo: Esta porción se constituye por dos tipos de células: principales y basales. Las células principales llevan a cabo la absorción del líquido que sale de los túbulos seminíferos, además secretan glucoproteínas y glicerofosforilcolina que son de gran importancia para la maduración de los espermatozoides (Geneser et al. 2000). Las células basales solo son precursoras de las células principales. A lo largo de todo el epidídimo existen células musculares lisas que forman una gruesa capa muscular para el transporte de los espermatozoides.

Cuerpo del epidídimo: En esta porción junto con el segmento final de la cabeza del epidídimo se transportan los espermatozoides por contracciones peristálticas de las células mioideas. Este segmento está encargado de la maduración final de los espermatozoides ya que el pequeño porcentaje de líquido que no fue absorbido en la cabeza del epidídimo fluye hasta esta porción y transporta concentraciones elevadas de testosterona, la cual es necesaria para la maduración de las células germinales (Geneser et al. 2000, Hermo y Robaire 2002).

Cauda del epidídimo: Este sitio se encarga de almacenar a los espermatozoides maduros. En esta porción del epidídimo los espermatozoides pueden sobrevivir más de tres semanas en la rata (Geneser et al. 2002).

Conducto deferente: Esta estructura comunica a la cauda epididimaria con la uretra. El conducto deferente asciende por el borde posterior del testículo y continua por el cordón espermático hasta penetrar en el conducto inguinal de la cavidad pélvica y se une con la próstata formando la ampolla del conducto deferente, cuya secreción contribuye a la formación de plasma seminal. Conforme el conducto avanza distalmente se estrecha hasta formar un tubo muy delgado y unirse con el conducto excretor de la vesícula seminal y formar el conducto eyaculador que transcurre por la próstata y desemboca en la parte prostática de la uretra (Bellido-Gómez 1999, Galina y Valencia 2009, Geneser et al. 2000).

1.1.5 Glándulas sexuales accesorias

Son las vesículas seminales, próstata, glándulas bulbouretrales y en el caso de la rata las glándulas coagulantes. Estas glándulas aportan la porción líquida del semen con los nutrientes necesarios para mantener la viabilidad y proporcionar movilidad a los espermatozoides. Estas glándulas se ubican en la cavidad abdominal y área pélvica (Köning et al. 2005) (Figura 2).

Vesículas seminales: Son estructuras glandulares, pares, simétricas y tubulares que se desarrollan a partir del conducto deferente. Forman dos cuerpos que se unen con el conducto deferente y forman al conducto eyaculador, cuando los andrógenos ejercen acción sobre ellas secretan un líquido viscoso rico en fructosa y prostaglandinas, que representa un 60% del volumen total del eyaculado (Köning et al. 2005).

Glándulas coagulantes: Las glándulas coagulantes o próstata anterior están adosadas a la pared cóncava de las vesículas seminales. Su secreción conyene a la enzima vesiculosa, que actúa sobre las proteínas SV-I hasta la SV-VII de las vesículas seminales para formar el tapón seminal (Setchell et al. 1994).

Próstata: Es una glándula constituida por numerosos alveolos y células musculares lisas, rodea la primera parte de la uretra. La próstata se compone de glándulas tubulares que desembocan en conductos excretores independientes, estos conductos se vacían en la uretra prostática. La secreción prostática conforma un 20% del volumen del eyaculado, es un líquido

blanco que contiene ácido cítrico, fosfatasa ácida, antígenos específicos de la próstata, una enzima proteolítica para mantener líquido el eyaculado, una porción importante de zinc para la estabilización de la cromatina en la cabeza de los espermatozoides. La secreción prostática se vacía durante la eyaculación y conforma la primera porción del eyaculado (Geneser et al. 2000).

Glándulas bulbouretrales: Estas glándulas se ubican adyacentes del bulbo del cuerpo esponjoso del pene, están rodeadas por los músculos bulbo-glandulares que cuando se contraen favorecen la liberación de las secreciones liberadas previo a la eyaculación, a su paso estas secreciones limpian los restos de orina en la uretra masculina y disminuyen el pH ácido de la vagina. De cada glándula se origina un conducto excretor que desemboca en la uretra, la secreción es viscosa y funciona para limpiar la uretra de restos de orina (Geneser et al. 2000).

1.2 Función Testicular en la Rata Adulta

Los testículos producen y liberan células germinales, además durante la maduración sexual, sintetizan hormonas esteroideas, que estimulan a los órganos accesorios promoviendo el desarrollo de los caracteres sexuales; ambas funciones son reguladas por el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas (Bellido-Gómez 1999).

Las hormonas gonadotrópicas son producidas por las células gonadotrópicas que se encuentran en la hipófisis anterior, en los machos cumplen con dos principales funciones, la esteroidogénesis y la espermatogénesis (Weinbauer et al. 2010).

Los gonadotropos producen LH y FSH. La LH actúa sobre las células de Leydig estimulando la producción de testosterona, que a su vez favorece la espermatogénesis de forma directa, así como también estimula las células peritubulares cuya secreción paracrina estimula a las células de Sertoli. Por su parte, la espermatogénesis es controlada por las células de Sertoli que son blanco de la acción de FSH (Ramaswamy y Weinbauer 2014).

1.2.1 Esteroidogénesis

Las gonadotropinas se producen en las células gonadotropas ubicadas en la pituitaria anterior, estas células están reguladas por la hormona hipotalámica (GnRH). La secreción de GnRH depende de la activación de ciertos receptores como el GPR54

situados en la superficie de las neuronas hipotalámicas y estimulados por el péptido Kissptin (Weinbeaur et al. 2010).

La GnRH es una hormona trófica cuyo principal órgano diana en la hipófisis anterior, actúa sobre los gonadotropos estimulando la liberación de LH y FSH. Además, es capaz de actuar directamente sobre el testículo inhibiendo la espermatogénesis y atrofiando el desarrollo de los órganos sexuales. La GnRH actúa sobre las células diana porque tienen receptores de membrana específicos. Cuando la GnRH se une a su receptor se forman los complejos hormona-receptor. Cuando el receptor de membrana es acoplado a un canal de calcio, se incrementa el flujo de calcio desde el espacio extracelular lo que genera aumento en la concentración de calcio intracelular formando al complejo calcio-calmodulina activada. La GnRH produce un incremento en la actividad fosfolipasa C con un aumento de diacilglicerol. El calcio y el diacilglicerol actúan sobre la quinasa C activando a la fosfolipasa C. Estos complejos unidos producen cambios en enzimas específicas regulando su actividad y generando incremento en la síntesis y liberación de gonadotropinas (Figura 3).

La secreción y síntesis de GnRH es modulada por un doble control, hormonal y nervioso. El control hormonal es regulado por mecanismos de retroalimentación negativa largos, cortos y ultracortos (Aguilar 1999, Bellido-Gámez 1999).

Retroalimentación larga: Este efecto es regulado por la acción de andrógenos y estrógenos inhibiendo la actividad de las neuronas hipotalámicas que secretan GnRH y además merman las acciones de respuesta de la hipófisis al GnRH. En este caso las acciones de la LH regulan la actividad de las neuronas GnRHérgicas (Aguilar 1999, Bellido-Gámez 1999).

Retroalimentación ultracorta: La hormona GnRH controla su propia síntesis y secreción a través de un mecanismo de regulación homóloga regulando el número de receptores a GnRH que se encuentran en las células gonadotrópicas (Aguilar 1999, Bellido-Gámez 1999).

En el sistema nervioso se ha descrito que las neuronas aminérgicas y peptidérgicas regulan los niveles de GnRH. Algunos neurotransmisores, como la adrenalina y la noradrenalina indolaminas, aminoácidos y los propios andrógenos tienen un efecto estimulador, mientras que algunos otros como la dopamina, la acetilcolina, la serotonina y los péptidos opiáceos endógenos tienen un efecto inhibitor (Aguilar 1999, Bellido-Gámez 1999).

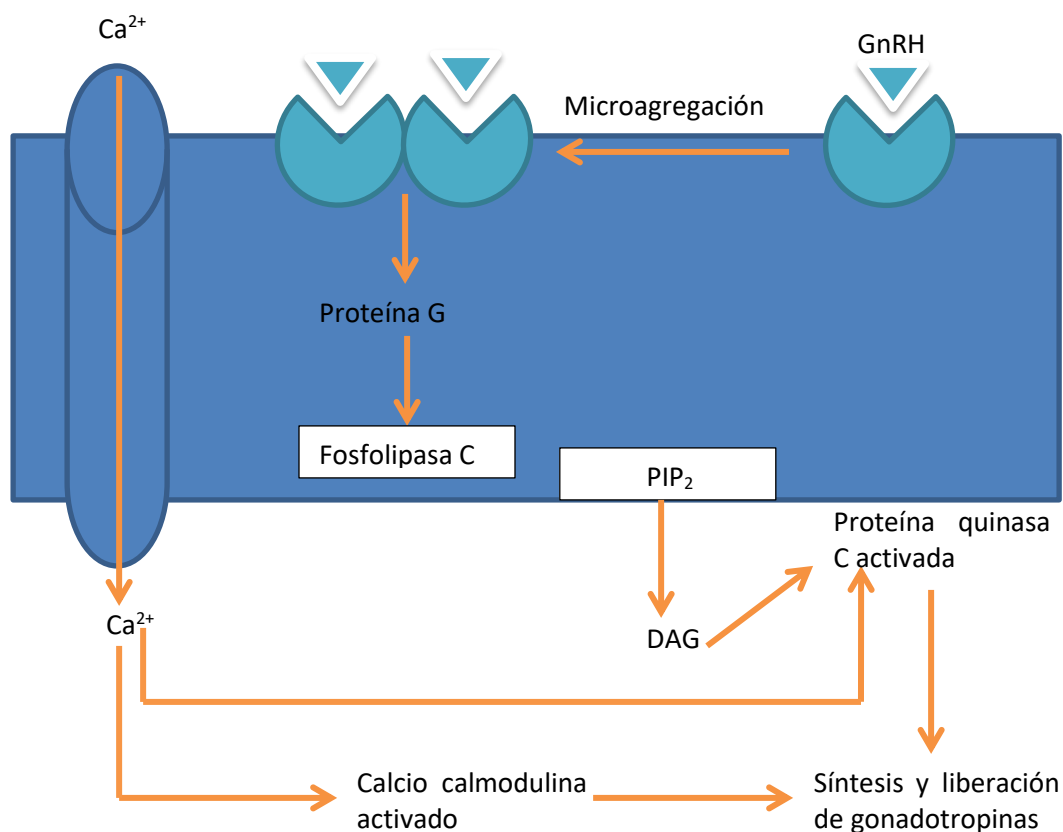


Figura 3. Mecanismo de acción de GnRH (modificado de Bellido-Gómez 1999).

1.2.2 Acciones de la hormona luteinizante (LH) en el testículo

La LH es sintetizada en las células gonadotropas hipofisarias, esta hormona es secretada de forma pulsátil por la hipófisis y se degrada enzimáticamente en el hígado. La LH es uno de los reguladores fisiológicos más importantes para la síntesis de hormonas esteroideas en el testículo. En el macho las células de Leydig son las células diana para esta hormona su acción consiste en incrementar la síntesis y secreción de andrógenos y aumento en el tamaño de las células de Leydig (Norman y Litwack 1997, O' Donnell et al. 2006).

Uno de los efectos de la LH en relación con la esteroidogénesis, consiste en aumentar la entrada de colesterol a las células por medio de la fosforilación de la enzima colesterol esterasa,

alguna de las acciones de esta enzima es generar un aumento funcional activando la liberación de colesterol de su propio depósito intracelular y aumentan las síntesis de las proteínas transportadoras de esteroides (Norman y Litwack 1997, O' Donnell et al. 2006).

La LH tiene la capacidad de modular el número de receptores en la membrana de las células de Leydig, esto lo logra al introducirse dentro de las células diana formando parte del complejo hormona-receptor (Norman y Litwack 1997, O' Donnell et al. 2006).

La regulación del eje hipófisis-Leydig se realiza a nivel central actuando sobre la hipófisis y a nivel periférico actuando sobre el testículo. La respuesta de la célula de Leydig al estímulo de la LH depende de la concentración de la misma hormona y también depende de la sensibilidad de la célula a la hormona. El control central lo realiza el hipotálamo por acción de la GnRH que actúa en la liberación y síntesis de LH. A nivel periférico cuando la LH disminuye, la hormona FSH y la prolactina aumentan junto con el número de receptores de LH en las células de Leydig (Figura 4) (Norman y Litwack 1997, O' Donnell et al. 2006).

1.2.3 Acciones de la hormona folículo estimulante (FSH) en el testículo

La síntesis, secreción y degradación de FSH son similares a los descritos para LH estos procesos son reguladas por la GnRH hipotalámica. A nivel periférico la FSH regula el número de receptores en las células de Sertoli modulando su sensibilidad, esta hormona es regulada por mecanismo de retroalimentación negativa de forma independiente a los esteroides sexuales ya que este efecto es generado por la inhibina (Norman y Litwack 1997, O' Donnell et al. 2006).

Los receptores específicos para FSH están ubicados en la membrana de las células de Sertoli, la unión de la hormona al receptor incrementa los niveles intracelulares de AMP cíclico ya que esta hormona actúa por el sistema de la adenilatociclase utilizando como segundos mensajeros al AMPc y al Ca^{2+} (Norman y Litwack 1997, O' Donnell et al. 2006).

Entre las principales acciones de la FSH esta incrementar la síntesis de proteínas específicas y la síntesis de estradiol a partir de testosterona, además, actúa sobre el metabolismo energético de las células de Sertoli y es capaz de intervenir en el proceso de espermiogénesis y división celular de los gametos masculinos. El proceso de espermatogénesis requiere la actividad de la FSH, necesaria para iniciar la espermatogénesis en la pubertad. Sin embargo, no interviene en el mantenimiento de la producción espermática futura ya que las células

germinales no poseen receptores a FSH. Los efectos de esta hormona sobre la espermatogénesis son regulados por las células de Sertoli. La testosterona en la espermatogénesis es la encargada del proceso de proliferación de las espermatogonias, estimula la mitosis, aumenta el número de espermatogonias y controlar la maduración, siendo la FSH necesaria para el mantenimiento cuantitativo de la misma, sobre todo cuando disminuye la testosterona (Tabla 1). La FSH tiene la capacidad de aumentar la esteroidogénesis por un doble mecanismo, el primero consiste en incrementar los receptores a LH en las células de Leydig generando un aumento en la respuesta de testosterona y el segundo es estimular la síntesis del factor estimulante de la esteroidogénesis directamente sobre las células de Sertoli (Norman y Litwack 1997, O' Donnell et al. 2006).

Tabla 1. Factores regulados por la FSH que actúan sobre la proliferación y diferenciación de las células germinales.

Factores liberados por la célula de Sertoli	Acciones
1) Citoquinas que estimulan la espermatogénesis.	<ul style="list-style-type: none"> - Activina: estimula la síntesis de LH. - SGF: factor de crecimiento de los túbulos seminíferos. - SCSGD: Factor de crecimiento segregado por las células de Sertoli. - TGF-β, IGF-I e IGF-II: Estimulan la proliferación de células germinales.
2) Citoquinas que inhiben la espermatogénesis.	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibina: ejerce control frenando la síntesis de FSH. - IL-6: Inhibe la proliferación de espermatogonias, espermatocitos y la espermatogénesis.
3) Proteínas que contribuyen a la maduración del espermatozoide.	<ul style="list-style-type: none"> - Clustreina: se une a la superficie del espermatozoide contribuyendo a su maduración.
4) Esteroides que estimulan la meiosis.	<ul style="list-style-type: none"> - 3-α hidroxipregmolona: inhibe la FSH y estimula la meiosis del espermatocito primario.
5) Proteínas que transportan moléculas para la nutrición de las células germinales.	<ul style="list-style-type: none"> - ABP, transferrina, ceruloplasmina, glucoproteínas sulfatadas, transpeptidasa de ácido glutámico.

(Modificada de Bellido-Gámez 1999).

