



Kannabinoideek *in vitro* ugalketaren eraginkortasuna hobetu dezakete

Antzutasuna detektatzeko eta tratatzeko metodologia berriak aurkeztu ditu ikerketa batek, emakumeen sistema kannabinoide fisiologikoaren gabeziek ugalkortasunean eragiten dituzten arazoak identifikatu ondoren. Halaber, ondorioztatu dute kalamu landarearen osagai batzuek aukera eman dezaketela *in vitro* ugalketaren hormonazio-tratamenduak ekiditeko, zeinak oso gorrrak baitira emakumeentzat.

Animaliek kalamuaren antzeko osagaiak dituen sistema fisiologiko bat dute. Hau da, barne-sistema kannabinoide bat, zelulen arteko komunikaziorako sistema moduan funtzionatzen duena. Organismoko prozesu fisiologiko garrantzitsu asko kontrolatzen ditu. Besteak beste, ugalkortasuna. Obuluen eta espermatozoideen sorreran ez ezik, ernalketan, enbrioia umetokian ezartzeko prozesuan, plazentaren sorreran eta erditzean bertan dago inplikaturik.

Azken urteotako ikerketek erakutsi dute sistema endokannabinoidean gabeziaren bat izateak akats larriak eragin ditzakeela ugalkortasunean. Orain arte ikusi izan dute obulazioa atzeratzen duela, baina, orain, ikerketa batek erakutsi du obarioak hondatu, eta folikuluen zein obozitoen garapena ere eragozten duela. Beraz, uste dute sistema endokannabinoidearen gabeziak antzutasuna detektatzeko biomarkatzaile gisa erabil daitezkeela. Hartara, interesgarria izan liteke sistema endokannabinoidearen gabeziak detektatzeko probak antzutasuna detektatzeko ohiko probetan txertatzea. Baliteke, beraz, antzutasuna tratatzeko terapia berriak ere sortzea.

Baina kannabinoide exogenoen aukerak ere aztertu dituzte, eta ondorioztatu dute kalamu landarearen osagai batzuk baliagarriak izan daitezkeela *in vitro* ugalkortasun-tratamenduetan.

Kalamuaren kontsumoak ugalketa galaraz dezake

Kannabinoide exogenoen kontsumo jarraituak kalteak sortzen ditu ugalketa-aparatuan. Kannabinoide exogenoek endogenoekin dituzten antzekotasunak direla medio, organismoko sistema

endokannabinoideak erregulatzen dituen ugalketa-prozesuak asaldatzen ditu kontsumo horrek: arriskuan jartzen ditu enbrioaren hasierako garapena eta biziraupena, eta gerta liteke haurdunaldia bertan behera gelditzea.

Alabaina, erabilera terapeutikoa ere izan dezakete, pazienteek beren sistema endokannabinoidean akatsak dituzten kasuetan. Zehazki, kalamuaren osagai psikoaktibo nagusiarekin egindako ikerketek frogatu dute alternatiba egokia izan daitekeela *in vitro* ugalketa-tekniken laguntza behar duten emakumeentzat.

Obozitoak *in vitro* heltzeko teknikan erabil daiteke. Oraindik gutxi erabiltzen da teknika hori *in vitro* ernalketan, baina interes handikoa da, egun erabiltzen diren tratamendu hormonal ohikoek albo-ondorio larriak eragin baititzakete: obarioen hiperestimulazio-sindromea eta bestelako arazoak. Beraz, emakume denentzat ez da gomendagarria halako tratamenduak hartzea. Obozitoak *in vitro* heltzeko teknikak, ordea, ez du halako tratamendu hormonalik behar, emakumeari obozitoak heldu gabe erazi eta organismotik kanpo heltzen baitira. Ikerketa honek frogatu du kannabinoide exogenoek laguntzen dutela pazienteari erazita-ko obozitoak laborategian heltzen.

Ondorio garrantzitsuak dira, emakume askoren osasunak ez baitu ahalbidetzen tratamendu hormonalak hartzea. European, urtetik urtera handituz doa *in vitro* ugalketa behar duten pertsonen kopurua; batetik, ugalketa-adina handitu delako, eta, bestetik, gero eta ohikoagoak direlako seme-alabak izan nahi dituzten guraso bakarreko familiak eta bikote homosexualak. Beraz, emakume askorentzat izan liteke alternatiba egokia.

Sistema endokannabinoideak emearen ugaltzaren fisiologia modulatu du

Lide Totorikaguena Iturriaga*, Estibaliz Olabarrieta López, Naiara Agirregoitia Marcos, Ekaitz Agirregoitia Marcos

Fisiologia saila, Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea (UPV/EHU)

LABURPENA: Sistema kannabinoiden ugaltzaren prozesu desberdinetan parte hartzen du, eta jakina da kannabinoide exogenoen kontsumo kroniko sistemikoa kaltegarria dela ugaltzaren prozesuetarako; sistema endokannabinoidean izan daitezkeen gabeziak, halaber, ez dira mesedegarriak. Frogatu da sistema endokannabinoidearen edozein osagaiaren aktibazioak edo eraldaketek eragina izan dezaketela ugaltzaren fase desberdinen erregulazioan eta bizitza berri baten hasiera arriskuan jar dezaketela. Horregatik, kannabinoideen erabilera lagungarria izan liteke, antzutasunaren diagnostikoan biomarkatzaile posible gisa edota praktika klinikoan tratatzeko iturri terapeutiko posible bezala.

