

ISSN 2410-3950

Volumen 3, Número 7 – Abril – Junio - 2016

# Revista de Sistemas Experimentales

**ECORFAN<sup>®</sup>**

## Indización



**ECORFAN-Bolivia**

Google Scholar

Research Gate

REBID

Mendeley

RENIECYT

## **ECORFAN-Bolivia**

### **Directorio**

#### **Principal**

RAMOS-ESCAMILLA, María. PhD

#### **Director Regional**

IGLESIAS-SUAREZ, Fernando. BsC

#### **Director de la Revista**

SERRUDO-GONZALES, Javier. BsC

#### **Edición de Logística**

PERALTA-CASTRO, Enrique. PhD

#### **Diseñador de Edición**

TREJO-RAMOS, Ivan. BsC.

Revista de Sistemas Experimentales, Volumen 3, Número 7, de Abril a Junio - 2016, es una revista editada trimestralmente por ECORFAN-Bolivia. Loa 1179, Cd. Sucre. Chuquisaca, Bolivia. WEB:

[www.ecorfan.org](http://www.ecorfan.org), [revista@ecorfan.org](mailto:revista@ecorfan.org).  
Editora en Jefe: RAMOS-ESCAMILLA, María. PhD, Co-Editor: IGLESIAS-SUAREZ, Fernando. ISSN-2410-4000. Responsables de la última actualización de este número de la Unidad de Informática ECORFAN. ESCAMILLA-BOUCHÁN, Imelda. PhD, LUNA-SOTO, Vladimir. PhD, actualizado al 30 de Junio del 2016.

Las opiniones expresadas por los autores no reflejan necesariamente las opiniones del editor de la publicación.

Queda terminantemente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin permiso del Instituto Nacional del Derecho de Autor.

## **Consejo Editorial**

ALEMÓN-MEDINA, Francisco Radamés. PhD  
*Instituto Nacional de Pediatría-México*

POSADA-GOMEZ, Ruben. PhD  
*InstitutNationalPolytechnique de la Lorraine-Francia*

RUIZ-AGUILAR, Graciela. PhD  
*Universidad de Guanajuato-México*

RANGEL-VILLALOBOS, Hector. PhD  
*Universidad De Guadalajara-México*

SOTERO-SOLIS, Victor Erasmo. PhD  
*Universidad Nacional de la Amazonia Peruana-Perú*

CORTES-SANCHEZ, Alejandro de Jesus. PhD  
*Secretaria de Salud-México*

HERNANDEZ-MARTÍNEZ, Rufina. PhD  
*University of California-USA*

PALOS-PIZARRO, Isidro. PhD  
*Universidad Autonoma de Tamaulipas-México*

## **Consejo Arbitral**

PNPI. PhD

*Instituto Nacional de Neurologia y Neurocirugia-México*

DAJWZ. PhD

*Federal University of MatoGrosso-Brasil*

PRL. PhD

*Universidad Tecnologica de Culiacan-México*

GTCC. PhD

*Universidad Central de Venezuela-Venezuela*

DFSNM. PhD

*Universidad Autonoma de Coahuila-México*

RLR. PhD

*Universidad Autonoma de Sonora-México*

ACG. PhD

*Instituto Politécnico Nacional-México*

PFC. PhD

*Washington State University-USA*

## Presentación

ECORFAN, es una revista de investigación que publica artículos en las áreas de: Sistemas Experimentales.

En Pro de la Investigación, Enseñando, y Entrenando los recursos humanos comprometidos con la Ciencia. El contenido de los artículos y opiniones que aparecen en cada número son de los autores y no necesariamente la opinión del Editor en Jefe.

En el primer número es presentado el *Análisis de dos tipos de mediciones de Descargas Parciales utilizando el método estadístico* por FIGUEROA, Fernando, GARCÍA, José Miguel, TORRES, Jacinto y ZÚÑIGA, Mónica E., con adscripción en el Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Comisión Federal de Electricidad y el Instituto Tecnológico Superior de Abasolo respectivamente, como siguiente artículo está *Análisis y simulación numérico de esfuerzo circunferencial de un envase de vidrio tipo long neck* por ANGUIANO-LIZAOLA, Jorge, SANCHEZ-OCAMPO, Cesar, CABRERA-CORDOVA, Eduardo y TONG-DELGADO, Miriam, en el siguiente artículo está *Efecto de la aplicacion parenteral de selenio y vitamina E sobre la concentracion de IgG F5+ de Escherichia coli y selenio sanguíneo en corderos* por VALLADARES-CARRANZA, Benjamin, VELAZQUEZ-ORDOÑEZ, Valente, ORTEGA-SANTANA, Cesar y SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, Fernando, con adscripción en la Universidad Autónoma del Estado de México y la Clínica Privada, como siguiente artículo está *Efecto del número de mediciones de la producción de leche en la estimación de la curva de lactancia en cabras locales de la Comarca Lagunera, México* por TORRES-HERNÁNDEZ, Glafiro, MALDONADO-JÁQUEZ, Jorge A., SALINAS-GONZÁLEZ, Homero ´ y BECERRIL-PÉREZ, Carlos M con adscripción en el Colegio de Postgraduados y INIFAP respectivamente, como siguiente artículo está *El bloqueo farmacológico de los receptores ováricos a la dopamina altera el ciclo estral y la ovulación en la rata adulta* por GONZÁLEZ, Karla, MORÁN, José Luis, HANDAL, Anabella y REYNOSO, Alejandro, con su adscripción en el Instituto de Ciencia y Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, como siguiente artículo está *La Sulpirida reduce la ovulación compensadora pero incrementa la hipertrofia compensadora del ovario derecho en la rata hemi-ovariectomizada* por ROMÁN-MIRANDA, María Leonor, PALMA-GARCÍA, José Manuel, ZORRILLA-RIOS José Manuel y MORA-SANTACRUZ, Antonio, finalmente el artículo está *Sincronizacion de celos utilizando GnRH Y PGF2 $\alpha$  para inseminacion artificial a tiempo fijo en bovinos productores de leche* por LUCIO, Rodolfo, SESENTO, Leticia y BEDOLLA, José Luis Carlos con adscripción en la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y el Colegio Primitivo y Nacional de San Nicolás de Hidalgo.

| <b>Contenido</b>  | <b>Artículo</b> | <b>Pág</b> |
|---|-----------------|------------|
| <b>Análisis de dos tipos de mediciones de Descargas Parciales utilizando el método estadístico</b><br>FIGUEROA, Fernando, GARCÍA, José Miguel, TORRES, Jacinto y ZÚÑIGA, Mónica E.  |                 | 1-9        |
| <b>Análisis y simulación numérico de esfuerzo circunferencial de un envase de vidrio tipo long neck</b><br>ANGUIANO-LIZAOLA, Jorge, SANCHEZ-OCAMPO, Cesar, CABRERA-CORDOVA, Eduardo y TONG-DELGADO, Miriam  |                 | 10-14      |
| <b>Efecto de la aplicacion parenteral de selenio y vitamina E sobre la concentracion de IgG F5+ de <i>Escherichia coli</i> y selenio sanguíneo en corderos</b><br>VALLADARES-CARRANZA, Benjamin, VELAZQUEZ-ORDOÑEZ, Valente, ORTEGA-SANTANA, Cesar y SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, Fernando |                 | 15-21      |
| <b>Efecto del número de mediciones de la producción de leche en la estimación de la curva de lactancia en cabras locales de la Comarca Lagunera, México</b><br>TORRES-HERNÁNDEZ, Glafiro, MALDONADO-JÁQUEZ, Jorge A., SALINAS-GONZÁLEZ, Homero ´ y BECERRIL-PÉREZ, Carlos M     |                 | 22-26      |
| <b>El bloqueo farmacológico de los receptores ováricos a la dopamina altera el ciclo estral y la ovulación en la rata adulta</b><br>GONZÁLEZ, Karla, MORÁN, José Luis, HANDAL, Anabella y REYNOSO, Alejandro  |                 | 27-45      |
| <b>La <i>Sulpirida</i> reduce la ovulación compensadora pero incrementa la hipertrofia compensadora del ovario derecho en la rata hemi-ovariectomizada</b><br>LETRAS, Dulce, HANDAL, Anabella, DÍAZ, Alfonso y MORÁN, José Luis<br>Benemérita Universidad Autónoma de Puebla    |                 | 46-59      |
| <b>Sincronizacion de celos utilizando GnRH Y PGF2<math>\alpha</math> para inseminacion artificial a tiempo fijo en bovinos productores de leche</b><br>LUCIO, Rodolfo, SESENTO, Leticia y BEDOLLA, José Luis Carlos   |                 | 60-64      |

*Instrucciones para Autores*

*Formato de Originalidad*

*Formato de Autorización*

## Análisis de dos tipos de mediciones de Descargas Parciales utilizando el método estadístico

FIGUEROA, Fernando\*†, GARCÍA, José Miguel, TORRES, Jacinto y ZÚÑIGA, Mónica E.

*Instituto Tecnológico Superior de Irapuato.*

*Comisión Federal de Electricidad - Laboratorio de Pruebas a Equipos y Materiales (LAPEM)*

*Instituto Tecnológico Superior de Abasolo*

Recibido Marzo 30, 2016; Aceptado Mayo 28, 2016

### Resumen

En este artículo se propone analizar dos tipos de mediciones de descargas parciales en cables subterráneos de alta tensión (CSAT) utilizando el método estadístico. La presencia de descargas parciales en el contorno del CSAT permite evaluar la degradación de su aislamiento y según el tipo de descargas parciales que se presenten puede lograrse predecir y evitar futuras fallas en el cable. Debido a que el aislamiento es uno de los componentes más importantes del cable en la presente investigación se propone un estudio comparativo entre el método oscilante y normal con el objetivo de medir e interpretar las cargas parciales. El estudio comparativo y el procesamiento de datos de las mediciones se realizan en el software MATLAB® con resultados prometedores.

**DP (Descargas Parciales AC (Corriente Alterna), DAC (Corriente Alterna Amortiguada), HV (Alto Voltaje), KV (Kilo Volts)**

### Abstract

In this paper we propose to analyze two types of partial discharge measurements in high voltage underground cables (CSAT) using the statistical method. The presence of partial discharges in the contour of the CSAT allows to evaluate the degradation of its isolation and according to the type of partial discharges that are presented can be able to predict and avoid future faults in the cable. Because insulation is one of the most important components of the cable in the present investigation, a comparative study between the oscillating and normal method is proposed with the objective of measuring and interpreting partial loads. The comparative study and data processing of the measurements are performed in MATLAB® software with promising results.

**PD (Partial Discharge), AC (alternating current), DAC (alternating current cushioned), HV (High Voltage)**

**Citación:** FIGUEROA, Fernando, GARCÍA, José Miguel, TORRES, Jacinto y ZÚÑIGA, Mónica E. Análisis de dos tipos de mediciones de Descargas Parciales utilizando el método estadístico. Revista de Sistemas Experimentales. 2016, 3-7: 1-9.

\* Correspondencia al Autor (Correo electrónico: fernando.figueroa@itesi.edu.mx)

† Investigador contribuyendo como primer Autor.

## Introducción

En la actualidad el uso de la energía eléctrica, es cada vez más indispensable para la vida diaria del ser humano, por consiguiente es necesario generarla de una manera eficiente y sin fallas.

Debido a la necesidad de energía eléctrica se han construido grandes distancias de líneas aéreas para satisfacer la demanda. No obstante actualmente se utiliza con mayor frecuencia las instalaciones subterráneas para energizar complejos ecoturísticos, islas y grandes parques industriales. Generalmente los cables eléctricos de alta tensión están cubiertos por materiales de polímero aislante, como es el (XLPE).

Sin embargo, el material aislante puede degradarse debido a los químicos, los esfuerzos mecánicos y la alta tensión que se presentan en el sistema por fallas y fenómenos transitorios [4]. Una forma eficiente para medir la degradación del aislante de cables subterráneos de alta tensión (CSAT) originado por alta tensión (HV), es cuantificar y clasificar las descargas parciales (DP) que se presentan en el aislamiento del mismo. Las DP indican la presencia de degradación y defectos del aislante. Por lo general, se dividen en tres grupos diferentes según sus orígenes:

1. - DP Corona – Ocurre en gases o líquidos causados por la concentración de campos eléctricos en los puntos filosos de los electrodos.

2.- Descargas Internas – Ocurre dentro de una cavidad que está rodeada completamente por un material de aislamiento; podría ser en forma de huecos (por ejemplo, papel-cables), entre laminado (por ejemplo, en el aislamiento laminado) o grietas (por ejemplo, el estrés fatiga).

3.- Descargas de superficie – Se produce en la superficie de un aislamiento eléctrico donde el campo tangencial es alto, por ejemplo, arrollamientos de extremo de los devanados del estator. [1]

En el presente artículo se propone analizar dos tipos de descargas parciales en cables subterráneos de alta tensión, además se realiza un estudio comparativo entre el método oscilante y normal para la interpretación estadística de los dos diferentes métodos.

## Antecedentes

El tipo y clase de descargas parciales en una cavidad dentro de un material sólido dieléctrico depende principalmente del tamaño, la forma y la ubicación de la cavidad. Estos factores físicos tienen una fuerte influencia en la distribución del campo eléctrico local, que afecta directamente a la actividad de la DP y su comportamiento característico [5-9]. Forssen hizo un estudio experimental de la actividad de la DP en cavidades cilíndricas dentro de un material dieléctrico, donde encontró que existen menos eventos de DP por ciclo para los tamaños más pequeños de la cavidad. Cabe mencionar que la cavidad estaba limitada por un electrodo en lugar de ser completamente rodeado de aislamiento [10-11]. En el caso de una cavidad delimitada por un electrodo, los patrones de fase de DP que se midieron mostraron una asimetría entre DP positivas y DP negativas. Sin embargo, la carga aparente total por ciclo aumentó directamente de forma proporcional al diámetro de la cavidad; esto puede estar asociado con el tamaño de avalancha desarrollado durante un evento de descarga. Otros investigadores han demostrado que las cavidades de diferente forma en un material dieléctrico influyen a las DP. De las formas de cavidades más significativas que se han estudiado son esférica, elipsoidal, cilíndrica, y cavidades cuboides [3].

### Marco teórico

Las pruebas de amortiguamiento en corriente alterna (CA) se pueden utilizar como una simple prueba de resistencia o en combinación con mediciones de DP. De acuerdo a los estándares internacionales para pruebas de cables de potencia, se utilizan como referencia los siguientes documentos:

- (1) IEC 60060-3: Técnicas de prueba de alta tensión- Parte 3: Definición y requerimientos para alguna prueba,
- (2) IEEE 400: Guía para las pruebas de campo y evaluación del aislamiento de sistemas de cable de potencia blindados.
- (3) IEC 60840: Cables de potencia con aislamiento extruido y accesorios para tensiones nominales de aproximadamente 30 kV hasta 150 kV - Requisitos y métodos de prueba, y
- (4) IEC 62067: Cables de potencia con aislamiento extruido y sus accesorios para tensiones nominales de aproximadamente 150 kV ( $U_m=170$  kV) hasta 500 kV ( $U_m=550$  kV)- Requisitos y métodos de prueba.

Los parámetros de las pruebas de cables según su tipo son:

Niveles de tensión de prueba máximos en cables subterráneos.

- 1) Cables MV (6-35 kV) hasta  $2.0 U_0$ ,
- 2) Cables HV (36-150 kV) de  $1.7$  a  $2.0 U_0$ ,
- 3) Cables EHV (150-230 kV) de  $1.4$  a  $1.7 U_0$ ,

### Características de las descargas parciales

La descarga parcial se identifica como un factor principal que contribuye al deterioro del aislamiento en equipos de alto voltaje (HV).

Las fallas en los dispositivos y equipos de HV debido a este fenómeno de DP pueden causar daños y pérdidas millonarias a los servicios públicos de energía eléctrica, ya que pueden interrumpir el sistema eléctrico nacional. Esto ha llevado a emplear medición de DP como un método de diagnóstico de aislamiento para equipos de HV incluyendo cables de alimentación.

Hay muchos factores que deben considerarse durante el funcionamiento de un cable de alimentación tales como la temperatura, la posibilidad de sobretensiones eléctricas, las fuerzas mecánicas y condición adversa del suelo, que contribuyen al envejecimiento de material aislante [1-19-20].

De acuerdo a lo anterior lo que se busca es una obtención de datos claros y confiables para medir adecuadamente DP dependiendo del tipo que se presenten analizar, para lograr este objetivo en este trabajo de investigación se desarrolló un prototipo que contiene los tres tipos de DP, con la finalidad de poder analizar el problema de una manera clara y eficiente.

Por otra parte, se utilizan cables comerciales de alta tensión porque están diseñados para soportar niveles de tensiones de 115 kV, 200kV, 400kV y 600kV, además en los CSAT es donde se presentan con mayor frecuencia las DP.

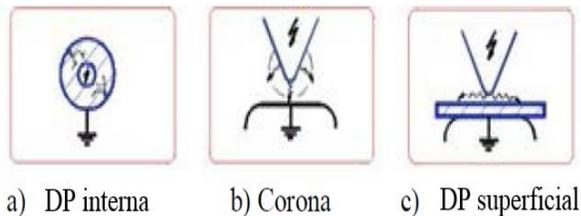
La importancia de la presente investigación estriba en determinar la degradación del aislamiento del cable para programar un plan de mantenimiento preventivo logrando incrementar la vida útil de los conductores y ahorrar dinero en reparaciones o nuevas redes eléctricas y poder evitar fallas en la mayor medida de posible [22-23].

## Metodología

Una vez que se conoce las bases y fundamento de las DP y la forma en que estas afectan los aislamientos, se propone ahora mostrar los métodos de medición de las mismas, entre los que se encuentran el método normal o tradicional y el método oscilante.

En la Figura 1 se muestra el esquema del prototipo que se utilizó para las diferentes mediciones de DP que se pueden presentar en un cable y que son medidos utilizando ambos métodos.

En el inciso “a” se observa que el material aislante ya contaba con una burbuja en su interior, en el inciso “b” se encuentra el efecto punta el cual genera el efecto corona, y por último en el inciso “c” se le realizaron algunas imperfecciones en la superficie de aislamiento provocando una DP superficial.



**Figura 1** Prototipo de las diferentes DP

Para obtener las mediciones de las DP utilizando el método normal se utilizó un equipo especial para la adquisición de datos como se muestra en la Figura 2.



**Figura 2** Equipo de medición de DP

Para poder generar las descargas parciales en el cable utilizó una fuente del orden de HV (Figura 3) que es monitoreada para entregar 75 kV y es controlada por un regulador de tensión como se muestra en la Figura 4. El regulador se encarga de mantener el nivel de voltaje adecuado para las pruebas.



**Figura 3** Fuente de voltaje utilizada en el método normal para medición de DP



**Figura 4** Regulador de tensión

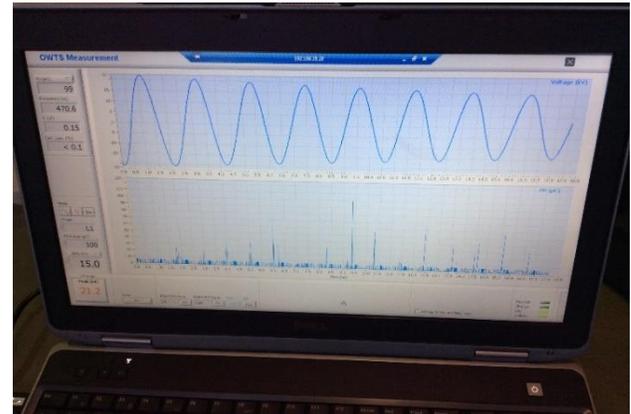
El método oscilante es similar al método tradicional, solo que el equipo es portátil, ver Figura 5.

La fuente disminuye la magnitud del voltaje, pero mantiene una onda senoidal en la misma frecuencia de 60Hz y oscila ofreciendo una corriente alterna, con la finalidad de trabajar bajo los mismos principios al momento de obtener las mediciones.



**Figura 5** Fuente de voltaje utilizada en el método oscilante para medición de DP

La forma en que se obtuvo el valor de las descargas fue por un medio computarizado como se muestra en la Figura 6.



**Figura 6** Software de medición de DP oscilante

El equipo de cómputo ofrece una medición del voltaje en kV y la DP en picocoulombs en el momento en que el medidor captura la presencia de alguna descarga parcial, como se observa en la Figura 6. Los datos son almacenados en un documento txt, para procesar las matrices en el análisis estadístico con el apoyo del Software MATLAB®.

Para el análisis estadístico se utilizaron las siguiente formulas:

$$\text{Media } \bar{X} = \frac{\sum x}{n} \quad (1)$$

$$\text{Varianza } \sigma^2 = \frac{\sum (x_i - \mu)^2 f(x_i)}{\sum f(x_i)} \quad (2)$$

$$\text{Sesgo } S_k = \frac{\sum (x_i - \mu)^3 P_i}{\sigma^3} \quad (3)$$

$$\text{Curtosis } K_u = \frac{\sum (x_i - \mu)^4 P_i}{\sigma^4} - 3 \quad (4)$$

$$\text{Factor de asimetría } Da = \frac{N^+ \sum qi^-}{N^- \sum qi^+} \quad (5)$$

$$\text{Factor de correlación } r = \frac{N \sum xy - \sum x \sum y}{\sqrt{[N \sum x^2 - (\sum x)^2][N \sum y^2 - (\sum y)^2]}} \quad (6)$$

Del análisis que se desarrolla en el software MATLAB<sup>®</sup> se obtuvo los resultados de cada método y tipo de DP que se presenta en la Figura 1. En la Tabla 1 se presenta la comparación detallada de los dos métodos de medición.

| PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS ESTADÍSTICOS DE LOS DOS DIFERENTES METODOS DE MEDICIÓN |                  |                                |          |            |                  |                     |          |
|---|------------------|--------------------------------|----------|------------|------------------|---------------------|----------|
| METODOS DE MEDICIÓN   | TIPO DE DESCARGA | ANÁLISIS ESTADÍSTICO EN MATLAB |          |            |                  |                     |          |
|   |                  | MEDIA                          | VARIANZA | Sk (SESGO) | FACTOR DE CORRE. | FACTOR DE ASIMETRÍA | CURTOSIS |
| OSCILANTE   | CORONA           | 2.5442                         | 27.1492  | 3.4944     | 0.2262           | 2.3774              | 16.5593  |
|   | INTERNAS         | 1.2330                         | 4.5880   | 1.9676     | 0.1187           | 0.7583              | 6.9141   |
|   | SUPERFICIAL      | 1.3654                         | 5.1270   | 1.5665     | 0.0029           | 0.8560              | 4.2157   |
| NORMAL  | CORONA           | -26.586                        | 2825.2   | 0.5956     | 0.0274           | 113.8133            | 1.7576   |
|   | INTERNAS         | -0.8633                        | 37.0645  | -0.513     | 0.4542           | -1.8775             | 7.8219   |
|   | SUPERFICIAL      | 41.5008                        | 1583700  | -0.737     | 0.7425           | -8.191              | 3.8283   |

**Tabla 1** Comparación de los resultados estadísticos entre el método oscilante y normal

### Comparación entre los tres diferentes orígenes en cada una de sus presentaciones

**Método Oscilante.** – El efecto corona presenta una media de 2.5452 a comparación con la interna con 1.2330 y la superficial de 1.3654, el efecto corona se presenta con mayor impacto, aunque cabe mencionar que también tiene una mayor varianza en los datos y que le afecta para fines prácticos de credibilidad para reconocer al efecto corona como el origen más fuerte de las DP.

En seguida se compara el sesgo, donde se encuentra una dispersión mucho más notoria en el efecto corona con respecto a la media, por lo que se obtiene un valor de la media mucho más abierto que en los otros dos orígenes.

En la Curtosis, el valor más grande se alcanza por el efecto corona lo que proyecta una mayor repetitividad de valores iguales a la media. Ahora en el factor de asimetría, como debía de esperarse el efecto corona tiene una mayor tendencia entre los datos positivos y negativos, esto se debe a la forma en que es referenciado para su medición, por lo que se podría descartar esta y solo comparar los otros dos orígenes restantes donde las superficiales tienen un valor más pequeño presentando igualdades en ambos ciclos tanto positivos como negativos.

Para el factor de correlación, se tiene una correlación negativa pero mayor al efecto corona con lo que nos asegura una repetitividad entre la magnitud de la descarga y la tensión aplicado en el tiempo.

**Método Normal.** – El efecto superficial tiene un valor mayor en la media, por encima del efecto corona y el efecto interno, aunque de la misma manera una mayor varianza entre los datos obtenidos, con lo que tenemos una mayor dispersión contra la media, esto se refleja con datos muy grandes o muy pequeños alrededor de la media.

Dentro del sesgo, se tiene lo siguiente, una inclinación mayor hacia el lado izquierdo de la campana en el efecto interno y superficial y una inclinación hacia el lado derecho para el efecto corona. De la comparación de los tres efectos partiendo de 0 como referencia el efecto superficial presenta una mayor dispersión.

Para la curtosis, con un valor de 7.8219 se presentan las DP con efecto interno como la mayor entre los tres tipos de orígenes, lo cual representamos como una condición de amplitud de datos con respecto a la media.

Factor de asimetría, se encuentran todos negativos, despreciando al efecto corona encontramos con mayor cantidad al efecto interno. Factor de correlación, tenemos con un 0.7425 al efecto superficial muy cercano a la correlación positiva perfecta, lo que nos dice que se presenta la misma magnitud de la descarga en el mismo tiempo dentro de la onda de voltaje aplicada.

1.-Media. - En el método de medición normal se encuentra un valor mucho más grande que en el método oscilante, se tiene un valor de DP por efecto superficial muy alto, que es lo que se esperaba.

2.-Varianza. - En el método de medición normal se encuentran valores muy grandes de varianza en los datos, en cambio los valores de la medición oscilante son pequeños con lo que se puede concluir que los datos son más concentrados en el método oscilante y tienden hacia el mismo valor en casi todas las pruebas.

3.- Sesgo (Sk). - El efecto oscilante presenta una dispersión hacia el lado derecho en todos sus efectos, mientras que el método normal comparte una dispersión con respecto a la media, pero de ambos lados, arrojando resultados negativos y positivos.

4.-Curtosis. - Teniendo una variación notoria se observa que, en el método oscilante, en el efecto corona con un valor de 16.5593 se presenta una mayor repetitividad del valor de la media en las mediciones obtenidas.