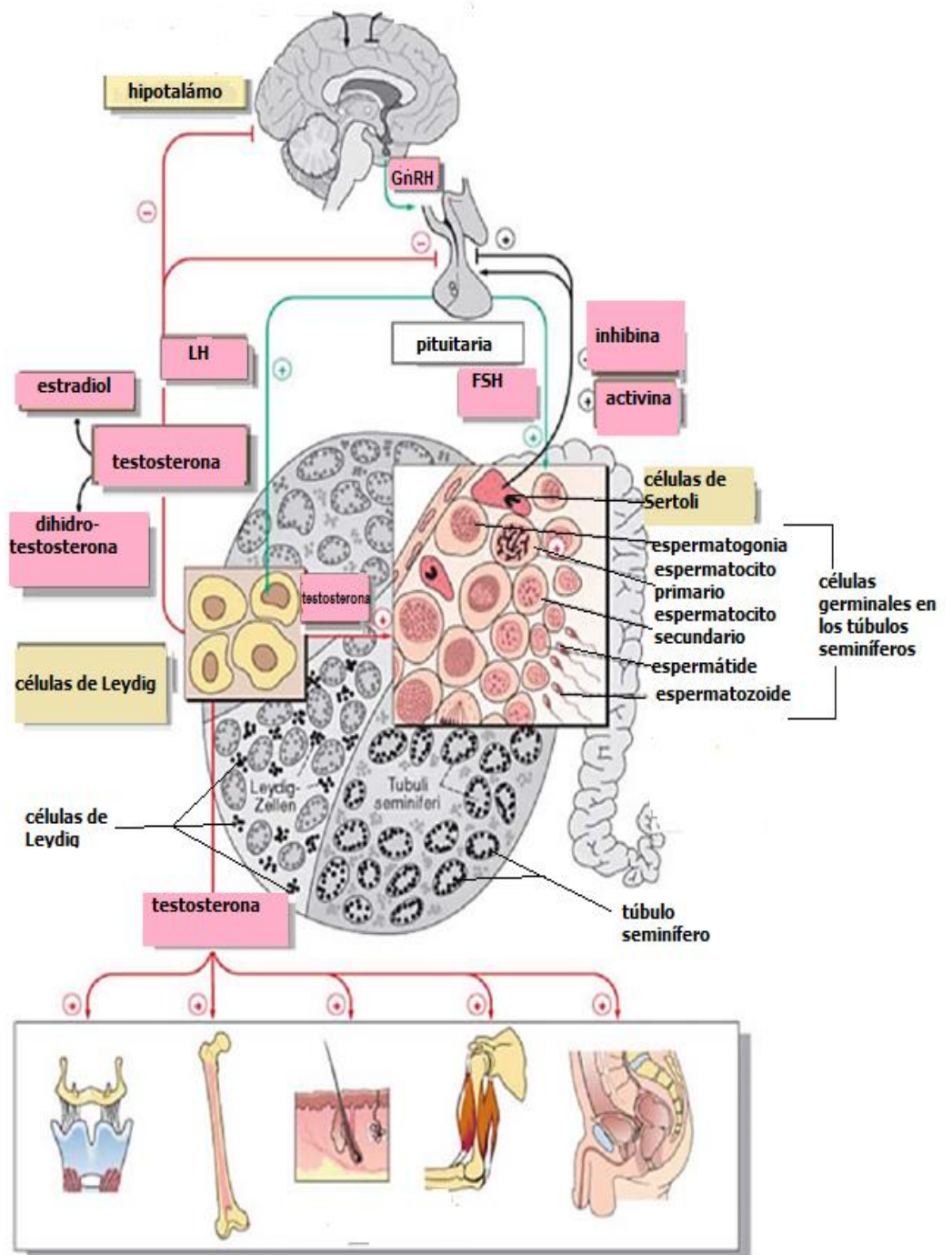


Figura 4. Eje hipotálamo-adenohipófisis-testículo y las hormonas que ejercen sobre la regulación de la función testicular además el efecto de los andrógenos sobre los caracteres secundarios: control hipotalámico, liberación de GnRH, estimulación de las células de Leydig y la secreción de testosterona controlada por la LH, acción de las FSH sobre las células de Sertoli (Modificada de Nieschlag et al. 2008).

1.2.4 Biosíntesis de hormonas esteroides

Las células de Leydig sintetizan y secretan hormonas esteroideas capaces de estimular el crecimiento del aparato reproductor masculino (Bellido-Gámez 1999).

Las células de Leydig, aunque pueden sintetizar colesterol a partir de acetyl-CoA, lo obtienen principalmente del plasma a partir de los ésteres de colesterol que forman parte de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Las LDL se introducen en las células mediante receptores; los ésteres de colesterol se almacenan como gotas de lípidos o pueden convertirse en colesterol libre para ser utilizado durante la síntesis (Norman y Litwack 1997).

La transformación del colesterol en pregnenolona se realiza en la mitocondria de las células de Leydig. El colesterol es transportado hacia la mitocondria cuando se une a una proteína transportadora de esteroides (SCP2), en este proceso intervienen fosfolípidos de membrana y un péptido activador de la esteroidogénesis. La pregnenolona se libera de la mitocondria y pasa al retículo endoplásmico liso donde se completa la esteroidogénesis (Norman y Litwack 1997).

En el testículo existen dos rutas metabólicas que conducen a la síntesis de testosterona una a partir de 17-hidroxi-pregnenolona y otra a partir de 17-hidroxi-progesterona. La testosterona tiene la capacidad de transformarse a otros esteroides biológicamente activos a través de dos rutas metabólicas. La ruta 5α reductasa; es donde se transforma por primera instancia en dihidrotestosterona (DHT) y la ruta de las aromatasas, en donde la testosterona se transforma a estradiol y la androstenediona en estrona (Figura 5).

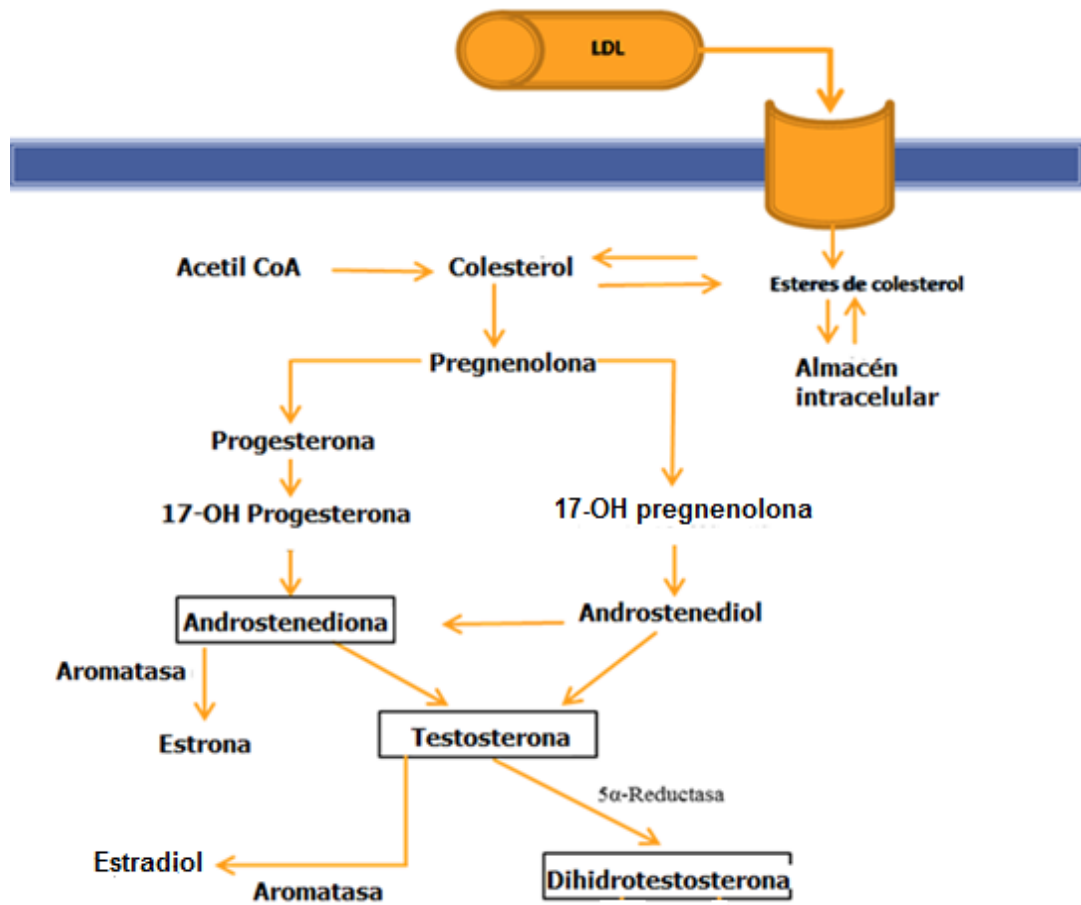


Figura 5. Esquema de la biosíntesis de esteroides en el testículo por las vías delta 4 y delta 5 (Modificada de Bellido-Gómez 1999).

1.2.5 Acciones de los andrógenos en la rata macho

Los andrógenos son las hormonas que regulan la diferenciación y el desarrollo de los órganos reproductores, de los caracteres sexuales y controlan la conducta sexual en los machos de mamíferos (Figura 4) (Tabla 2). Los efectos de los andrógenos surgen en dos etapas separadas y definitivas el periodo fetal y la pubertad. En la etapa fetal se inicia la esteroidogénesis, ya que la testosterona es imprescindible para conseguir la diferenciación del sistema nervioso central y el tracto reproductor. Los cambios que suceden durante la pubertad del macho son un ejemplo evidente de las acciones de los andrógenos (Norman y Litwack 1997, O´ Donnell et al. 2006).

Tabla 2. Estructuras donde los andrógenos ejercen funciones.

Estructura	Función
Aparato reproductor	La testosterona es un regulador paracrino en el testículo; a través de las células de Sertoli mantiene y regula la espermatogénesis, además estimula el desarrollo y la manutención de los conductos excretores y de las estructuras sexuales accesorias
SNC complejo hipotálamo-hipofisario	Los andrógenos se encargan de regular la conducta sexual; actúan directamente sobre la regulación de las gonadotropinas y la prolactina por la hipófisis anterior.
Sistema músculo-esquelético	La testosterona aumenta las síntesis de proteínas manteniendo un balance de nitrógeno positivo, efecto que se ejerce directamente sobre el desarrollo muscular y óseo de la pubertad.
Riñón	Durante la pubertad estimula la producción de eritropoyetina incrementando las concentraciones de hemoglobina circulante.

(Modificada de Bellido-Gómez 1999).

1.2.6 Espermatogénesis

La espermatogénesis es un proceso biológico continuo que ocurre en los túbulos seminíferos dentro de la gónada masculina. Este proceso se distingue en tres fases: proliferación, meiosis y espermiogénesis (Herms y Robaire 2002).

La fase de proliferación corresponde a la replicación de las espermatogonias y cumple con un doble propósito; la primera es la obtención de los espermatocitos primarios y la segunda es mantener el número de espermatogonias. Las espermatogonias se encuentran recubriendo la zona más externa del epitelio seminífero. Durante la espermatogénesis, las espermatogonias sufren una evolución unidireccional e irreversible y dan lugar a 3 diferentes tipos de espermatogonias en diferentes estadios de maduración (espermatogonias A claras, A oscuras y B) (Bellido-Gómez 1999, Herms y Robaire 2002).

La fase de meiosis es cuando la espermatogonia sufre el proceso de meiosis, se le denomina espermatocito primario. En el proceso meiótico existen dos divisiones celulares. En este proceso meiótico los espermatocitos primarios dan lugar a dos espermatocitos secundarios con un número haploide de cromosomas X y el otro Y. En la segunda división meiótica, los dos espermatocitos secundarios dan lugar a cuatro células pequeñas, redondas e indiferenciadas que se localizan cerca de la luz del tubo, estas son las espermátidas (Cheng y Mruk 2010).

La fase de espermiogénesis no incluye más divisiones, sino que consiste en una serie de cambios nucleares y citoplasmáticos para dar como resultado al espermatozoide con una estructura flagelar. Estas transformaciones consisten en la condensación y elongación del núcleo que cambia de posición y se dirige a la periferia de la célula, a la formación del acrosoma, la formación de un flagelo y la pérdida del citoplasma. Dentro del túbulo seminífero, las diferentes células en las fases correspondientes se encuentran segregadas en orden jerárquico a lo largo y ancho del epitelio seminífero hasta cumplir los denominados estadios del epitelio seminífero, constituyendo así, el ciclo espermático completo (Figura 6) (O'Donnell et al. 2006).

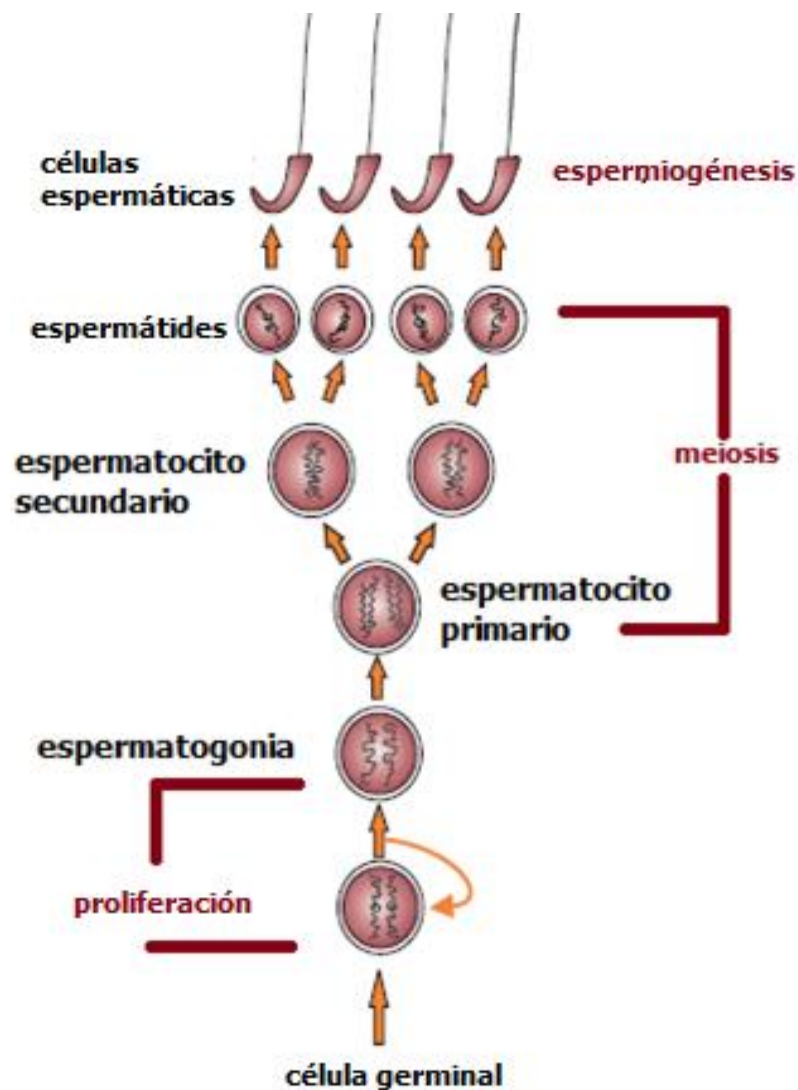


Figura 6. Esquema que muestra el proceso de la espermatogénesis (Modificado de Cheng y Mruk 2010).

1.2.7 Control hormonal en la espermatogénesis

La estimulación hormonal en la espermatogénesis se inicia en el hipotálamo con la producción de GnRH que actuará directamente sobre la adenohipófisis provocando la liberación de las hormonas gonadotrópicas: FSH y LH (Ramaswamy y Weinbauer 2014).

A nivel del testículo, la FSH y LH ejercen acciones a través de receptores específicos a estas gonadotropinas (FSH-R y LH-R) estos receptores son expresados en las células de Sertoli y en las células de Leydig respectivamente. Los testículos son capaces de responder a estas señales endocrinas generando control y equilibrio hormonal, la testosterona en las células de Leydig modula la producción y llegada de las señales de LH y la inhibina se produce en las células de Sertoli en respuesta a los estímulos de la FSH (Ramaswamy y Weinbauer 2014).

Las gonadotropinas son indispensables en la espermatogénesis ya que se ha mostrado la interacción directa de la FSH en las células germinales, espermatogonias y espermatoцитos, mientras que la FSH cumple con un papel importante con el desarrollo de las espermátidas y los espermatozoides (Ramaswamy y Weinbauer 2014). El control endocrino de las diferentes fases en la espermatogénesis es regido por el control del eje hipotálamo-adenohipófisis-testículo y mantiene el estadio, la diferenciación y la producción de los gametos masculinos.

1.3 Conducta Copulatoria Masculina

El comportamiento sexual es una expresión fisiológica que se debe a interacciones neuroendocrinas complejas. La conducta sexual es innata y mejora con la experiencia y son desplegadas a lo largo de la vida en la mayoría de los mamíferos. El apareamiento requiere la participación de dos individuos bajo condiciones específicas que aseguren la cópula con el compañero óptimo en el lugar y momento adecuado. La conducta copulatoria de la rata macho comprende la ejecución de movimientos estereotipados que son fácilmente identificados, registrados y analizados, se denominan patrones motores de monta, intromisión y eyaculación (Larsson 1956, Lucio y Tlachi-López 2008).

1.3.1 Patrones motores de la conducta copulatoria de la rata macho

“La rata macho como otros mamíferos despliega conductas estereotipadas de monta, intromisión y eyaculación” (Lucio y Tlachi-López 2008).

“El patrón motor de monta se identifica cuando la rata macho sube al dorso de la hembra, le palpa los flancos con los miembros anteriores mientras realiza movimientos rítmicos pélvicos sobre la grupa femenina. Después ocurre la desmonta lenta. La palpación de los flancos provoca la postura de lordosis de la hembra en estro” (Lucio y Tlachi-López 2008).

“El patrón motor de intromisión inicia como una monta y se acompaña de la inserción del pene en la vagina, seguido de una desmonta rápida y brusca. Este patrón se reconoce por un empuje pélvico de penetración. Posterior a la desmonta, el macho se auto-acicala el pene” (Lucio y Tlachi-López 2008).