1. Sarrera

Kannabinoideak kalamu landareak (*Cannabis sativa* L.) sintetizatutako metabolito sekundarioak dira, baina *Cannabis sativa* landarea beste konposatu kimiko ugariak osatzen dute. Identifikatutako 483 konposatuetatik 60 kannabinoide baino gehiago ageri dira kannabisaren landarean. 1964. urteetik aurrera nagusitu zen kannabinoideen inguruko ikerketa, landare honen Δ^9 -tetrahidrokannabinola (THC) [1] osagai psikoaktibo ugariena aurkitu zenean. Izan ere, THC da efektu bioaktiboaren arduradun nagusia eta kannabinoide ugariena.

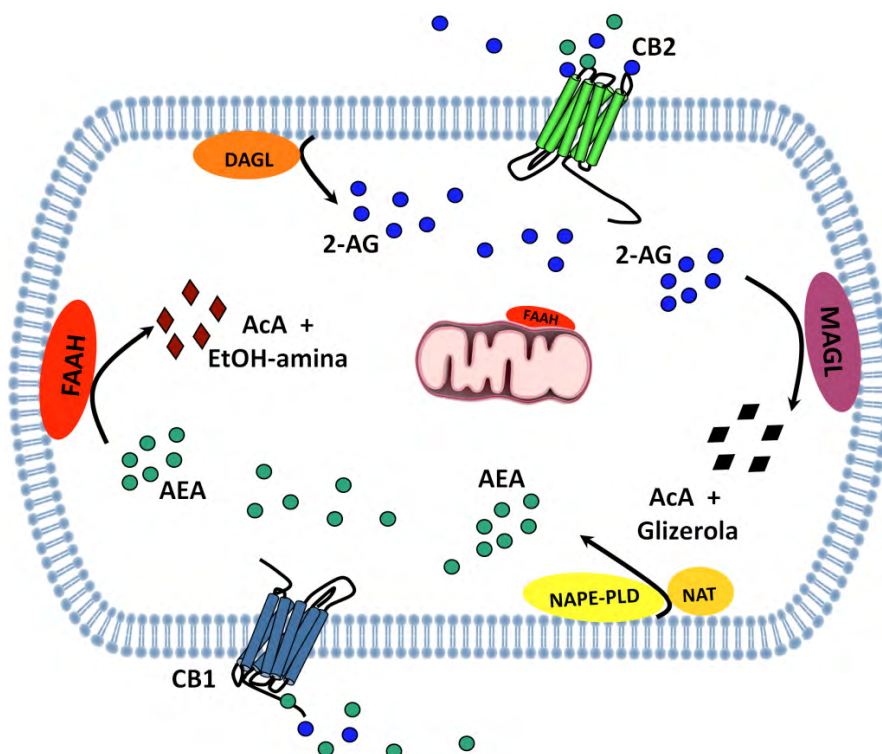
Bitxia badirudi ere, barne-sistema kannabinoide bat (sistema endokannabinoidea) deskribatu zen animalietan [2]. Sistema hori honako hauek osatzen dute: kannabinoide-hartzaileak (CB1 eta CB2), barne-estekatzaileak (anandamida (AEA) eta 2-arakidonoilglicerol (2-AG) endokannabinoideak) eta sintesi- [N-arakidonoilfosfatidiletanolamina (NAPE-PLD), N-aziltransferasa (NAT) eta diazilglicerol lipasa (DAGL)] eta degradazio-entzimek [gantz-azidoen amida hidrolasa (FAAH) eta monoazilglicerol lipasa (MAGL)] [2] (1. irudia).

* **Corresponding author / Harremanetan jartzeko:** Lide Totorikaguena Iturriaga. Fisiologia saila, Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea (UPV/EHU), Leioa (Bizkaia). e-mail: lide.totorikaguena@ehu.eus. <https://orcid.org/0000-0002-8315-4608> **Contributed by** Ugo Mayor editoreak egindako ekarpena.

How to cite / Nola aipatu: Totorikaguena Iturriaga, Lide et al. «Sistema endokannabinoideak emearen ugaltzaren fisiologia modulatu du», *Ekaia* | (2022)42 (<https://doi.org/10.1387/ekaia.22702>)



Published by UPV/EHU Press under the terms of the Creative Commons Attribution License <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>, which permits unrestricted use, provided the original author and source are credited



1. irudia: Barne-sistema kannabinoidearen osagai nagusiak: kannabinoide-hartzaileak (CB1 eta CB2), barne-estekatzaileak (AEA eta 2-AG endokannabinoideak) eta sintesi- (NAPE-PLD, NAT eta DAGL) eta degradazio-entzimak (FAAH eta MAGL).