5.-Factor de Asimetría. - Como en este factor depende la conexión realizada en el caso del efecto corona, se despreciará y solo se compararán los otros dos efectos en ambos métodos de medición. Con ello se tienen valores más grandes en ambos casos para el método normal, aunque de valor negativo, lo que nos dice que existe una mayor tendencia entre datos negativos para este método.

6.- Factor de Correlación. - Presentando para el efecto superficial e interno un valor mayor en el método normal se puede definir una mayor tendencia y relación entre la magnitud de las descargas y el tiempo de la onda de voltaje que en el método oscilante. Por otro lado, comparando el efecto corona en ambos métodos, es bueno observar un valor mayor en el método oscilante, pero con valor negativo.

### Conclusiones

De la misma manera en que se compararon los tres tipos de efectos en cada uno de los tipos de mediciones, ahora lo haremos entre cada uno de los tipos de mediciones en cada uno de sus efectos.

### Reconocimiento

A LAPEM por permitirnos observar sus mediciones, en particular al Rubén Jaramillo por todo su apoyo, del Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Guanajuato (CONCYTEG) por su apoyo en la realización de este proyecto.

### Referencias

[1] Muhamad Mansor, Prodipto Sankar Ghosh & Ahmad Basri Abdul Ghani, "PD PATTERNS RECOGNITION IN XLPE CABLE UNDER VARIOUS THERMAL CONDITIONS USING STATISTICAL TECHNIQUE", November 2010.

- [2] Fauzan Baharudin, “Modelling Partial Discharges in a Solid Dielectric Material’s Cavity using COMSOL™ and MATLAB™ Software”, 6 May 2007, School of Electronics and Computer Science Faculty of Engineering, Sciences and Mathematics University of Southampton.
- [3] H. Illias, G. Chen, and P. L. Lewin, “Modeling of Partial Discharge Activity in Spherical Cavities Within a Dielectric Material” January/February — Vol. 27, No. 1, University of Southampton, United Kingdom.
- [4] Jong-Yeol Shin, Department of Car Mechatronics, Sahmyook University, Seoul 139-742, Republic of Korea, Hee-Doo Park, Jong-Yong Lee, and Jin-Woong Hong†, Department of Electrical Engineering, Kwangwoon University, Seoul 139-701, Republic of Korea “Defect Diagnosis of Cable Insulating Materials by Partial Discharge Statistical Analysis”, Received December 9 2009, Revised December 18 2009, Accepted January 15 2010.
- [5] C. Forssen, Partial discharges in cylindrical cavities at variable frequency of the applied voltage, Licentiate thesis, Royal Inst. Technol. (KTH), Stockholm, Sweden, 2005.
- [6] Weizhong Yan and Kai F. Goebel, “Feature Selection for Partial Discharge Diagnosis”, Proceedings of 12th SPIE: Health Monitoring and Smart Nondestructive Evaluation of Structural and Biological Systems IV, v. 5768, pp. 166-175, 2005.
- [7] IEEE, “Electrical Insulation”, Magazine, IEEE, volume 30 number 3, ISSN 0883-7554, pp. 27-38, May/June 2014.
- [8] WEN-YEAU CHANG, “Application of Grey Clustering Approach and Genetic Algorithm to Partial Discharge Pattern Recognition”, Department of Electrical Engineering, No. 499, Sec. 4, Tam King Road, Tamsui, Taipei 251, Taiwan.
- [9] C. Aucourt, W. Boone, W. Kalkner, R. D. Naybour, and F. Ombello, “Recommendations for new after laying test method for high voltage extruded cable systems, “CIGRE paper no. 21-105, Aug. 1990.
- [10] Guide for Field Testing and Evaluation of the Insulation of Shielded Power Cable Systems Rated 5 kV and Above, IEEE 400, 2011.
- [11] Power Cables with Extruded Insulation and Their Accessories for Rated Voltages Above 150 kV ( $U_m=170$  kV) up to 500 kV ( $U_m=550$  kV) Test Methods and Requirements, IEC 62067, 2011.
- [12] E. Gulski and R. Patterson, “Importance of on-site testing and diagnosis of power cables,” presented at NETA PowerTest 2011 Conference, Whashington, DC, 2011.
- [13] A. Krivda, Automated recognition of partial discharges, IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation 2 (5) (1995) 792–821.
- [14] T. Hong, M. Fang, Detection and classification of partial discharge using a feature decomposition-based modular neural network, IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement 50 (5) (2001) 1349–1354.
- [15] L. Satish, Use of hidden Markov models for partial discharge pattern classification, IEEE Transactions on Electrical Insulation 28 (1993) 172–182.

- [16] T. Abdel Galil, R. Sharkawy, M. Salama, Partial discharge pattern classification using the fuzzy decision tree approach, *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement* 54 (6) (2005) 2258–2263.
- [17] Gorur R, Chang J, Amburgey O. Surface hydrophobicity of polymers used for outdoor insulation. *IEEE Trans Power Delivery* 1990;5:1923–33.
- [18] Kreuger F, Gulski E, Krivda A. Classification of partial discharges. *IEEE Trans Electr Insul* 1993;28:917–31.
- [19] G. O. Young, “Synthetic structure of industrial plastics (Book style with paper title and editor),” in *Plastics*, 2nd ed. vol. 3, J. Peters, Ed. New York: McGraw-Hill, 1964, pp. 15–64.
- [20] Méndez Albores Raúl, “Técnicas de Medición y Localización de Descargas Parciales en Transformadores. Luz y Fuerza del Centro”. Pag 1 a la 70. Ed CFE. 2000.
- [21] Van Brunt, R. J., "Stochastic properties of partial-discharge phenomena", *IEEE Transactions on Electrical Insulation*, Vol. 26, pp. 902-948, 1991.
- [22] Cichecki, P., Jongen, R., Gulski, E., Smit, J.J., Quak, B., Petzold, F. and Vries, F., "Statistical Approach in Power Cables Diagnostic Data Analysis", *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation* Vol. 15, No. 6, December 2008.
- [23] Ch. Kim, T. Kondo and T. Mizutani, “Change in Partial-Discharges Pattern with Aging”, *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation* Vol. 11, No. 1, February 2004.
- [24] Ri-cheng L, Kai B, Chun D, Shao-yu L, Guo-zheng X. Study on partial discharge localization by ultrasonic measuring in power transformer based on particle swarm optimization. In: *IEEE international conference on high voltage engineering and application*, 2008 (ICHVE 2008); 2008. p. 600–3.

## **Análisis y simulación numérico de esfuerzo circunferencial de un envase de vidrio tipo long neck**

ANGUIANO-LIZAOLA, Jorge\*†, SANCHEZ-OCAMPO, Cesar, CABRERA-CORDOVA, Eduardo y TONG-DELGADO, Miriam

Recibido Marzo 25, 2016; Aceptado Junio 14, 2016

### **Resumen**

El presente trabajo se muestra un análisis y una simulación numérica por el método del elemento finito de un envase de vidrio tipo long neck sujeto a presión interna. Con la aplicación de la simulación numérica permitió analizar el esfuerzo circunferencial en cavidades internas dando valores de diseño para conocer su capacidad máxima del esfuerzo que pudiera soportar el envase cuando está presurizado con gas de CO<sub>2</sub>. Para el desarrollo del análisis se utilizó el software de CATIA V5 R21 módulo de análisis y simulación, actualmente este software aporta un gran beneficio en el desarrollo de nuevos productos como el diseño en 3D, para la fabricación de contenedores de vidrio. Por último, se muestran diferentes datos dando resultados de la simulación numérica que son comparados con los de la expresión matemática haciendo una correlación de datos, para así saber si el margen de error es confiable.

**Metodo del elemento finito, envase de vidrio, presión interna, esfuerzo circunferencial, envase**

### **Abstract**

The present paper analysis and numerical simulation is shown by the finite element method of a glass container type long neck subject to internal pressure. With the application of numerical simulation allowed analyze the circumferential stress in internal cavities giving design values to know its maximum capacity of the hoop stress that could support the container when pressurized with CO<sub>2</sub> gas. For the development of analysis software CATIA V5 R21 and simulation analysis module was used this software now provides a great benefit in developing new products such as 3D design, for the manufacture of glass containers. Finally, different data are shown giving numerical simulation results are compared with those of the mathematical expression by correlating data, so you know if the margin of error is reliable.

**Finite element, glass container, internal pressure, hoop stress**

**Citación:** ANGUIANO-LIZAOLA, Jorge, SANCHEZ-OCAMPO, Cesar, CABRERA-CORDOVA, Eduardo y TONG-DELGADO, Miriam. Análisis y simulación numérico de esfuerzo circunferencial de un envase de vidrio tipo long neck. Revista de Sistemas Experimentales. 2016, 3-7: 10-14.

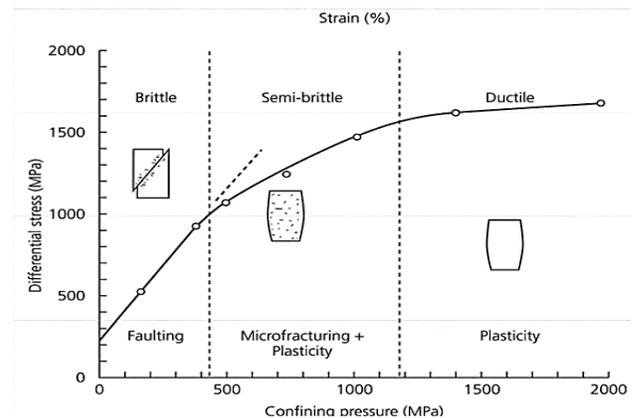
\* Correspondencia al Autor (Correo electrónico: [jianguianol@upbc.edu.mx](mailto:jianguianol@upbc.edu.mx))

† Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

Diariamente, empresas de clase mundial fabrican millones de envases de vidrio con distintos tamaños y formas. La producción de vidrio, es un proceso muy antiguo que data desde los 12,000 a.C. Antes de la época de la manufactura moderna, los artesanos soplaban botellas de vidrio a mano, una por una. Actualmente, la industria vidriera está altamente automatizada, produciendo rápida y eficientemente envases uniformes y en grandes volúmenes. La manufactura de envases de vidrio involucra varias etapas: materia prima, fundición en horno, formado, recocido, primera inspección física, inspección de maquinado con láser, segunda inspección física, control de calidad y empaqueo final. En este trabajo, se presenta los resultados de un análisis de esfuerzo circunferencial para saber la resistencia de un contenedor de vidrio cuando este es sometido a presión interna.

La norma mexicana NMX-EE-032-1983. ENVASE Y EMBALAJE-ENVASES DE VIDRIO PARA BEBIDAS ALCOHÓLICAS EN GENERAL. PACKAGING-GLASS CONTAINERS FOR GENERAL ALCOHOLIC BEVERAGES. NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS. Establece en su apartado 5.8 Presión Interna, lo siguiente: La presión interna debe aplicarse únicamente para los envases de vidrio que están destinados a contener bebidas alcohólicas tales como champagne, sidra, vinos espumosos. Estos envases deben soportar una presión interna de 1034.1 kPa (175psi). El gráfico 1 presenta la curva de comportamiento del diferencial de esfuerzo contra la presión de confinamiento para materiales frágiles, semifrágiles y dúctiles, obviamente el vidrio pertenece a los primeros.



**Gráfico 1** Curva de diferencial de esfuerzo contra presión de confinamiento

## Descripción del método

### Esfuerzo circunferencial (Hoop stress)

Los envases a presión son estructuras cerradas que contienen líquidos o gases a presión, una de las consideraciones al momento del diseño de un envase es el cálculo del esfuerzo circunferencial “Hoop Stress”; ya que ayuda a determinar los cálculos teóricos de pared y saber su resistencia a la presión. En donde en un cilindro hueco de pared delgada de diámetro interior  $d$ , y la pared espesor  $t$ , se somete a una presión interna  $p$ , el esfuerzo de tracción  $s$  en cada punto de la superficie externa está dado por la siguiente expresión matemática:

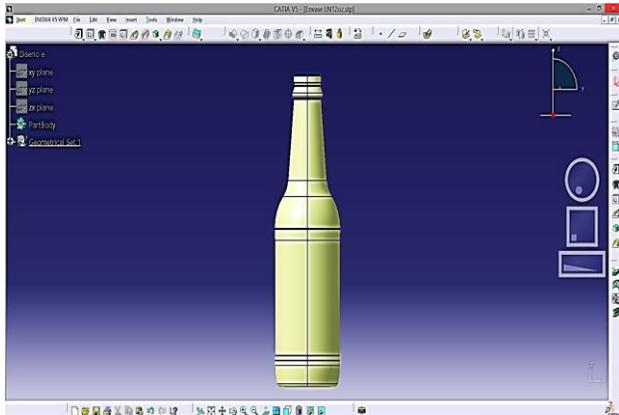
$$s = \frac{p \cdot d}{2t} \quad (1)$$

Por ejemplo, para una botella no retornable, una aproximación de la superficie exterior de tensión de rotura a la tracción es de 4000 psi, por lo que las presiones de ruptura del cilindro  $p$  máxima, es dada por la siguiente expresión:

$$p_{\max} = \frac{4000 \cdot 2t}{d} \quad (2)$$

## Modelado del diseño del envase en tres dimensiones

CATIA es un software informático de diseño, fabricación e ingeniería asistida por computadora, comercializado por Dassault Systèmes. El software está desarrollado para proporcionar apoyo desde la concepción del diseño hasta la producción y el análisis de productos. Para la elaboración del diseño en CAD fue necesario tomar una serie de mediciones del envase seleccionado y así mismo dibujarlo en el paquete. En la figura 1 se muestra el diseño del envase realizado con una superficie y las unidades que se utilizaron fueron pulgadas.



**Figura 1** Diseño del envase en tres dimensiones

Para la simulación numérica con el software se realizaron las siguientes actividades:

1. Creación de base de datos.
2. Importar geometría.
3. Creación de mallado.
4. Aplicar restricciones.
5. Aplicación de Presión.
6. Selección de Materiales vidrio (Módulo de Young, Relación de Poisson).
7. Tipo de análisis.
8. Procesamiento de datos.
9. Resultados.

## Análisis

Para el análisis fue necesario tener los siguientes datos:

No. De Muestra  
 Espesor de pared 0.083”  
 Presión sometida 145 psi  
 Esfuerzo circunferencial máximo  
 Resultado del análisis numérico.

Se realizaron varias una total de siete corridas con en análisis numérico donde se fueron aumentando diferentes presiones como se muestra en la siguiente tabla 1.

| Muestra | Espesor de pared en pulgadas | Presion sometida (psi) | Esfuerzo circunferencial maximo en (psi) | Análisis Numérico esfuerzo máximo (psi) |
|---------|------------------------------|------------------------|--|---|
| 12      | 0.083"                       | 145                    | 2260                                     | 2264.70                                 |
| 1       | 0.083"                       | 200                    | 3117                                     | 3123.73                                 |
| 2       | 0.083"                       | 220                    | 3429                                     | 3436.10                                 |
| 5       | 0.083"                       | 250                    | 3896                                     | 3904.66                                 |
| 13      | 0.083"                       | 300                    | 4675                                     | 4685.60                                 |
| 4       | 0.083"                       | 320                    | 4987                                     | 4997.97                                 |
| 16      | 0.083"                       | 350                    | 5455                                     | 5466.53                                 |

**Tabla 1** Datos del esfuerzo Circunferencial versus analisis numérico

En la figura 2 se muestra el resultado de la simulación numérica y también se identifica las áreas más críticas, donde se observa el acumulamiento del esfuerzo máximo y se identifica de color rojo.

Presión sometida 145 psi (pound per square inch).

Espesor de pared 0.083”

Resultado del esfuerzo circunferencial máximo 3123.73 psi.

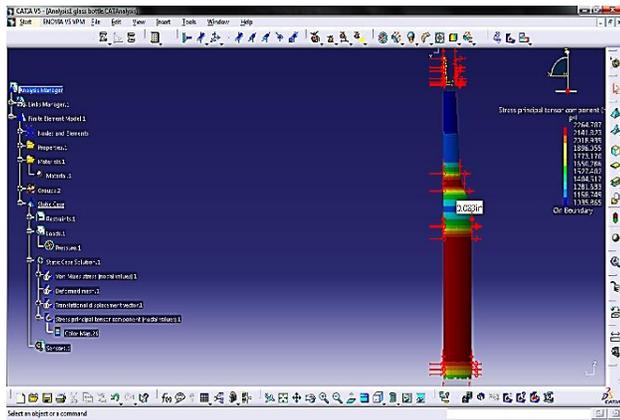


Figura 2 Resultado del analisis presion sometida a 2264.70psi

Figura 3 presión sometida: 350 psi (pound per square inch).

Espesor de pared 0.083”

Resultado del esfuerzo circunferencial máximo 5466.53psi.

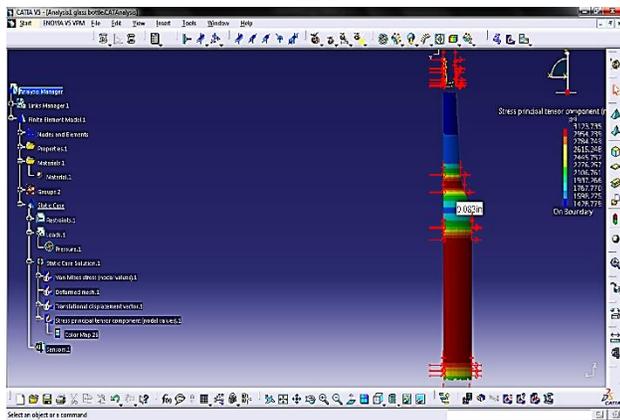


Figura 3 Analisis presion sometida 3123.73psi

Figura 3 Resultado del analisis presion sometida a 5466.53psi

### Resultados

En la tabla 1 se muestran los resultados de los análisis de la simulación numérica, la cual fueron seleccionados 7 muestras de envases con sus respectivos valores de esfuerzos, como se puede observar todos los resultados quedaron por arriba del esfuerzo máximo de diseño y lo establecido por la Norma Mexicana para envases de vidrio.

En el Gráfico 2 se muestran la gráfica con las comparaciones del esfuerzo y la simulación numérica.

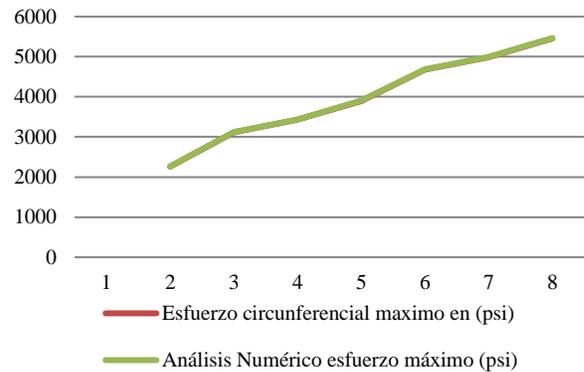


Gráfico 2 Grafica comparativa de analisis y esfuerzo

### Conclusiones

Se realizó el análisis de los parámetros requeridos para la simulación del esfuerzo circunferencial en el diseño del envase usando el método del elemento finito, donde se realizaron 7 análisis utilizando diferentes presiones las cuales el envase se calculó con el mismo espesor de pared de 0.083” (2.10 mm).

Para la presión interna, la simulación se realizó en forma directa el mencionado Software; La correlación de datos que se compararon con el esfuerzo del análisis versus la expresión matemática del esfuerzo circunferencial dando un promedio de diferencia del 1% de confiabilidad.

## Referencias

NMX-EE-032-1983, Norma Mexicana. "Envase y embalaje-envases de vidrio para bebidas alcohólicas en general."

NMX-EE-188, Norma Mexicana. "Determinación de las dimensiones y métodos de prueba para los envases de vidrio bebida alcohólicas en general".

ASTM, Designation: C147-86. "Standard Internal Pressure Strength of Glass Containers".

Skrabec, Quentin R. Michael Owens And the Glass Industry. 2007. 978-1-58980-385-5.

Vidales Giovannetti, Ma. Dolores. El mundo del envase manual para el diseño y producción de envases y embalajes. Barcelona : Gustavo Gili, 2007. 978-84-252-2199-6.

Corrales C., Salvador. La industria del vidrio en el noreste de México. México: Redalyc, 2010.

CATIA V5 Academia  
<https://academy.3ds.com/en/software/catia-v5-student-edition>

## Efecto de la aplicación parenteral de selenio y vitamina E sobre la concentración de IgG F5<sup>+</sup> de *Escherichia coli* y selenio sanguíneo en corderos

VALLADARES-CARRANZA, Benjamin\*†, VELAZQUEZ-ORDOÑEZ, Valente, ORTEGA-SANTANA, Cesar y SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, Fernando´

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal. Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México.C.P. 50200 Toluca, México.

´Clínica Privada. Toluca. Estado de México

Recibido Febrero 24, 2016; Aceptado Junio 10, 2016

### Resumen

Con el objeto de evaluar el efecto de la suplementación parenteral de selenito de sodio y vitamina E, se utilizaron 40 corderos, que se identificaron y separaron aleatoriamente conformando 8 grupos de 5 corderos cada uno; por vía intramuscular o subcutánea se les administró selenito de sodio a dosis de 5 y 10 mg/100 Kg de P.V. (T1 y T2), 100 mg de vitamina E/90 Kg de P.V. (T3), y 1 ml de SSF (T4), diferenciándose por la vía de aplicación. A los 8 días pos aplicación de los compuestos mencionados se les administró el antígeno de *Escherichia coli* F5<sup>+</sup>; al día 1, 8, 16, 24 y 32 días se obtuvieron muestras de sangre completa con y sin anticoagulante mediante el sistema Vacutainer; el suero sanguíneo obtenido se utilizó en la prueba de ELISA para detección de anticuerpos IgG F5<sup>+</sup> de E. coli, y con la sangre completa se determinó la concentración de selenio por digestión ácida a través de espectrofotometría de absorción atómica. Los resultados fueron analizados por bloques al azar con arreglo bifactorial, y los promedios de cada variable respuesta por prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). La aplicación vía IM de los tratamientos, mostraron un mejor comportamiento de los niveles de IgG ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, los niveles de Se sanguíneo mostraron un mayor incremento con la aplicación subcutánea ( $p < 0.05$ ). El comportamiento y dinámica de los niveles de Se sanguíneo y concentración de IgG mantienen una relación proporcional tras el manejo y la aplicación de los diferentes tratamientos.

**Selenio, vitamina E, IgG, corderos**

### Abstract

In order to evaluate the effect of parenteral supplementation of sodium selenite and vitamin E, 40 lambs were randomly separated to make up 8 groups of 5 lambs each. Five or ten mg/100 Kg LW of sodium selenite (T1 and T2), 100 mg of vitamin E 90/Kg LW (T3) or 1 ml of PSS (T4) were either intramuscularly or subcutaneously administered. One week later, *Escherichia coli* F5<sup>+</sup> antigen was administered and complete blood samples were taken on days 8, 16, 24 and 32, using a Vacutainer system. An ELISA test was run in which serum was used for detection of F5<sup>+</sup> E. coli IgG antibodies, and whole blood concentration of selenium was determined after acid digestion through atomic spectrophotometry. Results were analyzed using a randomized two-factor block arrangement, and the averages per variable by Tukey test ( $p < 0.05$ ). IM route showed a better IgG level response ( $p < 0.05$ ). In contrast, blood selenium levels showed a higher increase when administered subcutaneously ( $p < 0.05$ ). The dynamics of both blood selenium levels and IgG concentration maintain a proportional relationship after using different application treatments.

**Selenium, vitamin E, IgG, lambs**

**Citación:** VALLADARES-CARRANZA, Benjamin, VELAZQUEZ-ORDOÑEZ, Valente, ORTEGA-SANTANA, Cesar y SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, Fernando. Efecto de la aplicación parenteral de selenio y vitamina E sobre la concentración de IgG F5<sup>+</sup> de *Escherichia coli* y selenio sanguíneo en corderos. Revista de Sistemas Experimentales. 2016, 3-7: 15-21.

\*Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: benvac2004@yahoo.com.mx)

†Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

En el campo de la nutrición existen factores que limitan la producción animal, dentro de estos se encuentran los minerales, ya que su deficiencia se ha asociado a diversas patologías. El selenio (Se), como micronutriente esencial asociado con la vitamina E afecta diversas funciones del animal; en alteraciones en la reproducción y a los sistemas: nervioso, muscular, esquelético, hematopoyético e inmune, en sus características básicas y de integridad de todas las células del organismo (Reddy y Frey, 1990; De Luca *et al.*, 2012). El selenio es un micronutriente esencial para los animales domésticos y las enfermedades causadas por su deficiencia tienen distribución mundial. La función bioquímica del selenio es formar parte de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px), la cual contiene cuatro átomos de Se por mol de enzima.

Las enzimas son catalizadores orgánicos producidos por los organismos vivos, son solubles en agua, de naturaleza coloidal, tienen poder catalítico específico y se destruyen por el calor húmedo a 100°C. Cuando actúan sobre su sustrato, influyen varios factores como: contacto entre la enzima y el sustrato, concentración de la enzima y el sustrato, temperatura, concentración de hidrogeniones, coenzimas y activadores. La GSH-Px no escapa a la acción de todos estos factores sobre todo por su dependencia con el Se que actúa como activador enzimático, que se define como la sustancia que aumenta la actividad de la enzima (Li *et al.*, 2012; Valladares-Carranza *et al.*, 2013a). La GSH-Px dependiente del selenio participa en reacciones de óxido-reducción para proteger a la célula del daño por oxidación provocado por los radicales libres y peróxidos, actuando así como un componente oxidante (Li *et al.*, 2012; Sun *et al.*, 2012, Valladares-Carranza *et al.*, 2014).

Considerando que metabolitos reactivos del oxígeno (MRO) son producidos por procesos metabólicos normales, el aumento de los MRO debido a estímulos exógenos (radiación solar y micotoxinas), pueden producir daño celular y tisular. El control endógeno de estos productos está dado por sustancias protectoras naturales (antioxidantes).

Los mecanismos preventivos involucran macromoléculas unidas a metales y a las enzimas antioxidantes, entre ellas la GSH-Px, la cual funciona en el citosol de la célula. Otro antioxidante importante es la vitamina E, la cual captura de forma eficiente a radicales libres en los tejidos y su función se encuentra asociada al Se; sin embargo esta vitamina es componente integral de las membranas lipídicas protegiendo a ácidos grasos poliinsaturados, enzimas y proteínas de transporte del ataque de los radicales libres (Sun *et al.*, 2012, Valladares-Carranza *et al.*, 2013a).

