

## 발정주기 중 흰쥐 부신에서의 카테콜아민 합성과 분비 변화

이 성 호<sup>†</sup>

상명대학교 생물학과

### Alteration of Biosynthesis and Secretion of Adrenal Catecholamines in Cycling Rat

Sung-Ho Lee<sup>†</sup>

Department of Biology, Sangmyung University, Seoul 110-743, Korea

**ABSTRACT** : Numerous hormones are involved in the regulation of reproduction. Among them, estrogen and progesterone are the most important ovarian steroid hormones regulating female fertility. On the other hand, diverse stressors impede female receptivity and fertility. Since norepinephrine(NE) and epinephrine(E) are released from the adrenal during stress, it might play a role in stress-induced disruptions of female reproductive parameters. The present study was performed to analyze the changes in adrenal catecholaminergic activities in cycling rats. The tissue content and secretion level of catecholamines were determined by high performance liquid chromatography coupled with electrochemical detector(HPLC-ECD). Adrenomedullary content of norepinephrine(NE) was increased on proestrus stage ( $59.47 \pm 6.86$  ug/gland), peaked on diestrus I stage( $65.22 \pm 5.99$  ug/gland), and was nadir on diestrus II stage( $41.63 \pm 1.33$  ug/gland). The highest E content was observed on proestrus stage( $361.86 \pm 18.88$  ug/gland) while the lowest level was on diestrus II stage( $285.58 \pm 12.25$  ug/gland). In addition to these observations, a significant reduction of the NE : E ratio was observed (1 : 4.81 on diestrus I vs 1 : 6.13~7.02 on other stages). In vitro secretion of adrenal NE and E was increased on proestrus stage, peaked on estrus stage, and decreased on diestrus II stage. Interestingly, the NE : E ratio in conditioned media was significantly increased on estrus stage (1 : 3.32 vs 1 : 2.34~2.65 on other stages). The biosynthesis of NE and E is mediated by tyrosine hydroxylase(TH) and phenylethanolamine-N-methyltransferase(PNMT) which acts conversion of tyrosine into DOPA and NE into E, respectively. These finding demonstrated that sex steroids, during setrous cycle, seem to be able to modify the adrenal catecholamines biosynthesis and secretion with stage-specific manner by modulation of the enzyme activities.

**Key words** : Rat adrenal gland, Norepinephrine, Epinephrine, Estrous cycle, TH and PNMT.

**요 약** : 포유동물의 생식을 조절하는 다수의 호르몬 가운데 가장 중요한 것들로 난소로부터의 *estrogen*과 *progesterone*을 들 수 있다. 반면 다양한 스트레스 인자들은 암컷의 성 반응 행동과 번식을 억제함이 잘 알려졌다. 이러한 스트레스가 가해지는 동안 부신에서는 카테콜아민(catecholamine)이 다량 분비되어 위기 상황에 대처하며 이 과정에서 생식 현상의 억제가 일어나는 것으로 추정된다. 본 연구에서는 생식호르몬 분비와 성 행동 양식에 광범위한 영향을 미침이 알려진 카테콜아민 중 특히 부신의 norepinephrine(NE)과 epinephrine(E) 합성·분비 양상과 발정주기 간의 상관관계를 조사하였다. 이를 위해 HPLC-ECD를 사용하여 주기 중인 흰쥐 부신 수질내 NE와 E 함량과 체외 배양한 부신으로부터의 분비를 조사하였다. NE 함량은 proestrus에서 증가하기 시작하여 diestrus I에서 최고에 도달하였고, diestrus II에 최소치로 감소하였다. 부신 내 E 함량의 최고치는 proestrus, 그리고 최저치는 diestrus II에서 관찰되었다. 흰쥐 부신 내 NE : E ratio는 diestrus I에서 1 : 4.81로 가장 낮았고 기타 시기에는 1 : 6.13~7.02였다. 체외 배양한 흰쥐 부신으로부터의 NE 분비는 diestrus II에서 가장 낮았으며 estrus에서 최고에 도달하였고, proestrus에서의 분비 역시 diestrus II 때보다 유의성있게 높았다. E 분비의 최고치는 estrus에서, 그리고 최저치는 diestrus II에서 관찰되었다. 한편 배양액 중 NE : E ratio는 estrus에서 1 : 3.32로 가장 높았고 기타 시기에는 1 : 2.34~2.65였다. 본 연구 결과는 (1) 흰쥐 부신에서 카테콜아민 생성과 분비 양상이 발정주기 중 역동적으로 변화하며, (2) NE로부터 E로의 전환이 발정주기 중 stage-specific하게 일어남을 나타내는 것으로서, 이는 카테콜아민 합성을 결정하는 rate limiting enzyme인 tyrosine hydroxylase(TH)와 NE에서 E로의 전환 과정을 매개하는 phenylethanolamine-N-methyltransferase(PNMT)의 발현과 활성이 중추신경계에서와 유사하게 생식호르몬, 특히 estrogen and/or progesterone의 영향을 받음을 시사한다.