“El patrón motor de eyaculación sucede tras el despliegue de varias montas intercaladas con intromisiones. El patrón eyaculatorio se caracteriza por una intromisión profunda y sostenida acompañada por la deposición de semen en la vagina. Posteriormente, el macho eleva el tronco y extiende los miembros anteriores lateralmente y la desmonta es lenta, seguida por el autoacicalamiento genital y luego un periodo en el que el macho no responde a estímulos sexuales, es el periodo posteyaculatorio” (Lucio y Tlachi-López 2008).

“Los patrones motores copulatorios son analizados mediante los parámetros copulatorios que incluyen el número de montas e intromisiones; así como las latencias de monta, intromisión y eyaculación (Lucio y Tlachi-López 2008). La latencia de monta indica la motivación o interés sexual que presentan los machos; mientras más corta en segundos sea, mayor motivación sexual. La latencia de intromisión indica el tiempo que tarda el macho en presentar la primera erección. La latencia de eyaculación representa el tiempo que tarda el macho en expeler semen luego de haber presentado la primera erección. Además, se pueden calcular el Intervalo interintromisión y el *Hit Rate*” (Lucio y Tlachi-López 2008).

1.4 Dopamina

La dopamina es un neurotransmisor clásico del grupo de las catecolaminas tiene un anillo benceno con dos sustituyentes hidroxilo en su molécula (Cooper et al. 1996). La dopamina desempeña múltiples funciones en el sistema nervioso central (SNC), entre ellas, la conducta motora, la estimulación de ciertas áreas cerebrales además de la comunicación neuroendocrina, algunas de estas funciones involucran el control de la secreción de GnRH y el mecanismo de la

regulación de la secreción de prolactina por la hipófisis (Kandel et al. 2000, Tresguerres y Castillo 1993, Trujillo et al. 2000).

Existen ocho vías dopaminérgicas descritas en el SNC de las cuales, cuatro son las más importantes:

Vía mesolímbica: Comienza en el área tegmental ventral y se conecta a estructuras límbicas tales como el núcleo accumbens, amígdala, hipocampo y alcanza la corteza prefrontal. Esta vía produce la respuesta y el despliegue de la conducta frente a los estímulos gratificantes, además media el sistema de recompensa (Iversen et al. 2010).

Vía nigroestriatal: Los somas de esta vía se encuentran en la sustancia negra y las proyecciones axónicas llegan hasta el cuerpo estriado. Esta vía regula el control motor (Iversen et al. 2010).

Vía mesocortical: Se conecta al área tegmental ventral, se proyecta al estriado ventral y desemboca en la corteza prefrontal. Esta vía es responsable de la motivación (Iversen et al. 2010).

Vía tuberoinfundibular: Sus proyecciones provienen del núcleo arcuato del hipotálamo y desembocan en la hipófisis. La dopamina producida en esta zona es reguladora de la secreción de prolactina y la modulación de la secreción hormonal (Iversen et al. 2010).

1.4.1 Sistemas dopaminérgicos

En el SNC existen un número considerable de células dopaminérgicas, agrupadas en 3 principales sistemas; sistema ultracorto, sistema de longitud intermedia y sistemas largos, estos sistemas se encargan de la velocidad a la cual puede distribuirse la dopamina (Tohyama y Takatsuji 1998) (Tabla 3).

Tabla 3. Sistemas dopaminérgicos en el SNC. Se representan los grupos neuronales, las vías dopaminérgicas más importantes y las regiones neuronales dopaminérgicas.

Tipo de sistema	Sistema	Ubicación anatómica
Sistema ultracorto	A-16	Bulbo olfatorio
Sistema ultracorto	A-17	Neuronas interflexiformes
Sistema de longitud intermedia	A-12	Núcleo hipotalámico, núcleo arqueado y núcleo periventricular.
Sistema de longitud intermedia	A-13 y A-14	Neuronas localizadas en el hipotálamo dorsal y posterior
Sistema de longitud intermedia	A-15	Núcleo periventricular medular
Sistemas largos	A-8	Neuronas de la región retrotubular
Sistemas largos	A-10	Área tegmental ventral
Sistemas largos	A-9	Sustancia negra compacta: envían proyecciones a 3 regiones principales. <ul style="list-style-type: none"> • Neostriado • Corteza límbica • Estructuras límbicas Dentro de este grupo se encuentran las vías dopaminérgicas más importantes, la nigroestriadas y la mesolímbica.

(Modificada de Trujillo et al. 2000).

1.4.2 Síntesis de dopamina

La síntesis de la dopamina requiere el aminoácido tirosina que puede sintetizarse a partir de la fenilalanina o provenir de la dieta, además es indispensable la interacción de dos enzimas, la tirosina-hidroxilasa (TH) que se encarga de catalizar a la tirosina en L-Dopa y la descarboxilasa de L-aminoácidos-aromáticos (LAAD) que se convertirá L-Dopa a dopamina (Alonso-Solís 1992, Cooper et al. 1996).

La síntesis comienza con la hidroxilación del anillo fenólico de la tirosina por acción de la TH, a partir de la descarboxilación de este aminoácido se obtiene a la L-Dopa, el proceso continuo con la descarboxilación de la L-Dopa por trabajo de la LAAD, dando como resultado a la dopamina (Alonso-Solís 1992, Cooper et al. 1996).

Diversos autores describen la expresión de tirosina-hidroxilasa en el testículo, lo que sugiere que este órgano dispone del material necesario para la síntesis catecolaminérgica intratesticular que pudiera regular la espermatogénesis (Lakomy et al. 1997, Frungieri et al. 2000, Romeo 2004).

1.4.3 Receptores dopaminérgicos

Los receptores dopaminérgicos están acoplados a proteínas G y en el sistema nervioso se han detectado 5 tipos divididos en dos familias:

Familia D1: incluye a los receptores D1 y D5, su función es estimular la función del AMPc para la transducción de señales.

Familia D2: involucra a los receptores D2, D3 y D4 cuya acción es disminuir la producción de AMPc. Asimismo, activa canales de K^+ y reduce la entrada de Ca^{2+} a través de canales dependientes de voltaje, efecto que es mediado por proteínas G.

Los receptores D1 activan al adenilato ciclasa (AC) por medio de la inducción directa de proteínas de unión a guanosina, la subunidad G de la proteína G se une a subunidad catalítica C2 de la enzima que induce la conversión del ATP en AMPc. El AMPc interactúa con las subunidades reguladoras de la proteína cinasa A (PKA), que inducen la liberación de las subunidades catalíticas involucradas en la fosforilación de distintos sustratos (Sunahara y Taussig 2002). La activación de estos receptores está regulada por el gradiente electroquímico a través de Na^+/K^+ -ATPasa que se encarga de expulsar al Na^+ al espacio extracelular e introduce al K^+ hacia la célula (Nishi et al. 1999). Los receptores de la familia D2 son dirigidos a la inhibición de la AC y la inhibición de PKA sin embargo existen diferencias marcadas en cada uno de los receptores de estas familias. Se ha demostrado que el RDA2 modulan canales de potasio que regulan la respuesta al receptor, además los RDA2 son capaces de activar vías de señalización celulares dirigidas a la proliferación celular, esta activación se ha encontrado en diferentes líneas celulares (Beom et al. 2004).

II. ANTECEDENTES

La dopamina participa como neuromodulador en las funciones de ciertos órganos. Se conoce su interacción con receptores dopaminérgicos renales, adrenales y cardiovasculares. La dopamina y sus receptores también han sido detectados en el testículo, sin embargo, su papel en las funciones reproductivas y en el tracto genital masculino no está bien esclarecido (Romeo et al. 2004). La presencia de receptores de dopamina en el tejido testicular podría indicar que la dopamina es una señal química que posiblemente ejerce acciones moduladoras en las funciones de las células de Leydig y de Sertoli. De hecho, funciones equivalentes en la gónada femenina han sido mostradas (Dirami y Cook 1998).

La dopamina está involucrada en diferentes aspectos de la conducta sexual incluida la activación sexual, cópula y reflejos penianos. Se sabe que la dopamina en la rata macho induce la erección del pene. En estudios previos se detectaron receptores D1 y D2 en los cuerpos cavernosos del pene, incluso la estimulación dopaminérgica prolongada produce la emisión seminal (Hyun et al. 2002).

Existen estudios que evidencian a los receptores de la familia D2 en las células germinales, así como en el acrosoma del espermatozoide, esto sugiere que la dopamina participa en la regulación de funciones que permiten el completo desarrollo de las células germinales (Urrea et al. 2014). En un intento por determinar el papel de la dopamina y sus receptores en las gónadas de la rata macho, se ha evaluado la expresión y la ubicación del receptor periférico de dopamina tipo D2 en las células germinales y en los espermatozoides de mamíferos (Otth et al. 2007). Se ha sugerido que la dopamina actúa como agente modulador en la formación de espermatozoides y ha mostrado que mantiene la motilidad espermática y evita la pérdida del acrosoma en espermatozoides de rata, jabalí, caballo y hombre (Urrea et al. 2014).

La administración de sulpiride (antagonista dopaminérgico) en ratas gestantes no modificó la cópula de los machos probados a los 90 días de edad. Sin embargo, se encontró un leve desarreglo en el epitelio seminífero en los cortes histológicos de esos mismos machos, impidiendo la adecuada producción de gametos (Leivas et al. 2013).

En contraste, la administración de domperidona (antagonista dopaminérgico) disminuyó los valores de las latencias de intromisión y de eyaculación, número de montas e intromisiones,

así en el intervalo posteyaculatorio), y aumentaron significativamente los niveles séricos de prolactina. En este mismo estudio se mostró que las concentraciones plasmáticas de testosterona fueron menores en las ratas tratadas durante 30 días que en aquellas tratadas durante 5 días (Nasello et al. 1997). Otros estudios señalan que los agonistas dopaminérgicos alteran la relación de los receptores dopaminérgicos en el testículo afectando el eje hipotálamo-hipófisis-testículo. En efecto, el uso de agonistas dopaminérgicos como tratamiento para la hiperprolactinemia favorece el incremento tumoral en las células de Leydig en el testículo de la rata macho (Dirami y Cook 1996). Cuando la secreción de prolactina es suprimida, los niveles de LH circulante se incrementan, lo que favorece la inducción de hiperplasia en las células de Leydig (Prentice y Meikle 1995). El aumento de la incidencia de tumores de células de Leydig está asociado con el incremento de LH circulante (Prentice et al. 1992).

Estos antecedentes muestran el efecto de los antagonistas dopaminérgicos sobre la presencia de la conducta sexual, pero escasa información existe sobre los efectos de los antagonistas de la dopamina en la diferenciación y maduración de las células germinales masculinas. Hasta ahora, no hay suficiente evidencia sobre el papel de la dopamina en el testículo, particularmente en el control de la espermatogénesis. Además, los estudios sobre la inervación testicular y las funciones gonadales se han enfocado principalmente en el sistema noradrenérgico y peptidérgico. Por lo anterior, el propósito de la presente tesis fue estudiar los efectos del antagonismo sobre los receptores dopaminérgicos de las familias DA1 y DA2 evaluando la conducta copulatoria y la histología testicular.

III. HIPÓTESIS

El bloqueo farmacológico de los receptores dopaminérgicos en la gónada de la rata macho inducirá cambios testiculares, por lo que modificará la morfología de los túbulos seminíferos y al nivel conductual, la expresión copulatoria.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Analizar los efectos de la administración local de haloperidol como antagonista de la dopamina sobre la morfología del testículo y la conducta copulatoria en la rata macho.

4.2. Objetivos Particulares

1. Analizar los efectos del antagonismo dopaminérgico inducido por haloperidol sobre la morfología del testículo de ratas adultas con experiencia sexual.
2. Evaluar los efectos del antagonismo dopaminérgico inducido por haloperidol sobre la conducta copulatoria de ratas macho con experiencia sexual.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Animales de Experimentación

Se utilizaron ratas de la cepa CII-ZV de 90 días de edad. Los machos con peso corporal promedio de 300 g y hembras de 200 g. Los animales fueron mantenidos en condiciones controladas de bioterio con libre acceso al agua y al alimento. Todos los experimentos se ajustaron a la NOM-062-ZOO-1999.

5.2 Ovariectomías e Inducción del Estro

Las hembras se sometieron a la ovariectomía bilateral y luego de dos semanas postquirúrgicas se les indujo el estro mediante la administración secuencial de benzoato de estradiol (10 µg; sc) 40 horas previas a las pruebas copulatorias y 4 horas antes de comenzar las pruebas se les administró progesterona (2 mg; sc) (Lucio y Tlachi-López 2008).

5.3 Pruebas Histológicas y Copulatorias

Los animales se sometieron a 6 pruebas de entrenamiento copulatorio. El intervalo entre pruebas fue de 3 días entre ellas. Solo aquellos machos que eyacularon al menos en las últimas 4 pruebas copulatorias se consideraron sexualmente expertos y fueron los que se utilizaron en los experimentos.

Una vez identificados los machos sexualmente expertos se asignaron a los grupos siguientes:

1. Cirugía simulada (SHAM): Machos sexualmente expertos que fueron sometidos únicamente a la manipulación quirúrgica sin recibir microinyección de fármacos (n=32). Posteriormente, los machos fueron sacrificados a los 4, 8, 12 y 16 días después de la microinyección, para diseccionar el testículo y someterlo al procedimiento histológico

2. Dimetil sulfóxido (DMSO): Machos sexualmente expertos que recibieron, en ambas gónadas, una microinyección intratesticular con 50 µL de DMSO (n=32)

3. Haloperidol (HLP): Machos sexualmente expertos que recibieron en ambos testículos, una dosis única de 50 µg del antagonista, diluidos en 50 µL de DMSO (n=32) (Figura 7).

Cada animal de cada grupo fue su propio Control (Intacto) que corresponde al día antes de la administración del fármaco (HLP), vehículo (DMSO) o cirugía simulada (SHAM).

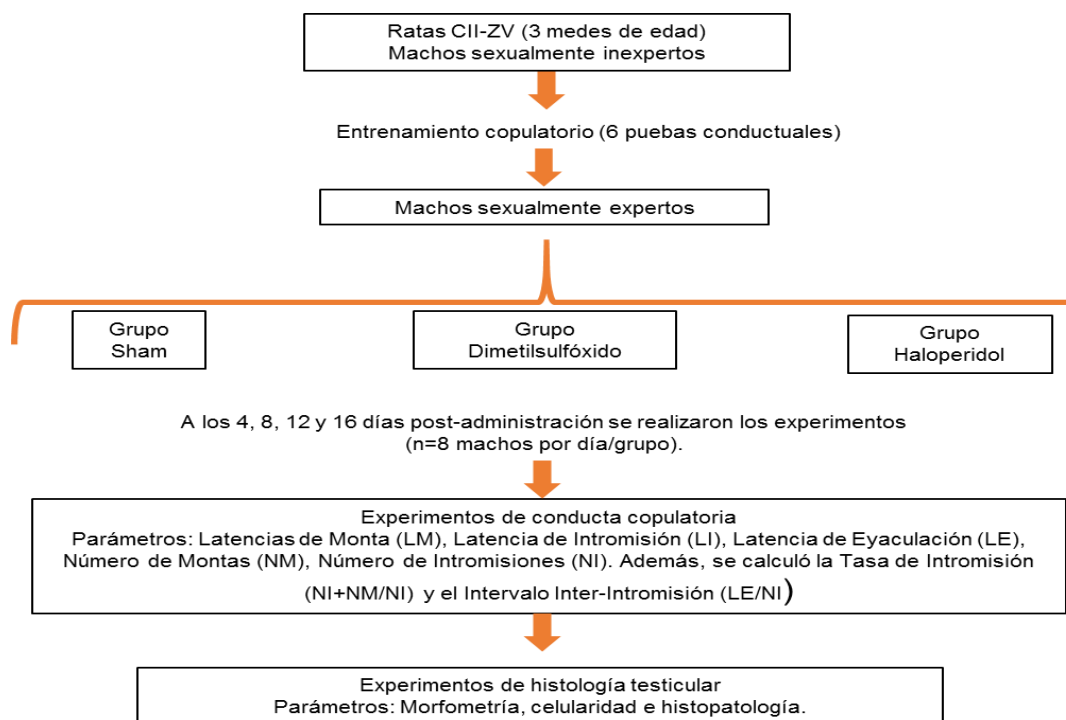


Figura 7. Esquema que muestra la distribución de los animales en los distintos grupos.

5.4 Administración del Fármaco

La técnica de inyección testicular consistió en la inserción de una aguja hipodérmica del No. 25 a través de la túnica albugínea. Los animales se anestesiaron mediante ketamina+xilacina (20 mg/kg; ip), a continuación, se rasuró el área abdominal para incidir los tejidos cutáneos, subcutáneos y exponer la línea aponeurótica de los músculos rectos abdominales y acceder al peritoneo parietal. Tras la exposición del peritoneo, se realizó una incisión de 1.0 cm por la cual se expusieron los testículos, con la aguja de microinyección y mediante una jeringa Hamilton se administró el medicamento. Posteriormente, se suturó el peritoneo parietal y el área muscular con una sutura de polifilamentos de ácido poliglicólico de 3-0, el tejido cutáneo y subcutáneo con una sutura de monofilamentos de nylon de 3-0 (Figura 8).

