

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE PSICOLOGIA, DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
DEPTO. DE PSICOBIOLOGIA

01963

3. 20j

EFECTO DE LA IMPLANTACION INTRACEREBRAL
DE DIFERENTES PROGESTINAS SOBRE LA CONDUCTA
SEXUAL FEMENINA EN LA RATA

Sección de Neuroendocrinología, División
de Neurociencias. Unidad de Investigación Biomédica
Centro Médico Nacional. Instituto Mexicano
del Seguro Social

T e s i s

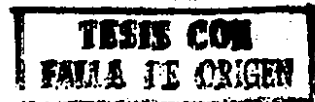
que para optar al grado de

Maestro en Psicobiología

p r e s e n t a

Gabriela Rodríguez Manzo

México, 1984





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Indice.

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
DESCRIPCION DE LA CONDUCTA SEXUAL EN LA RATA HEMBRA.....	4
CONTROL NEUROENDOCRINO DE LA CONDUCTA SEXUAL FEMENINA EN LA RATA.....	11
Ciclo Estral.....	11
Cambios en la Actividad Eléctrica del SNC durante el Ciclo Estral.....	21
Hormonas Esteroides.....	24
Biosíntesis y Metabolismo de Progestinas.....	25
Biosíntesis de Estrógenos.....	29
Glándulas Secretoras de Esteroides.....	29
Papel de las Hormonas Esteroides en la Regulación de la Conducta Sexual Femenina en la Rata.....	32
Centros Neurales Involucrados en el Control de la Conducta Sexual Femenina en la Rata.....	36
Mecanismo de Acción de Esteroides.....	40
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	46
MATERIALES Y METODOS.....	50
RESULTADOS.....	53
DISCUSION.....	55
APENDICE: Interacciones Hormona-Monoamina.....	59
BIBLIOGRAFIA.....	62

RESUMEN

En esta investigación se analiza el efecto de diferentes progestinas con capacidad anestésica, implantadas intracerebralmente, sobre la conducta sexual femenina de ratas ovariectomizadas y pretratadas con estrógenos.

La capacidad anestésica o hipnótica de algunos pregnanos fue descrita desde los 40's por Selye. Estudios sistemáticos han determinado que la reducción del anillo A de la molécula esteroide confiere una marcada capacidad anestésica a las progestinas, en especial la 5β -reducción. Estas progestinas con capacidad anestésica son producidas normalmente por el ovario de la rata. Sin embargo, el papel fisiológico de las progestinas anestésicas no ha sido determinado.

Por otro lado, existen múltiples reportes que indican la existencia de vías nerviosas que ejercen una inhibición tónica sobre la conducta sexual femenina de la rata.

Fundamentándonos en estos datos, pensamos en la posibilidad de que la progesterona o sus metabolitos anestésicos facilitaran la conducta de lordosis a través de deprimir la actividad de las vías inhibitorias, i.e. removiendo la inhibición tónica. Para ello, implantamos cristales de progestinas con diferente capacidad anestésica en dos áreas cerebrales involucradas en el control de la lordosis: el área preóptica y el hipotálamo ventromedial. Se utilizaron las siguientes progestinas: pregnanolona, epipregnanolona, allopregnanolona y progesterona. Los resultados muestran que la pregnanolona fue la única progestina capaz de facilitar la lordosis de manera significativa en ambas zonas, lo que indica que además de la capacidad anestésica, la configuración estereoquímica de la molécula parece jugar un papel importante en el efecto de estas progestinas sobre la conducta sexual femenina de ratas. Se ha reportado que las membranas neuronales presentan un alto grado de discriminación a las características estereoquímicas de las moléculas.

Por último, se plantea la posibilidad de que la pregnanolona sea el metabolito activo de la progesterona para la facilitación de la conducta sexual femenina en la rata.

INTRODUCCION

La aplicación de las técnicas y el conocimiento de las ciencias físicas y biológicas al estudio del sistema nervioso nos ha llevado a una comprensión más profunda de una de las estructuras más complejas existentes: el cerebro.

A través del estudio del cerebro la ciencia se acerca al conocimiento de la más elevada de las funciones cerebrales, la conducta. Es la psicobiología la rama de la ciencia que analiza las bases fisiológicas de la conducta.

La reproducción que es el instinto de preservación de las especies, dirige biológicamente el mecanismo instintivo y la conducta básica de los seres vivos, y a su vez, el proceso reproductor depende de la expresión adecuada de ciertas respuestas conductuales.

El Dr. Frank Beach inició la investigación experimental del control de la conducta sexual a finales de los 30's, demostrando el importante papel que las hormonas gonadales juegan en su regulación. El estudio de la relación entre las hormonas y la conducta sexual tiene implicaciones para el control fisiológico de un amplio espectro de conductas (agresión, conducta maternal, etc.).

Los patrones conductuales deben ser explicados en términos de los mecanismos biológicos que los subyacen, puesto que éstos no son funciones independientes, ni complementarias, sino un mismo proceso. Así, en esta investigación se ha analizado el efecto de diferentes progestinas (hormonas esteroides) implantadas por vía intracerebral, sobre la conducta sexual femenina, en un esfuerzo por dilucidar el posible mecanismo de acción de la progesterona en la expresión de esta conducta.