<sup>†</sup>교신저자: 서울시 중로구 홍지동 7, 상명대학교 생물학과. (우) 110-743, (전) 02-2287-5139, (팩) 02-394-9585, E-mail: shlee@smu.ac.kr

포유동물 암컷의 경우 발정 주기 중 각종 생식 호르몬들의 분비 양상 변화 외에도 수컷에 대한 반응 차이와 같은 행동의 변화가 관찰되는데, 이는 신경전달물질, 특히 카테콜아민의 합성과 생식호르몬의 분비 양상과 성 행동 양식 사이에 긴밀한 상호 관련성이 있음을 의미한다(Wise, 1993). 포유동물의 생식을 조절하는 다수의 호르몬 가운데 가장 주요한 것은 시상하부의 GnRH-뇌하수체의 LH와 FSH-난소의 estrogen과 progesterone임은 주지의 사실인데, 시상하부-뇌하수체에서의 호르몬 합성과 분비 과정에서 카테콜아민이 주요 조절인자로 작용한다(Moguilevsky & Wuttke, 2001). 흰쥐의 경우 체중 측정시 또는 발정주기 확인을 위한 질 상피세포 채취시 보이는 정서적 반응의 경우 발정주기 단계별로 상당한 차이를 보이는데, 이때 뇌의 특정 지역 내 dopamine(DA)과 serotonin(5-HT)의 합량 및 전환 비율의 차이가 관찰된다(Sfikakis et al., 1998).

한편 카테콜아민은 부신의 수질부의 chromaffin 세포에 의해서 다량으로 합성·분비되어 혈당 및 혈류량 조절 등에 의한 체내 항상성 유지는 물론 위기 상황 대처를 위한 제반 신체 반응을 신속히 조절함에 알려져 있다(Kaplan, 1996). 다양한 스트레스 요인들에 의해 암컷의 성 행동과 번식이 억제됨이 잘 알려졌으며, 이러한 스트레스가 가해지는 동안 뇌와 부신에서는 카테콜아민이 분비되어 직·간접적으로 암컷의 생식 기능 억제에 관여할 것으로 추정된다(Calogero et al., 1998). 실제로 말초성 카테콜아민의 생식생리적인 기능으로 난소에서의 polycystic ovarian syndrome(PCO) 유발, granulosa cell의 성장과 steroidogenesis 조절 등이 보고되었다(Lala et al., 1993; Selvaraj, 2000).

중추성 카테콜아민의 합성·분비의 조절 기작에 대한 연구의 경우 특히 Parkinson's disease와 같은 신경성 질환의 치료법 개발과 맞물려 다양한 경로로 광범위하게 진행되고 있다. 포유류 암컷의 경우 estrogen과 progesterone 수용체가 뇌의 각 지역에 위치한 카테콜아민계 신경세포들에 존재하고 난소로부터의 자극에 의해 카테콜아민 합성과 분비 활성이 조절됨이 보고되었다(Alonso-Solis et al., 1996; Close & Freeman, 1997; Haywood et al., 1999). 이에 비해 부신 수질에서의 카테콜아민의 합성·분비의 조절 기작에 대한 이해는 상대적으로 미흡한 실정이다. 본 연구자는 발정 주기 중 흰쥐 부신에서의 카테콜아민 합성·분비 양상의 변화를 조사하기 위해 vaginal smear 방법으로 발정주기 각 단계별로 확인된 흰쥐를 대상으로 electrochemical detector를 장착한 high performance liquid chromatography(HPLC-ECD)를 사용하여 부신 수질 내 카테콜아민의 합량과 체외 배양한 부신으로부터