Asimismo, los animales selenodeficientes presentan disminución en las concentraciones de IgG sérica, lo cual muestra una inmunodepresión y cuando se suplementa selenio se favorece la respuesta mediada por las IgG cuyas concentraciones se incrementan (Cunningham *et al.*, 2009).

La vitamina E reacciona o funciona como un antioxidante, aparentemente con la neutralización de los radicales libres y previenen la peroxidación de los lípidos dentro de las membranas. La peroxidación de los lípidos puede destruir la integridad estructural de las células y causar disturbios metabólicos.

La deficiencia de vitamina E da lugar en los corderos a un tipo de distrofia muscular, llamada enfermedad del músculo blanco (Hall *et al.*, 2011).

Por lo que es esencial la presencia del selenio y la vitamina E en el organismo, ya que protegen a los tejidos por medio de su acción antioxidante, y bajo concentraciones adecuadas ayudan a mantener en condiciones óptimas al sistema inmunológico (Valladares-Carranza *et al.*, 2013b). El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la vía de aplicación de selenito de sodio y vitamina E sobre los niveles de IgG F5<sup>+</sup> de *E. coli* y selenio sanguíneo en corderos.

## Materiales y Métodos

Se trabajó con 40 corderos de la raza Suffolk, tanto hembras como machos desde el nacimiento hasta los 3.9 meses de edad, en condiciones de pastoreo sin suplementación, bajo condiciones experimentales controladas, se dividieron en 8 grupos de 5 corderos los cuales estuvieron bajo el mismo manejo zootécnico, difiriendo solo en el tratamiento.

Los 8 grupos se separaron por lotes para diferenciar las vías y dosis del tratamiento (vía intramuscular o vía subcutánea) (Tabla 1). Se realizó la aplicación a dosis única de los tratamientos e inmunización del antígeno de *E. coli* fracción F5<sup>+</sup>. Se determinó la concentración basal de los datos de interés a partir de los 75 días de edad coincidiendo con la aplicación de los tratamientos, finalizando el monitoreo de las variables de interés durante los 24 días posteriores a intervalos de 8 días cada uno.

| Grupo      | Tratamiento                            | Periodos |        |        |        |
|------------|--|----------|--------|--------|--------|
|            |  | 1 (8)    | 2 (16) | 3 (24) | 4 (32) |
| T1         | 5 mg/100kg P.V. Selenito de sodio      | 75+      | 83*    | 91     | 99     |
| T2         | 10 mg Selenio-100 mg Vit. E/90kg P.V.  | 75+      | 83*    | 91     | 99     |
| T3         | 100 mg Vit. E/90kg P.V.                | 75+      | 83*    | 91     | 99     |
| T4 Control | Placebo de solución salina             | 75+      | 83*    | 91     | 99     |
| T5         | 5 mg/100kg P.V. Selenito de sodio      | 75+      | 83*    | 91     | 99     |
| T6         | 10 mg Selenio-100 mg Vit. E/90 Kg P.V. | 75+      | 83*    | 91     | 99     |
| T7         | 100 mg Vit. E/90 Kg P.V.               | 75+      | 83*    | 91     | 99     |
| T8 Control | Placebo de solución salina             | 75+      | 83*    | 91     | 99     |

**Tabla 1** Relación de tratamientos de Se y Vitamina E + Aplicación de los tratamientos. \* Aplicación del antígeno de *E. coli* fracción F5<sup>+</sup>. T1 al T4 Vía intramuscular y T5 al T8 Vía subcutánea.

Las muestras de sangre se obtuvieron por venopunción, previa asepsia de la zona, con tubos al vacío con y sin anticoagulante, hasta obtener de 3 a 5 mL de sangre. Se identificaron y se trasladaron al laboratorio, conservándose en congelación a -20 °C hasta el momento de realizar la determinación respectiva. El suero obtenido, fue sometido a la prueba de ELISA indirecta, según el método descrito por Bartholomeuz *et al.*, (1990), determinando IgG específicas al antígeno F5<sup>+</sup> de *E. coli*, expresando los resultados en unidades de anticuerpos (U. Ac) F5<sup>+</sup> de *E. coli*/100 µL.

Las muestras de sangre completa fueron procesadas por digestión ácida (ácido nítrico y perclórico, relación 10:1), y la lectura se realizó a través de espectrofotometría de absorción atómica con generación de hidruros; los resultados obtenidos se expresan en ng/g (nanogramos/gramo). Para la evaluación y análisis de resultados, se utilizó un diseño de bloques al azar con arreglo bifactorial, y las variables de respuesta comparados por prueba de Tukey (p<0.05)(Steel y Torrie, 1988), usando el programa SAS versión 6.04.

## Resultados y Discusión

En el presente estudio al efectuar la administración de selenito de sodio, vitamina E y solución salina fisiológica tanto por vía intramuscular como subcutánea en los respectivos grupos de tratamiento; los niveles de inmunoglobulinas (U. Ac), obtenidos en la vía intramuscular para el grupo T1 fueron: al día 8 con:  $1.83 \pm 0.3554$  y el valor más alto en el día 24 con:  $2.55 \pm 0.06078$ ; en el caso del T2 se obtuvieron niveles similares en tiempo de  $2.13 \pm 0.4859$  y  $4.10 \pm 1.1195$  respectivamente; en el T3: el valor más bajo fue a los 32 días con  $1.55 \pm 0.2791$  y el más alto a los 8 días de  $2.03 \pm 0.1825$  U.Ac.; en el T4 el nivel más bajo fue a los 8 días con  $1.59 \pm 0.0595$  y el más alto a los 32 días con  $1.91 \pm 0.7679$  U.Ac.

Con respecto a los promedios generales por grupo el grupo con menor concentración, fue el T4 con  $1.80 \pm 0.1465$  y el más alto el T2 con  $3.53 \pm 0.9456$  U.Ac. ( $p > 0.05$ )(Tabla 2). Con respecto a la vía de aplicación subcutánea, para el grupo T5 el valor del nivel más bajo se obtuvo a los 8 días de  $1.58 \pm 0.4875$  y el más alto a los 32 días de  $2.72 \pm 0.6094$ ; de manera similar en cuanto al comportamiento de los valores obtenidos por periodos fue el caso del T6 con  $1.87 \pm 0.6340$  y  $4.00 \pm 1.0522$  U.Ac. respectivamente; en el T7 el valor más bajo fue a los 16 días con  $1.66 \pm 0.3276$  y el más alto a los 8 días de  $2.12 \pm 0.2460$  U.Ac.; y para el T8 el valor más bajo obtenido fue a los 8 días de  $1.63 \pm 0.3615$  y en los subsecuentes periodos mantuvieron un comportamiento similar numericamente con un valor de  $1.78 \pm 0.1713$  U.Ac. Asimismo el comportamiento en cuanto a los promedios generales con el valor más bajo fue del T8 con  $1.74 \pm 0.0750$  y el más alto el T6 con  $3.41 \pm 1.0321$  U.Ac. ( $p > 0.05$ )(Tabla 2).

De acuerdo a los periodos evaluados de manera general se observó un aumento en el nivel de unidades anticuerpo F5+ de *Escherichia coli* en los tratamientos realizados, mostrando un ligero incremento después de haberse aplicado el inóculo (24 días) y que en aparente llega a estabilizarse para el último periodo de evaluación; y en donde comparativamente de acuerdo a la vía de aplicación se observa un mejor comportamiento en la vía intramuscular. Con los valores obtenidos y considerando las observaciones realizadas por Dangla (1994), el comportamiento fue muy similar con respecto a los niveles de inmunoglobulinas, considerando la diferencia que este autor realizó la aplicación de Se y del inóculo de *E. coli* en las madres, valorando la transferencia de inmunidad a través del calostro; en nuestro estudio el manejo fue directamente en los corderos, aun en relación a esto con la variación en los valores obtenidos, pudo estar influenciado al factor de estrés durante el manejo.

| Tratamientos | Días de muestreo postratamiento |                          |                          |                          | Prom. General (U.Ac)     |
|--------------|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|              | 8                               | 16*                      | 24                       | 32                       |                          |
| T1           | 1.83±0.3554 <sup>a</sup>        | 2.22±0.6409 <sup>a</sup> | 2.55±0.6078 <sup>a</sup> | 2.48±0.2869 <sup>a</sup> | 2.27±0.3258 <sup>2</sup> |
| T2           | 2.13±0.4859 <sup>a</sup>        | 4.09±0.8093 <sup>b</sup> | 4.10±1.1195 <sup>b</sup> | 3.82±0.9295 <sup>b</sup> | 3.53±0.9456 <sup>3</sup> |
| T3           | 2.03±0.1825 <sup>a</sup>        | 1.96±0.1748 <sup>b</sup> | 1.94±0.1097 <sup>b</sup> | 1.55±0.2791 <sup>a</sup> | 1.87±0.2167 <sup>1</sup> |
| T4 Control   | 1.59±0.0595 <sup>a</sup>        | 1.81±0.8294 <sup>b</sup> | 1.89±0.0615 <sup>a</sup> | 1.91±0.7679 <sup>a</sup> | 1.80±0.1465 <sup>1</sup> |
| T5           | 1.59±0.4875 <sup>a</sup>        | 2.04±0.7590 <sup>b</sup> | 2.34±0.7225 <sup>b</sup> | 2.72±0.6094 <sup>b</sup> | 2.22±0.5104 <sup>2</sup> |
| T6           | 1.87±0.6340 <sup>a</sup>        | 3.95±0.7777 <sup>b</sup> | 3.84±1.1612 <sup>b</sup> | 4.00±1.0522 <sup>b</sup> | 3.41±1.0321 <sup>3</sup> |
| T7           | 2.12±0.2460 <sup>b</sup>        | 1.66±0.3276 <sup>a</sup> | 1.99±0.2071 <sup>a</sup> | 2.04±0.1788 <sup>a</sup> | 1.95±0.2022 <sup>1</sup> |
| T8 Control   | 1.63±0.3615 <sup>a</sup>        | 1.78±0.2229 <sup>a</sup> | 1.78±0.1713 <sup>a</sup> | 1.78±0.2216 <sup>a</sup> | 1.74±0.0750 <sup>1</sup> |

**Tabla 2** Niveles de inmunoglobulinas IgG (U. Ac) anti F5+ de *E. coli* en suero de corderos suplementados por vía intramuscular a diferentes dosis con selenito de sodio y vitamina E

n = 40 corderos. \* Aplicación del antígeno F5+ de *E. coli*. Tratamientos T1 a T4- Vía intramuscular y T5 a T8- Vía subcutánea.

a, b, c Literales diferentes por fila muestran diferencia estadística significativa ( $P < 0.5$ ).

1, 2, 3 Números diferentes por columna muestran diferencia estadística significativa ( $P < 0.5$ ).

Se ha establecido que el papel biológico del Se es favorecer la protección de todo tipo de células, aunado a cualquier factor que pueda desencadenar una reacción inflamatoria local o sistémica, considerando que puede incluso inducir a una respuesta más favorable en animales que han sido suplementados con selenio a diferencia de los grupos control (Valladares-Carranza *et al.*, 2013b).

Hall *et al.*, (2011), al realizar un estudio en el que suplementaron a vacas adultas con selenio en forma de Se inorgánico (selenito de sodio), vía oral en la pastura, con la finalidad de medir la inmunidad humoral en respuesta a la aplicación de una bacterina con una cepa de J-5 *E. coli*, formaron 3 grupos: al grupo 1 con suplemento de 200 mg/Kg de selenito de sodio; el grupo 2 recibió forraje fertilizado con Se a libre acceso sin sales minerales, y el tercer grupo sales minerales durante 5 meses, se aplicó el antígeno seis semanas antes del final del tratamiento, y se colectó sangre a las 2 y 4 semanas post tratamiento. Al medir la concentración de IgG se observó una mayor concentración en el grupo 1 y la menor el grupo 3, observando que el Se inorgánico mostró una mejor respuesta inmune al comparar el título de anticuerpos.

Thorson *et al.*, (2010), refieren la acción del Se con la consecuente transferencia de anticuerpos para los lactantes, al realizar pruebas de adición a dietas a razón de 0.3 mg/Kg durante 2 meses antes del parto en yeguas, y en donde obtuvieron mayores cantidades de IgGs como de la concentración de Se en calostro a diferencia del grupo control.

En el trabajo realizado por Türkmen *et al.*, (2012), refieren la importancia del Se, al valorar a pacientes con enfermedades renales y consideran que cuando existe un adecuado nivel de este micromineral en el organismo, la función y papel metabólico como antioxidante celular, puede mantener libre de alteraciones a los individuos suplementados con Se. En pacientes con hemodialis se ha demostrado que cuando la concentración de selenio se encuentra en un nivel inadecuado resulta en una pobre respuesta inmune (Rayman, 2012). Asimismo, cáncer de próstata, leucemia, diabetes están relacionadas a la deficiencia de Se, por lo que una vez más se demuestra la importancia de este micromineral, y de la misma forma con una adecuada concentración puede resultar con un efecto antiviral (Baowei *et al.*, 2011; Carlson *et al.*, 2010; Stone y Kawai, 2010).

Con respecto a las concentraciones de Se en los tratamientos aplicados por vía IM, para el caso del T1 la concentración mínima obtenida fue de  $0.24 \pm 0.1793$  al día 32 de muestreo y el valor más alto al día 24 con  $0.34 \pm 0.1949$ ; en el T2 al día 16 el valor más bajo de  $0.23 \pm 0.1979$ , y con  $0.53 \pm 0.5051$  para el día 24; el T3 inicialmente una concentración de  $0.14 \pm 0.2087$  y al último periodo con  $0.37 \pm 0.2728$  ng/g; de manera similar las concentraciones en el T4 al inicio fueron de  $0.19 \pm 0.1976$  y a los 32 días  $0.22 \pm 0.1278$  ng/g ( $p > 0.05$ ).

Los promedios generales de los tratamientos fueron: para el T1 de  $0.28 \pm 0.0405$ , del T2 con  $0.37 \pm 0.1424$ ; en T3  $0.28 \pm 0.0955$ ; y en el T4 de  $0.12 \pm 0.1014$  ng/g ( $p > 0.05$ ) (Tabla 3). Las concentraciones de selenio en los tratamientos aplicados por vía subcutánea, para el caso del T5 la concentración mínima obtenida fue de  $0.24 \pm 0.1567$  a los 24 días de muestreo y el valor más alto en el día 16 con  $0.31 \pm 0.1734$ ; en el T6 el día 8 con el valor más bajo de  $0.44 \pm 0.0134$  y con  $0.55 \pm 0.0211$  para el día 32; en el T7 al día 16 se obtuvo el valor más bajo con  $0.18 \pm 0.2531$  y con el valor más alto a los 24 días con  $0.25 \pm 0.2631$ ; en el T8 el valor más bajo fue a los 8 días con  $0.02 \pm 0.1621$ , y el valor más alto a los 32 días con  $0.19 \pm 0.1223$  ng/g ( $p > 0.05$ ). En cuanto a los promedios generales el más bajo fue el T8 con  $0.11 \pm 0.0865$  y el más alto del T6 con  $0.48 \pm 0.0508$  ng/g ( $p > 0.05$ ) (Tabla 3). Varios estudios con el interés de evaluar el efecto del estrés oxidativo por la inmunosupresión inducida por la deficiencia de Se; al suplementar a aves a diferentes dosis de Se 0, 0.1, 0.2, 0.3 y 0.4 mg/Kg, se tomaron muestras de órganos inmunes, y muestras de sangre para medir niveles de selenio; se observó que a niveles menores de 0.3 mg/Kg, no se incrementó la respuesta inmune humoral, sin embargo a dosis mayores se obtuvo una correcta función antioxidante y buenos niveles de la función enzimática de GSH-Px y SOD (Jankowski *et al.*, 2011). Con el interés de valorar el estrés oxidativo, se han revisado y realizado varios estudios, determinándose que éste se ve reducido con la administración de Se y vitamina E; por lo que además es una condición importante y relevante en la función celular verificar en lapsos periódicos el nivel que guarda cada individuo, sobre todos aquellos que por su temperamento, función zootécnica y etapa productiva puedan mostrar bajos niveles de Se– vitamina E, de lo contrario sería preciso su suplementación (Baowei *et al.*, 2011; Huang *et al.*, 2012; Valladares-Carranza *et al.*, 2013a).

| Tratamientos | Días de muestreo postratamiento |                          |                          |                          | Prom. General (ng/g)     |
|--------------|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|              | 8                               | 16*                      | 24                       | 32                       |                          |
| T1           | 0.29±0.1917 <sup>a</sup>        | 0.27±0.1852 <sup>a</sup> | 0.34±0.1949 <sup>b</sup> | 0.24±0.1793 <sup>a</sup> | 0.28±0.0405 <sup>2</sup> |
| T2           | 0.27±0.2954 <sup>a</sup>        | 0.23±0.1979 <sup>a</sup> | 0.53±0.5051 <sup>c</sup> | 0.44±0.4137 <sup>b</sup> | 0.37±0.1424 <sup>3</sup> |
| T3           | 0.14±0.2087 <sup>a</sup>        | 0.31±0.2620 <sup>c</sup> | 0.28±0.2247 <sup>b</sup> | 0.37±0.2728 <sup>c</sup> | 0.28±0.0955 <sup>2</sup> |
| T4 control   | 0.19±0.1976 <sup>b</sup>        | 0.03±0.0640 <sup>a</sup> | 0.03±0.0847 <sup>a</sup> | 0.22±0.1278 <sup>b</sup> | 0.12±0.1014 <sup>1</sup> |
| T5           | 0.28±0.1632 <sup>a</sup>        | 0.31±0.1734 <sup>a</sup> | 0.24±0.1567 <sup>a</sup> | 0.30±0.1456 <sup>a</sup> | 0.28±0.0286 <sup>2</sup> |
| T6           | 0.44±0.0134 <sup>a</sup>        | 0.44±0.0126 <sup>a</sup> | 0.50±0.0014 <sup>b</sup> | 0.55±0.0211 <sup>b</sup> | 0.48±0.0508 <sup>3</sup> |
| T7           | 0.23±0.1295 <sup>b</sup>        | 0.18±0.2531 <sup>a</sup> | 0.25±0.2631 <sup>b</sup> | 0.24±0.2387 <sup>b</sup> | 0.23±0.0309 <sup>2</sup> |
| T8 control   | 0.02±0.1621 <sup>a</sup>        | 0.06±0.1001 <sup>a</sup> | 0.17±0.1871 <sup>b</sup> | 0.19±0.1223 <sup>b</sup> | 0.11±0.0865 <sup>1</sup> |

**Tabla 3** Concentración de selenio en sangre de corderos suplementados por vía intramuscular y subcutánea a diferentes dosis con selenito de sodio y vitamina E n = 40 corderos. \* Aplicación del antígeno F5+ de *E. coli*. Tratamientos T1 a T4- Vía intramuscular y T5 a T8- Vía subcutánea.

a, b, c Literales diferentes por fila muestran diferencia estadística significativa ( $p < 0.5$ ).

1, 2, 3 Números diferentes por columna muestran diferencia estadística significativa ( $p < 0.5$ ).

Es importante considerar que de acuerdo a la vía de aplicación de selenito de sodio los valores más altos y con el mejor comportamiento para el nivel de Se sanguíneo, se obtuvieron a través de la vía SC, en la que además el incremento fue de forma gradual, lo cual puede deberse a las propiedades y características del compuesto así como a las necesidades orgánicas de los corderos, en los que paulatinamente ocurrió una utilización orgánica.

Trabajos experimentales con aplicación de bacterinas o bien con la confrontación de patógenos habituales (*Pasterella multocida* y *E. coli* entre otras), con la consecuente aplicación de selenio a través de diferentes vías han exacerbado la producción de inmunoglobulinas (IgG) (Dangla, 1994; Vanegas, 1999), así mismo en el aspecto productivo la correlación se ha observado al obtener mejores parámetros productivos obtenidos a través de: mejores ganancias de peso, mayor peso al destete, y menor mortalidad de los corderos.

## Conclusiones

En la combinación de selenito de sodio-Vitamina E se observaron mejores valores de IgG durante el periodo de estudio.

La aplicación intramuscular de los tratamientos aplicados, mostraron un mejor comportamiento en cuanto a niveles de inmunoglobulinas IgG en comparación a la vía subcutánea. Los niveles de selenio sanguíneo muestran un mejor incremento y se mantienen con la aplicación vía intramuscular de los diferentes tratamientos. El comportamiento y dinámica de los niveles de selenio sanguíneo y concentración de IgG mantienen una relación tras el manejo y la aplicación de los diferentes tratamientos.

## Referencias

- Baowei W., Guoqing H., Qiaoli W. (2011). Effects of yeast selenium supplementation on the growth performance, meat quality, immunity, and antioxidant capacity of goose. *J. Anim. Sci.*, 95: 440-448.
- Bartholomeuz RCA., Forrest BD., Labrooy JT., Rowley D. (1990). The serum polymeric IgA antibody response to typhoid vaccination; its relationship to the intestinal IgA response. *Immunol.*, 69:190-194.
- Carlson BA., Yoo MH., Shrimali RK. (2010). Role of selenium-containing proteins in T-cell and macrophage function. *J. Anim. Sci.*, 69: 300-310.
- Cunningham RS., Lin H., Ho-lin D., Dnistrian A. (2009). Role of nutrients in development of neonatal immune response. *J. Anim. Sci.*, 67: S152-S163.
- Dangla LRA. (1994). Determinación de los niveles de selenio e IgG séricas en ovejas adultas con y sin tratamiento de selenio durante la gestación, parto y lactancia y en sus corderos durante el parto y lactancia en una explotación del Valle de Toluca, Estado de México. Tesis de maestría. FMVZ. Universidad Autónoma del Estado de México.

De Luca C., Kharaeva Z., Raskovic D., Pastore P. (2012). Coenzyme Q 10, vitamin E, selenium, and methionine in the treatment of chronic recurrent viral mucocutaneous infections. *J. Anim. Sci.*, 28: 509-514.

Hall JA., Harwell AM., Van Saun RJ., Vorachek WR. (2011). Agronomic biofortification with selenium: effects on whole blood selenium and humoral immunity in beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 164: 184-190.

Huang Z., Rose AH., Hoffmann PR. (2012). The role of selenium in inflammation and immunity: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *J. Anim. Sci.*, 16: 705-743.

Jankowski J., Zduhczyk Z., Sartowska K. (2011). Metabolic and immune response of young turkeys originating from parent flocks fed diets with inorganic or organic selenium. *J. Anim. Sci.*, 14: 353-358.

Li D., Wang W., Shan Y., Barrera LN., Howie AF. (2012). Synergy between sulforaphane and selenium in the up-regulation of thioredoxin reductase and protection against hydrogen peroxide-induced cell death in human hepatocytes. *J. Anim. Sci.*, 133: 300-307.

Rayman MP. (2012). Selenium and human health. *J. Anim. Sci.*, 379: 1256-1268.

Reddy PG., Frey RA. (1990). Nutritional modulation of immunity in domestic food animals. *Adv. Vet. Sci. and Comp. Med.*, 35: 255-275.

Steel DGR., Torrie HJ. (1988). Bioestadística. Principios y procedimientos. Mc Graw-Hill. México. D.F.

Stone CA., Kawai K. (2010). Role of selenium in HIV infection. *J. Anim. Sci.*, 68: 671-681.

Sun W., Song X., Yan R., Xu L. (2012). Cloning and characterization of a selenium-independent glutathione peroxidase (HC29) from adult. *J. Anim. Sci.*, 13: 49-58.

Thorson JF., Karren BJ., Bauer ML., Cavinder CA., Coverdale JA. (2010). Effects of selenium supplementation and plane of nutrition on mares and their foals: foaling data. *J. Anim. Sci.*, 88: 982-990.

Türkmen K., Ecdar T., Türk S. (2012). Effects of selenium level on cell-mediated immunity and on antibody response to multivalent influenza vaccine in hemodialysis patients. *J. Anim. Sci.*, 21: 84-88.

Valladares-Carranza B., Zamora-Espinosa J.L., Peña-Betancourt S.D., Velázquez-Ordoñez V., Talavera-Rojas M., Alonso-Fresan M.U. Gutiérrez-Castillo A., Ortega-Santana C. (2013a). Bioavailability of selenium and herd health. In Abdelfattah Z.M. Salem, Ed., *Feed Nutrients and Animal Health. Roles of some Nutrients in Animal Health*. LAP LAMBERT Academic Publishing, Deutschland. Germany. pp. 127-147.

Valladares-Carranza B., Zamora-Espinosa J.L., Velázquez-Ordoñez V., Diaz-Zarco S., Ortega-Santana C., Peña-Betancourt S.D. (2013b). Selenium supplementation and the immune response of sheep. In Salem, A.F.Z.M., Ed., *Nutritional Strategies of Animal Feed Additives*, Nova Science Publishers, Inc., New York. pp. 121-130.

Valladares CB., Peña BSD., Ortega SC., Zamora E.J.L., Alonso F.M.U., Velázquez OV., Perez SLS., Sanchez MF. (2014). Evaluación de la vía de aplicación de selenio y vitamina E sobre los niveles de IgG F5+ de *Escherichia coli* y selenio sanguíneo en corderos. Summaries XLI AMPA-VII SASYP, Merida, Yucatan. México. Tropical and Subtropical Agroecosystems 17: 557.

## Efecto del número de mediciones de la producción de leche en la estimación de la curva de lactancia en cabras locales de la Comarca Lagunera, México

TORRES-HERNÁNDEZ, Glafiro, MALDONADO-JÁQUEZ, Jorge A., SALINAS-GONZÁLEZ, Homero y BECERRIL-PÉREZ, Carlos M.

*Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo. Km 36.5 Carretera México-Texcoco, CP. 56230 Montecillo, Edo. de México*

*INIFAP-Campo Experimental La Laguna, Blvd. José Santos Valdez # 1200 Pte., Col. Centro. CP. 27440, Matamoros, Coah., México*

Recibido Marzo 08, 2016; Aceptado Mayo 31, 2016

### Resumen

Se evaluó el efecto del número de medidas de producción de leche (MP) sobre la estimación de los parámetros de la curva de lactancia de las cabras locales. Este estudio se realizó con 14 productores ubicados en cinco comunidades de la Comarca Lagunera, Coahuila, México. MP se midió por medio de ordeñadores manuales durante cuatro años. Los datos analizados incluyeron 12097 observaciones de 1125 cabras locales de una a cuatro (o más) paridades. El modelo Wood se utilizó para caracterizar la curva de lactancia y sus parámetros ("a", "b" y "c"). Se formaron dos grupos: G1 (lactaciones con 3-7 medidas de leche) y G2 (lactancias con 8-11 medidas de leche). El criterio utilizado para determinar el número adecuado de medidas de producción de leche durante la lactancia fue el error estándar de la estimación. El mejor ajuste en la estimación de los parámetros de la curva se obtuvo en G2.