La tesis está dividida en 6 secciones y un apéndice. El arreglo de las secciones está hecho de tal manera que las 2 primeras introduzcan al tema y el resto se ocupan de la investigación en sí.

La primera sección contiene una descripción de la conducta sexual femenina en la rata. En la segunda sección se presenta una revisión del control neuroendócrino de la conducta sexual femenina en la rata, que incluye los siguientes temas: ciclo estral y su efecto sobre el sistema nervioso central; hormonas esteroides: estructura, biosíntesis, metabolismo, glándulas que las secretan; papel de los esteroides en la regulación de la conducta sexual; centros neurales involucrados en el control de la conducta sexual femenina y mecanismo de acción de esteroides. La tercera sección expone el planteamiento del problema. En la cuarta sección se describen los métodos y en la quinta los resultados de la investigación.

Por último, en la sexta sección se discuten los resultados del experimento. En esta discusión se incluyeron datos acerca de la interacción hormona-monoamina. Para su cabal comprensión nos pareció importante introducir este tema, que expone algunas ideas básicas sobre la relación hormona-monoamina, en forma de apéndice.

Unas palabras más quisiera añadir aquí como testimonio del agradecimiento que siento por la Dra. María Luisa Cruz, cuya asesoría y apoyo fueron vitales para la realización de esta investigación. Asimismo agradezco a Elena Horneffer quien cedió amablemente su tiempo en la transcripción de este trabajo.

DESCRIPCION DE LA CONDUCTA SEXUAL EN LA RATA HEMBRA

La conducta sexual se presenta en patrones ordenados, frecuentemente muy estereotipados, que varían de especie a especie y que son predecibles con el tiempo (Diakow, 1975).

La interacción sexual puede dividirse de manera muy general en dos fases: el cortejo y el apareamiento. El cortejo incluye a todos aquellos patrones de comportamiento a través de los cuales el macho y la hembra se hacen patente, el uno al otro, que se encuentran en disposición fisiológica para copular y su consecuencia es el surgimiento del interés sexual entre parejas potenciales.

Una secuencia completa de conducta sexual implica las etapas de conducta precopulatoria, cópula, terminación y secuelas a la cópula (Diakow, 1975).

La conducta precopulatoria o cortejo precede al contacto genital que caracteriza a la cópula. Su complejidad y duración varía de especie a especie (Bastock, 1967). El cortejo tiene por objeto reunir a la hembra y al macho de una misma especie en un tiempo en el que ambos desean aparearse y en el cual tal apareo tenga probabilidades de dar por resultado un embarazo exitoso. La actividad precopulatoria se completa con la transición al apareo o cópula, durante la cual se lleva a cabo la fertilización del óvulo. Es común que los animales ejecuten varias cópulas, en ocasiones de larga duración, por lo que los patrones copulatorios están compuestos de secuencias de actividad sexual relativamente elaboradas. La terminación de la cópula puede ser determinada por cambios tanto en el macho como en la hembra. En algunas especies, como la rata, un

cambio de compañero de apareo puede provocar la reinstalación de la conducta copulatoria aún cuando el animal se encuentre aparentemente saciado. Este es el llamado "efecto Coolidge" (Welson, et. al., 1963). La consecuencia fundamental de la cópula es el embarazo en la hembra, seguida de una disminución en la receptividad sexual (Carter & Schein, 1971), así como de cambios endócrinos (Taleisnik, et. al., 1966).

Beach en 1976 propuso tres conceptos representativos de las características de la hembra en estro: la atractividad, la proceptividad y la receptividad. La atractividad se define como la capacidad de los estímulos femeninos para evocar conducta sexual en el macho (Beach, 1976) e involucra cambios de naturaleza morfológica y fisiológica hormono-dependientes, tales como resaltar el área genital y secretar sustancias odoríferas (feromonas).

La proceptividad incluye el repertorio de las reacciones de la hembra hacia el macho que constituyen la toma de iniciativa por parte de la hembra para establecer o mantener interacción sexual (Beach, 1976). Esta conducta proceptiva facilita la presentación de la conducta sexual en el macho.

La receptividad se ha definido en términos de las respuestas femeninas necesarias y suficientes para que el macho logre una eyacuación intravaginal (Beach, 1976).

En ratas de laboratorio, la conducta precopulatoria de la hembra receptiva se distingue de aquella de hembras no receptivas por la presencia de la proceptividad, que consiste en un patrón locomotor característico llamado "darting" (carreras en zig-zag) y "hopping"

(pequeños saltos), así como del llamado "ear wiggling" (sacudida rítmica de las orejas) causada por una sacudida rápida de la cabeza (Kuehn, 1963).

Mc Clintock en 1974 dividió la conducta proceptiva de las ratas hembras en tres componentes: acercamiento, orientación y huida.

El acercamiento normalmente es iniciado desde una distancia de al menos cuatro cuerpos y pone a la hembra en proximidad con el macho. Durante el componente de orientación, la hembra se coloca de tal manera que su cabeza quede cerca de la del macho. Posteriormente puede acicalarle la región de la nuca, arrastrándose sobre su cabeza y su mentón o moverse de tal forma que su región genital quede cerca de la nariz del macho. En la etapa de la huida la hembra presenta ese patrón locomotor característico ya descrito y es perseguida por el macho que intenta montarla.