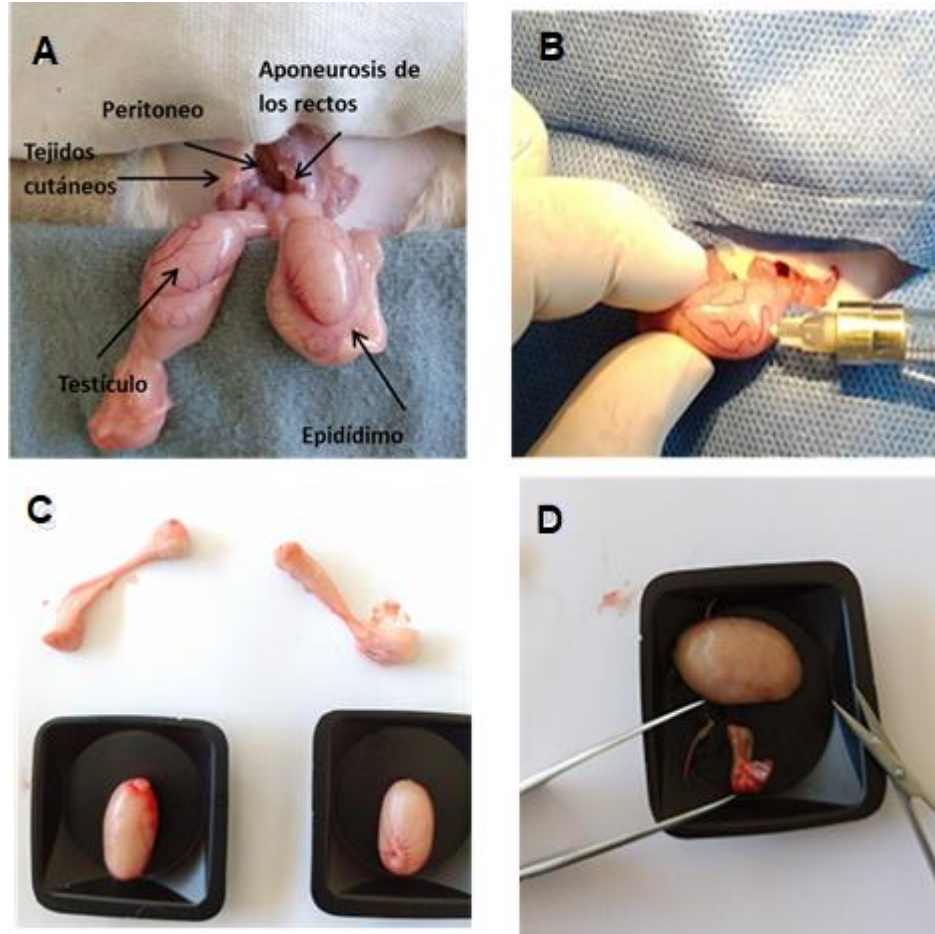


Figura 8. Las fotografías muestran el proceso por el que pasa el testículo para realizar el análisis histológico. A y B. Exposición del testículo para realizar la microinyección de fármacos. C. Extracción post mortem de los testículos y el epidídimo de una rata tras la microinyección después de 12 días. D. En la imagen se muestra la consistencia y forma del testículo al decapsularse para subsiguientemente iniciar el proceso histológico.

5.5 Histología Testicular

Posterior al proceso quirúrgico, los animales se mantuvieron en hacinamiento por parejas con cambios de cama cada 24 horas. Al día 4, 8, 12 y 16, dos animales de cada grupo fueron sometidos a las pruebas copulatorias y después se les dio eutanasia con una dosis letal de pentobarbital sódico (8 mg/kg de peso; ip). Una vez obtenidos los testículos se decapsularon con unas tijeras de iris (retiro de la túnica albugínea) (Figura 8) y se colocaron en líquido de *Böuin* durante 24 horas. Solo el testículo izquierdo de cada animal fue seccionado de forma longitudinal en dos partes y fueron transferidos a alcohol 70% hasta el momento de comenzar su procesamiento histológico para la inclusión en bloques de parafina (Robb et al. 2007). Las

muestras de tejido se deshidrataron en cambios ascendentes de etanol seguidos de dos cambios a cloroformo: uno de 24 horas y el otro de dos horas antes de ingresarlo al horno de inclusión. Finalmente, las muestras se colocaron en baño de parafina a 65°C durante tres horas y cada porción del testículo fue incluido en un bloque de parafina individual. Se seleccionó el bloque y se cortó en tiras seriadas a 5 µm de grosor y con 100 µm de distancia entre cada laminilla en cortes seriados. Se montaron dos tiras de cortes por cada portaobjeto se fijaron con gelatina al 0.3%.

Las laminillas se dejaron secar por 24 horas en una cámara con vapores de formol 37% y finalmente, los cortes histológicos fueron teñidos con hematoxilina-eosina (Luna 1968, Paniagua 2007), y montados en resina sintética. El derecho de cada animal fue almacenado y congelado para futuros estudios.

Los cortes transversales se observaron bajo microscopía de luz a 100 aumentos para determinar los parámetros siguientes:

a) Morfometría estructural. Se analizaron y midieron las estructuras de 100 cortes transversales de túbulos seminíferos por animal con un software de medición (Imagej), el cual se calibra para medir en micras. Las estructuras para medir fueron las siguientes: diámetro lumen y diámetro del túbulo, altura del epitelio seminífero y área del túbulo (Robb et al. 2007, Fernandes et al. 2007, Leivas et al. 2013).

b) Índice Histopatológico. Se analizaron de 20 a 30 secciones transversales de túbulo seminíferos por animal y fue asignado un valor al daño observado usando una escala indicativa del 1 a 6:

1. plegamiento de la lámina basal, escalamiento celular
2. vacuolización epitelial, células multinucleadas y picnosis celular
3. túbulos sin espermátidas
4. túbulos sin espermatoцитos
5. túbulos sin espermatogonias
6. ausencia de todo tipo de células

Al final se suma todo el puntaje de cada túbulo observado.

c) Histopatología. Se midieron las estructuras macroscópicas como peso y longitud del testículo, además se buscaron formas hiperplásicas.

5.7 Análisis Estadístico

Los datos de histología testicular (morfología testicular, índice histopatológico e histopatología) se analizaron por Análisis de Varianza Simple seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer. El Índice histopatológico se analizó con una tabla de contingencia de Ji cuadrada. Los datos de los parámetros copulatorios (latencia de monta, latencia de intromisión, latencia de eyaculación, número de montas y número de intromisiones) se analizaron con la prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn. Se aceptaron como significativas las diferencias menores o iguales al $P \leq 0.05$.

VI. RESULTADOS

6.1 Histología Testicular

El análisis histológico del testículo en los animales tratados con haloperidol mostró cambios estructurales significativos.

Los cortes histológicos del testículo de los animales del grupo SHAM comparados contra testículos de animales sin ningún tipo de tratamiento o intervención, no mostraron cambios estructurales ni diferencias en la estructura testicular; el intersticio, los túbulos seminíferos y las células germinales mostraron rasgos semejantes (Figura 9).

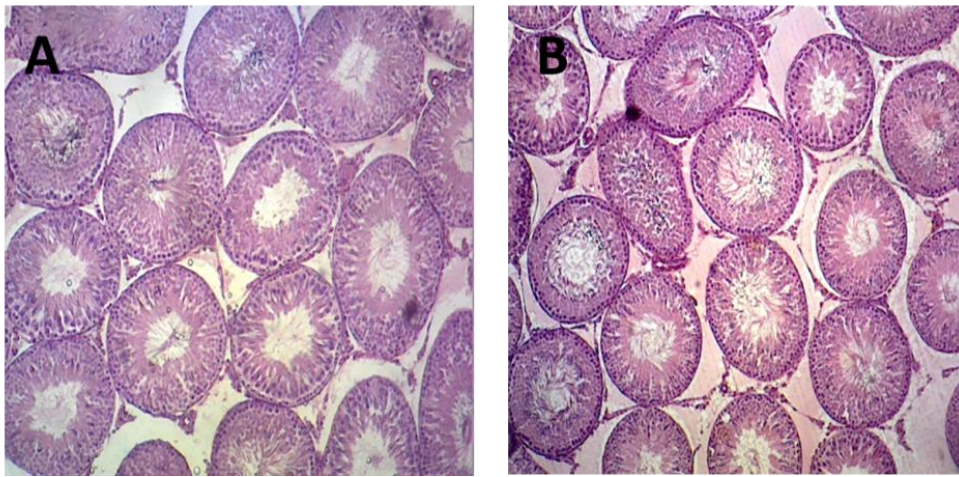


Figura 9. Microfotografías de cortes histológicos de testículo del grupo Control **A** y del grupo SHAM **B**. La organización de los tejidos testiculares es semejante entre los grupos. 100X.

El tratamiento intratesticular con DMSO evaluado al día 4 no mostró alteraciones en la organización del epitelio germinal, en cambio en los grupos con HLP causó una desorganización evidente en el epitelio del túbulo seminífero, caracterizada por el escalamiento o migración de células inmaduras y ensanchamiento del lumen, disminución en la altura y estructura del epitelio seminífero en la mayoría de los túbulos analizados (Figura 10).

Cabe señalar que entre los grupos SHAM y tratados con DMSO no muestran diferencias entre los días 4 al 12.

Al comparar los grupos tratados con DMSO y HLP a los 8 días postratamiento se observaron diferencias notables en la distancia entre el túbulo y el tejido intersticial, así como la pérdida de células en el epitelio germinativo de varios túbulos (Figura 11).

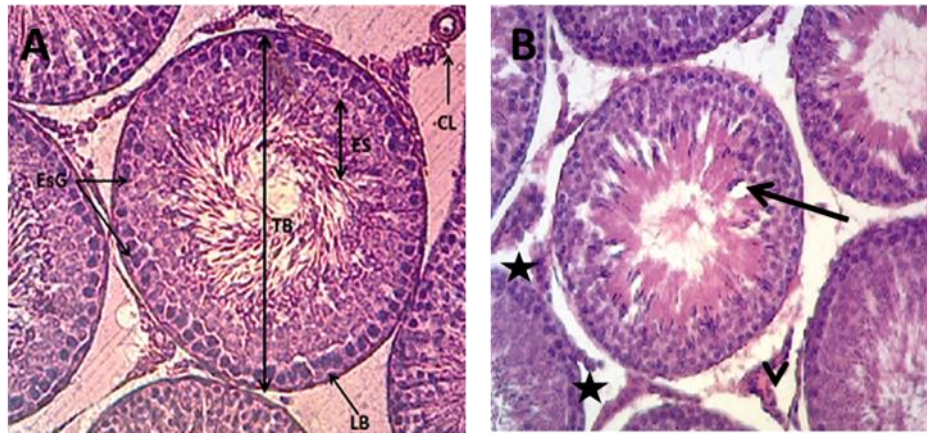


Figura 10. Microfotografías de cortes histológicos del testículo del día 4 post-tratamiento. **A** Túbulos seminíferos de macho SHAM. **B** Túbulos seminíferos de macho con HLP que muestra ruptura del tejido intersticial en donde se encuentran las células de Leydig (estrellas). Se observa la pérdida del epitelio seminífero (flecha) y la separación de las células de Leydig (punta de flecha). LB=Lámina basal, TB=Túbulo seminífero, ES=Epitelio seminífero, CL=Célula de Leydig, ESG=Espermatogonia. 400X.

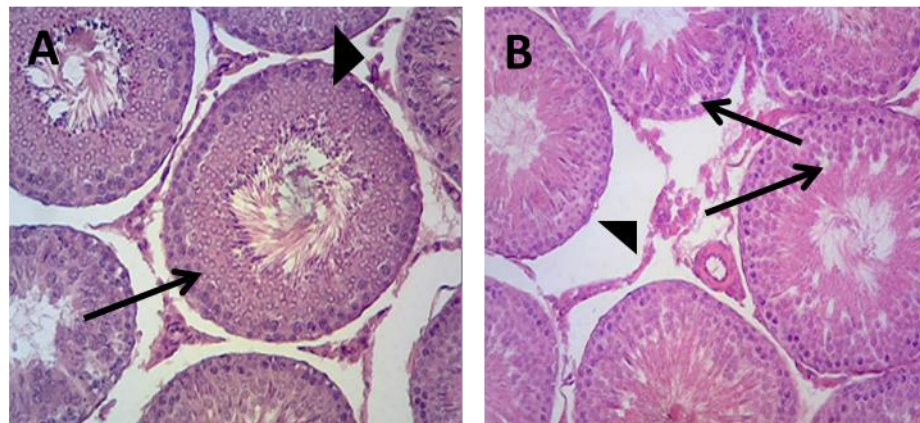


Figura 11. Microfotografías de cortes histológicos del testículo del día 8 postratamiento. Las imágenes corresponden a la etapa VII de la espermatogénesis. **A** Túbulo de machos con DMSO (flecha) que muestra la cercanía entre el túbulo y la célula de Leydig (triángulo). Se aprecia la diferenciación de las células germinales desde la espermatogonia hasta el espermatozoide. **B** Túbulo seminífero de machos tratados con HLP, se observa el distanciamiento entre el túbulo y la célula de Leydig (triángulo) y, además, el desarreglo en el epitelio y espacios en el epitelio seminífero (flecha), 400X.

El mayor daño en los túbulos seminíferos se observó a los 12 días postratamiento. Los efectos incluyen el desprendimiento de diferentes células germinales a la luz del túbulo, múltiples vacuolizaciones de células inmaduras y notables cambios en núcleo de estas mismas células. Las células de Sertoli se observan hiperplásicas y se acompañan de extravasaciones. Existen cambios en el intersticio celular, que se observa roto y plegado sus contornos, asimismo hubo signos de pérdida en la continuidad de la membrana basal de los túbulos y agrandamiento del lumen (Figuras 12, 13 y 14).

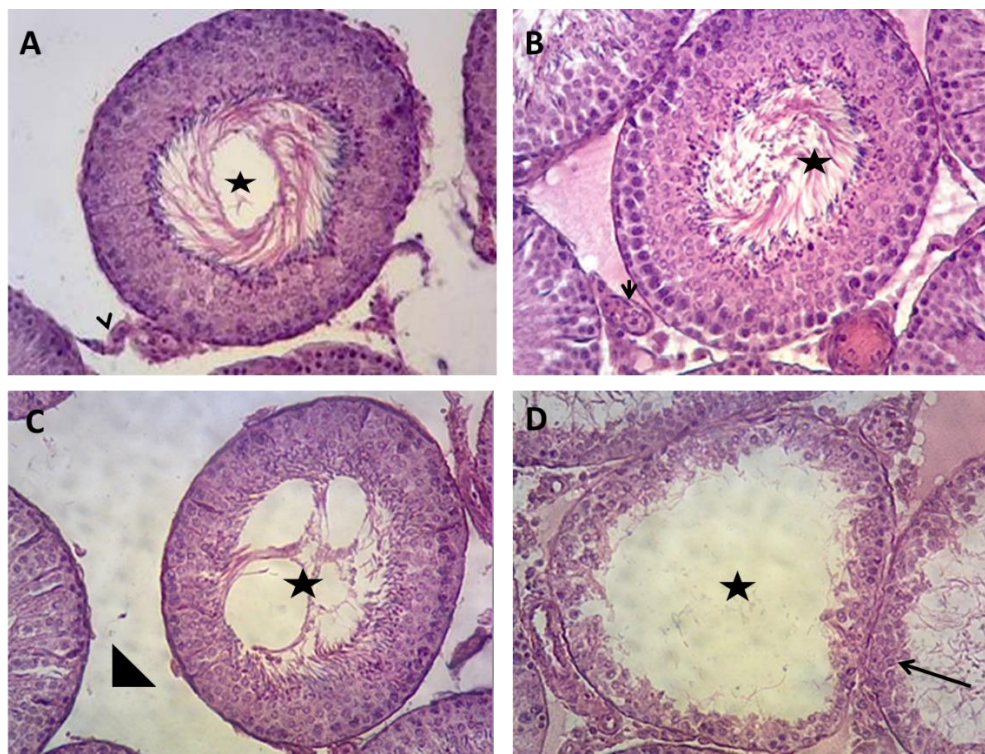


Figura 12. Microfotografías de cortes histológicos de testículo del día 12 postratamiento. Se muestra la degradación del túbulo seminífero en los animales tratados con HLP respecto a los animales tratados con DMSO. **A** Túbulo tratado con DMSO en la etapa VIII en la espermatogénesis. Lumen del túbulo seminífero (estrella), la punta de flecha indica la cercanía del túbulo con el tejido intersticial. **B** Túbulo seminífero sano de un animal con HLP a los 12 días en la etapa VIII en la espermatogénesis. El túbulo se observa sano y cercano al tejido intersticial (punta de flecha) lo que permite mantener al epitelio seminífero en perfecto estado (ES), la única variante es el crecimiento anormal del vaso sanguíneo (vs) circunvecino a ese túbulo e hiperplasia del tejido. **C** Daño progresivo del túbulo en donde el lumen se nota agrandado e invadido por células inmaduras (estrella), el triángulo marca la lejanía del tejido intersticial. **D** Túbulo seminífero dañado en toda la estructura, el epitelio seminífero (ES) se ha perdido casi en su totalidad dando lugar al ensanchamiento del lumen (estrella), la lámina basal se nota dañada, aunque en este túbulo persiste la cercanía al tejido intersticial y la célula de Leydig, 400X