Kannabinoideen inguruko ikerketek ondorioztatu dute sistema kannabinoidearen funtzio nagusietariko neuromodulazioa dela, CB1 hartzailea G proteinei loturiko hartzailek ugariena baita nerbio-sistema zentrolean. Hala ere, CB1 eta CB2 hartzaileen presentzia eta, oro har, sistema endokannabinoidearen modulazioa eta ekintza-mekanismoak, nerbio-sistema zentrolean agertzeaz gain, ehun periferikoetan ere deskribatu dira. Sistema kannabinoidea inplikaturik dagoen prozesu horietako bat ugalkortasuna da. Sistema hori gametogenesisian, ernalketan, enbrioiaren ezarpenean, plazentazioan, haurdunaldian eta erditzean identifikatu da [3, 4] eta sistema kannabinoidean parte hartzen duen makinaria guztia ugalkortasun organo, ehun eta zeluletan dagoela frogatu da [5, 6].

Horregatik, sistema endokannabinoidea biomarkatzaile posible gisa proposatu da praktika klinikoan ugalketa potentziala aurreikusteko [7]. Horretarako, animalia-eredu desberdinekin egindako esperimentuek erakutsitakoa berrikusi dugu, bai eta ugalketa-patologiaren inguruan egin den ikerketa ere.

2. Sistema kannabinoidea emearen ugalkortasunean

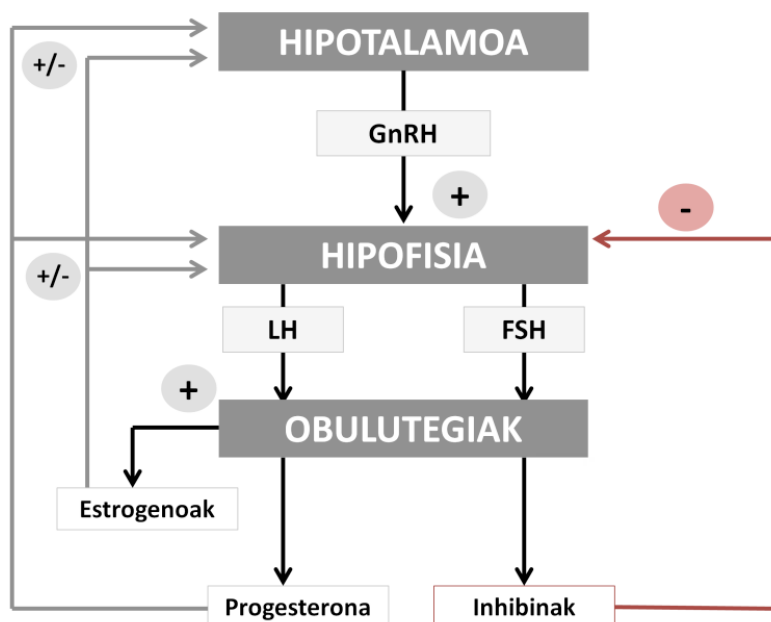
Emeari dagokionez, sistema endokannabinoidea deskribatu da hainbat ugaltun espezieetako hipotalamo-hipofisi-obulutegiaren ardatzean [5], likido folikularrean, obulutegietan, obozitoetan eta pikor-geruzako zeluletan [8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15].

2.1. Sistema kannabinoidea hipotalamo-hipofisi-obario (HPO) ardatzean

Sistema endokannabinoidea hainbat estimulu fisiologikok kontrolatzen dute: besteak beste, hormona-mailak. Sistema endokannabinoidea GnRH bezalako hormonaren ekoizpenaz arduratzen den hipotalamoaren gunetan antzeman da, zeinek hipotalamo-hipofisi-obario (HPO) ardatzaren bidez jarduten duten ugalketa-prozesuen hainbat alderdi kontrolatzeko [16] (2. irudia). Oro har, sistema endokannabinoidearen efektoreek eragin handia dute ugalkortasunean eta funtzio endokrinon, karraskariekin, primateekin eta gizakiekin

egindako ikerketek frogatu bezala [9, 17]. Kannabisak ugaltzearen fisiologiaren hainbat alderitan duen eragina azaldu lezake horrek, besteak beste, hormonon askatzean HPO ardatzean [18].

Gonadotropinek, progesteronak eta estrogenoak, esaterako, AEA mailak [19] eta FAAH entzimaren adierazpena erregulatzen dituzte hilekoan zehar [20].