**Curvas de lactancia, persistencia, cabras**

### Abstract

The effect of number of measures of milk production (MP) on the estimation of lactation curve parameters of local goats was evaluated. This study was conducted with 14 producers located in five communities of Comarca Lagunera, State of Coahuila, México. MP was measured by means of monthly hand-milkings during four years. Data analyzed included 12097 observations from 1125 local goats from one to four (or more) parities. The Wood model was utilized to characterize the lactation curve and its parameters ("a", "b", and "c"). Two groups were formed, G1 (lactations with 3-7 milk measures), and G2 (lactations with 8-11 milk measures). The criterion utilized to determine the adequate number of milk production measures during lactation was the standard error of the estimate. The best fit in the estimation of the curve parameters was obtained in G2.

**Lactation curves, persistency, goats**

**Citación:** TORRES-HERNÁNDEZ, Glafiro, MALDONADO-JÁQUEZ, Jorge A., SALINAS-GONZÁLEZ, Homero y BECERRIL-PÉREZ, Carlos M. Efecto del número de mediciones de la producción de leche en la estimación de la curva de lactancia en cabras locales de la Comarca Lagunera, México. *Revista de Sistemas Experimentales*. 2016, 3-7: 22-26.

\*Correspondencia al Autor (Correo electrónico: glatohe@colpos.mx)

†Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

Existen más de 880 millones de cabras en el mundo (FAOSTAT, 2014), la mayoría de ellas en países en desarrollo (Montaldo & Manfredi, 2002), en áreas con condiciones ambientales adversas y tecnología pastoril tradicional (Peacock & Sherman, 2010). La leche de cabra se produce principalmente en India, Bangladesh, Pakistán, Mali, Francia y España (FAOSTAT, 2012), México es el segundo productor de cabras en el continente americano (Arbiza & de Lucas, 2001) y decimotercero en producción de leche mundial (FAOSTAT, 2013), donde predominan los caprinos “locales” (Montaldo et al., 2010).

La lactancia es un proceso biológico que representa en forma gráfica el perfil de producción de leche (PL) de un mamífero hembra desde el parto hasta el secado, o final de la PL (Marete et al., 2014).

El conocimiento de las curvas de lactancia es una herramienta útil en programas de mejora genética, ya que permite, entre otros usos, una mejor selección de hembras productoras de leche (Ángel-Marín et al., 2009). Para dar seguimiento a una curva de lactancia es necesario que se recolecten los registros de PL a través de toda la lactancia (Chang et al., 2001).

En la Comarca Lagunera de México no saben cuándo empezar a medir la PL, lo que les permitiría conocer la curva de dicha PL y de esta manera contar con elementos para estimar la calidad genética de sus cabras.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto que tiene el número de mediciones (pesajes) para caracterizar la curva de lactancia de cabras locales de la Comarca Lagunera, México.

## Materiales y métodos

El estudio se realizó con 14 productores de cabras en 5 unidades de producción, de las cuales 4 se ubican en el Municipio de Viesca y una en el Municipio de Matamoros, dentro del Estado de Coahuila, de la Comarca Lagunera. Esta región tiene 1100 msnm, un clima muy seco o desértico, semi-cálido con invierno fresco, una precipitación media anual de 240 mm y una temperatura media anual a la sombra de 25 °C (García, 1988).

Las cabras se manejan en sistema extensivo, con pastoreo diurno y encierro nocturno, sin suplementación alimenticia. La alimentación de las cabras fue con especies vegetales nativas de la región, con pastos (*Sporobolus spp.* y *Muhlenbergia spp.*), arbustivas como huizache (*Acacia spp.*) y mezquite (*Prosopis spp.*), ocasionalmente el ganado tuvo acceso a esquilmos agrícolas de cultivos de melón (*Cucumis melo*), sandía (*Citrillus lanatus*), avena forrajera (*Avena sativa*) y sorgo (*Sorghum halepense*).

Se analizaron 2229 lactancias de 1125 cabras. Para la curva de lactancia se utilizó la función gamma incompleta (Wood, 1967), utilizada mucho en cabras locales (Gaddour et al., 2009), y que estima la PL con un buen nivel de aproximación (Portolano et al., 1996). El modelo es:  $y_n = a n^b e^{-cn}$ , donde  $Y_n$  = producción de leche (PL) en el n-ésimo día de la lactancia,  $e$  = base del logaritmo natural, “a”, “b” y “c” = constantes que tienen que estimarse mediante una transformación logarítmica y posterior análisis de regresión múltiple. Se formaron dos grupos, el grupo 1 (G1) incluyó lactancias con 3 a 7 medidas (1888 lactancias), mientras que el grupo 2 (G2) incluyó lactancias de 8 a 11 medidas (339 lactancias).

Lactancias más largas de lo normal en cabras se traducen en un incremento en PL (Douhard et al., 2013), lo que significa prolongar la lactancia y, como consecuencia, incrementar la persistencia de la lactancia.

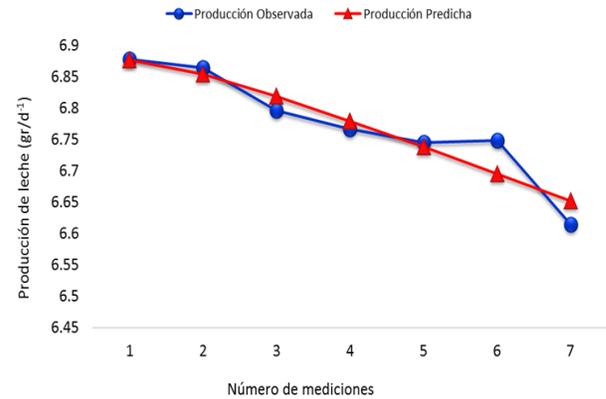
**Resultados y discusión**

El mejor ajuste en la estimación de los parámetros de la curva de lactancia se obtuvo con más medidas de la PL (Tabla 1). Se puede observar que en G1 el error estándar es mayor al valor del parámetro “b”. Por otra parte, al incrementar el número de medidas de la PL en G2 el valor del estimador aumenta, mientras que el del error estándar disminuye. Las diferencias entre modelos para estimar curvas de lactancia en vacas lecheras son más grandes cuando la cantidad de medidas disminuye (Silvestre et al., 2006). Yépez et al. (2010) evaluaron el efecto de medidas mensuales y quincenales sobre la PL y estimación de la curva de lactancia y no encontraron diferencias significativas entre los 2 métodos, lo que se significa un ahorro considerable de la mano de obra y estrés en los animales.

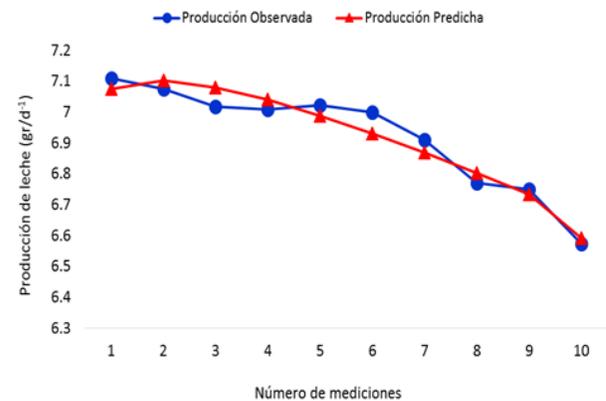
| Grupo | Parámetro | Estimador | Error Estándar |
|-------|-----------|-----------|----------------|
| G1    | A         | 6.8005    | 0.0118         |
|       | B         | 0.0293    | 0.0314         |
|       | C         | -0.0426   | 0.0115         |
| G2    | A         | 7.0597    | 0.0193         |
|       | B         | 0.1567    | 0.0402         |
|       | C         | -0.0828   | 0.0105         |

**Tabla 1** Estimación de los parámetros de la curva de lactancia de acuerdo al número de mediciones de la producción de leche, en cabras locales de la Comarca Lagunera

Las curvas de lactancia de los grupos G1 y G2 (Gráficos 1 y 2, respectivamente) se estimaron con base en los parámetros que aparecen en la Tabla 1.



**Gráfico 1** Curva de lactancia para G1 (3-7 observaciones) de cabras locales de la Comarca Lagunera. La información de producción de leche se colectó en gr/día, los valores de producción de leche se presentan como el valor de logaritmo de y



**Gráfico 2** Curva de lactancia para G2 (8-11 observaciones) de cabras locales de la Comarca Lagunera. La información de producción de leche se colectó en gr/día, los valores de producción de leche se presentan como el valor de logaritmo de y

En ambas curvas el pico de producción se presenta al inicio de la lactancia y decrece de manera gradual. La curva de lactancia en G2 tiende a representar la curva típica de cabras lecheras (Rojo-Rubio et al., 2015). Resultados similares encontraron León et al. (2012) en cabras Murciano-Granadina de España, Marete et al. (2014) en cabras locales de Kenya, y Takma et al. (2009) en cabras Bornova de Turquía.

El estudio de las curvas de lactancia permite identificar errores en el manejo del rebaño, alimentación deficiente y conocer la evolución de la producción lechera, así como sus variaciones a lo largo de una lactancia (León et al., 2007). Las curvas de lactancia no han sido estudiadas en cabras del norte de México (Escareño et al., 2012), de ahí, la importancia de generar esta información en México.

### Conclusiones

Con más mediciones de la producción de leche durante la lactancia se estima mejor la curva de lactancia, que se asemeja a la curva de lactancia típica de cabras lecheras.

### Agradecimientos

El trabajo fue apoyado por el INIFAP-Laguna

### Referencias

- Ángel-Marín, P.A., Agudelo-Gómez, D.A., Restrepo, L.F., Cañas-Álvarez, J.J. & Cerón-Muñoz, M.F. (2009). Curvas de lactancia de cabras mestizas utilizando modelos matemáticos no lineales. *Revista Lasallista de Investigación*, 6(1):43-49.
- Arbiza, A.S.I. & de Lucas T.J. (2001). La leche caprina y su producción. Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán (UNAM). Editores Mexicanos Unidos. 211 Pp.
- Chang, Y.M. Rekaya, R., Gianola, D. & Thomas, D.L. (2001). Genetic variation of lactation curves in dairy sheep: A Bayesian analysis of Wood's function. *Livestock Production Science*, 71:241-251.
- Douhard, F., Friggens, N.C., Tessier, J., Martin, O., Tichit, M. & Sauvant, D. (2013). Characterization of a changing relationship between milk production and liveweight for dairy goats undergoing extended lactation. *Journal of Dairy Science*, 96:5698-5711.
- Escareño, L., Salinas-González, H., Wurzinger, M., Iñiguez, L., Sölkner, J. & Meza-Herrera, C. (2012). Dairy goat production systems: Status quo, perspectives and challenges. *Tropical Animal Health Production*, 45(1):17-34.
- FAOSTAT. (2012). Estadísticas de producción de leche de cabra a nivel mundial y nacional. Recuperado el 4 de julio del 2015 de <http://faostat.fao.org/site/569/DesktopDefault.aspx?PageID0569#anchor>
- FAOSTAT. (2013). Estadísticas de producción de leche de cabra a nivel mundial y nacional. Recuperado el 14 de julio del 2015 de <http://faostat.fao.org/site/569/DesktopDefault.aspx?PageID0569#anchor>
- FAOSTAT. (2014) Existencias de ganado caprino en el mundo. Recuperado el 20 de noviembre del 2015 de <http://faostat3.fao.org/download/Q/QA/S>
- Gaddour, A., Najari, S. & Ferchichi, A. (2009). Lactation curve of local goat, pure breeds and crosses in Southern Tunisia. *Journal of Applied Animal Research*, 36(1):153-157.
- García, E. (1988). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. 217 Pp.
- León, J.M., Macciota, N.P.P., Gama, L.T., Barba, C. & Delgado, J.V. (2012). Characterization of the lactation curve in Murciano-Granadina dairy goats. *Small Ruminant Research*, 107:76-84.

León, J.M., Quiroz, J., Pleguezuelos, J., Martínez, E. & Delgado, J.V. (2007). Curva de lactación para el número de lactación en cabras murciando-granadinas. *Archivos de Zootecnia*, 56(1):641-646.

Marete, A.G., Mosi, R., O., Amimo, J.O. & Jung, J.O. (2014). Characteristics of lactation curves of the Kenya Alpine dairy goats in smallholder farms. *Open Journal of Animal Sciences*, 4:92-102.

Montaldo, H.H. & Manfredi, E. (2002). Organization of selection programmes for dairy goats. Common. No. 01–35. In: *Proceedings of the seventh World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Montpellier, France. Pp: 1-8.

Montaldo, H.H., Torres-Hernández, G. & Valencia-Posadas, M. (2010). Goat breeding research in Mexico. *Small Ruminant Research*, 89:155–163.

Peacock, C. & Sherman, D.M. (2010). Sustainable goat production-some global perspectives. *Small Ruminant Research*, 89:70–80.

Portolano, B., Spatafora, F., Bono, G., Margiotta, S., Todaro, M., Ortoleva, V. & Leto, G. (1996). Application of the Wood model to lactation curves of Comisana sheep. *Small Ruminant Research*, 24:7-13.

Rojo-Rubio, R., Kholif, A.E., Salem, A.Z., Mendoza, G.D., Elghandour, M.; Vázquez-Armijo, J.F. & Lee-Rangel, H. (2015). Lactation curves and body weight changes of Alpine, Saanen and Anglo-Nubian goats as well as pre-weaning growth of their kids. *Journal of Applied Animal Research*, Doi: 10.1080/09712119.2015.1031790

Silvestre, A.M., Petim-Batista, F. & Colaco, J. (2006). The accuracy of seven mathematical functions in modeling dairy cattle lactation curves based on test-day records from varying sample schemes. *Journal of Dairy Science*, 89(5):1813-1821.

Takma, C., Akbas, Y. & Taskin, T. (2009). Modeling lactation curves of Turkish Saanen and Bornova goats. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 4(3):122-129.

Wood, P.D.P. (1967). Algebraic model of the lactation curve in cattle. *Nature*, 216:164-165.

Yépez, R.H., Rúa-Bustamante, C.V., Idárraga-Idárraga, Y., Arboleda-Zapata, E., Calvo-Cardona, S., Montoya-Atehortúa, A., Cardona-Cadavid, H. & Cerón-Muñoz, M. (2010). Estimación de las curvas de lactancia y producción de leche de cabras del departamento de Antioquia, usando controles lecheros quincenales y mensuales. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 5(2):30-35.

## El bloqueo farmacológico de los receptores ováricos a la dopamina altera el ciclo estral y la ovulación en la rata adulta

GONZÁLEZ, Karla <sup>\*†</sup>, MORÁN, José Luis, HANDAL, Anabella y REYNOSO, Alejandro <sup>\*</sup>

*Departamento de Biología y Toxicología de la Reproducción, Instituto de Ciencias  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia / Benemérita Universidad Autónoma de Puebla*

Recibido Febrero 25, 2016; Aceptado Junio 05, 2016

### Resumen

Se compararon los efectos de la microinyección (MI) de dos antagonistas dopaminérgicos (AD's): haloperidol (HLP) o N-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-dihidroquinolina (EEDQ) dentro de las bursas ováricas sobre la duración del ciclo estral (CE) hasta el siguiente estro vaginal (EV) y el número de ovocitos liberados (cuota ovulatoria: CO) en ratas hembra con CE regular. A las 13:00h de uno de cada día del CE, animales con CE regular recibieron una MI con 100 µg de HLP o EEDQ. Los grupos control recibieron MI con NaCl 0.09% o etanol-agua 1:1, respectivamente. Se midió la duración del CE y la CO hasta la mañana del siguiente EV. El CE en los grupos control no se modificó (CE: 4.6±0.4 días; n=32) pero la MI de los AD's lo prolongó (6.9±0.6 días vs. 4.6±0.4 días; \*p<0.01). La MI con HLP en los días de diestro, prolongó el CE hasta 11.0±0.7 días respecto al grupo control (\*p<0.001). El EEDQ redujo la CO comparado con el HLP (HLP: 10.5±0.6 ovocitos vs. EEDQ: 8.6±0.5 ovocitos; \*p<0.02). El bloqueo de los receptores a dopamina (RDA) inducido por HLP interrumpió las señales que controlan el CE pero no afectó la CO; en cambio, la MI con EEDQ disminuyó la CO pero no alteró la duración del CE. Los resultados muestran que los RDA del ovario participan en el control de la función ovárica y del CE (\* Prueba de U de Mann-Whitney).

**Haloperidol, EEDQ, Receptores a Dopamina, Ciclo Estral, Ovulación, Rata Hembra**

### Abstract

To compare the effects of microinjection (MI) for two dopaminergic antagonists (DA's): N-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-dihidroquinolina (EEDQ) or haloperidol (HLP) inside of ovarian bursae on estral cycle (EC) length to next vaginal estrous (VE) and ova shed (ovulatory quote; OQ) in female rats that exhibits regular EC. At 13:00h on one each day of EC, regular EC animals received a MI of 100 µg with HLP or EEDQ. Control groups received MI of NaCl 0.09% or ethanol-water 1:1 respectively. We valued EC length and OC to next VE morning. The EC length in control groups were not modified (EC length: 4.6±0.4 days; n=32) but the DA's MI prolonged its duration (6.9±0.6 days vs. 4.6±0.4 days; \*p<0.01). The HLP MI performed on diestrous days, prolonged EC duration since 11.0±0.7 days compared with control groups (\*p<0.001). EEDQ reduced the OQ compared to HLP group (HLP: 10.5±0.6 oocytes vs. EEDQ: 8.6±0.5 oocytes; \*p<0.02). The pharmacological blocking of dopamine receptors induced by HLP, disrupts control signaling of EC but not modifies CO; opposing, EEDQ MI diminished OQ but not modifies EC length. Those results shown that ovarian dopaminergic receptors participate on ovarian function and EC control (\* U of Mann-Whitney test).

**Haloperidol, EEDQ, Dopamine Receptors, Estral Cycle, Ovulation, Female Rat**

**Citación:** GONZÁLEZ, Karla, MORÁN, José Luis, HANDAL, Anabella y REYNOSO, Alejandro. El bloqueo farmacológico de los receptores ováricos a la dopamina altera el ciclo estral y la ovulación en la rata adulta. *Revista de Sistemas Experimentales*. 2016, 3-7: 27-45.

\*Correspondencia al Autor (Correo electrónico: karlagq469@hotmail.com)

†Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

Domínguez y colaboradores (1987) evaluaron los efectos de un antagonista dopaminérgico en diferentes fases del ciclo estral sobre la ovulación y la distribución de la población folicular de los ovarios de la rata adulta.

En este experimento se utilizaron ratas con ciclos regulares de cuatro días que fueron inyectadas con haloperidol (2.5 mg/kg de peso; i.m.), a las 13:00 horas del día estro, diestro-1, diestro-2 y proestro. Los animales se sacrificaron en el día del estro esperado.

El haloperidol bloqueó la ovulación cuando se administró en el estro y diestro-1 pero fue menos efectivo cuando se administró en el diestro-2 y en el proestro; la población folicular mostró alteraciones en el crecimiento de los folículos ováricos que dependieron del momento del bloqueo farmacológico del sistema dopaminérgico.

Estos resultados permitieron sugerir que la información dopaminérgica en la primera mitad del ciclo estral es fundamental para que la secuencia de eventos neuroendocrinos y endocrinos que culminan con la ovulación se lleve a cabo de manera normal.

Recientemente hemos re-evaluado la participación de la dopamina en la regulación del ciclo estral y la ovulación espontánea de la rata.

Venegas y colaboradores (2015), mostraron la existencia virtual de un sistema dopaminérgico local en el ovario de la rata adulta que participa de modo crítico en la regulación del ciclo estral y la ovulación espontánea, con papeles variables a lo largo del ciclo estral e incluso de acuerdo a la hora del día en que se analiza su función.

Sus resultados son altamente concordantes con las observaciones previas (Domínguez et al, 1987) y muestran claros efectos que antagonismo local en el ovario de los receptores a la dopamina incide directamente sobre el ciclo estral, es decir, la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas por una vía de comunicación que no es exclusivamente hormonal.

A partir de los resultados de este trabajo, podemos pensar que es muy probable que existan señales nerviosas que se generan desde el ovario y que alcanzan sitios al nivel central que coordinan y controlan el ciclo estral con la ovulación.

En relación a esto último, se sabe que el ovario recibe fibras nerviosas que ingresan por la médula y se distribuyen hacia la corteza hasta alcanzar el estroma ovárico y la teca folicular (Burden, 1985). Esta inervación proviene del plexo ovárico y del nervio ovárico superior (Lawrence & Burden, 1980).

Este último está íntimamente relacionado con el control de la esteroidogénesis ya que sus fibras alcanzan la teca externa de los folículos (Aguado, 2002). Otras fibras se introducen en el estroma ovárico y contactan con células intersticiales que indirectamente se relacionan con las células del cuerpo lúteo (Erickson et al, 1985; Erickson, 1995). La mayoría de sus fibras que viajan por el nervio ovárico superior provienen de las neuronas simpáticas post-ganglionares ubicadas en el ganglio celiaco (Klein & Burden, 1988).

La mayoría de las fibras que inervan los ovarios y que viajan por el nervio ovárico superior provienen de las neuronas simpáticas post-ganglionares ubicadas en el ganglio celiaco (Klein & Burden, 1988).

La noradrenalina se encuentra en altas concentraciones en el tejido ovárico donde se le atribuyen efectos moduladores en el crecimiento folicular y las funciones del cuerpo lúteo (Dissen et al 1993; Hsueh et al., 1984; Mayerhofer et al., 1997; Ojeda et al., 1989). Sin embargo, también se ha demostrado la presencia de dopamina y sus receptores en diferentes tejidos del ovario (Gay et al, 2004; King et al, 2005; Mayerhofer et al, 2000; Rey-Ares et al, 2007), pero su papel funcional en el tejido gonadal aún debe ser esclarecido.

El haloperidol es una butirofenona y antagonista con los receptores dopaminérgicos, es ampliamente utilizado en la terapia de pacientes con esquizofrenia aguda y crónica (Litter, 1988); por sus acciones neurolepticas, tranquilizantes y antipsicóticas también es efectivo en el tratamiento de pacientes con problemas conductuales severos como la hiperexcitabilidad explosiva y la hiperactividad, así como en aquellos casos clínicos caracterizados por actividad motora excesiva acompañada de desórdenes conductuales como: impulsividad, déficit de atención, agresividad, explosividad lábil e intolerancia a la frustración (Kudo & Ishizaki, 1999). Los análisis farmacocinéticos del haloperidol lo ubican como un antagonista muy potente de los receptores dopaminérgicos DA1 y DA2. Se ha mostrado que el haloperidol interactúa tanto con los receptores de los subtipos DA1 (con una potencia relativa en el orden de  $\mu\text{M}$ ) como con los del subtipo DA2 (con una potencia relativa en el orden de nM) (Cooper, et al 1996).

El haloperidol atraviesa la barrera hematoencefálica e interactúa con los dos tipos de receptores dopaminérgicos, por lo que se han podido estudiar sus efectos fisiológicos, bioquímicos y farmacológicos involucrados con las vías dopaminérgicas a nivel central y periférico.

En el sistema central actúa en los receptores DA1 y DA2 produciendo disminución en la actividad motora y con dosis elevadas provoca un estado de inmovilidad y catalepsia (Litter, 1988). A nivel periférico, la estimulación de los receptores DA1 produce vasodilatación renal, mesentérica y coronaria, en tanto que la estimulación de los DA2 determina la reducción de las descargas de noradrenalina (Cavero et al, 1982).

En humanos, se conocen con detalle los parámetros farmacocinéticos básicos y la disposición metabólica del haloperidol luego de la administración oral, intravenosa o intramuscular del haloperidol, así como aquellos relacionados con su degradación y eliminación. Se sabe que las enzimas involucradas en la biotransformación del haloperidol incluyen a la Citocromo P450 (CYP), la Carbonil reductasa y la Uridin difosfato glucosa glucuronosiltransferasa (Kudo & Ishizaki, 1999).

Por lo anterior, el haloperidol es un fármaco adecuado para los estudios experimentales que buscan analizar el papel funcional de la dopamina y sus receptores. Algunos antecedentes señalados en párrafos anteriores (Domínguez et al, 1987; Morán & Domínguez, 1995; Vengas, et al, 2015), permiten sugerir su uso en dosis fisiológicas adecuadas y con fundamento en los estudios del *binding* y de la farmacocinética de sus receptores (Kudo & Ishizaki, 1999; Uchida et al, 2007), ya que aparentemente afecta de modo claro la respuesta de los órganos donde la dopamina ejerce sus acciones biológicas.

Hemos observado que la administración subcutánea de una dosis única de haloperidol en la primera (Ramírez-Ávila, 2001) o en la segunda mitad del ciclo estral (Pastelín-Rojas, 2003) interrumpe el ciclo e inhibe de modo claro la secreción de gonadotropinas y de estrógenos.

Además, independientemente del momento del ciclo estral en que se realizó el bloqueo de los receptores dopaminérgicos, el desarrollo folicular se ve interrumpido y los índices de atresia se incrementan casi de manera absoluta en los animales.

Si bien estos efectos del haloperidol administrado subcutáneamente pudieron ser explicados por la interrupción de la secreción de gonadotropinas, el reemplazo hormonal fue ineficaz para restablecer de la función ovárica (Vargas-Torres, 2002), lo que nos permite suponer que el bloqueo farmacológico de la inervación dopaminérgica de los ovarios pudiera involucrar de manera directa los mecanismos que controlan la función ovárica.