Longitud del Epitelio Seminífero

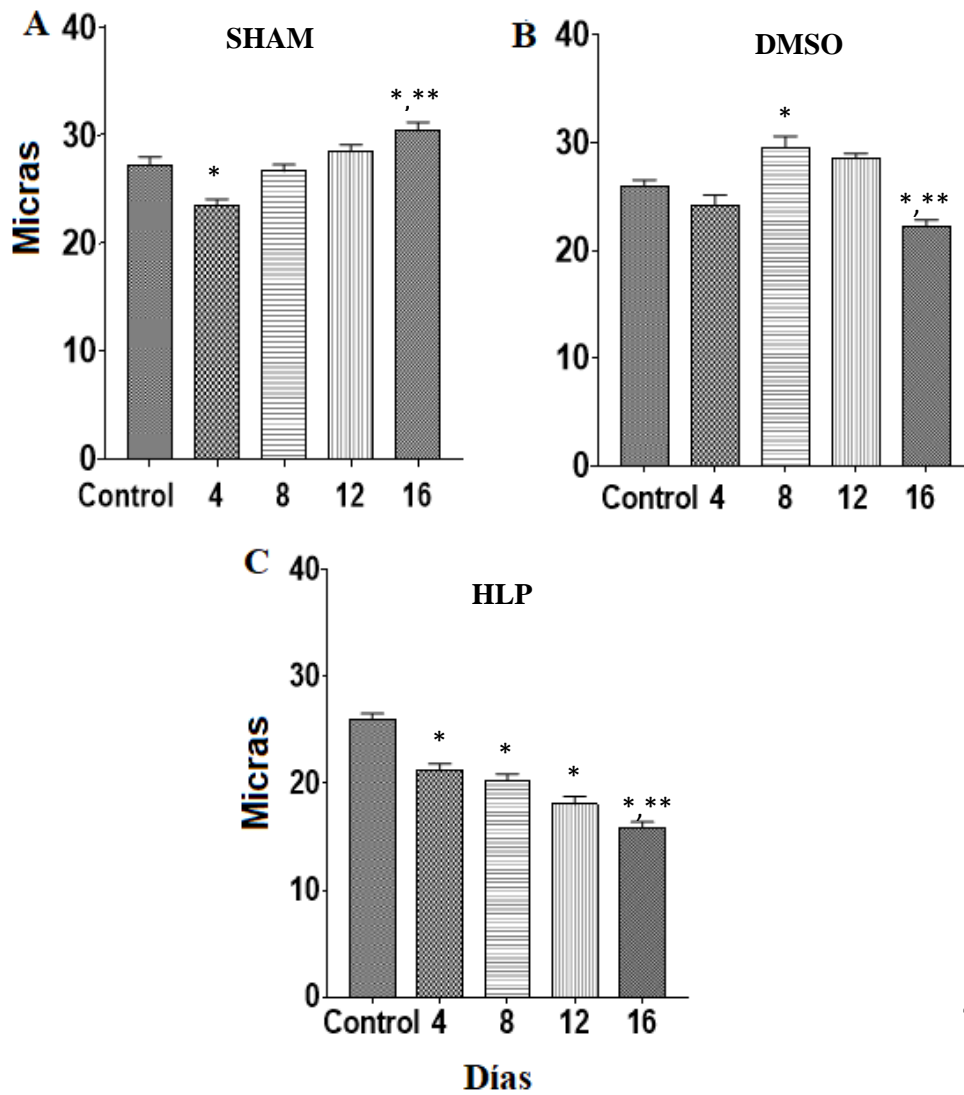


Figura 13. Longitud del epitelio seminífero en los distintos días postratamiento de machos **A** SHAM, **B** DMSO y **C** HLP. Se observan diferencias en la longitud del epitelio seminífero en diferentes días del análisis respecto al control (* $p < 0.001$) aunque es particularmente severo en el grupo con HLP en el día 16 comparado con los otros días con el mismo tratamiento, ** $p < 0.001$. Esto es debido a la pérdida del epitelio seminífero.

Al realizar el análisis cuantitativo de la longitud del epitelio seminífero, sin considerar el día del análisis histológico, se revelaron cambios significativos en este parámetro únicamente en el grupo HLP, donde se pudo observar una clara disminución de la longitud del epitelio del túbulo seminífero respecto a los otros tratamientos (HLP: $18.9 \pm 0.3 \mu\text{m}$ vs. DMSO: $26.4 \pm 0.4 \mu\text{m}$ y SHAM: $27.2 \pm 0.4 \mu\text{m}$; $p < 0.001$, ANDEVA simple seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer) (Figura 14).

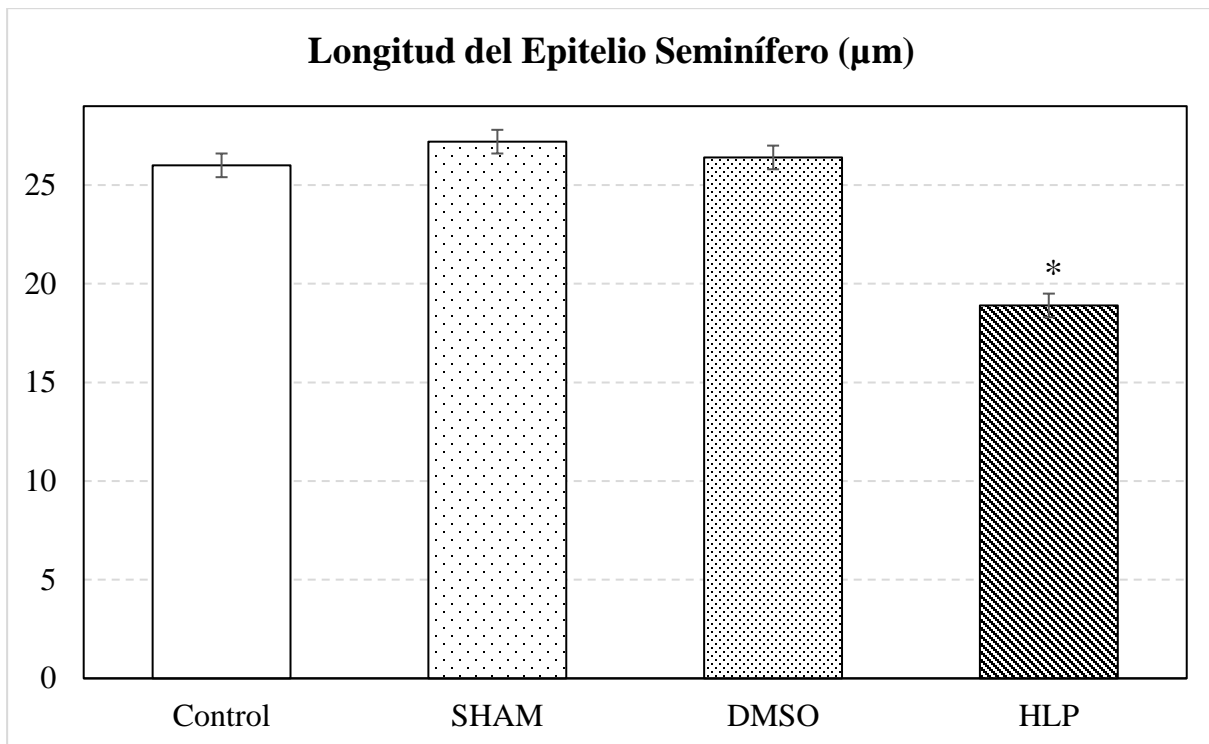


Figura 14. Longitud del epitelio del túbulo seminífero considerando el total de días postratamiento de machos sometidos a una inyección intratesticular de HLP. Se observa disminución significativa en la longitud del epitelio del túbulo seminífero en el grupo tratado con HLP comparado con el grupo Control, SHAM y DMSO, * $p < 0.001$.

Un rasgo notable es que en los túbulos seminíferos de los animales tratados con HLP se encuentran con múltiples daños estructurales; por ejemplo, es común encontrar fracturas en el tejido intersticial (Figura 15).

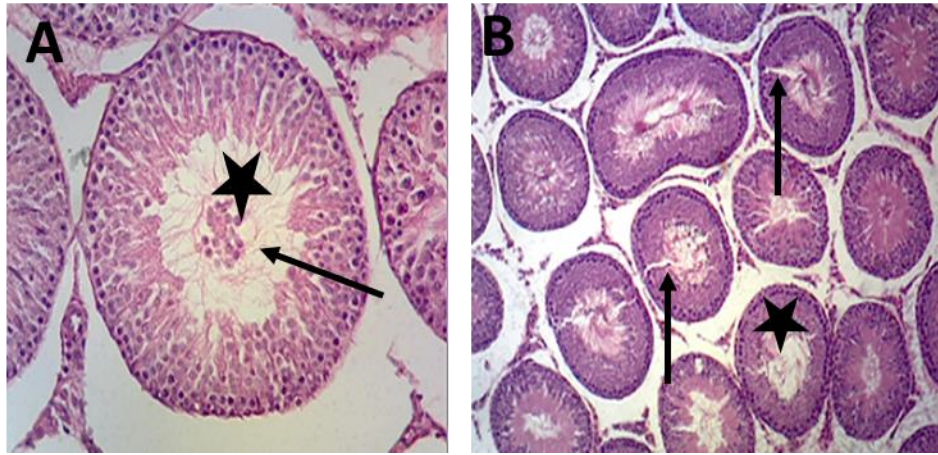


Figura 15. Microfotografías de cortes histológicos de testículo. Se muestra el daño estructural al tejido testicular por la administración de HLP. **A** Se observa el aumento en el lumen del túbulo seminífero (estrella) y la migración de las células inmaduras al lumen (flecha), 400X. **B** Se observa el incremento de la luz de los túbulos seminíferos (estrella) y rompimiento en la lámina basal (flechas) y a lo largo del epitelio seminífero hasta llegar al lumen, 100X.

En los túbulos seminíferos de los grupos tratados con HLP y DMSO en el día 16 se puede observar que el daño persiste solo en el testículo de los animales tratados con el antagonista. En las microfotografías de este grupo es notorio el contacto del túbulo seminífero con las células de Leydig (Figuras 16, 17 y 18).

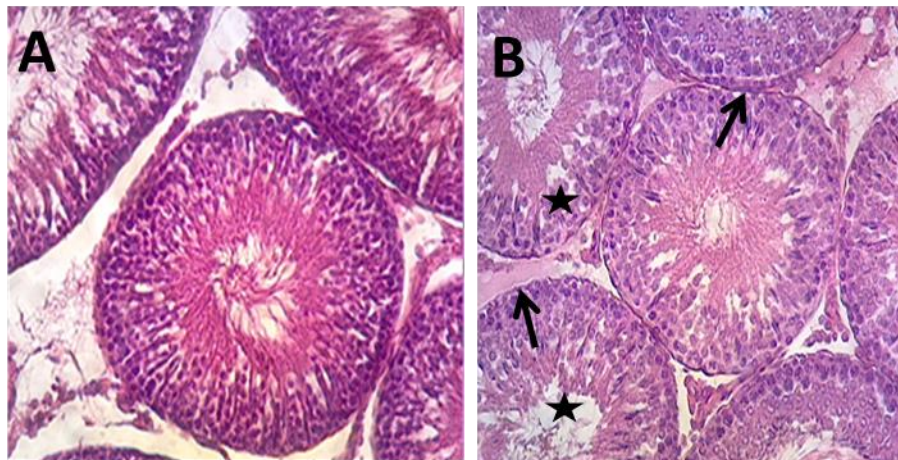


Figura 16. Microfotografías de cortes histológicos de testículo del día 16 postratamiento. **A** Túbulo seminífero del grupo DMSO que muestra una estructura organizada. **B** Túbulo seminífero de animal tratado con HLP que evidencia la disminución del lumen en túbulos vecinos (estrella) y el daño en la lámina basal (flecha), 400X.

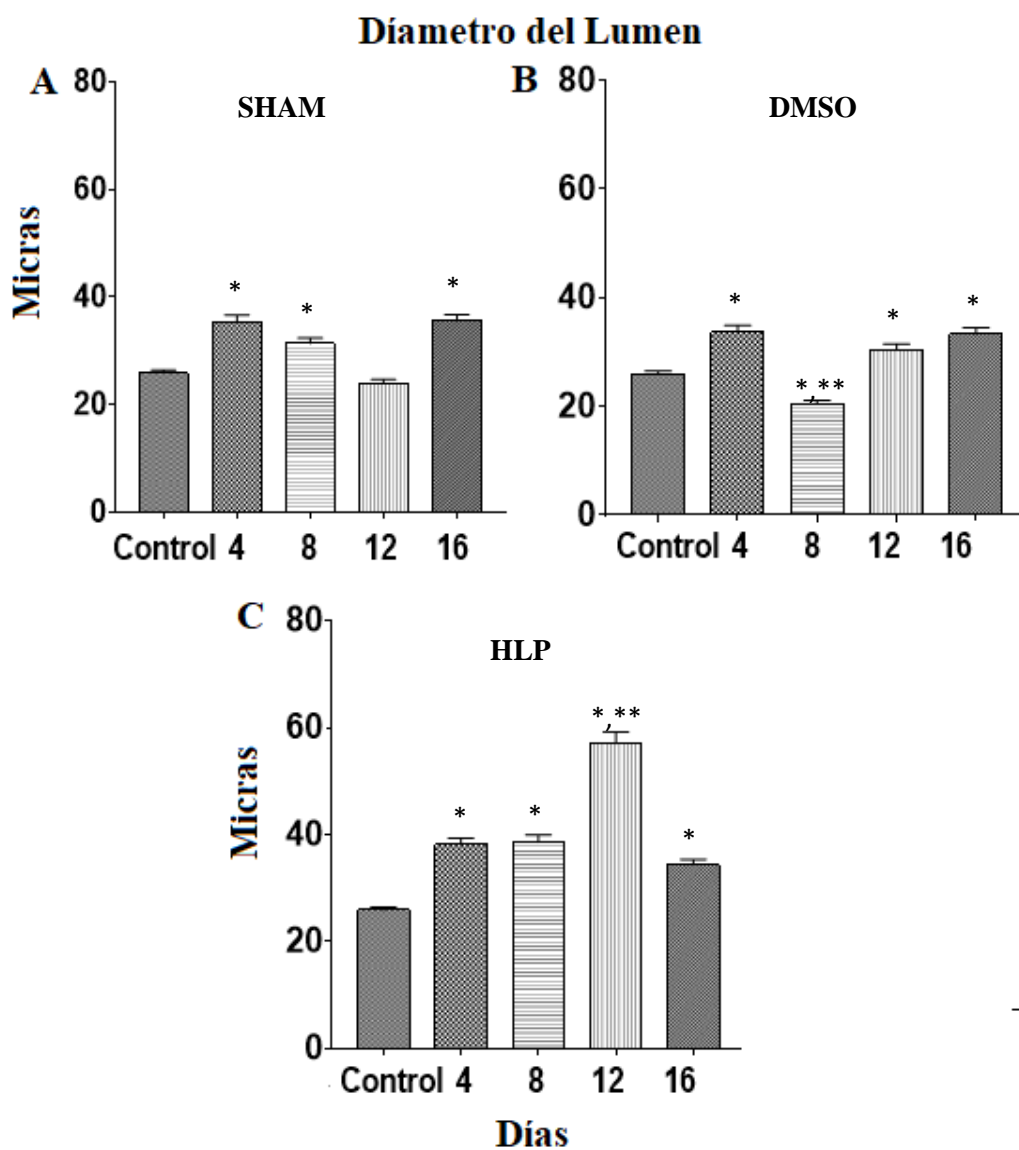


Figura 17. Diámetro del lumen de los túbulos seminíferos en los distintos días postratamiento de machos **A** SHAM, **B** DMSO y **C** HLP. Se observan las diferencias en el diámetro del lumen en los túbulos seminíferos con el Control (* $p < 0.001$), aunque el incremento en el diámetro del lumen es mayor en todos los días en los grupos con HLP, particularmente en el día 12, ** $p < 0.001$. Es notable el ensanchamiento del lumen del grupo HLP, esto debido a la pérdida del epitelio seminífero.

El tratamiento intratesticular con DMSO evaluado al día 4 no mostró alteraciones significativas en la organización del epitelio germinal, en cambio en los grupos el tratamiento con HLP causó una desorganización evidente en el epitelio del túbulo seminífero, caracterizada por el escalamiento o migración de células inmaduras y ensanchamiento del lumen, disminución en la altura y estructura del epitelio seminífero en la mayoría de los túbulos analizados (Figura 18).