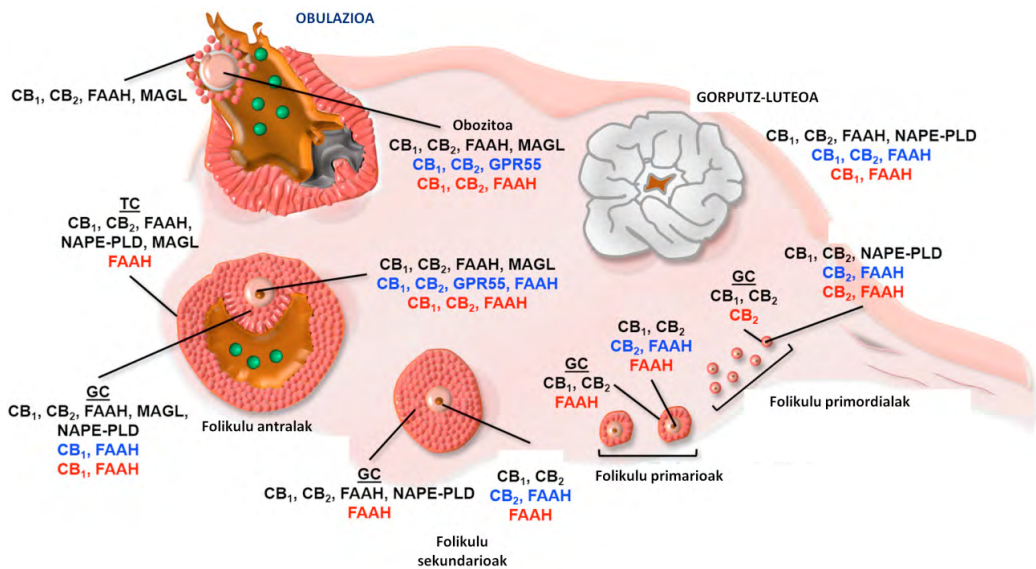
2. irudia: Hipotalamo-hipofisi-obario ardatzaren eskema orokorra. Hipotalamoak GnRH jariatzen du eta honek hipofisia estimulatzen du. Horrela, hipofisiak FSH eta LH jariatzen ditu odol-fluxura obulutegietaraino eta obulutegietan; ondorioz, folikuluak garatzen hasten dira estradiola jariatuz. LHk obulazioa eragiten du, bai eta luteo-gorputz-luteoa eratzea ere, progesterona eta estrogenoak jariatuz.

Sistema endokannabinoidea kanpotik modulatzen denean, kannabinoideek HPO ardatzaren erregulazioa asaldaten dute, ugaltze-sistema kaltetuz (adibidez, obulaziorik gabeko hilekoak izatea) [16]. Gainera, GnRH hormonaren jariatzea murrizten dute [16] eta hormona horrek gonadotropinen (FSHa eta LHa) askapena ekiditen du, gonaden funtzioa erabat kaltetuz [5]. Era berean, sistema endokannabinoidearen adierazpenean egon litezkeen kalteak antzutasunarekin erlazionatuta daude [5], jakina baita kannabinoide-hartzaileen gabeziak HPO ardatzeko hormonon askapena inibitzen duela: besteak beste, GnRH, FSHa, 17- β -estradiola [21] eta LHarena [22, 23].

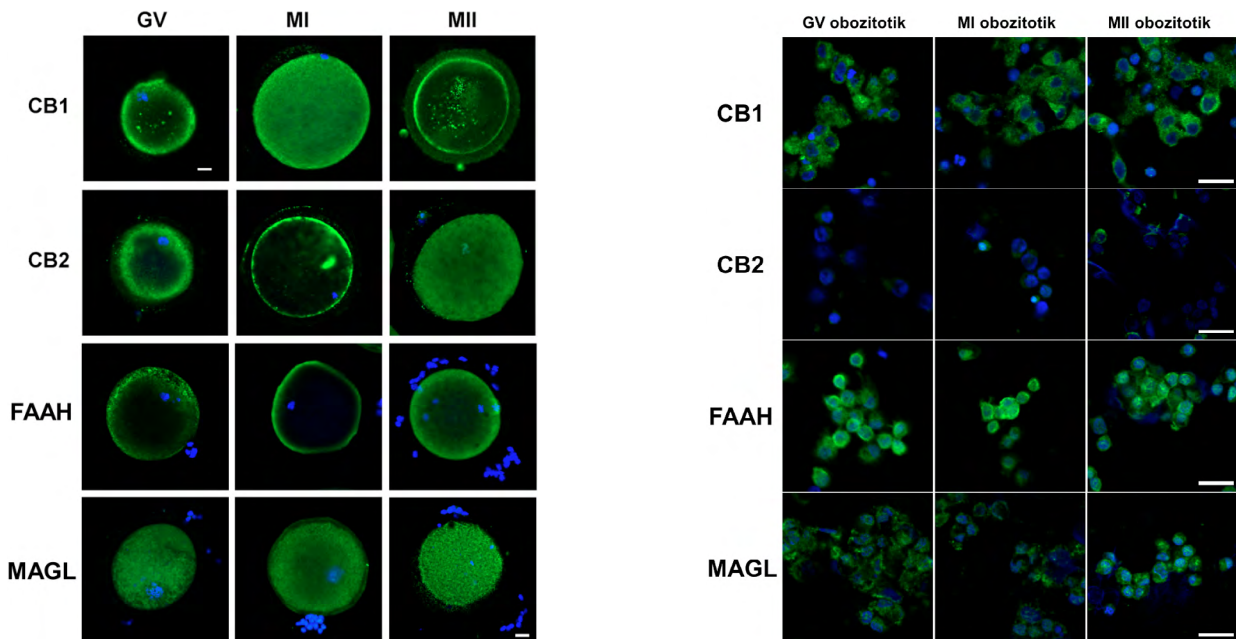
Hitz gutxitan, sistema endokannabinoidea eta HPO ardatza erlazionatuta daudela baieztatu da, nahiz eta hori kontrolatzen duten mekanismoak oraindik ez diren guztiz ezagutzen [5].