La conducta copulatoria o receptiva en la rata hembra incluye la adopción de una postura característica llamada lordosis. Esta postura facilita la inserción peneana y la eyaculación, y es considerada como una respuesta refleja dependiente de hormonas esteroideas (Kawakami, et. al., 1979).

La lordosis, descrita detalladamente por Pfaff & Lewis en 1974 consiste en un arqueamiento de la espalda del animal que da por resultado que la región perineal esté elevada, las cuatro patas extendidas y la cabeza elevada por arriba de la posición normal de descanso; frecuentemente va acompañada de la desviación de la cola (Diakow, 1975). Esta postura se desarrolla durante la porción ini-

cial de la monta del macho, cuando toca a la hembra, palpa sus caderas con las patas delanteras e inicia los movimientos pélvicos.

Los patrones conductuales más comunes posteriores a la intromisión son el voltear la cabeza para mirar al macho, sacudir la cabeza, acicalarse la cara o levantarse sobre las patas traseras (Diakow, 1975). La hembra requiere, para reiniciar la conducta proceptiva después de una eyaculación, un período mayor que después de una intromisión y éste, a su vez, es mayor después de una intromisión que después de una monta (Bermont, 1966). La receptividad decrece progresivamente como resultado de la estimulación repetida del entrecruzamiento (Hardy, 1972).

Durante el cortejo y el apareamiento los animales detectan todas las señales del compañero a través de sus telorreceptores, los órganos sensitivos especializados de los ojos, oídos, nariz y piel que detectan los cambios en el medio ambiente (Herbert, J., 1973).

Las señales visuales son muy importantes. Las hembras responden con una conducta muy particular a la presencia del macho, ya sea con componentes proceptivos o con cambios en su apariencia. El olfato es igualmente importante a pesar de que este sentido juega un papel cada vez menos importante conforme el sistema nervioso del animal es más evolucionado. No hay duda de que muchas hembras en estro emiten olores característicos que son detectados por los machos adultos y que ocupan un sitio importante en la atracción sexual.

A pesar de la importancia tradicional que se le ha otorgado al "llamado al apareamiento", la comunicación auditiva parece ser me-

nos importante que la visión y el olfato en la actividad sexual de la mayoría de los mamíferos. Sin embargo, se puede presumir que los estímulos auditivos se suman al flujo de información que se establece entre hembra y macho. Por otro lado, los experimentos en los cuales se ha privado a los animales de uno o más sentidos, han demostrado que ninguno de ellos, en particular, es absolutamente esencial para la conducta sexual y que el animal puede compensar, al menos hasta cierto grado, la pérdida de una de sus facultades (Fletcher & Lindsay, 1968). Así, se ha observado que, para la realización del reflejo de la lordosis, no son indispensables los estímulos visuales, auditivos ni olfatorios. Todo parece indicar que los estímulos somatosensoriales son suficientes para desencadenar el reflejo de lordosis. Se deduce que los mecanorreceptores cutáneos, localizados en regiones específicas de la piel velluda de la rata, juegan un papel crucial en el desencadenamiento de este reflejo. La denervación cutánea de los flancos, la espalda y el perineo provoca una gran disminución en el cociente de lordosis (alrededor del 85%) en ratas sordas, ciegas y anósmicas. Esta reducción en el cociente de lordosis también se observa en ratas con vista, oído y olfato intactos. La denervación cutánea de las superficies dorsales y laterales de la mitad inferior del cuerpo de la rata también provoca una disminución significativa del cociente de lordosis (Kow & Pfaff, 1976).

En la mayoría de los estudios sobre conducta sexual se permite el desenvolvimiento normal del patrón de interacción típico de la

especie y se estudian los efectos de las manipulaciones endócrinas sobre la secuencia natural. Prácticamente en todos los casos de manipulación endócrina se produce: un cambio en la probabilidad de apareo, un cambio en el número de eventos conductuales relacionados con la actividad sexual o un cambio en la frecuencia de presentación de la actividad sexual. Por otro lado, la mayoría de las investigaciones endócrinas de la conducta sexual están basadas primariamente sobre una sola medida: el cociente de lordosis.

El cociente de lordosis (L.Q.) se define como la proporción que hay entre el número total de respuestas de lordosis por parte de la hembra respecto al número total de montas realizadas por el macho en una determinada prueba.

Las pruebas pueden ser limitadas ya sea por el tiempo o por un número determinado de montas. Este último procedimiento es preferible, ya que la responsividad de la hembra puede modificarse como resultado de haber sido montada muchas veces (Hardy & De Bold, 1973). Debido a que el L.Q. puede modificarse en función de una serie de variables, es importante que el tiempo de prueba sea restringido a cierta hora del día y del ciclo de la hembra.

La conducta sexual varía como una función de varios determinantes a corto y largo plazo que afectan sus características a lo largo de la vida del individuo. Entre ellos están los determinantes genéticos inter- e intraespecíficos (la lordosis en roedores de diferentes especies y variedades puede ser cuantitativamente diferente). Muchas especies muestran cambios en su actividad sexual, incremen-

tándola o disminuyéndola, en función de la edad. La experiencia también juega un papel importante en la conducta sexual. El debate acerca de hasta qué punto la conducta es innata y hasta cuál aprendida, continúa. Sin embargo, podemos decir que la conducta, sin importar cuánto dependa de componentes genéticos determinantes, puede ser modificada por la experiencia. Así, hembras experimentadas muestran una responsividad incrementada al acercamiento del macho y adoptan la postura de receptividad más rápidamente.