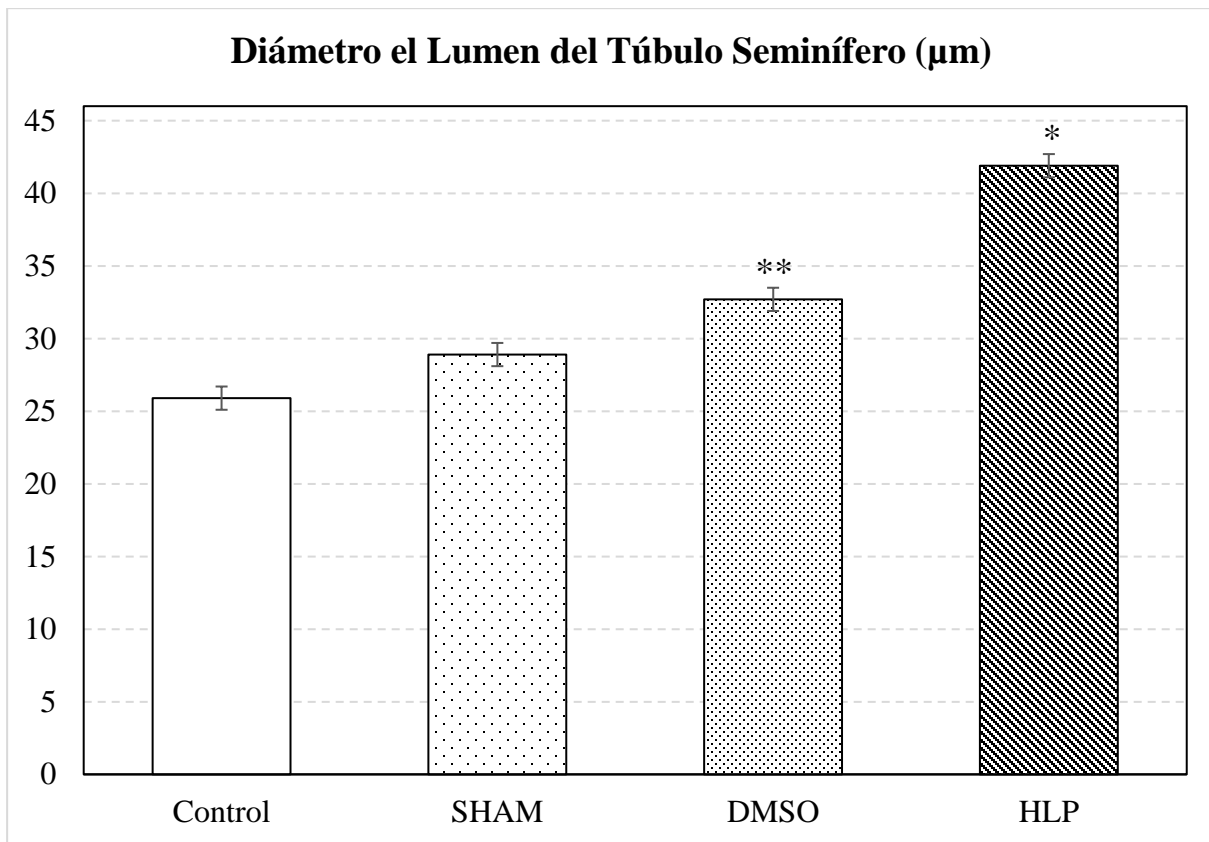


Figura 18. Longitud de la luz del túbulo seminífero en machos sometidos a una inyección intratesticular de HLP. Se observa un incremento significativo en el diámetro de la luz del túbulo seminífero en el grupo tratado con HLP comparado con el grupo Control, SHAM y DMSO, * $p < 0.001$; también el grupo tratado con DMSO mostró incremento en el parámetro respecto a los grupos Control y SHAM, ** $p < 0.001$.

La evaluación de los efectos de una microinyección intratesticular del antagonista dopaminérgico HLP sobre los tejidos del testículo a lo largo de 16 días, son relativamente claros (Figura 19).

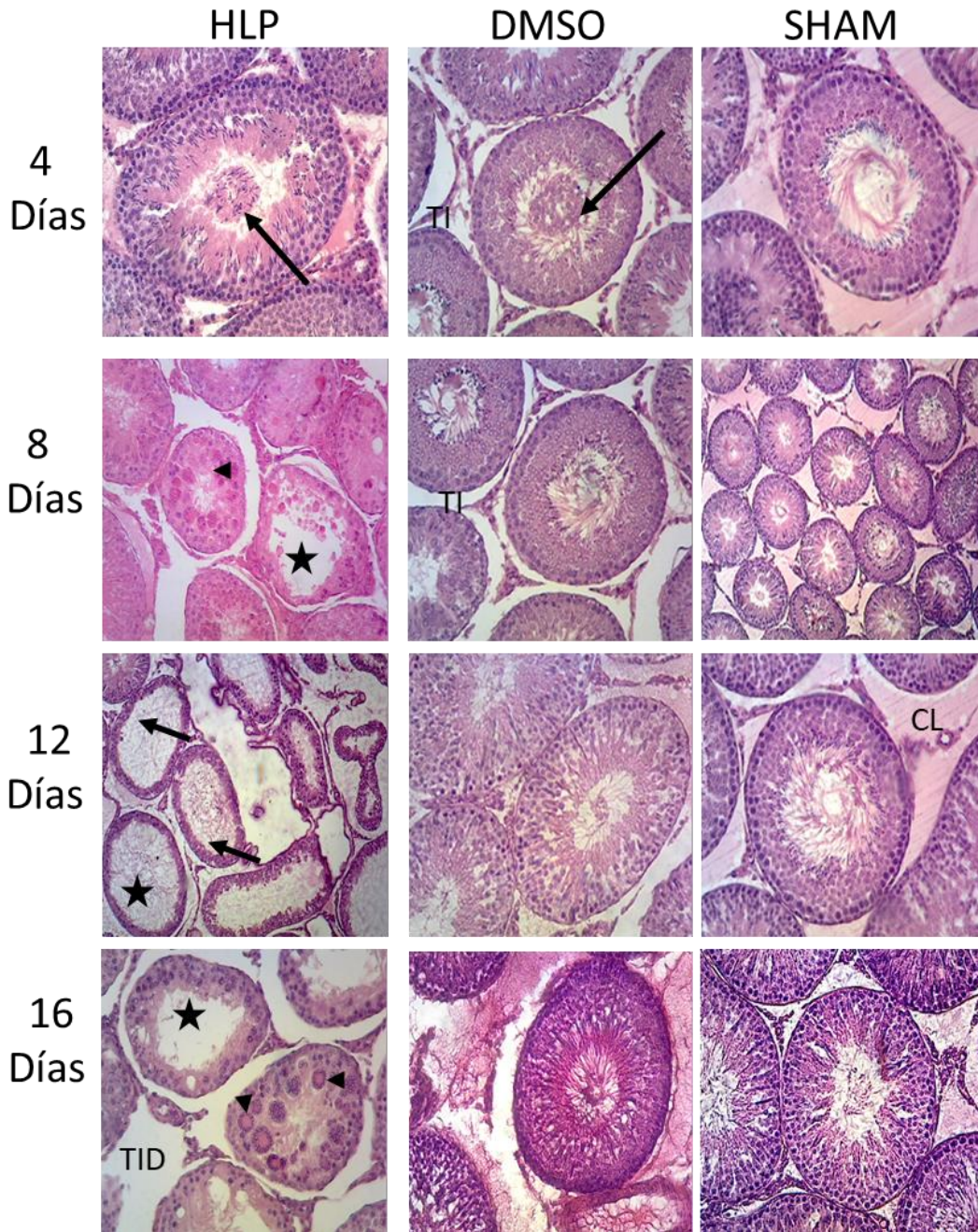


Figura 19. Daño progresivo generado por el bloqueo de los receptores dopaminérgicos. Se observan diferencias entre los distintos días postratamiento de los grupos HLP contra los grupos DMSO y SHAM. Se observa migración de células germinales hacia el lumen (flecha); vacuolaciones (cabeza de flecha), incremento del lumen y pérdida del epitelio seminífero (estrella). TI=Tejido intersticial, TID=Tejido intersticial dañado, CL=Célula de Leydig.

En el grupo HLP se observó el crecimiento anormal de las células de Leydig y el deterioro del epitelio seminífero (Figura 20).

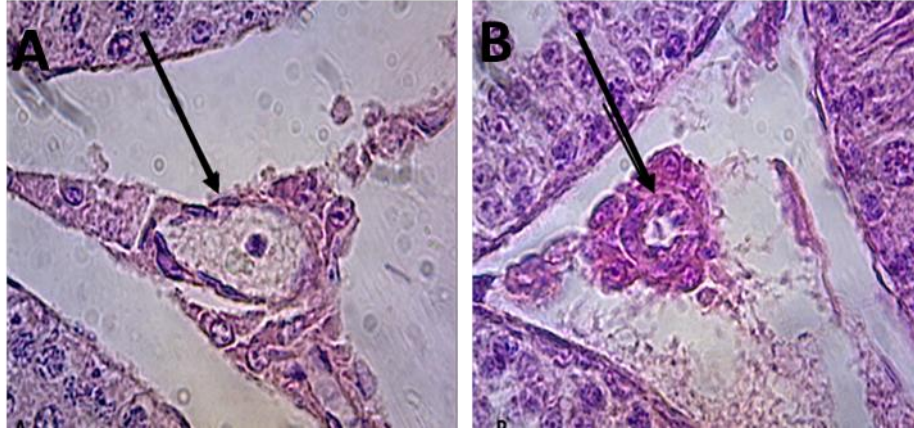


Figura 20. Microfotografía de célula de Leydig correspondiente a animales evaluados al día 12 postratamiento con HLP. Se observa notable diferencia entre una célula de Leydig hiperplásica y con mayor separación entre los túbulos seminíferos y el tejido intersticial del grupo tratado con HLP respecto al tratado con DMSO. **A** Célula de Leydig en testículo tratado con HLP y **B** Célula de Leydig aparentemente sana de un testículo tratado con DMSO, 1000X.

Los parámetros utilizados en el índice histológico revelan cambios patológicos en los animales tratados con HLP en los diferentes días post administración. Los animales del día 12 y 16 son los más afectados por el antagonista dopaminérgico. La sumatoria del índice histopatológico muestra resultados severos en los grupos HLP siendo 28 el número más alto. La disminución en la cantidad de espermatoцитos, espermátidas y espermatozoides que revela el índice de Johnsen es indicativo de procesos de alteración en la espermatogénesis. Sin embargo, es importante recalcar que el Índice de Johnsen mostró valores menores en el grupo HLP (Tabla 4).

Tabla 4. Índices de Johnsen e histopatológico de los testículos en los diferentes días del tratamiento entre los grupos tratados con haloperidol (HLP), vehículo (DMSO) y con operación simulada (SHAM).

	Índice de Johnsen				Índice histopatológico			
	4 días	8 días	12 días	16 días	4 días	8 días	12 días	16 días
SHAM	10±1	10±1	10±1	10±1	3	2	4	3
DMSO	10±1	10±1	10±1	10±1	6	8	4	14#
HLP	10±2	6±2	4±1*	3±1*	28**	21**	28**	21**

Datos expresados en media±eem, *p<0.05 comparado con los grupos SHAM y DMSO y el mismo tratamiento en el día 4; Ji cuadrada.

**p<0.01 comparado con los grupos SHAM y DMSO; #p<0.05 comparado con todos los grupos SHAM y los otros días dentro del mismo grupo; Ji Cuadrada).

El análisis histopatológico de los testículos no mostró diferencias significativas entre los grupos (Tabla 5).

Tabla 5. Peso y tamaño testicular en los diferentes días del tratamiento entre los grupos tratados con haloperidol (HLP), vehículo (DMSO) y con operación simulada (SHAM).

	Peso testicular (g)				Longitud del testículo (cm)			
	4 días	8 días	12 días	16 días	4 días	8 días	12 días	16 días
SHAM	1.5±0.3	1.6±0.4	1.6±0.2	1.7±0.3	1.1±0.2	1.4±0.1	1.3±0.1	1.3±0.2
DMSO	1.5±0.4	1.4±0.2	1.5±0.2	1.5±0.2	1.1±0.2	1.3±0.1	1.4±0.2	1.3±0.1
HLP	1.5±0.3	1.5±0.2	1.8±0.3	1.6±0.2	1.1±0.3	1.4±0.2	1.4±0.3	1.4±0.2

Datos expresados en media±eem.

6.2 Conducta Copulatoria

La comparación intragrupo: SHAM, DMSO y HLP muestra que no existen diferencias entre el Control y los distintos días postratamiento (4, 8, 12 y 16) en ningún parámetro copulatorio. Los animales de los tres grupos realizaron el patrón motor de eyaculación en todas las pruebas.

Las latencias de monta, de intromisión y de eyaculación fueron similares en los valores de las medianas (Figura 21).

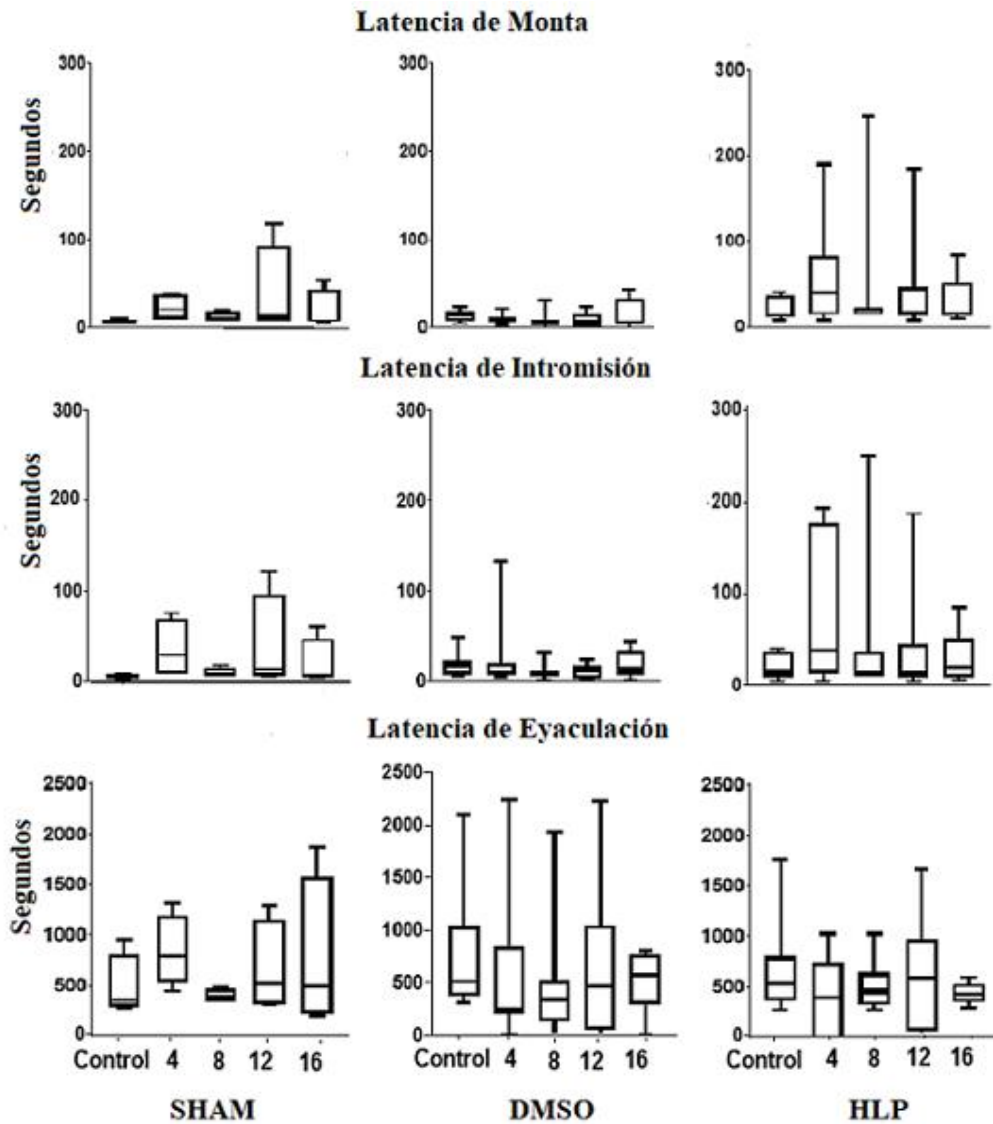


Figura 21. Parámetros copulatorios (Latencias de Monta, de Intromisión y de Eyaculación) mostrados por los machos durante la cópula en los diferentes días postratamiento. Se compararon los animales dentro de cada grupo SHAM, DMSO o HLP considerando el Control en los diferentes días postratamiento. No hubo diferencias significativas en ningún caso. Se expresan medianas y cuartiles 1 y 3, Kruskal-Wallis seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn.

El número de montas y de intromisiones también mostraron similitud en los valores de las medianas (Figura 22). Las otras mediciones calculadas que fueron el *Hit Rate* y el Intervalo interintromisión, también fueron similares en sus medianas (Figura 22).