En otros estudios, el implante unilateral con haloperidol a las 13:00 h en uno de los diferentes días del ciclo estral dentro del hipotálamo anterior disminuyó la tasa de ovulación en animales tratados en estro o diestro-1, lo que no ocurrió cuando los implantes se realizaron en diestro 2 o proestro los animales ovularon (Morán & Domínguez, 1995). Estos resultados permitieron sugerir que existe un sistema dopaminérgico en el hipotálamo anterior que participa en el control de la ovulación y, además que esta participación está lateralizada (Morán & Domínguez, 1997). La N- Etoxicarbonil- 2 Etoxi - 1,2 - Dihidro Quinolina (EEDQ) es utilizado como agente acoplante en la síntesis de péptidos (Referencia 3478; Merck Index, 1976), sin embargo por sus propiedades farmacológicas se utiliza en investigación como antagonista de diversos neurotransmisores. Su fórmula empírica es  $C_{14}H_{17}NO_3$ , su peso molecular es de 247.29g/mol; soluble en dimetilsulfóxido y etanol-agua 1:1. En el SNC, posee actividad depresiva por lo que se utiliza como analgésico y tranquilizante en animales de experimentación.

Con base en estudios farmacológicos, se describe como una neurotoxina dopaminérgica y antagonista específico que se une de manera irreversible a receptores monoaminérgicos como los adrenérgicos, dopaminérgicos ( $DA_1$ ), muscarínicos y posiblemente serotoninérgicos (Gozlan et al, 1994; Martel *et al*, 1969; Weissman & Muren, 1971).

Lévesque & Di Paolo (1988) mostraron que en la rata ovariectomizada tratada con estradiol, la densidad de receptores dopaminérgicos en los cuerpos estriados se incrementa de manera significativa, mientras que la densidad del receptor  $DA_2$  en la adenohipófisis no se modifica. En este modelo, la administración periférica de EEDQ produjo un decremento del 80% en la densidad de receptores  $DA_1$  y  $DA_2$  en el estriado, con una posterior recuperación de la repoblación en el receptor  $DA_1$  pero no del  $DA_2$  en esta estructura cerebral. Por otra parte, tras el tratamiento con EEDQ, ocurrió un decremento del 50% de los receptores  $DA_2$  en la adenohipófisis. Estos resultados permitieron sugerir que el EEDQ puede producir efectos diferenciales cuando se une de modo irreversible al receptor  $DA_1$  respecto a lo que ocurre cuando bloquea al receptor  $DA_2$ . En este trabajo se puso de manifiesto que la sola administración de EEDQ en ratas sin tratamiento con estradiol no se modificaron las concentraciones plasmáticas de prolactina; en cambio, en animales que recibieron el estímulo esteroideogénico y que fueron tratadas con EEDQ, las concentraciones plasmáticas de prolactina se incrementan respecto a animales tratados con estradiol que no recibieron EEDQ.

Resultados de nuestro laboratorio, han mostrado que la microinyección intracerebral con EEDQ a las 13:00 h en el hipotálamo anterior de ratas adultas con ciclos regulares de cuatro días de duración indujo cambios en el patrón de la ciclicidad vaginal dentro de los cuatro ciclos estrales que siguen a la microinyección de la neurotoxina, se prolongó significativamente la duración del primer ciclo estral, lo que permitió sugerir que las señales dopaminérgicas centrales participan en la regulación del ciclo estral al afectar la secreción de gonadotropinas y de esteroides ováricos (Meléndez et al, 2002).

Todos estos antecedentes muestran algunos efectos del bloqueo sistémico de los receptores dopaminérgicos sobre el funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-ovario y ponen de manifiesto el papel crítico que desempeña la dopamina en la función reproductiva de la hembra, en relación con las vías de comunicación neuroendocrinas, endocrinas y aparentemente, neurocrinas (Domínguez et al, 1987; Morán & Domínguez, 1995). Sin embargo, no existen evidencias claras de que el ovario utilice a la dopamina como un neurotransmisor clásico, o bien, como un neuromodulador.

Se ha detectado la presencia de dopamina y sus receptores en diferentes compartimentos ováricos, pero se discute su papel funcional en estos tejidos (Aguado et al, 1982; Anesetti et al, 2001; Bodis et al, 1992; Bodis et al, 1993; Lara et al, 2001; D'Albora & Barcia, 1996; D'Albora et al, 2000; Mayerhofer et al, 1997; Rey-Ares et al, 2007).

Otros estudios que han analizado el papel de la dopamina en la periferia postulan que actúa como un modulador de las funciones renales y cardiovasculares (Amneta et al, 2002) y es factible que en los ovarios desempeñe funciones semejantes.

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

Si la dopamina detectada en el ovario actuara como un modulador de las acciones de otros neurotransmisores, tal y como lo hacen la noradrenalina y el VIP (Dissen et al, 1993; Hsueh et al, 1984; Mayerhofer et al, 1997; Ojeda et al, 1989), y de las hormonas clásicas que participan en los mecanismos que regulan las funciones ováricas (Adashi & Hsueh, 1981; Aguado et al, 1982; Dyer & Erickson, 1985), ello explicaría los cambios sobre la respuesta ovulatoria y sus efectos sobre el desarrollo folicular observados en los estudios del bloqueo sistémico de los receptores a la dopamina señalados líneas arriba.

Sin embargo, no hay estudios que confirmen la presencia de dopamina en terminales sinápticas, tanto aquellas de origen extrínseco (Lara et al, 2001; Lawrence & Burden, 1980; Ojeda & Aguado, 1985; Ojeda & Skinner, 2006) como la proveniente de neuronas ováricas intrínsecas (D'Albora et al, 2000; D'Albora et al, 2002; Dees et al, 2006) y de las que aún desconocemos su papel funcional en las funciones ováricas.

Por otra parte, diferentes estudios han descrito los efectos de la denervación quirúrgica (Chávez et al, 1987; Cruz et al, 1986; Domínguez et al, 1989) o del bloqueo farmacológico de las influencias colinérgicas y catecolaminérgicas (Domínguez et al, 1982; Domínguez et al, 1985; Domínguez et al, 1987) sobre el desarrollo folicular y la ovulación de los ovarios derecho e izquierdo y permiten postular una virtual conexión entre las estructuras centrales que controlan la secreción de gonadotropinas y su influencia sobre la regulación de las funciones ováricas. Varios estudios apoyan la existencia de esta vía de comunicación directa entre las gónadas y el SNC, particularmente con el hipotálamo (Dissen & Ojeda, 1999; Fukuda et al, 1984; Gerendai et al, 1998; Mizunuma et al, 1983; Nance et al, 1983; Nance & Moger, 1982; Tóth et al, 2007).

De acuerdo a lo anterior, no hay evidencias claras que describan el papel funcional de la dopamina presente en los tejidos ovarios. Los diferentes estudios que abordan el análisis del papel de la innervación ovárica sobre las funciones de la gónada se han enfocado en los sistemas noradrenérgicos y peptidérgicos (Aguado, 2002; Ahmed et al, 1986; Ben-Jonathan et al, 1982; Burden, 1978; Davoren & Hsueh, 1985; Dees et al, 1985; Dees et al, 2006; Dissen & Ojeda, 1999; Mayerhofer et al, 1997; McNeill & Burden, 1987), funciones que se afectan sensiblemente cuando se modifican las influencias nerviosas que llegan al ovario (Burden, 1985; Curry et al, 1984a; Curry et al, 1984b; Lara, 1990).

Con base en todos estos antecedentes, particularmente en aquellos en los que se muestra que el bloqueo sistémico y central de los receptores a la dopamina sobre las funciones que conducen a la ovulación, podemos plantear que este mediador químico participa activamente en el control de las funciones ováricas.

Existen claras evidencias de la presencia de dopamina y sus receptores en los tejidos ováricos pero el papel funcional aún no ha sido descrito. Aparentemente, esta participación varía a lo largo del ciclo estral e incluso en el momento del día en que se analiza su función (Domínguez et al, 1987; Venegas et al, 2015). Por lo anterior, en el presente estudio se analizaron los efectos del bloqueo de los receptores dopaminérgicos a las 13:00 horas, inducido por la microinyección de haloperidol o de EEDQ dentro de las bursas ováricas, en diferentes días del ciclo estral de la rata adulta, evaluando la respuesta ovulatoria y la duración del ciclo estral, estimada por los cambios en el patrón de ciclicidad vaginal. Determinar el papel funcional de la información dopaminérgica que está presente en los ovarios y que pudiera relacionarse con los mecanismos que controlan el desarrollo folicular y la ovulación de la rata adulta sería un avance notable en la investigación a nivel reproductivo.

### Materiales y Métodos

**Material Biológico:** Se utilizaron 64 ratas hembras adultas de la cepa CII-ZV, con edades de 90-120 días y con peso corporal de 200-250 g, mantenidas en condiciones de iluminación controlada (14 horas luz / 10 horas oscuridad; luces de las 05:00 a las 19:00 horas) y con libre acceso al agua y al alimento balanceado.

**Frotis Vaginal:** Con el fin de controlar las fases del ciclo reproductor, se realizaron los registros del ciclo estral por medio de frotis vaginales que se tomaron diariamente entre las 08:00 y las 09:00 horas. Una vez que los animales presentaron tres ciclos consecutivos de cuatro días de duración (diestro-1, diestro-2, proestro y estro; ratas cíclicas) fueron asignados a los diferentes experimentos

**Grupos Experimentales:** Todas las ratas cíclicas que mostraron 3 ciclos estrales regulares consecutivos fueron distribuidas en grupos experimentales por cada día del ciclo estral (4 hembras en diestro-1, diestro- 2, proestro o estro) un total de 16 por tratamiento para evaluar el efecto de cada fármaco con su respectivo control, realizando una microinyección bilateral de cada solución experimental (descripción líneas abajo).

**Grupos con Haloperidol:** 16 ratas hembra adultas con ciclos estrales regulares a las que se les administró 20 µl de solución de haloperidol (5mg/ml ovario; diluido en NaCl 0.9% vehículo) dentro de cada bursa ovárica.

**Grupos con EEDQ:** 16 ratas hembras adultas cíclicas a las que se les administró 20 µl de solución de EEDQ (5mg/ml ovario; diluido en etanol+ solución de agua destilada 1:1 vehículo) dentro de cada bursa ovárica.

**Grupos Control:** Un grupo de 16 ratas hembras adultas cíclicas a las que se les administró 20 µl de solución de NaCl 0.9% dentro de cada bursa ovárica. Otro grupo de 16 ratas hembras adultas cíclicas a las que se les administró 20 µl de solución de etanol+ solución de agua destilada 1:1 dentro de cada bursa ovárica.

**Material de Laboratorio:** Máquina afeitadora con cuchillas del No. 40, mesa de disección, bomba de perfusión nanomolar conectada a un microinyector motorizado, jeringas Hamilton de 100µL, fuente de luz conectada a dos conductores de fibra óptica, solución de clorhexidina al 2%, éter etílico como sedante-anestésico, instrumental para microcirugía diverso: tijera iris de disección, tijera punta fina, pinzas hemostáticas, pinzas de disección de punta fina, sutura quirúrgica 4-0 y 2-0, bisturí, gasa quirúrgica estéril.

**Laparotomía Bilateral:** Una vez detectados los animales que cumplieron al menos tres ciclos estrales regulares consecutivos de cuatro días de duración, fueron asignados a sus respectivos grupos experimentales y a las 13:00h del diestro-1, diestro-2, proestro o estro fueron sedados con vapores de éter etílico y sometidos a una laparotomía bilateral, que consistió en una incisión quirúrgica dorso-lateral en la región pélvica al nivel del ovario, cortando piel y musculo. Se exteriorizó cada ovario y por medio de una bomba de perfusión nanomolar, se infiltraron a través de la bursa ovárica 20 µl de cada solución por ovario. Una vez realizada la microinyección, cada ovario fue reingresado a la cavidad peritoneal, se suturó el músculo y la piel con seda quirúrgica y se colocó un cicatrizante de uso veterinario.

A la mañana siguiente de la laparotomía, en todos los animales se reanudó el registro del ciclo estral hasta observar el signo del estro vaginal (estro vaginal observado) y realizar así la eutanasia en esa mañana.

**Eutanasia.** Todos los animales fueron sacrificados por decapitación entre las 08:00-09:00 h de la mañana del primer estro vaginal observado. A la autopsia, se disecaron los ovarios y los oviductos. Los oviductos se inspeccionaron para realizar el conteo directo del número de ovocitos liberados y los ovarios fueron procesados para su análisis histológico del modo que se describe a continuación. Los ovarios fueron colocados en solución fijadora de böuin por 24 horas y posteriormente incluidos en bloques de parafina con el fin de contar el número de cuerpos lúteos frescos y observar cambios en el aspecto general de la histología ovárica (médula ovárica: vasos sanguíneos y vasos linfáticos; corteza: folículos, glándula intersticial y cuerpos lúteos).

### Conteo de Cuerpos Lúteos Frescos.

Además del conteo directo de los ovocitos liberados, también se realizó el conteo del número total de cuerpos lúteos frescos en cada ovario con el fin de comprobar el conteo directo en la mañana del estro vaginal observado. Las características que se tomaron en cuenta para considerar un cuerpo lúteo fresco fueron las siguientes:

1. Extravasación central de sangre en el cuerpo lúteo.
2. Presencia de cavidades rellenas de sangre.
3. Presencia de poblaciones celulares heterogéneas: las células de la
4. Granulosa luteinizadas tienen formas poligonales, de aspecto pálido y pueden ser grandes o chicas con núcleo y citoplasma bien definidos. Las células luteinizadas de la teca son más pequeñas que las del folículo.
5. Tamaño del cuerpo lúteo fresco aproximadamente de tamaño similar a un folículo preovulatorio.

### Análisis Estadístico.

Los resultados del conteo del número de días de duración del ciclo estral, el número de ovocitos liberados y el número de cuerpos lúteos frescos fueron analizados mediante la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn; en los casos en los que compararon pares de medianas se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney.

En todos los casos se consideraron estadísticamente significativas las diferencias cuya probabilidad fue menor o igual al 0.05. Para el análisis de los datos se utilizó el programa *StatGraph InStat versión 3.06* para Windows (Copyright 1992-2003; GraphPad Software Inc.).

### Resultados

No se observaron cambios significativos en la duración del ciclo estral entre los grupos control, por lo que reunidos en un solo grupo testigo mostraron una duración media de  $4.6 \pm 0.4$  días (N=32).

La microinyección en las bursas ováricas de los antagonistas de la dopamina (N=32) prolongó significativamente la duración del ciclo estral ( $6.9 \pm 0.6$  vs.  $4.6 \pm 0.4$  días;  $p < 0.01$ , U de Mann-Whitney) pero solo la microinyección con haloperidol realizada en los días Diestro-1 y Diestro-2 lo prolongó claramente respecto al testigo (haloperidol:  $11.0 \pm 0.7$  días vs. testigo:  $4.6 \pm 0.4$  días;  $p < 0.001$ , U de Mann-Whitney), lo que no ocurrió en los grupos tratados con EEDQ (Tabla 1).

En todos los casos, el número de cuerpos lúteos frescos contado en los cortes histológicos entre los diferentes grupos fue equivalente al del número de ovocitos liberados durante el conteo directo al analizar los oviductos de los animales tratados, por lo que en la tabla de resultados respectiva solo se indica el análisis de este último (Tabla 2).

| Grupo     | Salina  | HLP        | Et-Wat    | EEDQ      |
|-----------|---------|------------|-----------|-----------|
| Estro     | 4.0±0.0 | 4.8±0.3    | 4.0 ± 0.0 | 8.8 ± 2.4 |
| Diestro-1 | 4.5±0.3 | 11.0±0.7 * | 6.3 ± 2.0 | 7.4 ± 1.7 |
| Diestro-2 | 6.3±2.3 | 11.0±1.5** | 4.0 ± 0.0 | 4.0 ± 0.0 |
| Proestro  | 4.0±0.0 | 5.0±0.6    | 6.5 ± 2.5 | 4.0 ± 0.0 |

\*  $p < 0.05$  vs. Control y todos los grupos en Estro y Proestro; \*\*  $p < 0.05$  vs. Todos los grupos en Estro y en Proestro (Kruskal-Wallis seguido de la Prueba de Comparaciones Múltiples de Dunn).

**Tabla 1** Media  $\pm$  e.e.m. de la duración (días) del ciclo estral de los animales que recibieron una microinyección bilateral con 20  $\mu$ l de una solución de Haloperidol (HLP) o EEDQ (5 mg/ml) dentro de las bursas ováricas (1.25  $\mu$ L/seg /ovario). Los grupos control recibieron la microinyección con 20  $\mu$ l NaCl 0.9 % (Salina) o Etanol-Agua (Et-Wat). Todos los animales fueron sacrificados en la mañana del siguiente estro vaginal observado

El número de ovocitos liberados no se modificó significativamente en ninguno de los grupos experimentales.

Sin embargo, el análisis global de la cuota ovulatoria de los animales que recibieron la microinyección de los antagonistas dopaminérgicos reveló que existió una tendencia a que la cuota ovulatoria fuera relativamente mayor en los grupos que recibieron la microinyección de haloperidol en las bursas ováricas respecto a los que fueron tratados con EEDQ (haloperidol:  $10.5 \pm 0.6$  ovocitos vs. EEDQ:  $8.6 \pm 0.5$  ovocitos;  $p < 0.02$ , Prueba de U de Mann-Whitney) (Tabla 2).

| Grupo     | Salina         | HLP            | Et-Wat         | EEDQ           |
|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Estro     | $10.3 \pm 2.0$ | $12.5 \pm 1.1$ | $11.0 \pm 2.1$ | $8.5 \pm 0.6$  |
| Diestro-1 | $8.8 \pm 0.8$  | $10.5 \pm 1.0$ | $11.0 \pm 0.9$ | $8.6 \pm 0.6$  |
| Diestro-2 | $8.0 \pm 0.9$  | $9.0 \pm 1.8$  | $9.0 \pm 0.8$  | $7.0 \pm 1.0$  |
| Proestro  | $10.5 \pm 2.9$ | $10.0 \pm 0.4$ | $11.0 \pm 0.8$ | $10.3 \pm 1.0$ |

**Tabla 2** Media  $\pm$  e.e.m. del número de ovocitos liberados de los animales que recibieron una microinyección bilateral con 20  $\mu$ l de una solución de Haloperidol (HLP) o EEDQ (5 mg/ml) dentro de cada una de las bursas ováricas (1.25  $\mu$ L/seg/ ovario). Los grupos control recibieron una microinyección con 20  $\mu$ l NaCl 0.9 % (Salina) o mezcla Etanol-Agua (Et-Wat). Todos los animales fueron sacrificados en la mañana del siguiente estro vaginal observado

## Discusión

Los resultados del presente trabajo muestran que la microinyección bilateral del antagonista reversible del receptor a dopamina: haloperidol y del agente alquilante EEDQ dentro de las bursas ováricas produce efectos diferentes sobre la duración del ciclo estral y la ovulación en la rata adulta.

La microinyección con haloperidol induce interrupción en señales neuroendocrinas y endocrinas que controlan la duración del ciclo estral por afectar directamente las funciones endocrinas del ovario pero manteniendo sin cambios la cuota ovulatoria; en cambio, la microinyección bilateral de EEDQ dentro de las bursas ováricas, afecta los mecanismos que controlan la selección de los folículos que eventualmente deberían culminar su desarrollo y ovular, reflejándose así en una ovulación disminuida pero aparentemente sin afectar de modo significativo la secreción de gonadotropinas, estimada por la duración del ciclo estral.

Domínguez y colaboradores (1987) analizaron los efectos de la inyección sistémica con haloperidol, un antagonista de los receptores DA1 y DA2, en ratas adultas con ciclos estrales regulares de cuatro días, a las 08:00, 13:00 y 21:00h de los diferentes días del ciclo estral. El haloperidol indujo efectos diferentes sobre la respuesta ovulatoria de los animales, en función del día del ciclo estral e incluso de la hora en que se administró. Consistentemente, este antagonista retrasó la ovulación espontánea cuando se inyectó en los días del estro y diestro-1, manteniendo este efecto inhibitorio hasta las 08:00h del diestro-2, para después no influir significativamente sobre la ovulación de los animales. Estos resultados permitieron sugerir que la dopamina es una señal necesaria para que los mecanismos fisiológicos que conducen a la ovulación se realicen correctamente durante la primera mitad del ciclo estral aunque la influencia del neurotransmisor/neuromodulador tienda a desaparecer durante la segunda mitad del ciclo estral.

Venegas y colaboradores (2015), evaluaron el papel de los receptores a la dopamina en el tejido ovárico. La microinyección de haloperidol o de antagonistas selectivos del receptor DA1: SCH23390 o DA2: Sulpiride dentro de las bursas ováricas, indujo efectos semejantes en ratas adultas con ciclos estrales regulares de cuatro días cuando se antagonizan los receptores dopaminérgicos en los mismos horarios del trabajo previo (Domínguez et al, 1987). En ambos modelos se discute el posible efecto del haloperidol y de sulpiride sobre la facilitación de la secreción de prolactina al actuar al nivel del tallo hipofisiario, ya que ambos antagonizan potentemente al receptor DA2 e inhibiendo indirectamente la ovulación al interrumpir la secreción de gonadotropinas.

En cambio, la microinyección con SCH23390 afectó la ovulación únicamente en el día del diestro-1. Este último resultado es relevante ya que pone de manifiesto la posible interacción entre los diferentes receptores a la dopamina aunque aún falta analizar dicha interacción (Venegas et al, 2015).

Juárez-Robelo (2015) mostró que la microinyección bilateral de EEDQ dentro de las bursas ováricas en la rata adulta inhibe la ovulación dependiendo la hora y el día del ciclo estral en que administró el fármaco, además de afectar el número de ovocitos liberados por los ovarios de las ratas. Estos resultados permitieron sugerir que el receptor a la dopamina está íntimamente ligado a los procesos endócrinos y mecanismos fisiológicos que culminan con la ovulación.

Los resultados del presente estudio son congruentes con el reciente trabajo de Juárez-Robelo (2015), ya que el EEDQ como agente alquilante, se une al receptor dopaminérgico afectando su función sin antagonizarlo totalmente.

Por otra parte, el haloperidol si afectó significativamente la duración del ciclo estral, particularmente cuando fue administrado en los días del diestro-1 y diestro-2, prolongando el ciclo aunque no afectó el número de ovocitos liberados.

De acuerdo a lo observado en el presente trabajo y con los antecedentes de nuestro grupo investigación, podemos afirmar que existe un periodo crítico para que la señal dopaminérgica se integre a los mecanismos fisiológicos que conducen a la ovulación.

El análisis del papel de los receptores a la dopamina en el modelo experimental de la rata la postulan a la dopamina como una señal crucial al inicio del ciclo estral, es decir, durante la fase luteal, con un papel funcional que gradualmente se desvanece hasta que la fase folicular se instala.

Se han reportado efectos del EEDQ sobre otros receptores aminérgicos. Estos estudios, incluyen pruebas farmacológicas, conductuales y de tonicidad muscular que se afectan cuando se aplica este agente alquilante sistémicamente en la rata (Durcan et al, 1994; Kapur et al, 2000; Takahashi et al, 1998).

Durcan y colaboradores (1994), realizaron estudios de *binding* sobre el receptor adrenérgico *alfa-2* con EEDQ; sus datos revelaron una marcada afinidad del antagonista por este adrenoreceptor. En este mismo trabajo, se realizaron pruebas con el sedante medetomidina, un agonista de los receptores *alfa-2* adrenérgicos sobre la actividad motriz de la rata.

La hipotermia inducida por el sedante se vio claramente disminuida cuando el EEDQ se administró 24 h antes de la sedación con medetomidina.

Estos resultados, además de mostrar que el receptor adrenérgico alfa-2 está relacionado con respuestas fisiológicas básicas (mantenimiento de la temperatura corporal), motrices y conductuales revelan que el agente alquilante no es totalmente selectivo a los receptores dopaminérgicos, sino que también se une a los receptores adrenérgicos.

En otro estudio de *binding*, Takahashi y colaboradores (1998) analizaron la relación entre los receptores dopaminérgicos y serotoninérgicos utilizando antipsicóticos como la clozapina y el sertindol en ratas wistar. Sus resultados revelaron alta afinidad del sertindol por el receptor *5-HT-alfa-2* pero escasa afinidad por los receptores dopaminérgicos, en cambio, la clozapina parece unirse con alta afinidad a ambos receptores; las pruebas conductuales revelaron que las acciones de la clozapina se ven reducidas con un tratamiento previo con EEDQ, que es administrado para proteger a los receptores dopaminérgicos.

Kapur y colaboradores (2000) analizaron el índice de ocupación del receptor DA-2 utilizando los antagonistas dopaminérgicos EEDQ, haloperidol y raclopride en ratas Sprague-Dawley. Este estudio reveló que el haloperidol se une con una afinidad mayor que el raclopride al receptor DA-2, pero el raclopride mostró mayores índices de ocupación que el EEDQ.

A pesar de las evidencias que muestran al EEDQ como un antagonista menos selectivo y relativamente inespecífico en cuanto a su interacción con los receptores a dopamina, su unión irreversible al receptor dopaminérgico lo ubican como una herramienta experimental adecuada para el estudio de diversas funciones cerebrales y fisiológicas por sus efectos prolongados cuando ocupa a los receptores dopaminérgicos e incluso otros.

Por último, es necesario comentar que el uso de los animales para experimentación debe ajustarse a lineamientos y normas que vigilan el bienestar animal. Nuestro país cuenta con la Norma Oficial Mexicana (NOM) 062-ZOO-1999 y en ella se establecen los criterios para minimizar al máximo el sufrimiento, dolor, estrés, disconfort y cualquier estímulo nocivo que afecte la calidad de vida del animal de experimentación.

Las organizaciones internacionales que pugnan por los derechos de los animales que se utilizan para fines experimentales y de carácter estrictamente científico proponen que las instituciones o dependencias en las que se trabaja con animales de experimentación (roedores, lagomorfos, cerdos, primates no-humanos e incluso otra clase de mamíferos y aves) cuenten con un comité de bioética que se encargue de normar, vigilar e incluso sancionar a aquellos que en nombre de la ciencia infrinjan deliberadamente dolor y sufrimiento a los animales.

Los argumentos que esgrimen tales organizaciones pro-derechos de los animales se centran en que un organismo sujeto a manipulaciones dolorosas o estresantes, arrojan o reflejan resultados poco objetivos o difíciles de interpretar. Por tanto, es aparentemente razonable mantener y ofrecer las mejores condiciones de vida en los organismos sujetos a experimentación.

La NOM-062-ZOO-1999 es de observancia obligatoria en todo el territorio nacional y tiene por objeto establecer y uniformar las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio que deben cumplir las personas físicas o morales relacionadas en todos los campos con este tipo de animales.