Por otro lado, la conducta copulatoria de muchas especies varía como una función del ciclo luz/oscuridad. Especies de vida nocturna como la rata, generalmente copulan más rápidamente y mejor durante la fase oscura que durante la fase clara del ciclo. Por esta razón los cuartos de las colonias de ratas son mantenidos en ciclos fotoperiódicos invertidos.

Por último, uno de los factores más importantes que determinan la conducta sexual femenina es el estado hormonal de la hembra.

CONTROL NEUROENDOCRINO DE LA CONDUCTA SEXUAL FEMENINA EN LA RATA

Ciclo estral.

Las hembras de la mayoría de las especies de mamíferos presentan diferentes períodos de actividad sexual (estro) alternados con períodos de quietud sexual (diestro). Las variaciones en la función ovárica son las que dan lugar a estas fluctuaciones conductuales (Moralí & Beyer, 1979).

El término "ciclo estral" se utiliza para describir la naturaleza recurrente de los cambios exhibidos por las hembras en cuanto a la actividad ovárica, la conducta sexual (conducta de estro) y la citología vaginal.

En la mayoría de las ratas de laboratorio sin embarazar, un ciclo completo de tales cambios tiene lugar cada 4 ó 5 días (Moralí & Beyer, 1979).

Considerando arbitrariamente al estro vaginal como la primera etapa del ciclo estral, en la rata con un ciclo de 4 días, podemos decir que esta fase se caracteriza por la presencia de células epiteliales cornificadas en el lumen vaginal y que tiene una duración de alrededor de 36 hrs. Esta etapa es seguida por un período en el cual las células cornificadas son menos numerosas y aparecen leucocitos en el lumen de la vagina. A esta etapa se le denomina diestro vaginal y tiene una duración de alrededor de 48 hrs. La siguiente fase se caracteriza por la presencia de muchas células epiteliales nucleadas, algunas de las cuales aparecen ya en el diestro tardío, y se conoce como proestro; su duración es de alrededor de 12 hrs. (Fig. 1) (Long & Evans, 1922).

En cuanto a la conducta sexual, se ha observado que tanto la lordosis como las conductas asociadas a ella (proceptividad) se presentan sólo cuando el frotis vaginal corresponde a la etapa del proestro o del estro temprano (Young, 1961). La ovulación tiene lugar a la 1:00 de la mañana del estro (Feder, 1981 b).

A pesar de la que la conducta sexual femenina sea denominada también conducta de estro, debe hacerse notar que el estro conductual no corresponde temporalmente al inicio del estro vaginal. El estro conductual se inicia y llega a su mayor intensidad cuando el frotis vaginal indica que la hembra está en proestro y termina cuando el frotis vaginal está en estro.

Además de la citología vaginal y de la conducta sexual, un tercer indicador biológico de los cambios cíclicos de la función ovárica es el peso y la distensión del útero. El peso promedio total (mg/100 g peso corporal) del útero de la rata varía desde 242 en el proestro vaginal, a 172 en el estro vaginal, a 166 en el primer día del diestro, hasta 134 en el segundo día del diestro (Astwood, 1939).

Combinando los datos sobre los indicadores biológicos de la actividad ovárica a lo largo del ciclo estral en la rata, podemos decir que:

- los ovarios tienen un ciclo de actividad de una duración de 4 6 5 días en la rata,
- los ovarios secretan hormonas que provocan cambios cíclicos en la citología vaginal, el crecimiento uterino y la receptividad

sexual,

- la cornificación vaginal se inicia 8 hrs. antes de la ovulación en ratas con ciclos de 4 días,
- el útero alcanza su peso máximo antes del inicio de la cornificación, cerca de 12-14 hrs. antes de la ovulación,
- la receptividad sexual se inicia un par de horas después del inicio de la cornificación vaginal y 6-12 hrs. antes de la ovulación en ratas con ciclos de 4 días y desaparece al momento de la ovulación.

La cornificación vaginal, el crecimiento uterino máximo y la receptividad sexual ocurren todas cerca, pero antes de la ovulación en ratas con ciclos tanto de 4 como de 5 días.

En cuanto a las hormonas esteroides, los datos sugieren que el 17 β estradiol es el estrógeno más importante en el ciclo estral normal; un incremento en su secreción, por parte del ovario, se observa cerca de dos días antes de la ovulación. Se puede afirmar que el epitelio vaginal requiere de 48-72 hrs. para proliferar y cornificarse después del tratamiento con estrógenos (Young, 1961). De los estrógenos presentes naturalmente en el organismo de la rata, el 17 β estradiol parece ser el más potente para inducir la reacción de cornificación (Beyer, et. al., 1971).

La medición de estrógenos en la vena ovárica y en plasma periférico de ratas con ciclos de 4 y 5 días, demuestra que los valores máximos en los niveles de estrógenos se detectan 18 hrs. antes de la ovulación y que un decremento drástico en la concentración de

estos esteroides se observa 6-12 hrs. antes de la ovulación (Hori, et. al., 1968).