2.2. Sistema kannabinoidea obulutegietan: folikulugenesian, obozitoen garapenean eta heltze-prozesuan

Kannabinoideen eta ugaltze-sistemaren arteko lotura, lehenen aldiz, likido folikularrean endokannabinoide bat, AEA, aurkitzeari esker egin zen [8]. Frogatu zuten bere kontzentrazioa aldakorra zela obulazioan eta haurdunaldi goiztiarrean zehar [18]. Horrez gain, bai AEA bai endokannabinoide hori metabolizatzen duten entzimak gizakiaren obulutegian lokalizatu ziren [9], eta, ondoren, sistema endokannabinoide osoa deskribatu zen giza [9] eta arratoien [10] obarioetan eta folikuluetan. Ikerketa horiei guztiei esker, kannabinoide-hartzaileen eta degradazio-entzimen lokalizazioa deskribatu zen (3. irudia). Beraz, horrek guztiak iradokitzen du endokannabinoideen seinaleztapenak folikulugenesia erregulatzen lagundu lezakeela [9, 10].



3. irudia: Sistema endokannabinoidearen osagaien banaketa ugaztunen obulutegian zehar. Folikulu bakoitza obozitoak eta inguruan dituen pikor-geruzako zelulek (GC) osatzen dute; teka-zelulak (TC) geroago agertzen dira folikuluen garapenean zehar. Gonadotropinak (FSH, LH) beharrezkoak dira folikuluen garapena eta obulazioa sustatzeko. Sistema endokannabinoidearen osagaien adierazpena desberdin modulatu da folikulogenesian zehar, eta espezieen artean (beltzez, gizakiak; urdinez, karraskariak; gorritz, beste ugaztun batzuk) (Cecconi *eta lank.*, 2020-tik moldatua) [6].



4. irudia: Kannabinoide-hartzaileen (CB1 eta CB2) eta degradazio-entzimen (FAAH eta MAGL) kokapen immunozitokimikoa giza obozitoen heltze-prozesuaren faseetan. CB1 eta CB2 kannabinoide-hartzaileen eta FAAH eta MAGL degradazio-entzimen banaketak berdez ageri dira besikula germinalean (GV), obozitoa meiosisiko profase I-ean dagoenean (MI) eta obozitoa meiosisiko bigarren metafasean dagoenean (MII). Hoechst DNA-markatzailea, urdinez. Erreferentzia barra: 20 μm [11].

5. irudia: Kannabinoide-hartzaileen (CB1 eta CB2) eta degradazio-entzimen (FAAH eta MAGL) kokapen immunozitokimikoa pikor-geruzako zeluletan giza obozitoen heltze-prozesuaren fase desberdinetan. CB1, CB2 kannabinoide-hartzaileen eta FAAH eta MAGL degradazio-entzimen banaketak berdez ageri dira besikula germinaletik eratorritako (GV) pikor-geruzako zeluletan, obozitoa meiosisiko profase I-ean dagoen (MI) eta obozitoa meiosisiko bigarren metafasean dagoen (MII) pikor-geruzako zeluletan. Hoechst DNA-markatzailea, urdinez. Erreferentzia barra: 10 μm [14].

Duela urte gutxi, gure ikerketa taldeak sistema kannabinoidea gizakien [11], behien [12] eta saguen obozitoetan adierazten dela baieztatu zuen [13]. Zehazki, obozitoen meiosiaren berraktibazioan CB1 eta CB2 kannabinoide-hartzaileak identifikatu genituen, bai RNA mezulari-mailan bai proteina-mailan ere. Gainera, giza obozitoetan kannabinoideentzako degradazio-entzimak, FAAH eta MAGL, espresatzen zirela deskribatu genuen (4. irudia). Are gehiago, obozitoaren heltze-prozesuan CB1, FAAH eta MAGL proteinen denborazko kokapena aldatuz joaten dela erakutsi genuen [11, 15].