이들의 분비능을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 동물

상명대학교 실험동물 사육장에서 사육하는 생후 12~16주령 성숙한 흰쥐 (Sprague-Dawley strain)를 사용하였다. 사육조건은 12시간 조명 : 12시간 소등의 광주기하에서 먹이와 물의 접근은 자유로웠다. 매일 오전 7시경 흰쥐의 질내에 생리식염수(0.9 % NaCl)를 소량 주입한 후 채취하여 이를 광학현미경으로 세포상을 관찰하여 이미 보고된 기준으로 발정주기 단계를 정하였다(Kim et al., 1998). 적어도 2차례 연속적인 4-day cycle을 보인 동물만을 실험에 사용하였다. Proestrus LH surge가 예상되는 오후 4~5시에 동물을 희생시킨 직후 채혈하여 혈중 LH 측정에 사용하였고, 부신 조직을 얻어 즉시 분쇄하거나 체외배양에 이용하였다. 채취한 부신은 바로 ice-cold phosphate buffered saline(PBS, pH 7.2)로 세척한 후 조직의 무게를 측정하였고, 0.1M phosphoric acid를 사용하여 분쇄한 다음 원심분리하여 상층액을 획득하여 카테콜아민 합량 측정에 사용하였다.

### 2. LH 방사면역측정법(RIA)

혈중 LH 합량 측정은 chloramine-T 방법을 사용하여  $I^{125}$  (NEN)로 방사표지한 LH reference peptide(NIDDK, Bethesda, USA)와 anti-rat LH antiserum(최종 희석 1:200,000)을 사용하여 제공자의 방법을 따라 시행하였다(Lee, 1998).

### 3. 흰쥐 부신의 체외 배양

채취한 부신을 PBS로 2회 세척한 후 면도날로 반분하였다. 부신 조각 5개를 McCoy's 5A(Sigma)에 0.1% bovine serum albumin(BSA, Sigma)를 첨가한 배양액이 포함된 6-well culture plate(Nunc)에 넣은 후 37°C의 5% CO<sub>2</sub> incubator (Forma)에서 1시간 동안 배양하였다. 배양액은 측정 전까지 -20°C 냉장고에 보관하였다.

### 4. HPLC-ECD

조직과 배양액 내 카테콜아민 측정은 기보고된 방법을 따라 HPLC-ECD(Gilson)를 사용하여 시행하였다(Kim et al., 1993). Reverse phase rheodyne C<sub>18</sub> column(0.4×15cm, Pharmacia)을 사용하였고, 43°C로 가열한 mobile phase(12.8% methanol)를 1.15 ml/min의 속도로 유입시켰다. ECD의 sensitivity는 10nA/V로 조정하였고, sample은 hamilton syringe를 사

용하여 10  $\mu$ l를 매 20분마다 주입하였다. 카테콜아민의 standard는 시판되는 NE와 E(Sigma)를 사용하여 250pg에서 4ng 까지 2배씩 순차적으로 희석하여 주입한 후 peak의 크기를 측정하였다.

5. Statistics

조직과 배양액 내 카테콜아민 함량을 조사한 실험 결과의 통계적인 분석은 Student's *t*-test를 사용하여 유의성을 검증하였다.

결 과

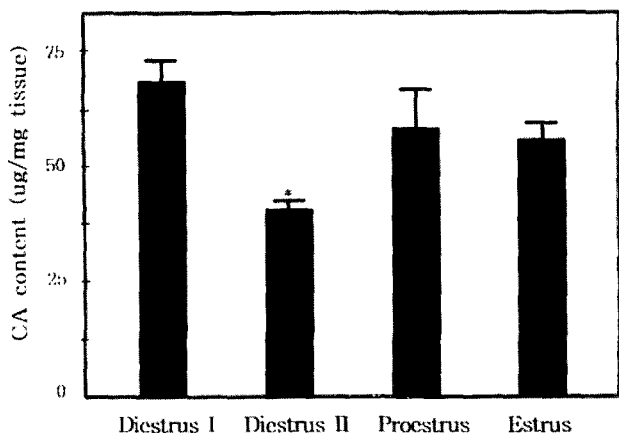


Fig. 1. Changes in adrenal NE contents during rat estrous cycle. Bar indicates the mean NE content(± S.E.) of repeated experiments(n=4-6). \*, significantly different from other groups (p<0.05).