Utilizando técnicas de radioinmunoanálisis, Shaikh en 1971 demostró niveles elevados de 17β estradiol (E_2) en la vena ovárica de la rata en la mañana del proestro, con una caída significativa en la noche del proestro. En su nivel máximo, los valores de E_2 en vena ovárica fueron de 2178 $\mu\text{g/ml}$ de plasma, mientras que los valores máximos de estrona fueron de sólo 416 $\mu\text{g/ml}$. Ambos estrógenos muestran un patrón de secreción similar.

En plasma periférico se detectaron niveles elevados de estradiol (17β) 30 hrs. antes de la ovulación; los valores máximos de este esteroide se detectaron en la mañana del proestro (Naftolin, et. al. 1972).

Se piensa que la teca interna de los folículos del ovario es la fuente principal de estrógenos ováricos, aunque las células de la glándula intersticial y el cuerpo lúteo también los secretan (Fortune & Armstrong, 1978; Mac Donald, et. al., 1966).

Resumen:

- El estradiol es el estrógeno principal en la circulación;
- sus concentraciones en plasma comienzan a elevarse en el día II, cerca de 36 hrs. antes de la ovulación,
- alcanza su valor máximo en el proestro temprano y declina agudamente varias horas antes de la ovulación.

Las hembras también secretan andrógenos durante el ciclo estral; entre éstos encontramos a la testosterona, la dihidrotestos-

terona, al androstendiol y a la androstendiona. Se ha reportado que los niveles de testosterona y androstendiona aumentan progresivamente entre el día del estro y la tarde del proestro (Bélanger, et. al., 1981). Se ha demostrado que las células de la teca del ovario son capaces de transformar progestinas ováricas en andrógenos (Tsang, et. al., 1979). Sin embargo, parece que estos andrógenos son posteriormente aromatizados a estrógenos por las células de la granulosa (Bélanger, et. al., 1981).

En cuanto a la progesterona y a las progestinas en general, la determinación de sus concentraciones en plasma de vena ovárica ha demostrado la presencia de un incremento significativo en los niveles de progesterona algunas horas antes de la ovulación, en la tarde del proestro, pero también se registra una elevación de la 5α pregnan 3α ol 20 ona, de la 20α dihidroprogesterona, así como de la mezcla de 5α pregnan 3β ol 20 ona y de la 5β pregnan 3β ol 20 ona (Holzbauer & Mason, 1971). Se ha registrado un segundo pico en la secreción de progesterona y de 20α dihidroprogesterona en la tarde del diestro I. Los niveles de estas dos progestinas en el diestro fueron de alrededor de la mitad de los presentes en el proestro. Los patrones de secreción de progesterona y 20α dihidroprogesterona fueron similares aunque de diversas magnitudes (Hashimoto, et. al., 1968).

La medición de progestinas en circulación periférica por diferentes métodos bioquímicos: cromatografía gas-líquido (Barraclough, et. al., 1971; Feder, et. al., 1971), unión competitiva

a proteínas (Butcher, et. al., 1974; Feder, et. al., 1968) y radioinmunoanálisis (Smith, et. al., 1975), demostró un incremento preovulatorio dramático en los niveles de progesterona en la tarde y noche del proestro. Al momento de la ovulación, las concentraciones de progesterona han regresado a sus valores basales. Se observó también el segundo incremento, aunque menor, en los niveles de progesterona en el diestro I.

Los niveles plasmáticos periféricos de progesterona en el diestro II difieren entre ratas con ciclos de 4 días y las de ciclos de 5 días. En esta etapa, las ratas con un ciclo de 5 días presentan concentraciones mayores de progesterona que las de 4 días (Nequin & Schwartz, 1971). Esto pudiera indicar que las diferencias en la concentración de progesterona de origen lúteo sean las responsables de la diferencia en la longitud del ciclo.

Los tejidos ováricos responsables de la secreción de progesterona son el tejido intersticial y el cuerpo lúteo. Barraclough et. al. en 1971 midieron, durante el proestro, los niveles de progesterona plasmática periférica y de la vena ovárica de ratas de ciclos de 4 días, observando un aumento significativo en la concentración de esta hormona plasmática 2 a 3 hrs. antes de su elevación en la sangre de vena ovárica. Este hecho sugiere la contribución de las glándulas adrenales a los niveles de progesterona en la circulación general. Otros investigadores han analizado el flujo de la vena adrenal en cuanto a progesterona, y han concluido que la glándula adrenal de rata secreta cantidades considerables de pro-

gesterona (Holzbauer, et. al., 1969).

En muchos de los estudios en los que se ha medido progesterona en plasma periférico, se ha evaluado también la concentración de la 20α dihidroprogesterona. Extrañamente, los niveles de esta última son bastante más elevados que los de progesterona (Nequin & Schwartz, 1975); los niveles máximos de progesterona son de 40-60 ng/ml y los de 20α dihidroprogesterona de cerca de 230 ng/ml.