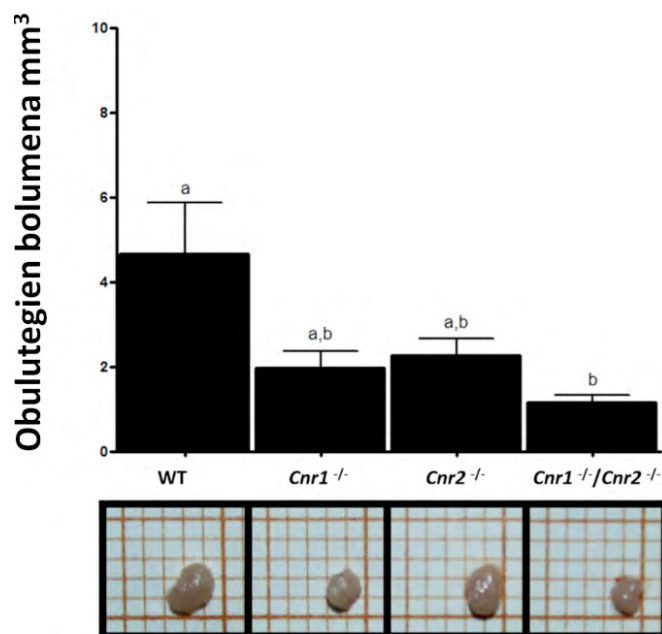
Beste alde batetik, giza pikor-geruzako zeluletan CB1 eta CB2 kannabinoide-hartzaileak eta endokannabinoideen andeatzea katalizatzen dituzten bi entzimak, FAAH eta MAGL, lokalizatu genituen obozitoaren heltze-prozesuan zehar [14] (5. irudia). Aurkikuntza hori interesgarria izan zen; izan ere, obulazioan, pikor-geruzako kumuluko zelulak-obozito konplexua (ingelesez, cumulus-oocyte complex, COC) askatzen da, eta obozitoaren heltze-prozesuan oso garrantzitsua da obozitoaren eta pikor-geruzako zelulen arteko bi norabideko komunikazioa. Hau da, pikor-geruzako zelulek ere obozitoaren heltze-prozesuan parte hartzen duten mekanismoak erregulatzen dituzte [24].

3. Sistema endokannabinoidearen gabeziaren eragina obulutegiaren morfologian, folikulugenesian eta obozitoen heltze-prozesuan

Ondorioztatu da kannabinoide exogenoen kontsumo kroniko sistemikoa kaltegarria dela ugalketa-prozesuetarako, kannabinoideak kanpotik hartzean sistema endokannabinoidearen seinaleztapena asaldatzen delako. Esaterako, tximinoekin egindako ikerketa batean ikusi zen THCaren kontsumo kronikoa obulazioaren atzerapenarekin erlazionatuta dagoela [25].

Beraz, jakina da sistema endokannabinoidearen edozein osagairen aktibazioak edo eraldaketek eragina izan dezaketela ugalketaren fisiologian eta, hortaz, sistema endokannabinoidean egon daitezkeen gabeziak ere kaltegarriak dira. Saguekin egindako azterketa batzuek iradokitzen dutenez,

obozitoetan kannabinoide-hartzaileen gabezia egoteak, ernalketaren ondorengo enbrioaren garapenean akatsak eragiten ditu eta [13] CB1 hartzailearentzako *knockout* genotipoko saguen % 40 inguruk haurdunaldiaren galera erakusten du [26].



6. irudia: Kannabinoide-hartzaileen gabeziaren eragina saguen obulutegiaren bolumenean. WT: genotipo basatidun saguak. Cnr1^{-/-}: CB1 hartzailea falta zaien *knockout* saguak. Cnr2^{-/-}: CB2 hartzailea falta zaien *knockout* saguak. Cnr1^{-/-}/Cnr2^{-/-}: CB1 eta CB2 hartzaileak falta zaizkien *knockout* saguak [26].

Alta, orain arte ez zen ezagutzen zer gertatzen zen obarioen morfologian, folikulugenesian eta obozitoen heltze-prozesuan kannabinoideen seinaleztapena ezabatzen zenean, eta hori izan da gure esperimentuek ekarri duten berrikuntza. Zentzu horretan, gure emaitzek erakutsi zuten CB1 hartzailearen gabeziak efektu kaltegarriak zituela obarioaren morfologian (kontrolarekin alderatuz, azalera eta bolumen txikiagoko obulutegiak dituzte) (6. irudia), folikulugenesian (folikulu gutxiago dituzte kontrolarekin alderatuz eta eCG tratamenduaren aurrean ez dute ondo erantzuten) eta obulatzen duten obozitoen kalitatean (obozito hedatuen kopuru baxuagoa erakusten baitute) eta meiosiaren progresioan (obozitoaren heltze-prozesuan sinkronizazio falta nabari da, obozito helduak beranduago eskuratzen baitira). Are gehiago, CB2 hartzailearen galerak aipatu berri ditugun pro-

zesu horietan akats hain esanguratsuak sortzen ez dituen arren, kannabinoide-hartzaile biak ez egoteak areagotu egiten zuen kaltea, batez ere obulutegien tamaina txikiagoak eta folikulu kopuru gutxiago aurkituz; CB2 hartzaileak ere garrantzia zuela erakutsiz. Ez hori bakarrik, eCG hormonaren eraginkortasuna ere kaltetua ikusi da kannabinoide-hartzaile biak falta zaizkien animalietan [27]. Horregatik, badirudi kannabinoide-hartzaileen faltak obulutegien bizitza funtzionala eta kalitatea okertzen dituela.