Es aplicable a los bioterios y/o establecimientos que manejen los siguientes animales: roedores: rata, ratón, cobayo, hámster y jerbo; lagomorfos: conejo; carnívoros: perro y gato; primates: primates no-humanos; porcinos: cerdo doméstico.

En el presente trabajo se buscó en todo momento ajustarse a dicha norma, sin embargo, uno de los principales problemas que enfrentamos para analizar el mecanismo que conduce a la ovulación en la rata tiene que ver con la influencia que el sistema nervioso tiene sobre el mecanismo de la ovulación, ya que existe evidencia que algunos anestésicos inyectables de uso veterinario interrumpen las señales neuroendocrinas y endocrinas que regulan la función del eje hipotálamo-adenohipósis-ovario y en el momento de iniciar nuestros experimentos no se contaba con un sistema adecuado ni condiciones de infraestructura física suficiente para el suministro de anestésicos inhalables más seguros como: halotano, isoflourano, enflurano, metoxiflourano, dietiléter, óxido nitroso, entre otros (Shibutani, 2000).

El uso del éter etílico como sedante, está justificado y fundamentado en múltiples trabajos donde se buscan efectos sedantes de acción ultracorta.

Sin embargo, la NOM-062-ZOO-1999 no recomienda su uso por considerarlo peligroso por sus propiedades explosivas o inflamatorias (punto de inflamabilidad:  $-45^{\circ}\text{C}$ ; punto de auto-ignición:  $170^{\circ}\text{C}$ ) aunque no está prohibido por la norma de acuerdo a sus propiedades sedantes ¿Por qué recurrir a un sedante/anestésico como el éter etílico de corta duración, pero efectivo para deprimir las sensaciones dolorosas?

Los argumentos se centrarían en la explicación de que todas las funciones del sistema endocrino requieren como mediador al sistema nervioso (Guyton & Hall, 2006), el estudio de la fisiología reproductiva de la hembra está forzosamente relacionada con la función neuroendocrina del hipotálamo como mediador de la descarga preovulatoria de las gonadotropinas, mismas que al actuar sobre las gónadas inducen el desarrollo folicular y la ovulación (Freeman, 1988, 1994, 2006; Guyton & Hall, 2006).

Por otra parte, existen numerosas pruebas experimentales que postulan que las principales funciones de los ovarios: la secreción de esteroides sexuales y la liberación de gametos viables, son moduladas por las señales nerviosas sensoriales y autonómicas que ingresan a la glándula por ramas nerviosas provenientes de diversos ganglios y plexos del Sistema Nervioso Periférico (Burden, 1985; Dissen et al, 1993; Lawrence & Burden; 1980; Mayerhofer et al, 1997; Strauss III & Williams, 2009).

El papel de la información nerviosa en el control de las funciones endócrinas del ovario es un factor crítico, por tanto el uso de un anestésico conlleva el riesgo potencial de afectar indirectamente la secreción de gonadotropinas y por tanto la función ovárica.

Con base en esto último, planteamos la siguiente pregunta: ¿Qué hacer para estudiar el papel de estas señales nerviosas que inervan a los ovarios y que afectan su funcionamiento si tenemos que confrontar el compromiso ético del buen y mejor trato hacia los animales de experimentación e infringir en ellos el menor dolor posible?

Existen evidencias claras que el efecto de anestésicos comunes como el pentobarbital sódico inyectado en la tarde del proestro es capaz de bloquear la ovulación en la mañana del estro al inhibir la descarga hipotalámica de la GnRH y con ello suprimir el pico preovulatorio de las gonadotropinas que precede a la ovulación (Domínguez & Smith, 1974). Por todo lo anterior, se vuelve un compromiso ineludible realizar pruebas piloto que permitan utilizar los mejores y más adecuados agentes anestésicos/sedantes para minimizar el dolor y el sufrimiento pre- y postoperatorio en los animales de experimentación y que no enmascaren y/o afecten la objetividad del análisis de los resultados y datos experimentales.

### Conclusiones

- 1) El bloqueo farmacológico de los receptores dopaminérgicos inducido por el haloperidol en los días del diestro, induce interrupción en señales cruciales que controlan la duración del ciclo estral al afectar directamente las funciones endocrinas del ovario, aunque no se afecta la cuota ovulatoria.
- 2) El bloqueo farmacológico de los receptores dopaminérgicos inducido por el agente alquilante EEDQ afecta los mecanismos que controlan la selección de los folículos que deberían alcanzar la madurez óptima, lo que se refleja en una cuota ovulatoria disminuida, sin afectar significativamente la duración del ciclo estral.

### Referencias

- Adashi, E.Y. & Hsueh, A.J.W. (1981). Stimulation of  $\beta$ -adrenergic responsiveness by follicle-stimulating hormone in rat granulosa cells in vitro and in vivo. *Endocrinology* 108: 2170-2178.
- Ahmed, C.E., Dees, W.L. & Ojeda, S.R. (1986). The immature rat ovary is innervated by vasoactive intestinal peptide (VIP)-containing fibers and responds to VIP with steroid secretion. *Endocrinology* 118: 1682-1689.
- Aguado, L.I. (2002). Role of the central and peripheral nervous system in the ovarian function. *Microsc Res Tech* 59: 462-473
- Aguado, L.I., Petrovic, S.L. & Ojeda, S.R. (1982). Ovarian  $\beta$ -adrenergic receptors during the onset of puberty: characterization, distribution, and coupling to steroidogenic responses. *Endocrinology* 11: 1124-1132
- Amneta, F., Ricci, A., Tayebati, S.K. & Zaccheo, D. (2002). The peripheral dopaminergic system: morphological analysis, functional and clinical applications. *Ital J Anat Embryol* 107:145-67.
- Anesetti, G., Lombide, P., D'albora H. & Ojeda, S.R. (2001). Intrinsic neurons in the human ovarii. *Cell Tissue Res* 306: 231-237.
- Ben-Jonathan, N., Braw, R.H., Laufer, N., Reich, R., Bahr, J.N. & Tsafirri, A. (1982). Norepinephrine in graafian follicles is depleted by follicle-stimulating hormone. *Endocrinology* 110:457-461.
- Bodis, J., Bognár, Z., Hartmann, G., Török, A., Csaba, I. (1992). Measurement of noradrenaline, dopamine and serotonin contents in follicular fluid of human graafian follicles after superovulation treatment. *Gynecol Obstet Invest* 33:165-7.
- Bodis, J., Tinneberg, H.R., Török, A., Cledon, P., Hanf, V. & Papenfuss, F. (1993). Effect of noradrenaline and dopamine on progesterone and estradiol secretion of human granulosa cells. *Acta Endocrinol (Copenh)* 129:165-168.

- Burden, H.W. (1978). Ovarian Innervation. En: *The Vertebrate Ovary, Comparative Biology*. Ed. R.E Jones. Plenum Press. New York, pp. 615-338
- Burden, H.W. (1985). The adrenergic innervation of mammalian ovaries. En: *Catecholamines As Hormone Regulators*. Eds. N. Ben Jonathan, J.M. Bahr & R.I. Weiner. Sero Symposia Publications. Raven Press. New York, pp. 262-278.
- Cavero, J., Massingham, R. & Lefevre-Borg, F. (1982). Peripheral dopamine receptors, potential targets for a new class of antihypertensive agents. Part I: Subclassification and functional description. *Life Sci* 31:939-948.
- Chávez, R., Cruz, M.E. & Dominguez, R. (1987). Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: Effect of ipsi and contralateral vagus nerve on the remaining ovary. *Journal Endocrinology* 113:397-401
- Cooper, J. R., Bloom, F.E & Roth, R.H. (1996). *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*. 7th Edition. Oxford University Press. New York. pp 293-251.
- Cruz, M.E., Chávez, R. & Domínguez, R. (1986). Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. *La Revista de Investigación Clínica* 38:167-171
- Curry, T.E., Lawrence, I.E. & Burden, H.W. (1984a). Effect of ovarian sympathectomy on follicular development during compensatory ovarian hypertrophy in the guinea pig. *J Reprod Fert* 71: 39-44
- Curry, T.E., Lawrence I.E. & Burden, H.W. (1984b). Ovarian sympathectomy in the guinea pig: effects on follicular development during the prepuberal period and following exogenous gonadotrophin stimulation. *Cell Tissue Res* 236: 593-596.
- Davoren, J.B. & Hsueh A.J.W. (1985). Vasoactive intestinal peptide: a novel stimulator of steroidogenesis by cultured rat granulosa cells. *Biol Reprod* 33: 37-52
- D'Albora, H., Lombide, P. & Ojeda, S.R. (2000). Intrinsic neurons in the rat ovarii: an immunohistochemical study. *Cell Tissue Res* 300: 47-56
- D'Albora, H., Anesetti, G., Lombide, P., Dees, W.L. & Ojeda, S.R. (2002). Intrinsic neurons in the mammalian ovary. *Microsc Res Tech* 59:484-489.
- D'Albora, H. & Barcia, J.J. (1996). Intrinsic neuronal cell bodies in the rat ovary. *Neurosci Lett* 205:65-67
- Dees, W.L., Kozlowski, G.P., Dey, R. & Ojeda, S.R. (1985). Evidence for the existence of substance P in the pre-puberal rat ovary. II. Immunocytochemical localization. *Biol Reprod* 33:471-476.
- Dees, W.L., Hiney, J.K., Mcartur, N.H., Johnson, G.A., Disse, G.A & Ojeda, S.R. (2006). Origin and ontogeny of mammalian ovarian neurons. *Endocrinology* 147: 3789-3796.
- Dissen, G.A., Dees, W.L. & Ojeda, S.R. (1993). Neuronal and neurotrophic control of ovarian development. En: *The Ovary*. Eds. E.Y. Adashi & P.C.K. Leung. Raven Press. New York, pp 1-19.

Dissen, G.A. & Ojeda, S.R. (1999). Ovarian innervation. En: *Encyclopedia of Reproduction*. Eds. E. Knobil & J. D. Neill. Academia Press. New York, pp.583-589.

Domínguez, R., Cruz, M.E. & Chávez, R. (1989). Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. En: "Growth Factors and the Ovary". Eds. A.N. Hirshfield. Plenum Press. New York. pp.321-325

Domínguez, C. R., Gaitan, C. M., Mendez, S. A. & Ulloa-Aguirre, A. (1987). Effects of catecholaminergic blockade by haloperidol or propranolol at different stages of the oestrous cycle on ovulation and gonadotrophin levels in the rat. *Journal of Endocrinology* 113: 37-44.

Domínguez, C., Riboni, R., Zipitria, L.D. & Revilla, R. (1982). Is there a cholinergic circadian rhythm throughout the oestrous cycle related to ovulation in the rat? *Endocrinology* 95:175-180.

Domínguez, R. & Smith, E.R. (1974). Barbiturate blockade of ovulation on days other than proestrus in the rat. *Neuroendocrinology* 14:212-223.

Domínguez, C, R. Zipitria, D., Riboni, L. & Revilla, R (1985). Differences in the ability of reserpine and chlorpromazine to block ovulation throughout the oestrous cycle of the rat. *J Interdis Cycle Res* 16: 285-294.

Durcan, M.J., Morgan, P.F., Van Etten, M.L. & Linnoila, M. (1994). Covariation of  $\alpha 2$ -adrenoreceptor density and function following irreversible antagonism with EEDQ. *Br. J. Pharmacol* 112:855-860.

Dyer, C.A. & Erickson, G.F. (1985). Norepinephrine amplifies human chronic gonadotrophin-stimulated androgen biosynthesis by ovarian theca-interstitial cells. *Endocrinology* 116: 1645-1652.

Erickson, G.F, Magoffin, D.A., Dyer, C.A & Hofeditz, C. (1985). The ovarian androgen producing cells: a review of structure/function relationships. *Endocr Rev* 6: 371-399.

Erickson, G.F. (1995). The Ovary: Basic Principles and Concepts. En: *Endocrinology y Metabolism*. Capítulo 17. Eds. P. Felig, J.D Boxter & L.A Frohman. 3th Edition. McGraw-Hill. New York. pp 973-1013.

Freeman, M.E. (1988). The ovarian cycle of the rat. En: "Physiology of Reproduction". 1st Edition. Vol.II. Capítulo 45. Eds. E. Knobil & J. Neill. Raven Press, New York, pp. 1893-1928.

Freeman, M.E. (1994). The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En: "Physiology of Reproduction". Vol. II. Capítulo 46. Eds. E. Knobil & J.D. Neill. Raven Press. New York. pp. 613-658.

Freeman, M.E. (2006). The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En: "Knobil & Neill's Physiology of Reproduction". Vol. II. Capítulo 46. Eds. J.D. Neill. Chapter 43. 3th edition. Elsevier Academic Press, Amsterdam, pp. 2327-2388

Fukuda, M., Yamanouchi, K., Nakano, Y., Furuya, H. & Arai, Y. (1984). Hypothalamic laterality in regulating gonadotropic function: Unilateral hypothalamic lesion and ovarian compensatory hypertrophy. *Neuroscience Letters* 51:365-370

Gay E.A., J.D. Urban, D.E. Nichols, G.S. Oxford & B.R. Mailman (2004). Functional Selectivity of D2 Receptor Ligands in a Chinese Hamster Ovary hD2L Cell Line: Evidence for Induction of Ligand-Specific Receptor State. *Molecular pharmacology* 0026-895X/04/6601-97-105

Gerendai, I., Tóth, I.E., Boldogkői, Z., Medceczky, I. & Halász, B. (1998). Neuronal labeling in the rat brain and spinal cord from the ovary using viral transneuronal tracing technic. *Neuroendocrinology* 68: 244-256.

Gozlan, H., Laponte, A.M., Thibault, S., Schechter, L.E., Bolaños, F. & Hamon, M. (1994). Differential effects of EEDQ on various 5-HT receptor binding sites in the rat brain. *Neuropharmacology* 33:423-431.

Guyton, A.C. & Hall, J.E. (2006). Pituitary hormones and their control by the hypothalamus. En: "Textbook of Medical Physiology". 11th Edition. Eds. A.C. Guyton and J.E. Hall. Unit XIV. Chapters 74, 75 and 81. Elsevier Saunders. Philadelphia Pag. 918-929

Hsueh, A.J.W., Adashi, E.Y., Jones, P.B.C. & Welsh, T.H. (1984). Hormonal regulation of the differentiation of cultured ovarian granulosa cells. *Endocrine Rev* 5: 76-127.

Juárez-Robelo, C.E. (2015). Análisis de los efectos de la microinyección de EEDQ en la bursa ovárica de ratas adultas cíclicas en los diferentes días y horas del ciclo estral sobre la ovulación espontánea. Tesis Profesional. Biología, BUAP.

Kapur, S., Barsoum, S.C. & Seeman, P. (2000). Dopamine D2 receptor blockade by Haloperidol: 3H-Raclopride reveals much higher occupancy than EEDQ. *American College Neuropsychopharmacology* 23:5:595-598.

Kebabian, J.W. & Calne, D.B. (1979). Multiple receptors for dopamine. *Nature* 277:93-96.

King, S.S., Campbell, A.G., Dille, E.A., Roser, J.F., Murphy, L.L. & Jones, K.L. (2005). Dopamine receptors in equine ovarian tissues. *Domest. Anim. Endocrinol.* 28 (4), 405-415. Doi:10.1016/j.domaniend.2005.02.001

Klein, J.T. & H.W. Burden (1988). Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating rat ovary. *Neuroscience Letters* 85:217-222

Kudo, S & Ishizaki, T. (1999). Pharmacokinetics of haloperidol: an update. *Clin Pharmacokinet* 37: 435-456.

LARA, H.E, Mcdonald, J.K., AHMED, C.E. & OJEDA, S.R. (1990). Guanethidine-mediated destruction of ovarian sympathetic nerves disrupts ovarian development and functioning rats. *Endocrinology* 127:2199-2209.

Lara, H.E., Porcile, A., Espinoza, J., Romero, C., Luza, S.M., Fuhrer, J., Miranda, C. & Roblero, B.L. (2001). Release of norepinephrine from human ovary: coupling to steroidogenic response. *Endocrine* 15:187-192.

Lawrence, I.E & Burden, H.W. (1980). The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the ovary. *Anat Rec* 196:51-59.

Lévesque, D. & Di Paolo, T. (1988). Dopamine receptor reappearance after irreversible receptor blockade: effect of chronic estradiol treatment of ovariectomized rats. *Adv Exp Med Biol* 235:121-136

Litter, M. (1988). Farmacología Especial. En: Farmacología Experimental y Clínica. 7ª Edición. 2ª Parte. Sección I: Farmacología del Sistema Nervioso. El Ateneo, Buenos Aires. pp 179-429.

- Martel, R.R., Berman, R. & Belleau, B. (1969). Pharmacology of N-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline (EEDQ). *Can J Physiol Pharmacol* 47:909-912.
- Mayerhofer, A., Dissen, G.A, Costa, M.E. & Ojeda, S.R. (1997). A role for neurotransmitters in early follicular development: induction of functional follicle-stimulating hormone receptors in newly formed follicles of the rat ovary. *Endocrinology* 178: 3320-3329.
- Mayerhofer, A. Fritz, S., Grunert, R., Sanders, S.L., Duffy, D.M., Ojeda S.R. & Stouffer, R.L. (2000). D-1 Receptor, DARPP-32 and PP-1 in the primate corpus luteum and luteinized granulosa cells: evidence for phosphorylation of DARPP-32 by dopamine and human chorionic gonadotropin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85 (12), 4750-4757. Doi: 10.1210/jcem.8512.7084
- Mcneill, D.L. & BURDEN, H.W. (1987). Neuropeptides in sensory perykarya projecting to the ovary. *Am J Anat* 179: 269-276
- Meléndez, E., Morán, C. & Morán J.L. (2002). Efectos de la microinyección de EEDQ en el hipotálamo anterior sobre el ciclo estral de la rata. Resumen. XLV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, Colima, Col. C-238; 2002.
- Mizunuma, H., De Palatis, L.R. & Mccann, M. (1983). Effect of unilateral orchidectomy on plasma FSH concentration: Evidence for direct neural connection between testes and CNS. *Neuroendocrinology* 37:291-296
- Morán, J.L. & Domínguez, A. (1995). Effects of the unilateral implant of haloperidol at the preoptic-anterior hypothalamic area, ovulation. *Endocrine* 3:399-401
- Morán, J.L. & Domínguez, A. (1997). Differences in the sensitivity of the right and the left side of the preoptic anterior hypothalamic area to the effect of a unilateral implantation of haloperidol, performed on the day of estrous, on spontaneous ovulation. *Med Sci Res* 25: 465-466.
- Nance, D.M. & Moger, W.H. (1982). Ipsilateral hypothalamic deafferentation blocks the increase in serum FSH following hemicastration. *Brain Research Bulletin* 8:299-302
- Nance, D.M., White, J.P. & Moger, W.H. (1983). Neural regulation of the ovary: Evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control. *Brain Research Bulletin* 10:353-355
- NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio. Senasica, Dirección General de Salud Animal. SAGARPA.
- Ojeda, S.R., Lara, H. & Ahmed, C.E. (1989). Potential relevance of vasoactive intestinal peptide to ovarian physiology. *Seminar in Reproductive Endocrinology* 7: 52-60.
- Ojeda, S. & Skinner, M. (2006). Puberty in the rat. En: *The Physiology of Reproduction*. Eds. J.D. Neill. 3th. Edition. Academic Press. San Diego, pp. 2061-2126.
- Parra, C., Fiedler J.L., Luna, S.L., Greiner, M., Padmanabhan, V. & Lara, H. (2007). Participation of vasoactive intestinal polypeptide in ovarian steroids production during the rat estrous cycle and in the development of estradiol valerate-induced polycystic ovary. *Reproduction* 133:147-154.

Pastelín-Rojas, C.F. (2003). Efectos del bloqueo farmacológico del sistema dopaminérgico durante la segunda mitad del ciclo estral sobre la función ovárica de la rata adulta. Tesis Profesional. Biología, BUAP.

Ramírez-Ávila, B. (2001). Efectos de la administración secuencial de GnRH sobre la ovulación en ratas adultas con bloqueo farmacológico del sistema dopaminérgico. Tesis Profesional. Biología, BUAP.

Rey-Ares, V., Lazarov, N., Berg, D., Berg, U., Kunz, L. & Mayerhofer, A. (2007). A dopamine receptor repertoire of human granulosa cells. *Reprod Biol Endocrinol* 5:40-49

Shibutani, M. (2000). Anesthesia, artificial ventilation and perfusion fixation. En: *The Laboratory Rat*. Chapter 26. Eds. G. J. Krinke. Academic Press. London, pp. 511-522.

Speroff, L., Glass, R.H. & Kase, N.G. (1999). Anovulation and the polycystic ovary. En: *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. 6th. Edition. Eds. L. Speroff, R.H. Glass & N.G. Kase. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, pp. 487-521.

Strauss Iii, J.F. & Williams, C.J. (2009). The synthesis and metabolism of steroid hormones. In: "Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management", Eds. Jerome F. D. Strauss & R.L. Barbieri, 6<sup>th</sup> Edition. Saunders Elsevier, Philadelphia, pp. 155-190.

Takahashi, Y., Kusumi, I., Ishikane, T., Matsubara, S. & Koyama, T. (1998). In vivo occupation of dopamine D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, and serotonin (5-HT) 2A receptors by sertindole in the rat brain. *Journal of Psychiatry & Neuroscience* 23 (3): 157-162.

The Index Merck, Merck and Co., Inc. Whitehouse Station, NJ. 1996.

Tóth, I.E., Wiesel, O., Boldogkői Z., Bálint K., Tapaszi Z. & Gerendai, I. (2007). Predominance of supraspinal innervation of the left ovary. *Microsc Res Tech* 70: 710-718

Uchida, S., Kato, Y., Hirano, K., Kagawa, Y. & Yamada, S. (2007). Brain neurotransmitter receptor-binding characteristics in rats after oral administration of haloperidol, risperidone and olanzapina. *Life Sciences* 80: 1635-1640.

Vargas-Torres, L.A. (2002). Efectos del bloqueo farmacológico de la información dopaminérgica sobre el ciclo estral de la rata: análisis de los mecanismos que inhiben la función de los ovarios. Tesis Profesional. Biología, BUAP.

Venegas, B., Padilla, J.F., Juaréz, C.E., Morán, J.L., Morán, C., Rosas, N.H., Handal, A. & Domínguez, R. (2015). Effects of ovarian dopaminergic receptor on ovulation. *Endocrine*. DOI 10.1007/s1220-015-0636-4.

Weissman, A. & Muren, J.F. (1971). Depressant 1,2-dihydroquinolines and related derivatives. *J. Med. Chem.* 14(1):49-53.

Yen, S.S.C. (1999a). Polycystic ovary syndrome (hyperandrogenic chronic anovulation). En: *Reproductive Endocrinology. Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management*. 4th. Edition. Chapter 17. W.B. Saunders Co. Philadelphia, pp. 436-477.

Yen, S.S.C. (1999b). Chronic anovulation caused by peripheral endocrine disorders. En: *Reproductive Endocrinology. Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management*. 4th. Edition. Chapter 18. W.B. Saunders Co. Philadelphia, pp. 479-508.

Yen, S.S.C. (1999c). Chronic anovulation due to CNS-Hypothalamic-Pituitary dysfunction. En: Reproductive Endocrinology. Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management. 4th. Edition. Chapter 19. W.B. Saunders Co. Philadelphia, pp. 510-560.

.

## La *Sulpirida* reduce la ovulación compensadora pero incrementa la hipertrofia compensadora del ovario derecho en la rata hemiovariectomizada

LETRAS, Dulce\*†, HANDAL, Anabella, DÍAZ, Alfonso' y MORÁN, José Luis

*Departamento de Biología y Toxicología de la Reproducción, Instituto de Ciencias*

*'Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas/ Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México*

Recibido Febrero 28, 2016; Aceptado Junio 20, 2016

### Resumen

Se analizó el efecto de la microinyección (MI) del antagonista DA2: Sulpirida (SPD) dentro de la bursa ovárica de ratas cíclicas adultas hemicastradas (HX) del ovario derecho (OD) o del izquierdo (OI), con el propósito de estudiar su papel sobre la duración del ciclo estral (CE), la ovulación (número de ovocitos liberados: NOL), el desarrollo de la ovulación compensadora (OC) e hipertrofia compensadora del ovario (HCO) y la posible lateralidad funcional del receptor DA2. La MI de SPD se realizó a las 13:00h de los diferentes días del CE. La SPD prolongó la duración del CE cuando la MI se realizó en diestro-1, independientemente del ovario que permaneció in situ. Solo la MI en el día del diestro-1, indujo disminución del NOL y la OC cuando el OD permanece in situ, pero incrementó su HCO, lo que no ocurrió cuando el OI permanece in situ. Aparentemente, en el diestro-1 la función del receptor DA2 en los ovarios es necesaria para el control en la secreción de gonadotropinas. El receptor DA2 en el OD incide notablemente sobre los mecanismos que controlan la ovulación, la OC y la HCO, pero no en el OI.

**Sulpirida, Receptor DA2, Hemiovariectomía, Ovulación Compensadora, Hipertrofia Compensadora, Rata Hembra**

### Abstract

We analyzed the effect microinjection (MI) of DA2 antagonist: Sulpiride (SPD) inside of ovarian bursa in adult cycling hemiovariectomized rats (HX) of right (RO) or left ovary (LO), and our propose was study his roll on estral cycle (EC), ovulation (number of ova shed: NOS), development of compensatory ovulation (CO) and ovarian compensatory hypertrophy (OCH), and explored laterally of DA2 receptor. All MI of SPD was performed at 13:00h in different estral cycle days. The SPD increases duration of EC, independently in situ ovary remaining. Just MI performed on diestrous-1 reduced NOS and CO over in situ RO however the OCH was increased, that none occurs when in situ is LO. Apparently in diestrous-1 day, receptor DA2 functionality is essential in the control gonadotrophin secretion. The DA2 receptor of RO markedly participates in control of ovulation, CO and OCH mechanisms nonetheless LO.

**Sulpiride, DA2 Receptor, Hemiovariectomy, Compensatory Ovulation, Compensatory Hypertrophy, Female Rat**

**Citación:** LETRAS, Dulce, HANDAL, Anabella, DÍAZ, Alfonso y MORÁN, José Luis. La *Sulpirida* reduce la ovulación compensadora pero incrementa la hipertrofia compensadora del ovario derecho en la rata hemiovariectomizada. Revista de Sistemas Experimentales. 2016, 3-7: 46-59.