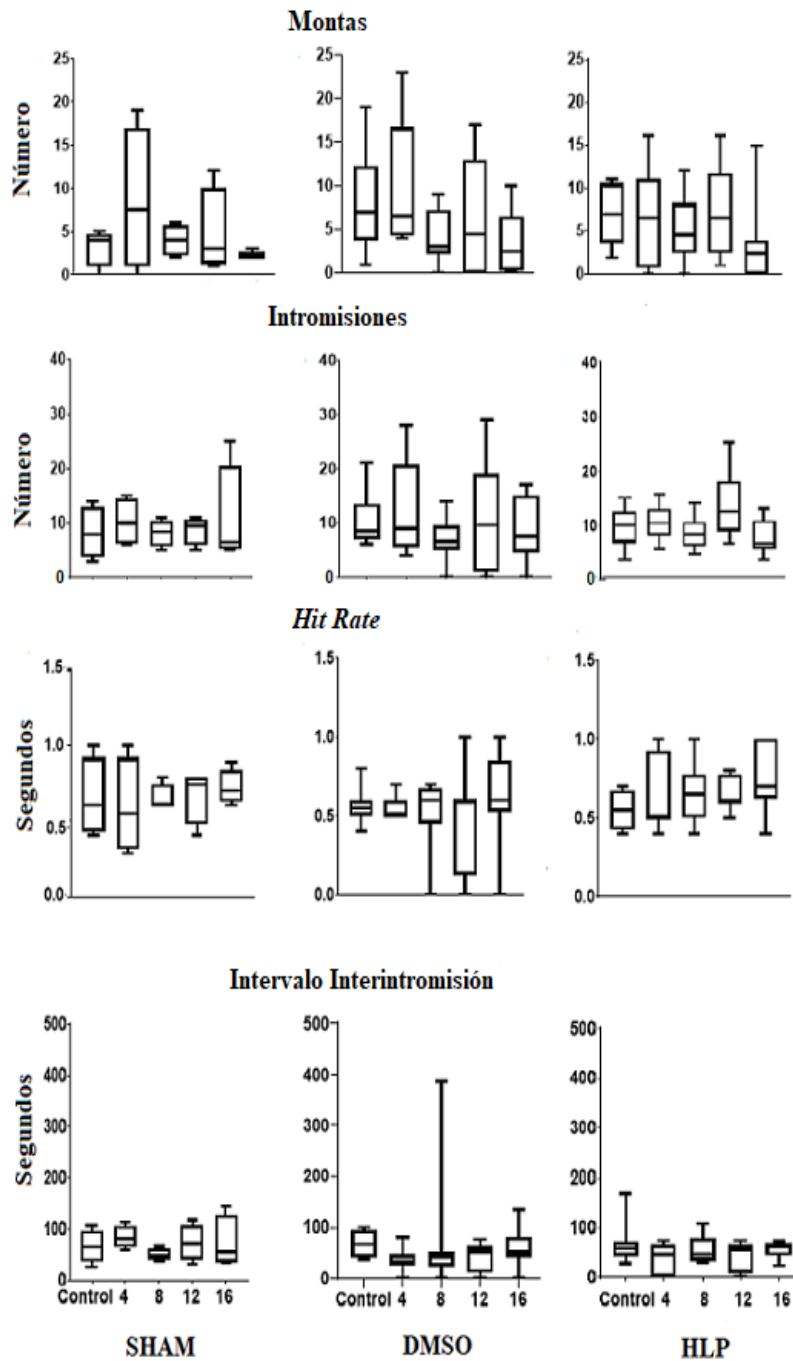


Figura 22. Parámetros copulatorios (Número de Montas, de Intrusiones, *Hit Rate* e Intervalo de Interintrusión) mostrados por los machos durante la cópula en los diferentes días postratamiento. Se compararon los animales dentro de cada grupo SHAM, DMSO o HLP considerando el Control en los diferentes días postratamiento. No hubo diferencias significativas en ningún caso. Se expresan medianas y cuartiles 1 y 3, Kruskal-Wallis seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn.

VII. DISCUSIÓN

Los resultados del presente trabajo indican que la dopamina participa de manera importante en el mantenimiento de la estructura de los tejidos testiculares, donde su aparente función es actuar como una señal importante entre las células de Leydig y las células de Sertoli. Aparentemente, el bloqueo farmacológico de la señal dopaminérgica en el testículo no incide en el despliegue de la conducta copulatoria de la rata macho.

El descubrimiento de receptores a dopamina en tejidos periféricos ha despertado interés para comprender las posibles funciones que la dopamina ejerce en estos, incluyendo la gónada de la rata macho, además es de interés conocer las interacciones que cumplen los receptores a dopamina al verse activados o inhibidos en el testículo, ya que posiblemente ejerza efectos hormonales e histológicos.

Existe múltiple evidencia de la presencia de los requerimientos necesarios para la síntesis dopaminérgica en el testículo, además se ha descrito la presencia de dopamina en el testículo, aunque no se han podido explicar las posibles acciones en testículo (Campos et al. 1990). Se ha propuesto en el testículo, la existencia de tipos celulares similares a neuronas con la capacidad de sintetizar sus propias catecolaminas (Mayerhofer et al. 1996, Mayerhofer et al. 1999, Frungieri et al. 2000). De hecho, Romeo en 2004 mostró el fenotipo catecolaminérgico de las células de Leydig.

Diversos autores describen la expresión de la enzima tirosina-hidroxilasa en el testículo. Esta enzima participa en la síntesis de catecolaminas, lo que sugiere que el testículo dispone del sustrato y de las enzimas necesarias para la síntesis y producción catecolaminérgica intratesticular que pudiera controlar la regulación de la espermatogénesis (Lakomy et al. 1997, Frungieri et al. 2000, Romeo 2004).

Urta en 2014 evidenció la presencia de transportadores de dopamina, noradrenalina y serotonina, revelando un sistema dopaminérgico con influencias directas en las células espermáticas, lo que sugiere que los gametos masculinos contienen moduladores o moléculas captadoras de señales. Esto indica que estos receptores catecolaminérgicos son capaces de recibir y generar los efectos moduladores de la viabilidad, la capacidad y la motilidad de los espermatozoides. Con respecto al presente estudio, en los diferentes grupos de HLP se aprecia

la pérdida de células en el epitelio germinativo de los túbulos seminíferos, esto es asociado a la mala interacción entre la testosterona producida por la célula de Leydig y la comunicación de esta hormona con la célula de Sertoli. Diversos autores mencionan que la testosterona es indispensable para el mantenimiento y la culminación de la espermatogénesis, además de ser indispensable para la fertilidad del macho (Haywood et al. 2003, De Gendt et al. 2004). Algunos autores coinciden en que los niveles bajos de testosterona resultan en el desarreglo del epitelio seminífero interrumpiendo la fase de meiosis de la espermatogénesis, afectando así, el mantenimiento de las estructuras testiculares (De Gendt et al. 2004, Holdcraft y Braun 2004).

La carencia del estímulo que produce la testosterona en las células de Sertoli modifica la interacción metabólica y estructural que desempeñan estas células en los gametos inmaduros del epitelio seminífero. Las señales de testosterona pueden ser traducidas directamente a cambios en la expresión génica o puede activar quinasas que regulan los procesos necesarios para mantener la espermatogénesis. Los animales Control tratados con DMSO no muestran diferencias significativas al compararlos con testículos de animales sin ningún tipo de manipulación. Esto indica que los estímulos dopaminérgicos en el testículo son requeridos para el mantenimiento de las estructuras del testículo, además la dopamina intratesticular desempeña acciones estimulantes para cumplir el ciclo completo de espermatogénesis.

En el grupo HLP de 4 días posteriores a la administración del antagonista, se observó escalamiento de células inmaduras y ensanchamiento del lumen en múltiples tubos seminíferos. Esta respuesta se asocia al deterioro en las funciones de las células de Sertoli produciendo cambios funcionales de sostén a los gametos inmaduros y en el transporte de nutrientes desde el plasma sanguíneo hacia el interior del túbulo seminífero, así como la interrupción del metabolismo de la propia célula y el mantenimiento metabólico de los gametos en desarrollo. Los estudios de privación de testosterona, realizados en ratas, han establecido que la testosterona es necesaria para que las células germinales progresen más allá de la meiosis y que, además, la testosterona es necesaria para la liberación de espermátidas maduras durante la etapa VIII (Sharpe 1994).

En el grupo HLP de 8 días se encontraron múltiples vacuolizaciones de células inmaduras, además de picnosis celular. Es probable que las alteraciones hiperplásicas en las

células de Sertoli ocasionen bajas en la biosíntesis de la testosterona, afectando e impidiendo el completo desarrollo de la espermatogénesis.

El grupo HLP del día 12 mostró los mayores cambios en el epitelio seminífero y en la estructura de los túbulos seminíferos. En apariencia, el bloqueo dopaminérgico en el testículo aumenta gradualmente, ya que en estos grupos se encontraron numerosos túbulos sin epitelio seminífero ni células de Sertoli, además fue posible observar pérdida de todas las estirpes celulares en el epitelio seminífero. En estos grupos también se registraron mayores conteos de células de Leydig hiperplásicas. Estos resultados sugieren que los cambios se deben a la falta de secreción de proteína ligante de andrógenos (ABP), la cual se produce en las células de Sertoli y se encarga de concentrar la testosterona al interior del túbulo seminífero. La testosterona es utilizada por los gametos en desarrollo para completar las diferentes fases dentro del testículo, pero sin ABP y la alteración en las células de Leydig, la testosterona no ejerce influencia en la espermatogénesis ni en mantenimiento estructural de los túbulos seminíferos.

La ausencia de testosterona en las células de Sertoli da lugar a tres importantes deterioros. Daña la integridad de la barrera hematotesticular, exponiendo a las células germinales post-meióticas al ataque autoinmune, así como a factores citotóxicos (Willems et al. 2010). Segundo, el defecto en la adhesión celular causa el desprendimiento de las espermátidas redondas impidiendo así su conversión en espermátidas alargadas (O'Donnell et al. 1994, O'Donnell et al. 1996, Holdcraft y Braun 2004). Finalmente, las células de Sertoli no liberan espermatozoides y las células germinales son fagocitadas por las células de Sertoli (Holdcraft y Braun 2004).

Existen estudios en modelos de ratones transgénicos mostrando que la estimulación de la espermatogénesis por andrógenos requiere acciones directas sobre los receptores de andrógenos en las células de Sertoli (De Gendt 2004, O'Shaughnessy et al. 2010). Así mismo, ejercen acción en otras células somáticas testiculares, incluida las células mioides-peritubulares y células de Leydig. Esta acción podría ser regulada por la dopamina, sin embargo, Wallker en 2005 concluyó que los mecanismos moleculares por los cuales la testosterona ejerce acción y actúa en la espermatogénesis están siendo dilucidados. La identificación de genes regulados por testosterona en las células de Sertoli ha permitido el descubrimiento de la precisa acción de la

testosterona y una mejor comprensión de cómo esta hormona regula el proceso de espermatogénesis.

El grupo HLP de 16 días mostró alteraciones similares a los días anteriores, aunque la repetición y el conteo de alteraciones se encuentran disminuidos. Este resultado sugiere que los estímulos dopaminérgicos se reactivan en determinado tiempo restableciendo las comunicaciones y las estructuras testiculares.

Los hallazgos expuestos indican que es posible mostrar que los cambios en las estructuras y celularidad de las partes funcionales del testículo no se deben a la ausencia de testosterona ya que los cambios y alteraciones van de la mano con el bloqueo de receptores dopaminérgicos. Esto nos permite sugerir que una de las acciones de la dopamina intratesticular es mantener la interacción paracrina entre las células de Leydig y las de Sertoli.

En la literatura se menciona que, la ausencia o disminución en la concentración de testosterona afecta el despliegue de la conducta sexual del macho (Meisel y Sachs 1994, Janowsky 2006). Sin embargo, si los animales tienen experiencia sexual, la conducta copulatoria hasta la eyaculación se mantiene hasta 10 semanas posteriores a la castración (Davidson 1969). Así, aunque la testosterona estuviera disminuida o no hubiera en los machos HLP, los animales fueron capaces de desplegar la conducta copulatoria culminando con el patrón de eyaculación. Sin duda, desplegaron la cópula completa dado que eran machos sexualmente expertos, i.e., fueron sometidos a cuatro pruebas de entrenamiento sexual y en todas eyacularon. Además, la pérdida de la conducta copulatoria empieza a ser evidente tras semanas post-castración, en la presente tesis solo transcurrieron 16 días posteriores al tratamiento farmacológico.

Respecto a la conducta copulatoria no hubo cambios significativos en ningún parámetro copulatorio en ninguno de los grupos: SHAM, DMSO y HLP. Aunque el fármaco administrado, que fue un antagonista dopaminérgico dañó el arreglo testicular y con ello su función, esto no tuvo consecuencias en el despliegue copulatorio. La función esteroidogénica, sin duda, disminuyó de manera importante la síntesis de testosterona. No obstante, ni la motivación sexual ni la ejecución de los patrones copulatorios fueron afectados. La latencia de monta que es el parámetro relacionado con la motivación sexual (Paredes et al. 1993, Meisel y Sachs 1994, Hernández-González 2000) se mantuvo similar entre los animales antes (Control) y después (a los 4, 8, 12 y 16 días postratamiento). Esto fue así en los tres grupos SHAM, DMSO y HLP, lo

que significa que ni la manipulación, ni el vehículo ni el antagonista dopaminérgico incidieron en la motivación sexual. Es sabido que este componente de la conducta depende de testosterona y/o sus metabolitos (Moore 1986, Meisel y Sachs 1994). De igual modo, el componente de ejecución también es dependiente de testosterona y/o sus metabolitos (Larsson 1979). Los animales de ningún grupo mostraron alteraciones en presentar la primera erección de cada encuentro copulatorio dado que la latencia de intromisión no se modificó. Las intromisiones que son las requeridas para elevar la excitación sexual y alcanzar el umbral eyaculatorio (Dewsbury 1972, Hull et al. 2006). Tampoco se modificaron en ninguno de los grupos. De este modo, al no haber habido cambios en el número de montas ni en el número de intromisiones se mantuvo el *Hit Rate* en los tres grupos. Se sabe, que esta medición indirectamente indica el potencial eréctil de los machos (Lucio y Tlachi-López 2008). Finalmente, la última medición analizada, el intervalo interintromisión, tampoco se modificó en ninguno de los grupos. El tiempo que transcurre entre una intromisión y otra es crítico para mantener la excitación sexual y sobre todo para ir incrementándola y poder así provocar la eyaculación. Dado que no hubo cambios en el número de intromisiones ni en la latencia de eyaculación, el intervalo interintromisión se mantuvo similar entre el Control y los días postratamiento en cada uno de los grupos.

La otra función testicular, la espermatogénesis también se afectó severamente. Sin embargo, esto no produjo cambios en la ejecución del patrón eyaculatorio. El desprendimiento de espermatozoides a la luz del túbulo o incluso del desprendimiento de células en diferentes etapas de la espermatogénesis no afectó la conducta eyaculatoria. En otras palabras, el reflejo eyaculatorio ocurrió. Se pensaba que la fase de emisión seminal, que precede a la expulsión seminal por el meato urinario era necesaria para inducir el reflejo eyaculatorio. Se ha mostrado que no es así, ya que la administración de monosulfato de guanetidina previene la emisión seminal, por lo tanto, no hay expulsión de semen cuando se observa el patrón motor de eyaculación (Holmes y Sachs 1991). Otros estudios han evidenciado que la concentración espermática y el tamaño y peso del tapón seminal disminuyen con la cópula repetida sin afectar el despliegue eyaculatorio (Austin y Dewsbury 1986, Tlachi-López et al. 2012). Así mismo, los animales sexualmente saciados que reanudan la cópula por el efecto Coolidge, continúan presentando el patrón conductual de eyaculación, aunque sin expulsión seminal (Lucio et al. 2014). Todos estos estudios muestran que la ausencia de semen u la disminución del mismo no

interfiere con el despliegue conductual eyaculatorio. Es muy probable que el semen de los animales del grupo HLP esté alterado sin que ello hubiera evitado el despliegue conductual de eyaculación. El semen está constituido por 1% de espermatozoides y 99% por las secreciones de las distintas glándulas sexuales accesorias (Lucio et al. 2009). Las glándulas accesorias son dependientes de testosterona (Köning et al. 2005). El HLP al dañar la morfología testicular muy probablemente dañó también la función gonadal, lo que, sin duda, causó cambios en la morfología espermática, viabilidad y concentración espermáticas. En la presente tesis, los machos de los tres grupos SHAM, DMSO y HLP presentaron en todas las pruebas la conducta eyaculatoria. Será interesante realizar estudios espermobioscópicos en animales tratados con HLP en distintos días posteriores al tratamiento farmacológico, que consideren al menos dos ciclos espermáticos.

Aunque la conducta copulatoria es dependiente de testosterona, no es abolida por ausencia o disminución de testosterona en ratas macho que hayan tenido experiencia sexual (Davidson 1969).

VIII. CONCLUSIONES

1) El uso del antagonista dopaminérgico haloperidol aplicado directamente dentro del testículo interrumpe la espermatogénesis como consecuencia del daño o alteración en las señales entre las células de Leydig y Sertoli. Esto sugiere que la dopamina que se encuentra a nivel testicular desempeña acciones directas entre la comunicación celular de los tejidos testiculares.

2) La dopamina presente en el testículo aparentemente no participa en el despliegue de la conducta copulatoria en animales que tienen experiencia sexual. Sin embargo, es necesario profundizar el estudio de la dopamina testicular sobre la conducta sexual.