Resumen:

- Hay una elevación dramática en las concentraciones de progesterona en la vena ovárica y la circulación periférica en el momento de la receptividad sexual, cerca de 12 horas antes de la ovulación;
- un incremento de menor proporción en los niveles de progesterona se registra durante el primer día del diestro. Probablemente indique esto la presencia de un cuerpo lúteo funcional, en el sentido de que secreta progesterona;
- la 20α dihidroprogesterona está presente en cantidades mucho más elevadas que la progesterona en plasma. Niveles especialmente altos de esta progestina están presentes durante el proestro vaginal.

Hasta ahora hemos tratado únicamente con las hormonas esteroideas. Sin embargo, no sólo estas hormonas intervienen en el ciclo estral de la rata, sino que simultáneamente se producen cambios en la secreción de hormonas hipofisarias que están intima-

mente ligadas con las hormonas esteroideas en cuanto a la regulación de su secreción.

No profundizaremos en este aspecto, sino que únicamente mencionaremos los datos más significativos, por no estar estas hormonas directamente involucradas en nuestra investigación.

Son dos las hormonas hipofisarias que están primariamente involucradas en el ciclo estral. Se conocen con el nombre de gonadotrofinas y son: la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículoestimulante (FSH).

En cuanto a la LH se ha observado que permanece en concentraciones basales a lo largo del ciclo, exceptuando un pequeño período en el día del proestro, alrededor de 8 a 12 horas antes de la ovulación. Durante esta etapa se presenta un incremento dramático en los niveles de LH circulante, que se inicia a las 14:00 hrs del proestro (en la rata de 4 días). Los niveles permanecen elevados hasta las 20:00 hrs del proestro (Butcher, et. al., 1974; Blake, 1976a; Mc Cann & Ramírez, 1964).

Por otro lado, la FSH medida en la circulación general, se encuentra en niveles basales durante el diestro I y el diestro II. Se registra un incremento de esta hormona en la tarde del proestro; este incremento alcanza su valor máximo entre las 17:00 y las 19:00 hrs del proestro, aproximadamente 4 horas después del pico de LH y varias horas antes de la ovulación. Sin embargo, la FSH no declina precipitadamente, sino que permanece en niveles elevados cercanos a los máximos por cerca de 16 horas (e.g. hasta

la mañana del estro vaginal y después de la ovulación) y después declina en la tarde del estro (Blake, 1976b; Butcher, et. al., 1974; Smith, et. al., 1975).

La "hipofisectomía funcional" es un método utilizado para estudiar el efecto de hormonas hipofisarias sobre algún fenómeno. Consiste en la administración de drogas bloqueadoras (e.g. atropina, fenobarbital, dibenammina) que actúan de manera inespecífica evitando la estimulación neurogénica de la hipófisis (Everett, 1961).

La administración de estas drogas entre las 13:00 y las 15:00 hrs del proestro bloquea la ovulación. Estos resultados indican que la ovulación es causada por un incremento en la liberación de gonadotrofinas, inducido por un estímulo neurogénico, que se inicia a las 14:00 hrs y termina a las 16:00 hrs del proestro. A este período se le llama "período crítico".

Por otro lado, se han observado también cambios cíclicos en los niveles de otra hormona hipofisaria: la prolactina y en una hormona hipotalámica: la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH). Sin embargo, no se conocen con seguridad sus funciones. A la prolactina se la ha implicado en la relajación del esfínter cervical para permitir la liberación de fluido intraluminal del útero (Kennedy & Armstrong, 1972), en la regresión de cuerpos lúteos (Wuttke & Meites, 1971) y en la secreción de progesterona adrenal (Gelato, et. al., 1976). La GnRH es la hormona responsable de la liberación de las gonadotrofinas (LH y FSH).

En esta sección se revisaron los patrones de secreción hormonal en el ovario e hipófisis a lo largo del ciclo estral. En la Fig. 1 se resumen estos datos de acuerdo a las diferentes fases del ciclo.

HORA DEL DIA	14:00	14:00	14:00	1400-1800	2200	0200
HORA DESPUES DE LA OVULACION	12	36	60	84-88	92	96
FROTIS VAGINAL	ESTRO	DIESTRO1	DIESTRO2	PROESTRO	PROESTRO ESTRO	ESTRO
CONDUCTA SEXUAL FEMENINA	-	-	-	+	++	(+)