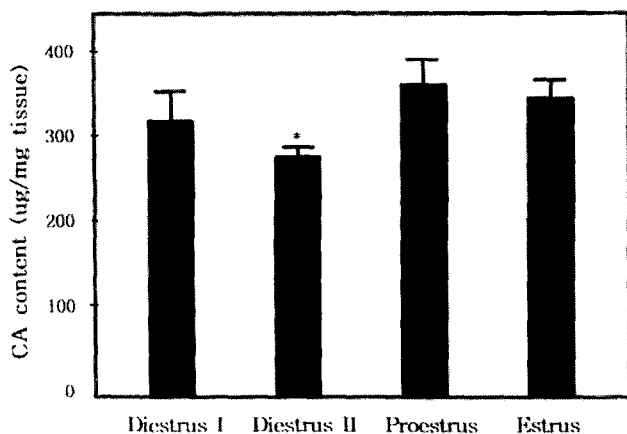


Fig. 2. Changes in adrenal E contents during rat estrous cycle. Bar indicates the mean E content(± S.E.) of repeated experiments(n=4-6). \*, significantly different from other groups (p<0.05).

1. 발정주기 동안 부신 내 카테콜아민 함량의 변화

발정주기중인 흰쥐 부신 내 카테콜아민 함량의 변화에서 NE 함량은 proestrus(59.47±6.86 ug/gland)에서 증가하기 시작하여 diestrus I(65.22±5.99 ug/gland)에서 최고에 도달하였고, diestrus II(41.63±1.33 ug/gland)에 최소치로 감소하였다(Fig. 1). 부신 내 E 함량 또한 발정 주기중 유사한 경향을 보였는데, 최고치는 proestrus(361.86±18.88 ug/gland)에서 그리고 최저치는 diestrus II(285.58±12.25 ug/gland)에서 관찰되었다(Fig. 2). 부신내 NE와 E를 합친 총 카테콜아민 함량 역시 proestrus(421.24±24.63 ug/gland)에서 최고였고, 최저치는 diestrus II(326.21±12.25 ug/gland)에서 관찰되었으며, 부신 내 NE : E 비율은 diestrus I에서 1 : 4.81로 가장 낮았고 기타 시기에는 1 : 6.13~7.02였다(Table 1).

2. 체외 배양한 부신으로부터의 카테콜아민 분비능 변화

체외 배양한 흰쥐 부신으로부터의 NE 분비는 diestrus II(12.73±1.16 ng/ml·hr·mg tissue)에서 가장 낮았으며, estrus(23.55±2.01 ng/ml·hr·mg tissue)에서 최고에 도달하

Table 1. Total content of adrenal CAs in cycling rats

| Stage of cycle | CA content(ug/gland) | NE : E ratio |
|----------------|----------------------|--------------|
| Diestrus I     | 380.92±121.95        | 1 : 4.81     |
| Diestrus II    | 326.21± 12.25*       | 1 : 7.02     |
| Proestrus      | 421.24± 24.63        | 1 : 6.27     |
| Estrus         | 402.53± 9.99         | 1 : 6.13     |

\* ; significantly different(p<0.05) from other groups.

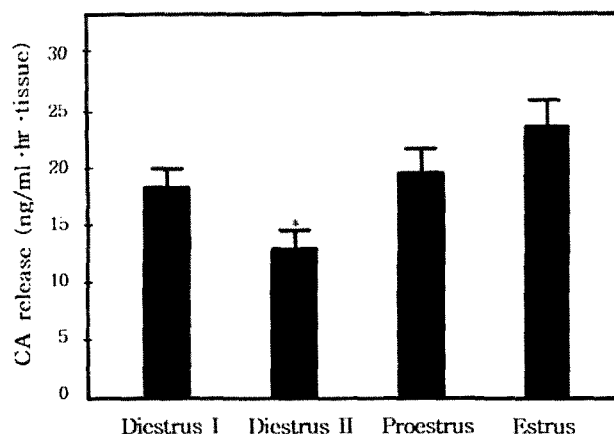


Fig. 3. Alteration of *in vitro* NE secretion from adrenal glands during rat estrous cycle.

Bar indicates the mean NE secretion(±S.E.) of repeated experiments(n=5-6). \*, significantly different from other groups (p<0.05).