IX. REFERENCIAS

1. Aguilar E (1999) Integración Neuroendocrina. En: Fisiología Humana. 2ª Edición. Eds. Tresguerres JAF. McGraw Hill/Interamericana. Madrid. Pp 845-861.
2. Alonso-Solís R (1992) Neurotransmisores y Neuromoduladores. En: Fisiología Humana. 2ª Edición. Eds. Tresguerres JAF. McGraw-Hill/Interamericana. Madrid. Pp 63-86.
3. Austin D, Dewsbury DA (1986) Reproductive capacity of male laboratory rats. *Physiol Behav* 37: 627-632.
4. Bellido-Gómez MC (1999) Reproducción en el Varón. En: Fisiología Humana. 2ª Edición. Eds. Tresguerres JAF. McGraw Hill/Interamericana. Madrid. Pp 1033-1047.
5. Beom S, Cheong D, Torres G, Caron MG, Kim KM (2004) Comparative studies of molecular mechanisms of dopamine D2 and D3 receptors for the activation of extracellular signal-regulated kinase. *J Biol Chem* 279: 28304-28314.
6. Campos MB, Vitale ML, Ritta MN, Chiocchio SR, Calandra RS (1990) Catecholamine distribution in adult rat testis. *Andrologia* 22: 247-250.
7. Cheng CY, Mruk DD (2010) New frontiers in nonhormonal male contraception. *Contraception* 82: 476-482.
8. Cooper JR, Bloom FE, Roth RH (1996) Catecholamines I: General Aspects. En: The Biochemical Basis of Neuropharmacology. 7ª Edición. Oxford University Press. New York. Pp 251-293.
9. Davidson JM (1969) Effects of estrogen on the sexual behavior of male rats. *Endocrinology* 84: 1365-1372.
10. De Gendt K, Swinnen JV, Saunders PTK, Schoonjans L, Dewerchin M, Devos A, Tan K, Atanassova N, Claessens F, Lécureuil C, Heyns W, Carmeliet P, Guillou F, Sharpe RM, Verhoeven G (2004) A Sertoli cell-selective knockout of the androgen receptor causes spermatogenic arrest in meiosis. *Proc Natl Acad Sci* 101: 1327-1332.
11. Dewsbury DA (1972) Patterns of copulatory behavior in male mammals. *Q Rev Biol* 7: 1-33.

12. Dirami G, Cooke BA (1998) Effect of a dopamine agonist on luteinizing hormone receptors, cyclic AMP production and steroidogenesis in rat Leydig cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 150: 393-401.
13. Dirami G, Teerds KJ, Cook BA (1996). Effect of a dopamine agonist on the development of Leydig cell hyperplasia in Sprague Dawley rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 141: 169-177.
14. Fernandes GSA, Arena AC, Fernandez CDB, Mercadente A, Barbisan LF, Kempinas WG (2007) Reproductive effects in male exposed to diurium. *J Reprod Toxicol* 23: 106-112.
15. Frungieri M, Urbanski H, Hohne-Zell B, Mayerhofer A (2000) Neuronal elements in the testis of the rhesus monkey: ontogeny, characterization, and relationship to testicular cells. *Neuroendocrinology* 71: 43-50.
16. Galina C, Valencia J (2009) Reproducción de Animales Domésticos. 3ª Edición. Limusa México DF. Pp 582.
17. Geneser F (2000) Órganos de la Reproducción. En: Histología Sobre Bases Biomoleculares. 3ª Edición. Panamericana. México. Pp 8013.
18. Hafez ES, Hafez B (2002) Espermatozoides y Plasma Seminal. En. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 7ª Edición. McGraw-Hill/Interamericana. México. Pp 532.
19. Haywood M, Spaliviero J, Jimenez M, King NJC, Handelsman DJ, Allan CA (2003) Sertoli and germ cell development in hypogonadal (hpg) mice expressing transgenic follicle-stimulating hormone alone or in combination with testosterone. *Endocrinology* 144: 509-517.
20. Hermo L, Robaire B (2002) Epididymal Cell Types and Their Functions. En: The Epididymis: From Molecules to Clinical Practice. Eds. Robaire B, Hinton BT. Kluwer Academic/Plenum Publisher. New York. Pp 81-102.
21. Hernández-González M (2000) Prepubertal genital grooming and penile erection in relation to sexual behavior of rats. *Physiol Behav* 71(1-2): 51-56.
22. Holdcraft RW, Braun RE (2004) Androgen receptor function is required in Sertoli cells for the terminal differentiation of haploid spermatids. *Development* 131: 459-467.
23. Holmes GM, Sachs BD (1991) The ejaculatory reflex in copulating rats: normal bulbospongiosus activity without apparent urethral stimulation. *Neurosci Lett* 125: 195-197.

24. Hull ME, Wood IR, McKenna EK (2006) Neurobiology of Male Sexual Behavior. En: Physiology of Reproduction. 3ª Edición. Eds. Knobil E, Neill J. Elsevier/Raven Press. New York. Pp 1729-1822.
25. Hyun J, Baig M, Yang D, Leungwattanakij S, Kim K, Mageed A, Bivalacqua T, Hellstrom J (2002) Localization of peripheral dopamine D1 and D2 receptors in rat and human seminal vesicles. *J Androl* 23: 114-120.
26. Iversen LL, Iversen S, Dunnett S, Björklund A (2010) Neuroanatomy. En: Dopamine Handbook. Oxford University Press. New York. Pp 11-22.
27. Iversen LL (1975) Uptake Process of Biogenic Amines. En: Handbook of Psychopharmacology. Eds. Iversen LL, Iversen SD. Plenum Press, New York. Pp 381-442.
28. Janowsky JS (2006) Thinking with your gonads: testosterone and cognition. *Trends Cogn Sci* 10: 77-82.
29. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siegelbaum SA, Hudspeth AJ (2000) Neurotransmitters. En: Principles of Neural Science. 5ª Edición. Eds. Kandel, Schwartz JH. McGraw Hill/Medical. New York. Pp 289-303.
30. Köning HE, Liebich HG (2005) Anatomía de los Animales Domésticos. 2ª Edición. Médica Panamericana. Madrid. España. Pp 416.
31. Lakomy M, Kaleczyc J, Majewski M (1997) Noradrenergic and peptidergic innervation of the testis and epididymis in the male pig. *Folia Histochem Cytobiol* 35: 19-27.
32. Larsson K (1956) Conditioning and Sexual Behavior in the Male Albino Rat. En: Endocrine Control of Sexual Behavior. Eds. Almqvist and Wiksell. Stockholm. Pp 57-1461.
33. Larsson K (1979) Features of the Neuroendocrine Regulation of Masculine Sexual Behavior. En: Endocrine Control of Sexual Behavior. 2ª Edición. Eds. Beyer C. Raven Press. New York. Pp 77- 163.
34. Leivas Vieira M, Hartman Dos Santos, Sienna Silva L, Alves Fernandes GS, Inhasz Kiss AC, Gastaldello Moreira E, Paccola Mesquita Sde F, Ceccatto Gerardin DC (2013) Lactational exposure to sulpiride: assessment of maternal care and reproductive and behavioral parameters of male rat pups. *Physiol Behav* 122: 76-83.

35. Lucio RA, Rodríguez-Piedracruz V, Tlachi-López JL, García-Lorenzana M, Fernández-Guasti A (2014) Copulation without seminal expulsion: the consequence of sexual satiation and the Coolidge effect. *Andrology* 2: 450-457.
36. Lucio RA, Tlachi-López JL (2008) Análisis de la Cópula y el Eyaculado de la Rata Albina (*Rattus norvegicus*) Manual de Laboratorio. Góngora. Mexico. Pp 1-48.
37. Lucio RA, Tlachi-López JL, López AA, Zempoalteca R, Velazquez-Moctezuma J (2009) Analysis of the parameters of the ejaculate in the laboratory Wistar rat: technical description. *Vet Méx* 40: 405-4015.
38. Luna LG (1968) Manual of Histology Staining Methods of The Armed Forces Institute of Pathology. 3ª Edición. McGraw Hill/Medical. New York. Pp 52.
39. Mayerhofer A, Danilchick M, Lara H, Pau F, Russell L, Ojeda S (1996) Testis of prepubertal rhesus monkeys receives a dual catecholaminergic input provided by the extrinsic and an intragonadal source of catecholamines. *Biol Reprod* 55: 509-519.
40. Mayerhofer A, Frungieri MB, Fritz S, Bulling A, Jessberger B, Vogt HJ (1999) Evidence for catecholaminergic, neuronlike cells in the adult human testis: changes associated with testicular pathologies. *J Androl* 20: 341-347.
41. Meisel RI y Sachs BD (1994) The Physiology of Male Sexual Behavior. En: The Physiology of Reproduction. 2ª Edición. Eds. Knobil E, Neill J. Elsevier/Raven Press. New York. Pp 3-105.
42. Moore CL (1986) A hormonal basis for sex differences in the self-grooming of rats. *Horm Behav* 20: 155-165.
43. Nasello AG, Vanzeler ML, Madureira, ED, Felicio LF (1997) Effects of acute and long-term domperidone treatment on prolactin and gonadal hormone levels and sexual behavior of male and female rats. *Pharmacol Biochem Behav* 58: 1089-1094.
44. Nieschlag E, Weinbauer GF, Cooper TG, Wittkowski W, Cantz T (2008) Reproduktion. En: Physiologie. 5ª Edición. Eds. Urban y Fischer. München. Pp 652-677.
45. Nishi A, Fisone G, Snyder GL, Dulubova I, Aperia A, Nair AC, Greengard P (1999) Regulation of Na⁺, K⁺ -ATPase isoform in rat neostriatum by dopamine and protein kinase C. *J Neurochem* 73: 1492-1501.

46. Norman WA, Litwack G (1997) Estrogens and Progestins. En: Hormones. 2ª Edición. Academic Press. New York. Pp 374-375.
47. O'Donnell L, Meachem S, Stanton A, McLanchal R (2006) Endocrine Regulation of Spermatogenesis: En: Physiology of Reproduction. 3ª Edición. Eds. Knobil E, Neill J. Elsevier/Raven Press. New York. Pp 1017-1054.
48. O'Donnell L, McLachlan RI, Wreford NG, de Kretser DM, Robertson DM (1996) Testosterone withdrawal promotes stage-specific detachment of round spermatids from the rat seminiferous epithelium. *Biol Reprod* 55: 895-901.
49. O'Donnell L, McLachlan RI, Wreford NG, Robertson DM (1994) Testosterone promotes the conversion of round spermatids between stages VII and VIII of the rat spermatogenic cycle. *Endocrinology* 135: 2608-2614.
50. O'Shaughnessy PJ (2014) Hormonal control of germ cell development and spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol* 29: 55-65.
51. O'Shaughnessy PJ, Verhoeven G, De Gendt K, Monteiro A, Abel MH (2010) Direct action through the Sertoli cells is essential for androgen stimulation of spermatogenesis. *Endocrinology* 151: 2343-2348.
52. Ortega Trujillo EM, Ortiz Contreras JA, Hernández Espinosa S, Pérez Gutiérrez O, Trujillo Hernández E, Navarrete Nava JJ, Gamba Martínez GR, Rodríguez Martínez R, Castañeda Rojas CJ, Hernández Sánchez M, Villaseñor Viguera MR, Sánchez Castellanos YG (2017) Anatomía del Aparato Reproductor del Verraco. En: El Verraco. Universidad Nacional Autónoma de México. Pp 11-19.
53. Otth C, Torres M, Ramírez A, Fernández JC, Castro M, Rauch MC, Brito M, Yañez AJ, Rodríguez JE, Slabe JC, Concha I (2007) Novel identification of peripheral dopaminergic D2 receptor in male germ cells. *J Cell Biochem* 100: 141-150.
54. Paniagua R, Nistal M, Sesma P, Uría Álvarez M, Fraile B, Anadón R, Sáes JF (2007) Estudio General de la Célula. En: Citología e Histología Vegetal y Animal. 4ª Edición. McGraw-Hill/Interamericana. España. Pp 5-38.
55. Paredes, R, Highland L, Karam P (1993) Socio-sexual behavior in male rats after lesions of the medial preoptic area: evidence for reduced sexual motivation. *Brain Res* 618: 271-276.

56. Prentice DE, Meikle AW (1995) A review of drug-induced Leydig cell hyperplasia and neoplasia in the rat and some comparisons with man. *Hum Exp Toxicol* 14: 562-572.
57. Prentice DE, Sigel RA, Donatsch P, Qureshi S, Ettlin RA (1992) Mesulergine induce Leydig cell tumors, a syndrome involving the pituitary-testicular axis of the rat. *Toxicology* 15: 197-204.
58. Ramaswamy S, Weinbauer G (2014) Endocrine control of spermatogenesis: role of FSH and LH/testosterone. *Spermatogenesis* 4: e996025.
59. Robb GW, Amann RB, Killian GJ (2007) Daily sperm production and epididymal sperm reserves of pubertal and adult rats. *J Reprod Fertil Toxicol* 54: 103-117.
60. Rodriguez CM, Kirby JL, Hinton BT (2002) The Development of the Epididymis. En: *The Epididymis: From Molecules to Clinical Practice*. Eds. Robaire B, Hinton BT. Kluwer Academic/Plenum Publisher. New York. Pp 251-267.
61. Rodríguez-Piedracruz V, Agmo A, Juárez M, Cruz Y, Lucio RA (en revisión). Vaginal plugs are preceded by “urethral plugs”: the role of accessory sexual glands.
62. Romeo R, Pellitteri R, Russo A, Marcello M (2004) Catecholaminergic phenotype of human Leydig cells. *Ital J Anat Embryol* 109: 45-54.
63. Setchell BP, Maddocks S y Brooks DE (1994) Anatomy, Vasculature, Innervation and Fluids of Male Reproductive Tract. En: *The Physiology of Reproduction*. 2ª Edición. Knobil E, Neill J. Elsevier/Raven Press. New York Pp 1063-1116.
64. Sharpe RM (1994) Regulation of Spermatogenesis. En: *Physiology of Reproduction*. 2ª Edición. Eds. Knobil E, Neill J. Elsevier/Raven Press. New York. Pp 1363-1434.
65. Sunahara RK, Taussig R (2002) Isoforms of mammalian adenylyl cyclase: multiplicities of signaling. *Mol Interv* 2: 168-184.
66. Tlachi-López JL, Eguíbar JR, Fernández-Guasti A, Lucio RA (2012) Copulation and ejaculation in male rats under sexual satiety and the Coolidge effect. *Physiol Behav* 106: 626-630.
67. Tohyama M, Takatsuji K (1998) The Acetylcholinergic System. En: *Atlas of Neuroactive Substances and Their Receptors in the Rat*. Oxford University Press. Nueva York. Pp 20-33.

68. Tresguerres JAF, Castillo C (1993) Fisiología del eje hipotálamo-hipófisis-ovárico. En: Fisiología Humana. 7^a Edición. Eds. Tresguerres JAF. McGrawHill/Interamericana. Madrid. Pp 1015-1018.
69. Trujillo BR, Flores G, Arias-Montaña JA (2000) Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el sistema nervioso central. *Biomed* 11: 39-60.
70. Urra AJ, Villaroel-Espíndola F, Covarubias AA, Rodríguez-Gil JE, Ramírez-Reveco A, Concha II (2014) Presence and function of dopamine transporter (DAT) in stallion sperm: dopamine modulates sperm motility and acrosomal integrity. *PLoS ONE* 11: e112834.
71. Walker WH, Cheng J (2005) FSH and testosterone signaling in Sertoli cells. *Reproduction* 130: 15-28.
72. Weinbauer GF, Luetjens MC, Simon M, Nieschlag (2010) Physiology of Testicular Function. En: Andrology, Male Reproductive Health and Dysfunction. 3^a Edición. Springer Verlag. Berlin. Pp 11-59.
73. Willems A, Batlouni SR, Esnal A, Swinnen JV, Saunders PT, Sharpe RM (2010) Selective ablation of the androgen receptor in mouse Sertoli cells affects Sertoli cell maturation, barrier formation and cytoskeletal development. *PLoS One* 5: 14168.

XXIV Biological Bases of Behavior INTERNATIONAL COURSE



Otorga la presente
CONSTANCIA

A Pablo Isaac Martínez Aguilar, José Luis Morán Perales
y Rosa Angélica Lucio Lucio

Por mejor cartel de maestría *Efectos del haloperidol sobre la espermatogénesis de la rata*

XXIV Curso Internacional Bases Biológicas de la Conducta, Impartido del 7 al 11 de Octubre de 2019,
con una duración de 40 horas.

Tlaxcala, Tlax. a 11 de Octubre de 2019


DRA. MARGARITA MARTÍNEZ GÓMEZ


DR. JORGE RODRÍGUEZ ANTOLÍN



Organización conjunta:



Universidad
de Guadalajara



Centro Universitario
de Ciencias de la Salud



LXIII CONGRESO NACIONAL
DE LA SOCIEDAD MEXICANA
DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS, A. C.

Sociedad Mexicana
de Ciencias Fisiológicas A.C.

OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA

a:

Pablo Isaac Martínez Aguilar

POR SU ASISTENCIA AL

LXIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C.

REALIZADO EN GUADALAJARA, JAL., DEL 13 AL 15 DE NOVIEMBRE DEL 2020

DR. DANIEL ORTUÑO SAHAGÚN
PRESIDENTE DE LA SOCIEDAD MEXICANA
DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS, A. C.

DRA. MA. DEL CARMEN CORTÉS SÁNCHEZ
VICE-PRESIDENTA DE LA SOCIEDAD MEXICANA
DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS, A. C.

DRA. MARISELA HERNÁNDEZ GONZÁLEZ
SECRETARIA DE LA SOCIEDAD MEXICANA
DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS, A. C.

DRA. ARGELIA E. ROJAS MAYORQUÍN
TESORERA DE LA SOCIEDAD MEXICANA
DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS, A. C.