\*Correspondencia al Autor (Correo electrónico: dell985@hotmail.com)

†Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

La regulación de las funciones del sistema reproductor en la hembra, es resulta de la interacción de diferentes hormonas secretadas por la adenohipófisis, los ovarios e incluso por otras glándula endocrinas (neurohipófisis, adrenales y timo), interrelación que ocurre durante el ciclo estral o menstrual (Conn, 1994; Feder, 1991; Fink, 1988) además de los efectos moduladores que ejerce el sistema nervioso por medio de la inervación hacia estos órganos (Bahr et al., 1974; Burden, 1978; Domínguez et al., 1989).

Se sabe que el ovario recibe fibras nerviosas que ingresan por la médula y se distribuyen hacia la corteza hasta alcanzar el estroma ovárico y la teca folicular (Burden, 1985).

Esta inervación proviene del plexo ovárico y del nervio ovárico superior (Lawrence & Burden, 1980).

La secreción de las gonadotropinas es regulada por la hormona hipotalámica liberadora de las gonadotropinas (GnRH), cuya secreción es controlada por diferentes sistemas de neurotransmisores (noradrenalina, adrenalina, dopamina, serotonina, acetilcolina, ácido  $\gamma$  amino butírico, opioides, encefalinas, sustancia P, péptido intestinal vasoactivo-VIP-, angiotensina II) que ejercen sus efectos sobre las neuronas peptidérgicas localizadas principalmente en la región preóptica e hipotalámica anterior, así como en el hipotálamo medio (Freeman, 1988; Freeman, 1994; Kordon et al., 1994).

Según la información que se posee, la participación de los diversos sistemas de neurotransmisores en la regulación de la secreción de la GnRH varía durante el ciclo estral (Domínguez et al., 1982; Domínguez et al., 1985; Domínguez et al., 1987; Morán & Domínguez, 1995).

La noradrenalina es la principal catecolamina detectada en el tejido ovárico donde modula el crecimiento folicular y las funciones del cuerpo lúteo (Dissen et al 1993; Hsueh et al., 1984; Mayerhofer et al., 1997; Ojeda et al., 1989). Sin embargo, se ha demostrado la presencia de dopamina y sus receptores en diferentes tejidos del ovario (Gay et al, 2004; King et al, 2005; Mayerhofer et al, 2000; Rey-Ares et al, 2007), pero su papel funcional en el tejido gonadal aún debe ser esclarecido. Se han evaluado los efectos fisiológicos de las catecolaminas ováricas, mediante el uso de antagonistas de sus receptores en los diferentes días del ciclo estral a distintas horas. En estos estudios, se ha demostrado que el bloqueo farmacológico de receptores a dopamina resulta en la ausencia de ovulación, que depende del día del ciclo estral y la hora en el que se realizó (Domínguez et al 1987, Venegas et al., 2015), además de interrumpir el desarrollo folicular e incrementar la atresia folicular (Pastelín-Rojas, 2003; Ramírez-Ávila, 2001).

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

Por lo anterior, el propósito del presente trabajo fue estudiar el papel del receptor dopaminérgico DA<sub>2</sub> del ovario en el modelo de la rata hemiovariectomizada sobre algunos parámetros reproductivos como la duración del ciclo estral, la ovulación, el desarrollo de la ovulación compensadora e hipertrofia compensadora del ovario y la posible lateralidad funcional del receptor DA<sub>2</sub> en la rata hemicastrada.

## Materiales y Métodos

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

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

### Técnica de la Hemovarietomía.

Entre las 09:00 y 10:00h del día del estro, se formaron dos grupos de animales con hemicastración derecha e izquierda. La técnica consistió en sedar a los animales con vapores de éter etílico y una vez sedados, los animales se colocaron sobre una tabla de disección; se rasuraron del costado derecho o izquierdo retirando el pelo de la zona intercostal, desde la región de las costillas inferiores hasta la región pélvica donde se pliega la pata derecha o izquierda. Se limpió la piel con solución antiséptica de clorhexidina 2% y luego se sometieron a una laparotomía que consistió en una incisión sagital de aproximadamente 1 cm sobre la piel y 0.5 cm del músculo abdominal.

Posteriormente, con ayuda de una pinza de punta fina, se exteriorizaron según el caso, el ovario derecho o el izquierdo que se disecó acompañado de su oviducto.

En el oviducto removido, se contó el número de ovocitos liberados; el ovario fue pesado en balanza de precisión y su peso expresado en miligramos/100 gramos de peso corporal. Al día siguiente de la hemiovariectomía se reanudaron los registros de frotis vaginales. Todos los animales hemicastrados que cumplieron al menos tres ciclos estrales consecutivos de cuatro días fueron asignados a los siguientes grupos experimentales:

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

### Técnica de la Microinyección dentro de la Bursa Ovárica.

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

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

Todos los animales fueron sacrificados en cámara de dióxido de carbono entre las 09:00-10:00 h de la mañana del primer estro vaginal observado.

A la autopsia, se disecó el ovario remanente y el oviducto. El oviducto fue inspeccionado para realizar el conteo directo de los ovocitos liberados y el ovario fue pesado en balanza de precisión de 0.1 ms y procesado para su análisis histológico de acuerdo al método de Luna (1975) (datos no incluidos en el análisis de resultados).

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

$$\%OC = \frac{NOL\ del\ Ovario\ Remanente - NOL\ del\ Ovario\ Extirpado}{NOL\ del\ Ovario\ Extirpado} \times 100 \quad (1)$$

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

$$\%HCO = \frac{Peso\ Ovario\ Remanente - Peso\ del\ Ovario\ Extirpado}{Peso\ del\ Ovario\ Extirpado} \times 100 \quad (2)$$

### Análisis Estadístico

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

### Resultados

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

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

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

**Tabla 1** Gramos del promedio peso corporal±e.e.m. de los animales con ciclos estrales regulares de cuatro días de duración sometidos a la hemiovariectomía (HX) y que se sacrificaron en la mañana del estro vaginal observado entre las 09:00 y 10:00 h luego de recibir una microinyección de sulpirida o del vehículo

#### Ovulación Espontánea del Ovario Extirpado.

En los 42 animales a los que se les extirpó el ovario izquierdo (OI) en la mañana del estro luego que presentaron tres ciclos estrales consecutivos de cuatro días, el OI ovuló un promedio 6.3±0.3 ovocitos. En el otro grupo de 42 animales cíclicos, el ovario derecho (OD) extirpado en la mañana del estro ovuló 7.2±0.3 ovocitos. El análisis estadístico mostró que el OD de un animal cíclico intacto ovula más que el OI (Tabla 2).

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

| Hemiovariectomía        | Número de Ovocitos Liberados | Peso Relativo del Ovario Extirpado (mg/100 g) |
|-------------------------|------------------------------|---|
| Ovario Izquierdo (N=42) | 6.3±0.3                      | 13.2±0.3                                      |
| Ovario Derecho (N=42)   | 7.2±0.3*                     | 12.2±0.3**                                    |

\* p< 0.02 comparado con el ovario izquierdo (U de Mann-Whitney); \*\* p< 0.03 comparado con el ovario izquierdo (t de Student).

**Tabla 2** Número de ovocitos liberados±e.e.m. de los animales con ciclos estrales regulares de cuatro días de duración sometidos a la hemiovariectomía. Estos animales fueron destinados a los diferentes experimentos para recibir una microinyección de sulpiride o su vehículo dentro de la bursa ovárica remanente

#### Ovulación Espontánea del Ovario in situ Luego de la Microinyección de Sulpirida.

De modo general y al comparar con sus respectivos grupos testigo, no se encontraron diferencias significativas en el número de ovocitos liberados en los grupos con OI in situ que recibieron la microinyección con sulpirida a las 13:00 h en los diferentes días del ciclo estral y que se sacrificaron en la mañana del estro observado (OI in situ: Sulpirida: 14.7±0.7 ovocitos vs Testigo: 15.7±0.8 ovocitos, ns).

Sin embargo, en los grupos con el OD in situ y que recibieron una microinyección de sulpirida ovularon menos en relación a su vehículo (OD in situ: Sulpiride: 13.2±0.9 ovocitos vs Vehículo: 16.6±0.7 ovocitos; p<0.008, U Mann-Whitney) (Tabla 3).

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

De igual forma, solo en los grupos tratados con sulpirida en el diestro-1, la presencia del estro vaginal se retrasó significativamente, independientemente del ovario que permanece in situ (Tabla 3).

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

Ovulación Compensadora (OC) del Ovario in situ.

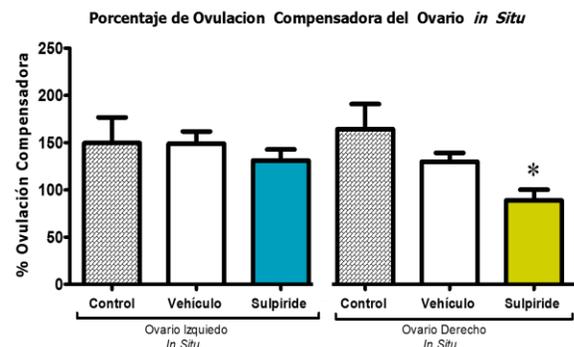
Comparado con el testigo, no se encontraron diferencias significativas en el grado de OC del OI in situ en el grupo de animales en los que se realizó la microinyección de sulpirida a las 13:00 h en los diferentes días del ciclo estral (OI in situ: Sulpirida: 131.2±11.6 % vs Testigo: 148.9±12.9 %, ns).

En cambio, en el grupo donde la microinyección del antagonista dopaminérgico se realizó en el OD in situ, se observó una caída en el grado de OC en referencia al testigo (OD in situ: Sulpirida: 88.9±9.5 % vs. Vehículo: 129.8±9.1 %, p<0.02, U de Mann-Whitney) (Grafico 1).

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

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

**Tabla 3** Media del número de ovocitos liberados±e.e.m. y media de los días de duración del ciclo estral±e.e.m. en las ratas hemiovariectomizadas que al recuperar un patrón regular de ciclicidad vaginal recibieron una microinyección de sulpirida o su vehículo dentro de la bursa ovárica remanente



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

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

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

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

Hipertrofia Compensadora del Ovario (HCO) *in situ*.

El análisis del peso de los ovarios que permanecieron *in situ*, se observaron algunas diferencias significativas en el desarrollo hipertrófico en la gónada remanente. Aparentemente, la microinyección del Sulpiride en el día del estro indujo un incremento significativo en el peso del ovario, sin observarse cambios significativos en los grupos tratados en los otros días del ciclo estral (Tabla 5). Sin tomar en cuenta el día del ciclo en que se realizó la microinyección del sulpiride, el análisis del grado de HCO en los animales de los diferentes grupos, sólo cuando el OD permanece *in situ* ocurrió un incremento significativo en el grado de HCO respecto a su grupo testigo y a los grupos con OI *in situ* (Gráfico 2).

No se encontraron diferencias significativas en el grado de HCO cuando el OI permanece *in situ* en el grupo de animales en los que se llevó a cabo la microinyección del antagonista respecto al testigo (Sulpirida: 56.4±6.4 % vs Testigo: 57.4±5.5 %, ns).

En contraste, cuando la microinyección del antagonista dopaminérgico se realizó en el OD *in situ*, el grado de HCO se incrementó significativamente respecto a su testigo (Sulpirida: 78.4±4.8 % vs Vehículo: 57.6±4.7 %,  $p<0.003$ ; U de Mann-Whitney).

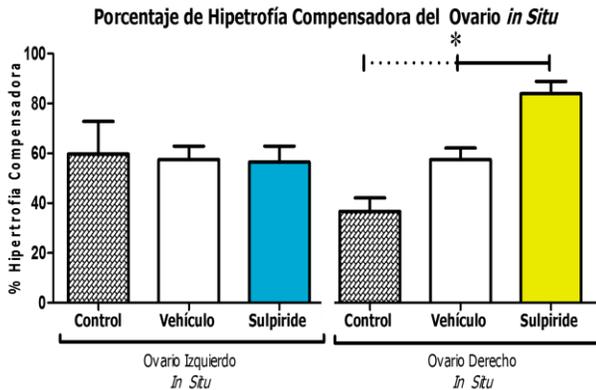
| Ovario <i>In Situ</i> | Grupo Experimental | Ovulación Compensadora (Media del Porcentaje) |                        |
|-----------------------|--------------------|---|------------------------|
|                       |                    | Vehículo                                      | Sulpiride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

<sup>δ</sup>  $p<0.03$  comparado con el vehículo; U de Mann-Whitney.

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

Si se toma en cuenta el día del ciclo en que se realizó la microinyección de la sulpirida, el análisis estadístico revela la existencia de diferencias entre los grupos tratados con el antagonista.

Sin embargo, solo en el grupo tratado en el día del diestro-1 se observó un incremento relativo en el grado de HCO cuando el OD permanece *in situ* respecto al testigo y al mismo grupo con el OI *in situ* (Tabla 6 y Gráfico 2).



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

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

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

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

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

| Ovario In Situ | Grupo Experimental | Hipertrofia Compensadora (Media del Porcentaje) |                        |
|----------------|--------------------|---|------------------------|
|                |                    | Vehículo  | Sulpiride              |
| Izquierdo      | MIB en Estro       | 54.7±4.5  | 56.2±8.2               |
|                | MIB en Diestro-1   | 60.5±10.4                                       | 32.5±7.2               |
|                | MIB en Diestro-2   | 53.0±17.9                                       | 78.2±5.6               |
|                | MIB en Proestro    | 61.5±11.5                                       | 59.0±17.7              |
|                | Control            | 59.7±13.1                                       |                        |
| Derecho        | MIB en Estro       | 36.0±3.0*                                       | 95.7±6.7               |
|                | MIB en Diestro-1   | 50.7±4.8  | 83.5±12.9 <sub>δ</sub> |

|  |                  |          |           |
|--|------------------|----------|-----------|
|  | MIB en Diestro-2 | 65.2±6.4 | 86.0±12.8 |
|  | MIB en Proestro  | 77.7±6.9 | 70.5±1.7  |
|  | Control          | 36.7±5.4 |           |

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

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

**Discusión de Resultados**

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

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

Lo que nos permite sugerir que la dopamina y sus receptores durante el diestro-1 son indispensables para que los mecanismos que conducen a la ovulación espontánea acompañados de la presencia del estro vaginal se desarrollen de manera normal.

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

En este contexto, los sistemas educativos privados que cobran dinero por sus servicios prestados, enfrentan muchas dificultades para responder de forma efectiva a las demandas de una sociedad cada vez más compleja y desigual, debido al costo que representa para los padres de familia el estudio de sus hijos. De manera que no se garantiza el debido acceso a las diferentes etapas y modalidades de educación a menos que existan entidades subsidiadas por el Estado que tengan cobertura sobre la población menos favorecida.

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

Por otra parte, al analizar de modo general nuestros datos, el grado de hipertrofia compensadora del ovario derecho es significativamente mayor que la del izquierdo.

Es decir, el ovario derecho desarrolla menor ovulación compensadora pero incrementa significativamente su peso. En diversos estudios, se mostraron que los ovarios de la rata están inervados de manera asimétrica (Gerendai et al., 1995, Gerendai et al., 1998, Thot et al., 2007); además, hemos observado que la incorporación del trazador en neuronas True Blue en el ganglio celiaco es significativamente mayor cuando se inyectó en la bursa del ovario izquierdo comparado con lo que ocurrió con la inyección del trazador en la del ovario derecho (Morán et al., 2005; Morán et al., 2009).

Aparentemente, las conexiones están distribuidas de manera asimétrica: en el ovario izquierdo, se proyectan de manera ipsi- y contralateral pero en el ovario derecho son únicamente conexiones ipsilaterales (Morán et al., 2005). Se sabe que el número de fibras nerviosas que recibe el ovario derecho es mayor que las del izquierdo (Klein & Burden, 1988). Sin embargo, Toth y colaboradores (2007) demostraron que el ovario izquierdo manda más información neural al SNC que el ovario derecho.

La inervación ovárica del sistema autónomo influye en el desarrollo de la hipertrofia compensadora del ovario y de la ovulación compensadora del ovario remante.

Chávez y colaboradores (1987) mostraron que existen diferencias por la denervación por sección del nervio vago en ratas cíclicas enteras respecto a aquellas que son hemiovariectomizadas; en animales enteros, la sección del nervio vago izquierdo resulta en la disminución en la tasa de animales ovulantes respecto al grupo sham, mientras que la sección del nervio vago derecho no modifica la tasa de animales ovulantes.

La sección de ambos nervios vago en ratas con hemiovariectomía derecha (ovario izquierdo in situ) redujo el grado de hipertrofia compensadora.

En el mismo trabajo, se describió que la sección del nervio vago izquierdo induce diferentes efectos que dependen del ovario que permanece in situ: la vagotomía izquierda realizada a ratas hemicastradas del ovario derecho (OI in situ) resulta en el incremento de la tasa de ovulación, de la hipertrofia compensadora del ovario y del número de ovocitos liberados, mientras que el mismo procedimiento para el ratas con ovariectomía izquierda (OD in situ) resulta en la disminución de los mismos parámetros (Chávez et al., 1987).

Estos resultados permiten sugerir que los ovarios se rigen de manera asimétrica y los datos del presente trabajo parecen indicar que el sistema dopaminérgico de ovario actúa de igual manera, regulando el desarrollo de la hipertrofia compensadora y la ovulación compensadora del ovario derecho in situ de manera diferente a lo que hace en el ovario izquierdo in situ.

Si se toma en cuenta el día del ciclo en que se realizó la microinyección del sulpiride, nuevamente los cambios más significativos ocurren en los grupos de animales tratados a las 13:00 h del día del diestro-1, donde se apreció una disminución en la ovulación compensadora y un aumento en la hipertrofia compensadora del ovario derecho con microinyección del antagonista dopaminérgico comparada con los demás grupos experimentales.

En trabajos recientes, el análisis del papel funcional de los receptores dopaminérgicos en los ovarios de ratas enteras adultas han mostrado de modo consistente, que este día del ciclo estral es particularmente crítico para el desarrollo de los eventos endócrinos y neuroendócrinos que conducen a la ovulación espontánea, ya que el bloqueo selectivo y genérico de los receptores a la dopamina en ambos ovarios resulta en la falla ovulatoria (Venegas et al., 2015). Por lo tanto, en el diestro-1 la dopamina y la interacción con los receptores de tipo DA2 regula el desarrollo de la hipertrofia compensadora y la ovulación compensadora del ovario in situ de manera asimétrica.

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

El desarrollo de la hipertrofia compensadora del ovario supone el concomitante incremento en la masa ovárica y con ello el incremento de receptores a dopamina, lo que nos lleva a plantear la posibilidad de que la dosis de sulpiride empleada en el presente trabajo haya sido insuficiente para bloquear la totalidad de los receptores tipo DA2.

### Agradecimientos

Agradecemos al MVZ Carlos Escamilla Weinmann, director del Bioterio "Claude Bernard" de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y a todo su personal, su muy apreciable apoyo en el suministro y alojamiento de los animales de experimentación utilizados en el presente trabajo.

### Referencias

Adashi, E.Y. & A.J.W. Hsueh (1981). Stimulation of  $\beta$ -adrenergic responsiveness by follicle-stimulating hormone in rat granulosa cells in vitro and in vivo. *Endocrinology* 108: 2170-2178

Aguado, L.I., S.L. Petrovic & S.R. Ojeda (1982). Ovarian  $\beta$ -adrenergic receptors during the onset of puberty: characterization, distribution, and coupling to steroidogenic responses. *Endocrinology* 11: 1124-1132

Bahr, J.M., L. Kao & A.V. Nalbandov (1974). The role of catecholamines and nerves in ovulation. *Biol Reprod* 10: 273-282

Burden, H.W. (1978). Ovarian Innervation. En: *The Vertebrate Ovary, Comparative Biology*. Ed. R.E Jones. Plenum Press. New York, pp. 615-338

Burden, H.W. (1985). The adrenergic innervation of mammalian ovaries. En: *Catecholamines As Hormone Regulators*. Eds. N. Ben Jonathan, J.M. Bahr & R.I. Weiner. Serono Symposia Publications. Raven Press. New York, pp. 262-278

Conn, M. (1994). The molecular mechanism of gonadotrophin-releasing hormone action in the pituitary. En: *Physiology of Reproduction*. 2th Edition. Vol. 1. Chapter 32. eds. E. Knobil & J. Neill. Raven Press. New York, pp 1815-1832

Chávez, R., M.E. Cruz & R. Domínguez (1987). Differences in the ovulation rate of right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: effect of ipsi- and contralateral vagus nerves on the remaining ovary. *J Endocrinol* 113: 397-401  
*Endocrinology* 99:728-735.

D'albora H., P. Lombide & S.R. Ojeda (2000). Intrinsic neurons in the rat ovary: an immunohistochemical study. *Cell Tissue Res* 300: 47-56

D'albora, H., G. Anesetti, P. Lombide, W.L. Dees & S.R. Ojeda (2002). Intrinsic neurons in the mammalian ovary. *Microsc Res Tech* 59:484-489

Dees, W.L, J.K.Hiney, N.H. McArthur, G.A. Johnson, G.A. Disse & S.R. Ojeda (2006). Origin and ontogeny of mammalian ovarian neurons. *Endocrinology* 147: 3789-3796

Domínguez, C, R. Zipitria, D., Riboni, L. & Revilla, R (1985). Differences in the ability of reserpine and chlorpromazine to block ovulation throughout the oestrous cycle of the rat. *J Interdis Cycle Res* 16: 285-294

Domínguez, C. R., Riboni, L., Zipitria, D. & Revilla, R (1982). Is there a cholinergic circadian rhythm throughout the oestrous cycle related to ovulation in the rat? *Endocrinology* 95:175-180

Domínguez, C. R., Gaitán, C. M., Méndez, S. A. & Ulloa-Aguirre, A. (1987). Effects of catecholaminergic blockade by haloperidol or propranolol at different stages of the oestrous cycle on ovulation and gonadotrophin levels in the rat. *Journal of Endocrinology* 113: 37-44

Domínguez, R. Morales L. & Cruz M.E. (2003) Ovarian Asymmetry. *ARBS Anu Rev Biomed Sci* 5.95 104

Domínguez, R., M.E. Cruz & R. Chávez (1989). Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. En: "Growth Factors and the Ovary". Edt. A.N. Hirshfield. Plenum Press. New York. pp.321 325

Dyer, C.A. & G.F. Erickson (1985). Norepinephrine amplifies human chronic gonadotrophin-stimulated androgen biosynthesis by ovarian theca-interstitial cells. *Endocrinology* 116: 1645-1652.

Feder, H.H. (1981). Estrous cyclicity in mammals. En: "Neuroendocrinology of Reproduction: Physiology and Behavior". Sección III. Capítulo 10. Eds. N.T. Adler. Plenum Press. New York & London. pp 279-308

Fink, G. (1988). Gonadotropic secretion and its control. En: "Physiology of Reproduction". 1th Edition. Vol. I. Capítulo 32. Eds. E. Knobil & J. Neill. Raven Press, New York, pp 1349-1377

Freeman, M.E. (1988). The ovarian cycle of the rat. En: "Physiology of Reproduction". 1th Edition. Vol.II. Capítulo 45. Eds. E. Knobil & J. Neill. Raven Press, New York, pp. 1893-1928

Freeman, M.E. (1994). The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En: "Physiology of Reproduction". Vol. II. Capítulo 46. Eds. E. Knobil & J.D. Neill. Raven Press. New York. pp. 613-658

Gay E.A., J.D. Urban, D.E. Nichols, G.S. Oxford & B.R. Mailman (2004). Functional Selectivity of D2 Receptor Ligands in a Chinese Hamster Ovary hD2L Cell Line: Evidence for Induction of Ligand-Specific Receptor State. *Molecular pharmacology* 0026-895X/04/6601-97-105

Gerendai, I., Z.S. Csaba, Z. Voko & V. Csernus (1995). Involvement of a direct neural mechanism in the control of gonadal functions. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 53 299-305

Gerendai, I., I.E. Thot, Z. Boldogkoi, I. Medveczky & B. Halasz (1998). Neural labeling in the rat brain and spinal cord from the ovary using viral transneuronal tracing technique. *Neuroendocrinology* 68 244-256.

Hsueh, A.J.W., E.Y. Adashi, P.B.C. Jones & T.H. Welsh (1984). Hormonal regulation of the differentiation of cultured ovarian granulosa cells. *Endocr Rev* 5: 76-127.

King, B. F., J. H. Britt, K. L. Esbenshade, W. L. Flowers & J. J. Ireland (1995). Evidence for a local role of inhibin or inhibin  $\alpha$  subunits in compensatory ovarian hypertrophy. *Journal of reproduction and fertility* 104,291-295

Klein, J.T. & H.W. Burden (1988). Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating rat ovary. *Neuroscience Letters* 85:217-222

Kordon, C., S.V. Drouva, G. Martínez De La Escalera & R.I. weiner (1994). Role of classic and peptide neuromediators in the neuroendocrine regulation of luteinizing hormone and prolactin. En: *The Physiology of Reproduction*. 2th. Edition. Vol. I. Capítulo 27. Eds. E. Knobil & J. Neill. Raven Press. New York, pp.1621-1681

Lara, H.E., M. Dofman, M. Venegas, S.M. Luza, S.L. Luna, A. Mayerhofer M.A. Guimaraes, E. Rosa, A.A. Silva & V.D. Ramírez (2002). Changes in sympathetic nerve activity of the mammalian ovary durin normal estrous cycle and the polycystic ovary syndrome: studies on norepinephrine release. *Microsc Res Tech* 59:495-502

Lawrence, I.E & H.W. burden (1980). The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the ovary. *Anat Rec* 196:51-59

Mayerhofer, A., G.A Dissen, M.E Costa & S.R. Ojeda (1997). A role for neurotransmitters in early follicular development: induction of functional follicle-stimulating hormone receptors in newly formed follicles of the rat ovary. *Endocrinology* 178: 3320-3329.