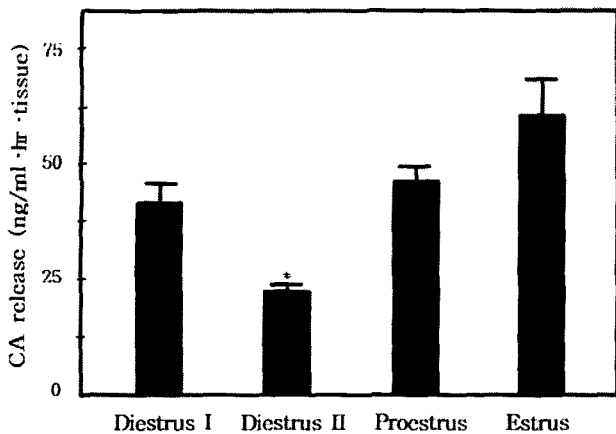


Fig. 4. Alteration of *in vitro* E secretion from adrenal glands during rat estrous cycle.

Bar indicates the mean E secretion ( $\pm$  S.E.) of repeated experiments ( $n=5-6$ ). \*, significantly different from other groups ( $p<0.05$ ).

Table 2. *In vitro* total CA releasing from adrenal glands of cycling rats

| Stage of cycle | Total CA release (ng/ml · g · hr) | NE : E ratio |
|----------------|-----------------------------------|--------------|
| Diestrus I     | 58.87 $\pm$ 6.57                  | 1 : 2.49     |
| Diestrus II    | 34.93 $\pm$ 3.99*                 | 1 : 2.34     |
| Proestrus      | 62.99 $\pm$ 12.23                 | 1 : 2.65     |
| Estrus         | 83.27 $\pm$ 13.58                 | 1 : 3.32     |

\*; significantly different ( $p<0.05$ ) from other groups.

였고, proestrus ( $19.85 \pm 1.68$  ng/ml · hr · mg tissue) 역시 diestrus II에서 보다 유의성있게 높았다(Fig. 3). 그리고 E 분비 역시 발정 주기중 유사한 경향을 보였는데, 최고치는 estrus ( $60.26 \pm 6.92$  ng/ml · hr · mg tissue)에서 그리고 최저치는 diestrus II ( $22.23 \pm 2.14$  ng/ml · hr · mg tissue)에서 관찰되었다(Fig. 4). 분비된 NE와 E를 합친 총 카테콜아민 분비 역시 최고치는 estrus ( $83.27 \pm 13.58$  ug/gland)에서, 그리고 최저치는 diestrus II ( $34.93 \pm 3.99$  ug/gland)에서 관찰되었고, 배양액 중 NE : E 비율은 estrus에서 1 : 3.32로 가장 높았고 기타 시기에는 1 : 2.34~2.65였다(Table 2).

## 고 찰

부신은 피질부와 수질부로 나뉘며 피질부에서는 glucocorticoid와 mineralocorticoid로 지칭되는 각종 steroid들이, 그리고 수질에서는 카테콜아민과 enkephalin과 같은 여러 peptide

들이 합성·분비된다(Kaplan, 1996). 부신수질에서 카테콜아민을 합성·분비하는 세포는 chromaffin cell로서 피질부 세포들과는 달리 neural crest cell이 기원인 외배엽성이다. 따라서 chromaffin cell의 카테콜아민합성·분비 조절기작은 중추신경계에서의 기작과 유사하리라 추정되므로 부신 수질은 카테콜아민에 관한 연구에 널리 사용되어왔다. 본 연구에서는 HPLC-ECD로 흰쥐의 부신 수질 분쇄물 및 체외 배양액을 조사한 결과 생리활성 아민류 가운데 NE와 E가 검출 가능하였고, 주로 합성되고 분비되는 카테콜아민은 예상대로 E였다. 발정주기 중 부신 내 NE 함량은 proestrus에서 증가하기 시작하여 diestrus I에서 최고에 도달하였고, diestrus II에 최소치로 감소하였다. 부신 내 E 함량의 최고치는 proestrus, 그리고 최저치는 diestrus II에서 관찰되었고, NE : E 비율의 경우 diestrus I에서 가장 낮았다. 체외 배양한 흰쥐 부신으로부터의 NE 분비는 diestrus II에서 가장 낮았으며 estrus에서 최고에 도달하였고, proestrus에서의 분비 역시 diestrus II 때보다 유의성있게 높았다. E 분비의 최고치는 estrus에서, 그리고 최저치는 diestrus II에서 관찰되었다. 한편 배양액 중 NE : E 비율은 estrus에서 가장 높았다. 본 연구 결과는 흰쥐 부신에서의 카테콜아민 합성과 분비가 조화를 이루어 diestrus 시기에는 공히 낮았다가 proestrus시기에 합성이 증가하고 estrus시기에 분비가 최대치에 도달함을 보여주었다. 즉 부신에서의 카테콜아민 합성과 분비가 발정 주기 중 역동적으로 조절되며, 특히 NE로부터 E로의 전환이 시기별로 특이적으로 일어남을 나타내는 것이다. 따라서 이 전환 과정을 매개하는 효소인 phenylepinephrine methyl transferase(PNMT)의 발현과 활성이 발정주기 중 변화함을 시사한다.