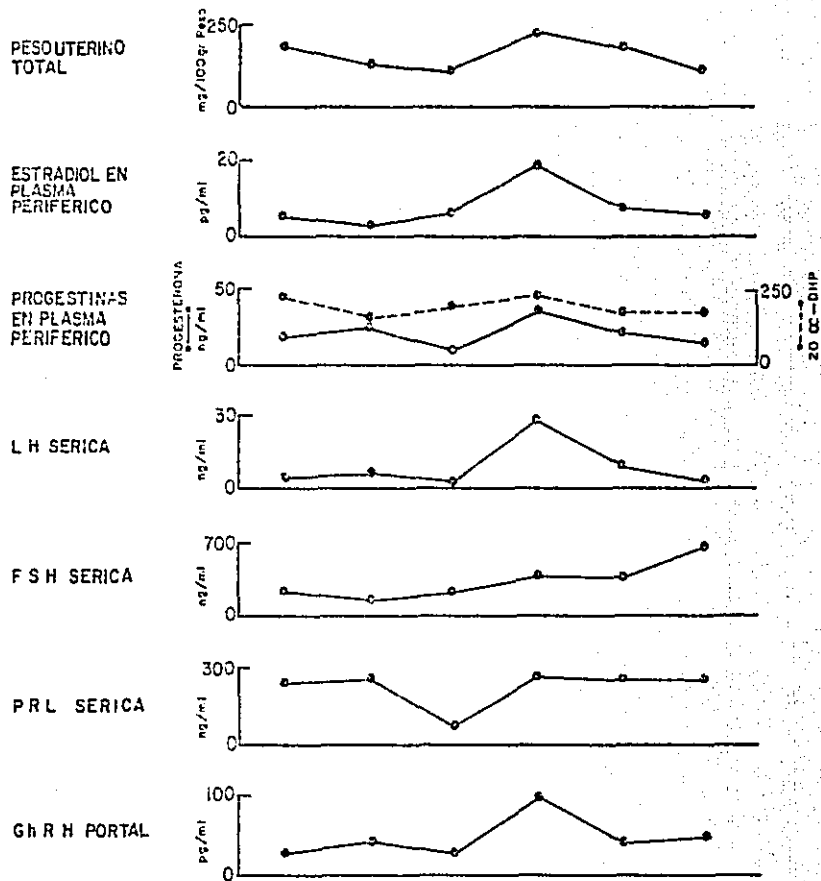


FIG. 1

CICLO ESTRAL DE LA RATA

Cambios en la Actividad Eléctrica del SNC durante el Ciclo Estral.

Las hormonas esteroideas circulantes en sangre tienen acceso rápido y relativamente irrestricto a todo el sistema nervioso central (SNC) (Mc Ewen, et. al., 1972) a través del hipotálamo ventromedial (HVM). Esto es posible debido al hecho de que esta zona carece de una barrera hematoencefálica bien desarrollada, condición que favorece el paso de esteroideos, entre otras sustancias, a esta región (Rapoport, 1976). Por ello, es importante considerar el efecto que estos esteroideos puedan causar en la actividad eléctrica del sistema nervioso central a lo largo del ciclo estral.

Así, Cross & Dyer en 1971 reportaron que el registro de la actividad unitaria espontánea de unidades aisladas de hipotálamo (islas diencefálicas) muestra una ciclicidad correlacionada con el ciclo estral, siendo la frecuencia de disparo de las células en área preóptica/hipotálamo anterior significativamente más elevada en proestro que en el resto del ciclo. Este mismo efecto se registró en la actividad unitaria de la corteza cingulada, el área preóptica y el hipotálamo anterior en el día del proestro (Moss & Law, 1971). Se ha sugerido que el incremento en la frecuencia de disparo de las neuronas durante el proestro pudiera estar relacionado con algún mecanismo sexual o con el inicio de la conducta sexual (Dyer, et. al., 1972).

Por otro lado, el registro electroencefalográfico (EEG) del

hipotálamo de rata hembra ha mostrado que las regiones hipotalámicas medias, localizadas cerca de la eminencia media y del infundíbulo, muestran incrementos inmediatos en la frecuencia del EEG como respuesta a la inyección de estrógenos. La combinación de la estimulación vaginal con la administración de estrógenos provoca también una respuesta inmediata en las áreas medias del hipotálamo. Los resultados parecen confirmar el papel predominante de las estructuras hipotalámicas medias en recibir y controlar las interacciones hipófisis - gónada en la conducta sexual (Law & Sackett, 1965/6).

Kawakami, et. al., en 1970 registraron cambios en la actividad unitaria del hipotálamo de rata a lo largo del ciclo estral, observando una actividad basal deprimida en el área preóptica y el núcleo arcuato durante el estro y el diestro, en respuesta a la inyección de 1 mg de progesterona. Moss & Law en 1971 concluyen que los cambios registrados en la actividad del área preóptica, el hipotálamo ventromedial y la corteza cingulada durante el ciclo estral de la rata están asociados con las variaciones cíclicas del ciclo estral.

Estos datos indican que las hormonas gonadales alteran la actividad eléctrica del sistema nervioso central. Así, tenemos un ritmo de 4 días en la actividad unitaria de la rata hembra ciclando, con un pico de actividad en el proestro y es razonable sugerir que este pico de actividad es estimulado por los eventos hormonales que emanan de las gónadas preovulatorias.

Incluso se ha sugerido que este pico en la actividad unitaria del hipotálamo anterior y el área preóptica es un prerrequisito para que la ovulación tenga lugar. (Terasawa & Sawyer, 1969).

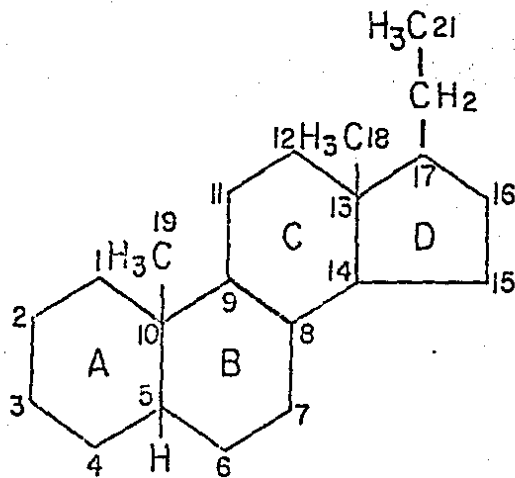
Hormonas Esteroides.