Gainera, kontuan izan behar da antzutasuna obulutegien folikuluen kantitatearen eta kalitatearen beharakadaren ondorioa dela [28] eta obozitoen garapen-gaitasuna folikuluen tamainak eta kalitateak baldintzatua egon daitekeela [29].

4. Ondorioak

Hortaz, bai kannabinoideen gehiegizko esposizioa zein sistema endokannabinoidearen osagairen baten gabezia kaltegarriak izan daitezkeenez ugal-prozesuetan, ondoriozta genezake sistema endokannabinoideak prozesu horiek modulatzeko dituela eta garrantzitsua dela barne kannabinoideen kontzentrazioa ondo erregulatua egotea. Horregatik, kannabinoideen erabilera aztertzen hasia da, antzutasunaren diagnostikoan biomarkatzaile posible gisa edota praktika klinikokoan tratatzeko itu terapeutiko posible gisa. Esaterako, gure ikerketa-taldeak lerro interesgarri bat zabaldu du kannabinoideen erabilera terapeutikoa aztertuz obozitoen *in vitro* heltzeko (IVM) medioen eraginkortasuna hobetzeko. Posibleztat jotzen zen endokannabinoideen seinaleztapenak folikulugenesia eta obozitoen heltze-prozesuak modula zitzakeela [8, 9], eta saguetan eta behietan egindako ikerketek frogatu dute lagunduriko ugalketa-tekniken eraginkortasuna hobetu daitekeela, teknika horietan erabiltzen diren hazkuntza-medioak kannabinoideekin aberastuz gero [12, 13, 27, 30].

5. Bibliografia

- [1] Mechoulam, R., eta Gaoni, Y. 1967. «The absolute configuration of delta-1-tetrahydrocannabinol, the major active constituent of hashish». *Tetrahedron Lettera*. **8**, 1109-1111.
- [2] Correa, F., Wolfson, M. L., Valchi, P., Aisemberg, J., eta Franchi, A. M. 2016. «Endocannabinoid system and pregnancy». *Reproduction*. **152**, R191-R200.
- [3] Battista, N., Rapino, C., Di Tommaso, M., Bari, M., Pasquariello, N. eta Maccarrone, M. 2008. «Regulation of male fertility by the endocannabinoid system». *Mol Cell Endocrinol*. **286**, S17-S23
- [4] Maccarrone, M. 2009. «Endocannabinoids: friends and foes of reproduction». *Progress in lipid research*. **48**, 344-354.
- [5] Brents, L. K. 2016. «Marijuana, the endocannabinoid system and the female reproductive system». *Yale Journal of Biology and Medicine*. **89**, 175-191.
- [6] Cecconi, S., Rapino, C., Di Nisio, V., Rossi, G. eta Maccarrone, M. 2020. «The (endo)cannabinoid signaling in female reproduction: What are the latest advances?». *Prog Lipid Res*. **77**, 101019
- [7] Sun, X. eta Dey, SK. 2012. «Endocannabinoid signaling in female reproduction». *ACS Chem Neurosci*. **3**, 349-55.
- [8] Schuel, H., Burkman, L. J., Lippes, J., Crickard, K., Mahony, M. C., Giuffrida, A. eta Makriyannis, A. 2002. «Evidence that anandamidesignaling regulates human sperm functions required for fertilization». *Molecular Reproduction and Development*. **63**, 376-387.
- [9] El-Talatini, M. R., Taylor, A. H., Elson, J. C., Brown, L., Davidson, A. C. eta Konje, J. C. 2009. «Localisation and function of the endocannabinoid system in the human ovary». *PLOS One*. **4**, e4579.
- [10] Bagavandoss, P. eta Grimshaw, S. 2010. «Temporal and spatial distribution of the cannabinoid receptors (CB 1, CB2) and fatty acid amide hydroxylase in the rat ovary». *Anatomical Record*. **293**, 1425-1432.
- [11] Peralta, L., Agirregoitia, E., Mendoza, R., Expósito, A., Casis, L., Matorras, R. eta Agirregoitia, N. 2011. «Expression and localization of cannabinoid receptors in human immature oocytes and unfertilized metaphase-II oocytes». *Reproductive BioMedicine Online*. **23**(3), 372-379.
- [12] López-Cardona, A. P., Sánchez-Calabuig, M. J., Beltran-Breña, P., Agirregoitia, N., Rijos, D., Agirregoitia, E. eta Gutierrez-Adán, A. 2016. «Exocannabinoids effect on *in vitro* bovine oocyte maturation via activation of AKT and ERK1/2». *Reproduction*. **152**(6), 603-612.
- [13] López-Cardona, A. P., Pérez-Cerezales, S., Fernández-González, R., Laguna-Barraza, R., Pericuesta, E., Agirregoitia, N. eta Agirregoitia, E. 2017. «CB1 cannabinoid receptor drives oocyte maturation and embryo development via PI3K/Akt and MAPK pathways». *FASEB Journal*. **31**(8), 3372-3382.
- [14] Agirregoitia, E., Ibarra-Lecue, I., Totorikaguena, L., Mendoza, R., Expósito, A., Matorras, R. eta Agirregoitia, N. 2015. «Dynamics of expression and localization of the cannabinoid system in granulosa cells during oocyte nuclear maturation». *Fertility and Sterility*. **104**(3), 753-760.
- [15] Agirregoitia, E., Totorikaguena, L., Expósito, A., Mendoza, R., Matorras, R. eta Agirregoitia, N. 2016. «Dynamic of expression and localization of cannabinoid-degrading enzymes FAAH and MGLL in relation to CB1 during meiotic maturation of human oocytes». *Cell and Tissue Research*. 1-9.