신경내분비계의 활성화에 미치는 생식소 스테로이드 호르몬들의 다양한 효과들이 존재하며(Genazzani et al., 1997), 중추신경성 카테콜아민 합성과 분비 역시 예외는 아니어서 포유류 암컷의 경우 난소로부터의 estrogen과 progesterone 입력에 의해 DA 신경세포 또는 NE 신경세포들의 활성이 조절됨이 보고되었다(Alonso-Solis et al., 1996; Close & Freeman, 1997). 본 연구 결과는 말초신경계인 부신 수질에서의 카테콜아민 합성과 분비 역시 중추신경계에서와 유사하게 생식소 스테로이드 호르몬에 의해 조절될 가능성을 시사한다. 실제로 난소절제후 steroid 주입 실험 모델(OVX+steroid implantation model)을 사용한 연구에서 estrogen의 경우 카테콜아민 합성에는 영향을 미치지 않으나 분비를 저해하고 progesterone의 경우 estrogen 의존적으로 tyrosine hydroxylase(TH)의 활성을 조절하여 카테콜아민 분비를 증진시킴이 알려져 있다(deMiguel et al., 1989). 이는 본 연구 결과와 대체로 유사하지만 완

전히 일치되지는 않는 결과인데, 이는 난소절제 후 estrogen and/or progesterone 보충 모델과 발정주기중인 정상 흰쥐 모델이 갖는 차이, 그리고 부신 채취 시간의 차이에 기인하는 것으로 보인다. 오히려, 분비와 합성에 있어서의 두 연구 결과간의 차이는 부신에서의 카테콜아민의 합성·분비가 대단히 역동적으로 일어날 가능성을 시사하는 것으로써, 실제로 인접 조직인 부신 피질에서의 glucocorticoid 분비 리듬이 존재하고 glucocorticoid가 chromaffin cell의 카테콜아민 분비에 영향을 줌이 알려져 있다(Hodel, 2001). 특히 본 연구자에서 조직 채취 시간으로 설정한 오후 4~6시는 proestrus에서 LH는 물론 ACTH, prolactin, GH 등 대다수 뇌하수체 전엽 호르몬들의 혈중 농도가 상승한 시기로 표적 장기의 반응이 proestrus 오전과는 다를 것으로 추정된다. 따라서 난소절제후 steroid 주입 실험 모델의 경우 역시 proestrus를 상정한 것이므로 발정주기 모델과 공히 샘플 채취 시기를 폭 넓게 해서 비교해 볼 필요성이 있다.

결론적으로 본 연구는 (i) 흰쥐 부신에서 카테콜아민 생성과 분비 양상이 발정주기 중 역동적으로 변화하며, (ii) NE로부터 E로의 전환이 발정주기 중 stage-specific하게 일어남을 나타내는 것으로서, 이 카테콜아민 합성율을 결정하는 tyrosine hydroxylase(TH)와 E로의 전환 과정을 매개하는 phenylethanolamine-N-methyltransferase(PNMT)의 발현과 활성이 중추신경계에서와 유사하게 생식호르몬, 특히 estrogen and/or progesterone의 영향을 받음을 시사한다.

발정주기중 부신 수질의 카테콜아민 활성에 대한 연구는 포유동물 암컷의 행동 양상의 주기적인 변화를 이해하는데 도움이 되고, 나아가 여성에게 빈번하게 일어나는 premenstrual syndrome(PMS)의 발생 기작 연구와 치료법 개발에 도움이 되리라 판단된다(Davidson et al., 1985). 또한 부신 수질에서 발생하는 내분비적 요인에 의존적인 갈색세포종(pheochromocytoma, PC)의 경우 임신부에게 발생할 경우 산모와 태아 공히 치사율이 매우 높는데(Freier & Thompson, 1993), 카테콜아민 합성과 분비와 관련된 조절인자들에 대한 연구는 PC의 진단과 치료에도 응용될 가능성이 있다고 사료된다.