Mayerhofer, A., S. Fritz, R. Grünert, S. L. Sanders, D.M. Duffy, S.R. Ojeda & R.L. Stouffer (2000). D1-Receptor, DARPP-32, and PP-1 in the Primate Corpus Luteum and Luteinized Granulosa Cells: Evidence for Phosphorylation of DARPP-32 by Dopamine and Human Chorionic Gonadotropin. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*; 0021-972X/00

Morán, C., Franco A., Morán J.L., Handal A., Morales L. & Domínguez R. (2005). Neural activity between ovaries and the prevertebral celiac-superior mesenteric ganglia varies during the estrous cycle of the rat. *Endocrine* 26: 147-152 M

Morán, C., F. Zarate, J. L. Morán, A. Handal & R. Domínguez (2009). Lateralization of the connections of the ovary to the celiac ganglia in juvenile rats. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 7:50 doi:10.1186/1477-7827-7-50.

Ojeda, S. & L. Aguado (1985). Adrenergic control of the pubertal ovary: involvement of local innervation and circulating catecholamines. *Serono Symposia Publications*. Raven Press. New York

Ojeda, S. & M. Skinner (2006). Puberty in the rat. En: *The Physiology of Reproduction*. Eds. J.D. Neill. 3th. Edition. Academic Press. San Diego, pp. 2061-2126

Pastelín-Rojas, C. (2003). Efectos del bloqueo farmacológico del sistema dopaminérgico durante la segunda mitad del ciclo estral sobre la función ovárica de la rata adulta. Tesis Profesional. Biología, BUAP

Ramírez-Ávila, B. (2001). Efectos de la administración secuencial de GnRH sobre la ovulación en ratas adultas con bloqueo farmacológico del sistema dopaminérgico. Tesis Profesional. Biología, BUAP

Rey-Ares, V., N. Lazarov, D. Berg, U. Berg, L. Kunz & A. Mayerhofer (2007). A dopamine receptor repertoire of human granulosa cells. *Reprod Biol Endocrinol* 5:40-49

Toth I.E., O. Wiesel, Z. Boldogkoi, K. Balint, Z. Tapaszti & I. Gerendai (2007). Predominance of supraespal innervation of the left ovary. *Mycrosc ResTech* 70:710-718.

Venegas, B., Padilla, J.F., Juarez C.E., Moran, J.L., Moran, C., Rosas Murrieta, N.H., Handal, A. Dominguez, R. (2015). Effects of ovarian dopaminergic receptor on ovulation. *Endocrine*. DOI 10.1007/s12020-015-0636-4. Original Article *Endocrine* December 2015, Volume 50, Issue 3, pp 783-796; first online: 30 May 2015

## Sincronización de celos utilizando GnRH Y PGF2 $\alpha$ para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos productores de leche

LUCIO, Rodolfo\*†, SESENTO, Leticia´ y BEDOLLA, José Luis Carlos

*Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo  
´Colegio Primitivo y Nacional de San Nicolás de Hidalgo*

Recibido Marzo 25, 2016; Aceptado Junio 07, 2016

### Resumen

En este trabajo se evaluó la eficiencia de dos tratamientos para sincronización de celo utilizando PGF2 $\alpha$  Y GnRH para posteriormente realizar la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), evaluando a los 21 días la tasa de preñez en cada uno de los tratamientos. Se utilizaron 10 vacas estabuladas de raza suizo americano entre primer y segundo parto con una condición corporal (CC) con un promedio de 4, separadas en dos grupos de cinco vacas por tratamiento. Los tratamientos fueron realizados con un intervalo de 10 y 11 días. Tratamiento 1: Se aplicaron 2ml de GnRH en el día 0, en el día 7 se aplicó una dosis de 5ml de PGF2 $\alpha$ , al día 9 se aplicó una segunda dosis de GnRH y al día 10 se realizó la IA. Tratamiento 2: Se aplicó una dosis de 5ml de PGF2 $\alpha$  en el día 0, en el día 9 se aplicó una segunda dosis de PGF2 $\alpha$  y en el día 11 se llevó a cabo la IA y 2 horas después se aplicó una dosis de 2ml de GnRH. El tratamiento 1 es menos eficiente con una tasa de preñez de 40% mientras que el tratamiento 2 resultó ser más eficiente con una tasa de preñez del 60%.

**Sincronización de celo, GnRH, PGF2 $\alpha$ , IATF, tasa de preñez**

### Abstract

In this work the efficiency of two treatments for estrus synchronization using PGF2 and GnRH later to make artificial insemination at fixed time (TAI), evaluated at 21 days pregnancy rate in each of the treatments was evaluated. 10 American Swiss cows housed race between first and second delivery with a body condition (CC) with an average of 4 separate in two groups of five cows per treatment were used. Treatments were performed with an interval of 10 days y 11. Treatment 1: GnRH were applied in 2ml of day 0, day 7 a dose of 5ml PGF2 $\alpha$  was applied on day 9 a second dose of GnRH was applied and on day 10 AI was performed. Treatment 2: A dose of 5 ml PGF2 $\alpha$  was applied on day 0, on day 9 a second dose of PGF2 $\alpha$  was applied and on day 11 was just the IA and 2 hours after a dose of 2ml of GnRH was applied. Treatment 1 is less efficient with a pregnancy rate of 40% while treatment 2 turned out to be more efficient with a pregnancy rate of 60%.

**Synchronization of estrus, GnRH, PGF 2, IATF pregnancy rate**

**Citación:** LUCIO, Rodolfo, SESENTO, Leticia y BEDOLLA, José Luis Carlos. Sincronización de celos utilizando GnRH Y PGF2 $\alpha$  para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos productores de leche. Revista de Sistemas Experimentales. 2016. 3-7: 60-64.

\*Correspondencia al Autor (Correo electrónico: jpadilla@cucba.udg.mx)

†Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

La primera propuesta referente a un método capaz de manipular al ciclo estral de la vaca partió de Christian y Casida en 1948 que surgieron con la utilización de la progesterona con el fin de bloquear la función reproductiva. A partir de la suspensión de la medicación buena parte de los animales presentaron síntomas de celo. Más tarde en 1968 Wiltbank y Kasson verificaron que la adición de un estrógeno (Valerato de estradiol) al inicio del tratamiento a través de su efecto luteolítico, aumentaba la incidencia de celos en los animales tratados y permitía la reducción del periodo de bloqueo con progesterona. (Becaluba, 2006)

Pursley et al. (1997) demostró que el momento de ovulación en ciclos inducidos con prostaglandinas presenta grandes variaciones. Por este motivo la detección de celo se hace imprescindible cuando se pretende adoptar la inducción de ciclos con ovulación e inseminación artificial. Para programas de inseminación artificial en momentos pre-determinados debe darse la preferencia a la hormonoterapia que promueven ovulaciones con mejor uniformidad de tiempo. (Becaluba, 2006)

En los mamíferos el hipotálamo tiene un comando central de regulación de la función reproductiva.

Estímulos endógenos, principalmente a través de las variaciones en las concentraciones sanguíneas de determinadas hormonas sexuales, así como efectos endógenos, como por ejemplo, nivel nutricional, luz, temperatura ambiental, bioestimulación, ejercen un efecto positivo o negativo sobre la producción y liberación de GnRH, por parte del hipotálamo.

La GnRH llega a la hipófisis a través del sistema porta hipofisiario alcanzando su lóbulo anterior donde regula la producción de las gonadotropinas FSH (folículo estimulante) y LH (leutinizante). Luego de la pubertad las vaquillonas comienzan a desencadenar eventos cíclicos regulados por la liberación de la GnRH.

Los estímulos de liberación de la FSH promueven el crecimiento folicular en forma de ondas, generalmente son 2 o 3 durante un ciclo estral, lo que lleva al aumento en la concentración de estrógeno debido al crecimiento de los folículos.

El crecimiento folicular induce a una mayor concentración de estrógeno que termina regulando la liberación de LH. La liberación de LH ocurre en forma de pico, aproximadamente 6 horas antes de ocurrida la ovulación. Inmediatamente después de la ovulación, por la influencia de la LH, comienza el proceso de leutinización de las células de la teca interna del folículo.

Se inicia entonces el crecimiento del tejido lúteo con la formación del llamado cuerpo amarillo responsable de la secreción de progesterona que ejerce un efecto negativo principalmente sobre la liberación de LH.

Este cuerpo amarillo va a desaparecer por efecto de la hormona prostaglandina  $F2\alpha$ , la cuál va a ser secretada por el endometrio, la cual tiene un efecto luteolítico y ocasiona que el mismo regresiones. Una vez que desaparece el bloqueo ejercido por la progesterona, se restablece nuevamente el ciclo. (Becaluba, 2006). Son muchos los factores que se deben tomar en cuenta para poder elegir un protocolo de sincronización; tiempo, trabajo, facilidad y costos así como el entendimiento de la función del mismo, el cual si se posee, se vuelve una garantía para su correcta realización.

Actualmente existen en el mercado 2 grupos hormonales utilizados para la sincronización del celo en bovinos, los progestágenos y las prostaglandinas y sus análogos, que se pueden implementar de diferentes maneras. (Balleza, 2009)

En la década de los 60's, se empezó a utilizar la progesterona sintética por ser más económica y de mayor potencialidad; en el agua, alimento, dispositivos intravaginales o por implantes, observando que a las 48 horas de suprimir el agente hormonal se presentaron signos de celo. (Balleza, 2009)

El inseminar vacas que se identificaron mal como estando en celo, y no viendo a las vacas que estaban realmente en celo, puede disminuir en forma significativa el número de hembras que quedan preñadas luego de un programa de sincronización. La mayoría de los protocolos de sincronización para vacas incluyen inseminaciones a tiempo programado, mientras que la mayoría de los protocolos para vaquillas incluyen por lo menos algún tipo de detección de celos. Generalmente, las vacas son más difíciles de detectar en celo que las vaquillas, ya que a menudo tienen menores momentos de celo verdadero, y muestran menos signos de celo secundario.

Los criterios usados por el ganadero para evaluar programas de sincronización del celo incluyen además de los resultados reproductivos, el costo y la facilidad de aplicación del tratamiento. Los resultados reproductivos en aquellos programas que no utilicen la inseminación a tiempo pre-determinado, dependerán del protocolo de sincronización, la ciclicidad y fertilidad del rebaño, estado nutricional, genotipo, docilidad del rebaño, semen a utilizar, técnico inseminador y de la habilidad en la detección del celo. (Díaz)

El costo del programa dependerá de los productos a utilizar, las facilidades para el manejo del rebaño y la docilidad del mismo. En vacas o en novillas, el factor más limitante para el éxito del programa de sincronización es el porcentaje de hembras ciclando. El estado nutricional está muy relacionado con la ciclicidad de las hembras tratadas, de manera tal que manteniendo un buen aporte nutricional, se garantiza un mayor número de hembras ciclando. Un factor que se debe tener en cuenta en vacas de carne, es el amamantamiento, ya que las vacas amamantando tienen su ciclicidad comprometida. Todos estos factores deben tomarse en cuenta antes de iniciar el programa, pues la mayoría de las veces el fracaso de un programa de sincronización de celo y/o la ovulación es consecuencia de alguno de los factores anteriormente mencionados. (Díaz)

### Material y metodos

El trabajo se realizó, en el CBTA 7 ubicado sobre la antigua carretera federal número 120 Morelia-Pátzcuaro, a 5 kilómetros al suroeste de la ciudad de Morelia. Las coordenadas geográficas corresponden a los 19° 39' 00'' latitud norte y 101° 14' 00'' de longitud oeste, con altura aproximada al nivel del mar que varía de 1920 m. en la parte oeste a 1960 m. al noroeste. El trabajo se inició en marzo 2015 finalizando en junio del mismo año.

Se trabajó con un total de 10 vacas productoras de leche con un rango entre primer y segundo parto, las cuales fueron separadas en 2 grupos de cinco vacas para cada tratamiento, para realizar su respectiva comparación de acuerdo al protocolo asignado a cada grupo. Para lo cual se utilizó equipo para IA, termo criogénico, PGF2 $\alpha$ , GnRH, 10 pajillas de semen, 5 del toro Windows y 5 del Ranvier.

Tratamiento 1

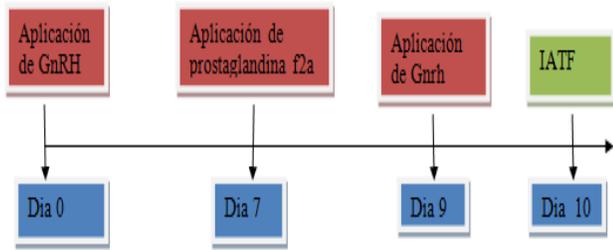


Figura 1

Se aplicó una inyección de 2ml de GnRH en el día 0, en el día 7 se aplica una dosis de 5ml de prostaglandina, al día 9 se aplica una segunda dosis de GnRH y al día 10 se realizó la IATF.

Tratamiento 2

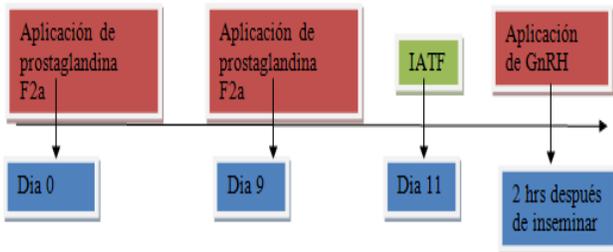


Figura 2

Se aplicó una inyección de 5ml de prostaglandina en el día 0, en el día 9 se aplicó una segunda dosis de prostaglandina y en el día 11 se llevó a cabo la IATF y posteriormente 2 horas después de la inseminación se les aplicó una dosis de 2ml de GnRH.

Resultados y discusión

Tratamiento 1: la sincronización se llevó a cabo en 5 vacas de las cuales todas presentaron celo y fueron inseminadas, quedando gestantes 2 vacas equivalente a una tasa de preñez del 40%.

| Vaca | Aplicación GnRH día 0 | Aplicación PGF2a día 7 | Aplicación GnRH día 9 | Presencia de celo e IA día 10 | Preñez a los 21 días |
|------|-----------------------|------------------------|-----------------------|-------------------------------|----------------------|
| 3    | 2ml                   | 5ml                    | 2ml                   | Si                            | Si                   |
| 20   | 2ml                   | 5ml                    | 2ml                   | Si                            | No                   |
| 5    | 2ml                   | 5ml                    | 2ml                   | Si                            | No                   |
| 7    | 2ml                   | 5ml                    | 2ml                   | Si                            | No                   |
| 28   | 2ml                   | 5ml                    | 2ml                   | Si                            | Si                   |

Tabla 1 Tratamiento 1

Los resultados obtenidos no superan a los encontrados por Stevenson (2007) quien utilizó el programa Ovsynch y obtuvo un 38 a 46% de manifestación del estro al momento de la segunda aplicación de PGF2α, utilizando el método de inseminación AM- PM.

Por otra parte (Balleza, 2009) obtuvo un 45-50% como tasa de preñes, esto aunque se pudiésemos hablar que está en el rango deseado. sin embargo nuestros resultados no lograron igualar los de este autor.

Tratamiento 2

La sincronización se llevó a cabo en 5 vacas de las cuales el 100% presentaron celo y fueron inseminados, quedando gestantes 3 vacas. Equivalente a una tasa de preñes del 60%.

| Vaca | Aplicación PGF2a día 0 | Aplicación PGF2a día 9 | Presentación de celo e IA día 11 | Aplicación de GnRH 2 hrs después de la IA | Preñez a los 21 días |
|------|------------------------|------------------------|----------------------------------|---|----------------------|
| 33   | 5ml                    | 5ml                    | Si                               | 2ml                                       | Si                   |
| 42   | 5ml                    | 5ml                    | Si                               | 2ml                                       | No                   |
| 48   | 5ml                    | 5ml                    | Si                               | 2ml                                       | Si                   |
| 82   | 5ml                    | 5ml                    | Si                               | 2ml                                       | No                   |
| 27   | 5ml                    | 5ml                    | Si                               | 2ml                                       | Si                   |

Tabla 2 Tratamiento 2

La muestra en la cual se llevó a cabo nuestro estudio fueron vaquillas de primer y segundo parto.

Por otra parte (D. Ferguson, y otros, 1983), han demostrado que el período entre las dos aplicaciones de PGF2 $\alpha$  de 11 a 14 días, tiende a producir una mejor sincronización al aumentar la cantidad de animales en la fase altamente sensible a la PGF2 $\alpha$ . así mismo (Alcantar, 1991) obtuvo un 45-50% usando el protocolo ovsynch con una variante de 10 días. en nuestro estudio usamos este mismo pero con un tiempo de 11 días. Se presume que este autor no supero la eficiencia que se obtuvo en nuestro estudio, referente al tratamiento que se utilizó.

### Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos se llegó a la conclusión que el tratamiento 1 es menos eficiente con una tasa de preñez de 40% mientras que el tratamiento 2 resulto ser más eficaz con una tasa de preñez del 60%.

### Referencias

Alcantar, G. 1991. Sincronización de la ovulación mediante GnRH y Prostaglandina. España : s.n., 1991.

Balleza, Ángel Mexicano. 2009. principales protocolos de sincronización del estro utilizados en la ganadería bovina y su costo-beneficio en la actualidad. [En línea] 08 de 2009. [Citado el: 12 de 05 de 2015.] <http://cdigital.uv.mx/bitstream/12345678/677/2/Tesis.pdf>.

Becaluba, Facundo. 2006. producción animal. [En línea] 2006. [Citado el: 04 de 06 de 2015.] [http://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/inseminacion\\_artificial/92-metodos\\_sincronizacion.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/92-metodos_sincronizacion.pdf).

D. Ferguson, James y T. Galligan, David. 1983. serum urea nitrogen and conception rate: the usefulness of test information. pensilvania : center for animal health and productivity university, 1983.

Díaz, Thaís del Valle. reproducción bovina. eligiendo un protocolo de sincronización para su hato. Thorson, Sarah. 2010. s.l. : cooperative resources international, 2010, Vols. [http://www.reproduccionanimal.com.mx/AIR\\_S\\_F2459-040-ChoosingSynchProtocols-Span.pdf](http://www.reproduccionanimal.com.mx/AIR_S_F2459-040-ChoosingSynchProtocols-Span.pdf).

## Instrucciones para Autores

---

### [Titulo en Times New Roman y Negritas No.14]

Apellidos en Mayusculas -1er Nombre de Autor †, Apellidos en Mayusculas -2do Nombre de Autor  
*Correo institucional en Times New Roman No.10 y Cursiva*

(Indicar Fecha de Envio:Mes,Dia, Año); Aceptado(Indicar Fecha de Aceptación: Uso Exclusivo de ECORFAN)

---

#### Resumen

Titulo

Objetivos, metodología

Contribución

(150-200 palabras)

#### Abstract

Title

Objectives, methodology

Contribution

(150-200 words)

**Indicar (3-5) palabras clave en Times New Roman y Negritas No.11**

#### Keyword

---

**Cita:** Apellidos en Mayúsculas -1er Nombre de Autor †, Apellidos en Mayusculas -2do Nombre de Autor. Titulo del Paper. Título de la Revista. 2015, 1-1: 1-11 – [Todo en Times New Roman No.10]

---

---

† Investigador contribuyendo como primer autor.

# Instrucciones para Autores

## Introducción

Texto redactado en Times New Roman No.12, espacio sencillo.

Explicación del tema en general y explicar porque es importante.

¿Cuál es su valor agregado respecto de las demás técnicas?

Enfocar claramente cada una de sus características

Explicar con claridad el problema a solucionar y la hipótesis central.

Explicación de las secciones del artículo

## Desarrollo de Secciones y Apartados del Artículo con numeración subsecuente

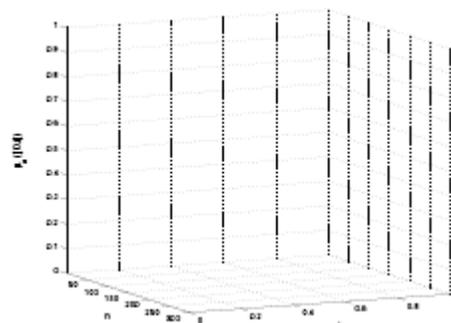
[Título en Times New Roman No.12, espacio sencillo y Negrita]

Desarrollo de Artículos en Times New Roman No.12, espacio sencillo.

## Inclusión de Gráficos, Figuras y Tablas-Editables

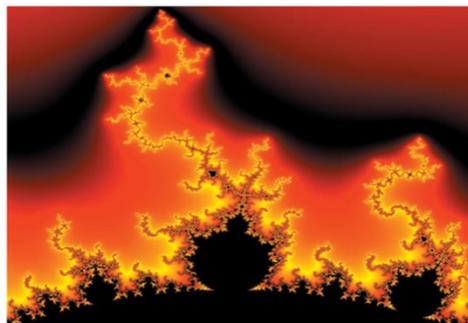
En el *contenido del artículo* todo gráfico, tabla y figura debe ser editable en formatos que permitan modificar tamaño, tipo y número de letra, a efectos de edición, estas deberán estar en alta calidad, no pixeladas y deben ser notables aun reduciendo la imagen a escala.

[Indicando el título en la parte inferior con Times New Roman No.10 y Negrita]



**Grafico 1** Titulo y Fuente (en cursiva).

No deberán ser imágenes- todo debe ser editable.



**Figura 1** Titulo y Fuente (en cursiva).

No deberán ser imágenes- todo debe ser editable.

|  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |

**Tabla 1** Titulo y Fuente (en cursiva).

No deberán ser imágenes- todo debe ser editable.

Cada artículo deberá presentar de manera separada en **3 Carpetas**: a) Figuras, b) Gráficos y c) Tablas en formato .JPG, indicando el número en Negrita y el Titulo secuencial.

## Instrucciones para Autores

---

**Para el uso de Ecuaciones, señalar de la siguiente forma:**

$$Y_{ij} = \alpha + \sum_{h=1}^r \beta_h X_{hij} + u_j + e_{ij} \quad (1)$$

Deberán ser editables y con numeración alineada en el extremo derecho.

### Metodología a desarrollar

Dar el significado de las variables en redacción lineal y es importante la comparación de los criterios usados

### Resultados

Los resultados deberán ser por sección del artículo.

### Anexos

Tablas y fuentes adecuadas.

### Agradecimiento

Indicar si fueron financiados por alguna Institución, Universidad o Empresa.

### Conclusiones

Explicar con claridad los resultados obtenidos y las posibilidades de mejora.

### Referencias

Utilizar sistema APA. **No** deben estar numerados, tampoco con viñetas, sin embargo en caso necesario de numerar será porque se hace referencia o mención en alguna parte del artículo.

### Ficha Técnica

Cada artículo deberá presentar un documento Word (.docx):

Nombre de la Revista

Título del Artículo

Abstract

Keywords

Secciones del Artículo, por ejemplo:

1. *Introducción*
2. *Descripción del método*
3. *Análisis a partir de la regresión por curva de demanda*
4. *Resultados*
5. *Agradecimiento*
6. *Conclusiones*
7. *Referencias*

Nombre de Autor (es)

Correo Electrónico de Correspondencia al Autor

Referencia

**Formato de Originalidad**



Sucre, Chuquisaca \_\_\_\_ de \_\_\_\_ del 20 \_\_\_\_

Entiendo y acepto que los resultados de la dictaminación son inapelables por lo que deberán firmar los autores antes de iniciar el proceso de revisión por pares con la reivindicación de ORIGINALIDAD de la siguiente Obra.

Artículo (Article):

---

Firma (Signature):

---

Nombre (Name)

**Formato de Autorización**



Sucre, Chuquisaca \_\_\_\_ de \_\_\_\_ del 20 \_\_\_\_

Entiendo y acepto que los resultados de la dictaminación son inapelables. En caso de ser aceptado para su publicación, autorizo a ECORFAN-Bolivia a difundir mi trabajo en las redes electrónicas, reimpresiones, colecciones de artículos, antologías y cualquier otro medio utilizado por él para alcanzar un mayor auditorio.

I understand and accept that the results of evaluation are inappealable. If my article is accepted for publication, I authorize ECORFAN-Bolivia to reproduce it in electronic data bases, reprints, anthologies or any other media in order to reach a wider audience.

Artículo (Article):

\_\_\_\_\_  
Firma (Signature)

\_\_\_\_\_  
Nombre (Name)

# Revista de Sistemas Experimentales

Análisis de dos tipos de mediciones de Descargas Parciales utilizando el método estadístico

**FIGUEROA, Fernando, GARCÍA, José Miguel, TORRES, Jacinto y ZÚÑIGA, Mónica E.**

*Instituto Tecnológico Superior de Irapuato*

*Comisión Federal de Electricidad*

*Instituto Tecnológico Superior de Abasolo*

“Análisis y simulación numérico de esfuerzo circunferencial de un envase de vidrio tipo long neck”

**ANGUIANO-LIZAOLA, Jorge, SANCHEZ-OCAMPO, Cesar, CABRERA-CORDOVA, Eduardo y TONG-DELGADO, Miriam**

“Efecto de la aplicacion parenteral de selenio y vitamina E sobre la concentracion de IgG F5+ de Escherichia coli y selenio sanguíneo en corderos”

**VALLADARES-CARRANZA, Benjamin, VELAZQUEZ-ORDOÑEZ, Valente, ORTEGA-SANTANA, Cesar, SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, Fernando**

*Universidad Autónoma del Estado de México*

*Clínica Privada*

“Efecto del número de mediciones de la producción de leche en la estimación de la curva de lactancia en cabras locales de la Comarca Lagunera, México”

**TORRES-HERNÁNDEZ, Glafiro, MALDONADO-JÁQUEZ, Jorge A., SALINAS-GONZÁLEZ, Homero y BECERRIL-PÉREZ, Carlos M**

*Colegio de Postgraduados*

*INIFAP*

“El bloqueo farmacológico de los receptores ováricos a la dopamina altera el ciclo estral y la ovulación en la rata adulta”

**GONZÁLEZ, Karla, MORÁN, José Luis, HANDAL, Anabella y REYNOSO, Alejandro**

*Instituto de Ciencias*

*Benemérita Universidad Autónoma de Puebla*

“La Sulpirida reduce la ovulación compensadora pero incrementa la hipertrofia compensadora del ovario derecho en la rata hemi-ovariectomizada”

**LETRAS, Dulce, HANDAL, Anabella, DÍAZ, Alfonso y MORÁN, José Luis**

*Benemérita Universidad Autónoma de Puebla*

“Sincronización de celos utilizando GnRH Y PGF2 $\alpha$  para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos productores de leche”

**LUCIO, Rodolfo, SESENTO, Leticia y BEDOLLA, José Luis Carlos**

*Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo*

*Colegio Primitivo y Nacional de San Nicolás de Hidalgo*