- [16] Gammon, C. M., Freeman, G. M., Jr, Xie, W., Petersen, S. L., Wetsel, W. C., Petersen, S. L. eta Wetsel, W. C. 2005. «Regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion by cannabinoids». *In Endocrinology*. **146**, 4491-4499.
- [17] Smith, C. G., Besch, N. F., Smith, R. G., Besch, P.K. 1979. «Effect of tetrahydrocannabinol on hypothalamic-pituitary axis in ovariectomized rhesus monkey». *Fertility and Sterility*. **31**, 335-339.
- [18] Walker, O., Holloway, A. eta Raha, S. 2019. «The role of the endocannabinoid system in female reproductive tissues». *Journal of Ovarian Research*. **12**(Suppl. 1), 2-10.
- [19] El-Talatini, M. R., Taylor, A. H. eta Konje, J. C. 2009. «Fluctuation in anandamide levels from ovulation to early pregnancy in in-vitro fertilization-embryo transfer women, and its hormonal regulation». *Human Reproduction*. **24**(8), 1989-1998.
- [20] Bambang, K. N., Karasu, T., Gebeh, A., Taylor, A. H., Marczylo, T. H., Lam, P., Willets, J. M. eta Konje, J. C. 2010. «From fertilization to implantation in mammalian pregnancy-modulation of early human reproduction by the endocannabinoid system». *Pharmaceuticals (Basel)*. **3**, 2910-2929.
- [21] Cacciola, G., Chioccarelli, T., Altucci, L., Ledent, C., Mason, J. I., Fasano, S. eta Cobellis, G. 2013. «Low 17beta-estradiol levels in Cnr1 knock-out mice affect spermatid chromatin remodeling by interfering with chromatin reorganization». *Biology of Reproduction*. **88**(6), 152.
- [22] Wenger, T., Ledent, C., Csernus, V. eta Gerendai, I. 2001. «The central cannabinoid receptor inactivation suppresses endocrine reproductive functions». *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **284**(2), 363-368.
- [23] Oláh, M., Milloh, H. eta Wenger, T. 2008. «The role of endocannabinoids in the regulation of luteinizing hormone and prolactin release. Differences between the effects of AEA and 2AG». *Molecular and Cellular Endocrinology*. **286**(1-2 Suppl. 1), 36-40.
- [24] Albertini, D.F., Combelles, C.M., Benecchi, E eta Carabatsos, M.J. 2001. «Cellular basis for paracrine regulation of ovarian follicle development». *Reproduction*. **121**, 647-53.
- [25] Asch, R.H., Smith, C.G., Siler-Khodr, T.M. eta Pauerstein, C.J. 1981. «Effects of delta 9-tetrahydrocannabinol during the follicular phase of the rhesus monkey (macaca mulatta)». *J Clin Endocrinol Metab*. **1**, 50-5.
- [26] Wang, H., Guo, Y., Wang, D., Kingsley, P. J., Marnett, L. J., Das, S. K. eta Dey, S. K. 2004. «Aberrant cannabinoid signaling impairs oviductal transport of embryos». *Nature Medicine*. **10**(10), 1074-1080.
- [27] Totorikaguena, L., Olabarrieta, E., Lolicato, F., Romero Aguirregomezcorra, J., Smitz, J., Agirregoitia, N. eta Agirregoitia, E. 2020. «The endocannabinoid system modulates the ovarian physiology and its activation can improve *in vitro* oocyte maturation». *Journal of Cellular Physiology*. doi: 10.1002/jcp.29663
- [28] Shi, L., Zhang, J., Lai, Z., Tian, Y., Fang, L., Wu, M. eta Wang, S. 2016. «Longterm moderate oxidative stress decreased ovarian reproductive function by reducing follicle quality and progesterone production». *PLOS One*. **11**(9), 1-18.
- [29] Otoi, T., Yamamoto, K., Koyama, N., Tachikawa, S eta Suzuki, T. 1997. «Bovine oocyte diameter in relation to developmental competence». *Theriogenology*. **48**(5), 769-74.
- [30] Totorikaguena, L., Olabarrieta, E., López-Cardona, A. P., Agirregoitia, N. eta Agirregoitia, E. 2019. «Tetrahydrocannabinol modulates *in vitro* maturation of oocytes and improves the blastocyst rates after *in vitro* fertilization». *Cellular Physiology and Biochemistry*. **53**(3), 439-452.