## 인용문헌

- Alonso-Solis R, Abreu P, Lopez-Coviella I, Hernandez G, Fajardo N, Hernandez-Diaz F, Diaz-Cruz A, Hernandez A (1996) Gonadal steroid modulation of neuroendocrine transduction: a transynaptic view. *Cell Mol Neurobiol* 16: 357-382.
- Calogero AE, Bagdy G, D'Agata R (1998) Mechanisms of stress on reproduction. Evidence for a complex intra-hypothalamic circuit. *Ann N Y Acad Sci* 851:364-370.
- Close FT, Freeman ME (1997) Effects of ovarian steroid hormones on dopamine-controlled prolactin secretory responses *in vitro*. *Neuroendocrinology* 65:430-435.
- Davidson L, Rouse IL, Vandongen R, Beilin LJ (1985) Plasma noradrenaline and its relationship to plasma oestradiol in normal women during the menstrual cycle. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 12:489-493.
- deMiguel R, Fernandez-Ruiz JJ, Hernandez ML, Ramos JA (1989) Role of ovarian steroids on the catecholamine synthesis and release in female rat adrenal: *in vivo* and *in vitro* studies. *Life Sci* 44:1979-1986.
- Freier DT, Thompson NW (1993) Pheochromocytoma and pregnancy: the epitome of high risk. *Surgery* 114:1148-1152.
- Genazzani AR, Lucchesi A, Stomati M, Catarsi S, Genazzani AD, Criscuolo M, Petraglia F (1997) Effects of sex steroid hormones on the neuroendocrine system. *Eur J Contracept Reprod Health Care* 2:63-69.
- Haywood SA, Simonian SX, van der Beek EM, Bicknell RJ, Herbison AE (1999) Fluctuating estrogen and progesterone receptor expression in brainstem norepinephrine neurons through the rat estrous cycle. *Endocrinology* 140:3255-3263.
- Hodel A (2001) Effects of glucocorticoids on adrenal chromaffin cells. *J Neuroendocrinol* 13:216-220.
- Kaplan NM (1996) The adrenal glands. In: Griffin J, Ojeda SR (eds.), *Textbook of endocrinology*. 3rd ed. Oxford University Press. Oxford, pp 284-313.
- Kim K, Lim IS, Cho BN, Kang SS, Lee BJ, Choi KH, Chung CH, Lee CC, Cho WK, Wuttke W (1993) A partial blockade of catecholaminergic neurotransmission with 6-hydroxydopamine decreases mRNA level of gonadotropin releasing hormone in the male rat hypothalamus. *Neuroendocrinology* 58:146-152.
- Kim M, Lee K, Kim H, Kim M, Cho D (1998) Protein expression of matrix metalloproteinases of mouse reproductive organs during estrous cycle. *Kor J Fert Steril* 25:161-170.
- Lara HE, Ferruz JL, Luza S, Bustamante DA, Borges Y, Ojeda S (1993) Activation of ovarian sympathetic nerves in polycystic ovary syndrome. *Endocrinology* 133:2690-2695.

- Lee SH (1998) Expression of luteinizing hormone(LH) subunit genes in the rat ovary. *Kor J Fertil Steril* 25:199-205.
- Moguilevsky JA, Wuttke W (2001) Changes in the control of gonadotrophin secretion by neurotransmitters during sexual development in rats. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 109: 188-195.
- Selvaraj N, Dantes A, Amsterdam A (2000) Establishment and characterization of steroidogenic granulosa cells expressing beta(2)-adrenergic receptor: regulation of adrenodoxin and steroidogenic acute regulatory protein by adrenergic agents. *Mol Cell Endocrinol* 168:53-63.
- Sfikakis A, Papadopoulou-Daifotis Z, Sfikaki M, Messari J (1998) Monoaminergic dysregulation on diestrus-2 and estrus through high emotional reactivity. *Pharmacol Biochem Behav* 60:285-291.
- Wise PM (1993) Neuroendocrine ageing: its impact on the reproductive system of the female rat. *J Reprod Fertil Suppl* 46:35-46.