El ovario y las glándulas adrenales en la rata hembra secretan un tipo de compuestos de naturaleza lipídica, conocidos como esteroides, que tienen un peso molecular de alrededor de 300 y una estructura básica común. El núcleo esteroide está compuesto de un anillo ciclopentanoperhidrofenantreno como el del colesterol y cada una de las hormonas esteroides difiere de las otras en cuanto a la naturaleza de las cadenas laterales que las componen. (Fig. 2)

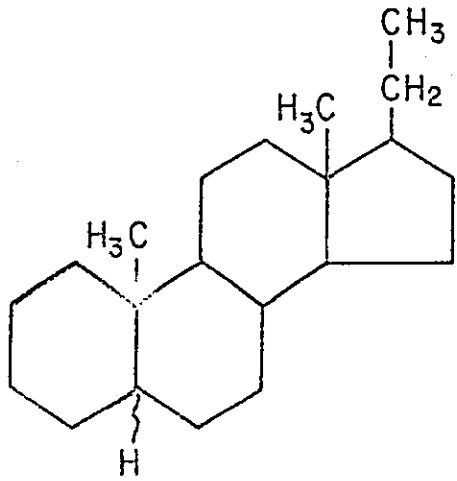
Desde esta descripción generalizada de una hormona esteroide se pueden diseñar tres estructuras hipotéticas que pueden ser consideradas como compuestos "parientes" de las progestinas (y corticoides), de los andrógenos y de los estrógenos. Estos compuestos "parientes" son el pregnano, el androstano y el estrano, los cuales tienen respectivamente 21, 19 y 18 carbonos. (Fig. 3)

Todos estos esteroides están compuestos de 3 anillos de 6 carbonos y de un anillo de 5 carbonos. Si el esteroide es del tipo 5β , esto significa que los sustituyentes en el carbono 5 (C-5) son de tipo cis en la unión de los anillos A y B. Si el esteroide es de tipo 5α , los sustituyentes son de tipo trans en la unión de los anillos A y B (C-5). Las diferencias en este tipo de unión dan por resultado cambios en la configuración espacial de la molécula.

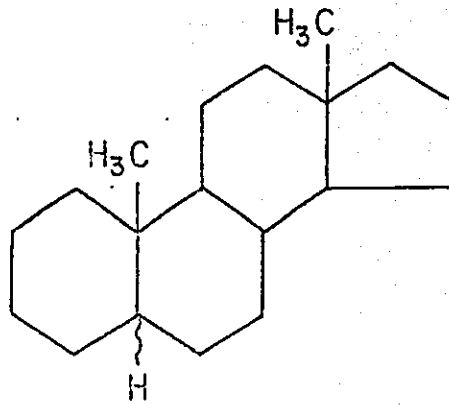
En los esteroides naturales existen, en ocasiones, sustituyentes del tipo hidroxilo (OH) en lugar del hidrógeno (H).



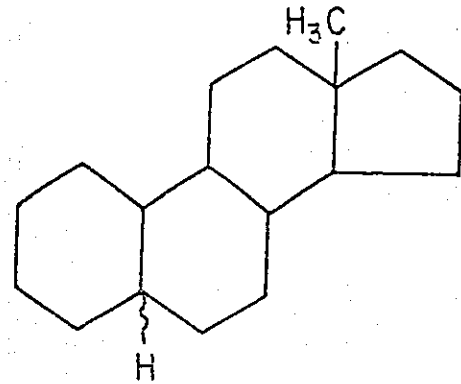
CICLO PENTANO PERHIDROFENANTRENO



PREGNANO



ANDROSTANO



ESTRANO

Las posiciones en las que este grupo se presenta más frecuentemente es en los carbonos 3, 11 y 17 (Lehninger, 1978).

Todas las glándulas endócrinas que secretan esteroides, sintetizan sus hormonas a partir de una molécula básica, el acetato, que contiene únicamente dos átomos de carbono. Los pasos biosintéticos del colesterol a la pregnenolona son comunes a todas las hormonas esteroides. (Fig. 4)

Las enzimas responsables de catalizar las etapas bioquímicas involucradas en la biosíntesis de las hormonas sexuales están presentes en los tejidos que las producen (ovarios y corteza adrenal en las hembras). El patrón de secreción de los esteroides por parte de las glándulas endócrinas respectivas es determinado por la proporción relativa de los tipos celulares, la organización anatómica de la glándula, la irrigación sanguínea y la concentración de cofactores y precursores presentes en ella (Feder, 1981a).

Biosíntesis y Metabolismo de Progestinas.

Una vez formada la pregnenolona, ésta es convertida a progesterona por un proceso relativamente simple e irreversible. Las enzimas involucradas en este proceso son la 5-ene-3 β -hidroxisteroide deshidrogenasa y una C-5 a C-4 en-isomerasa. La progesterona así formada sirve como precursor de una serie de esteroides del tipo C₂₁ que incluyen a : corticoides adrenales, corticosterona y aldosterona; derivados 5 α , 5 β , 20 α y 20 β

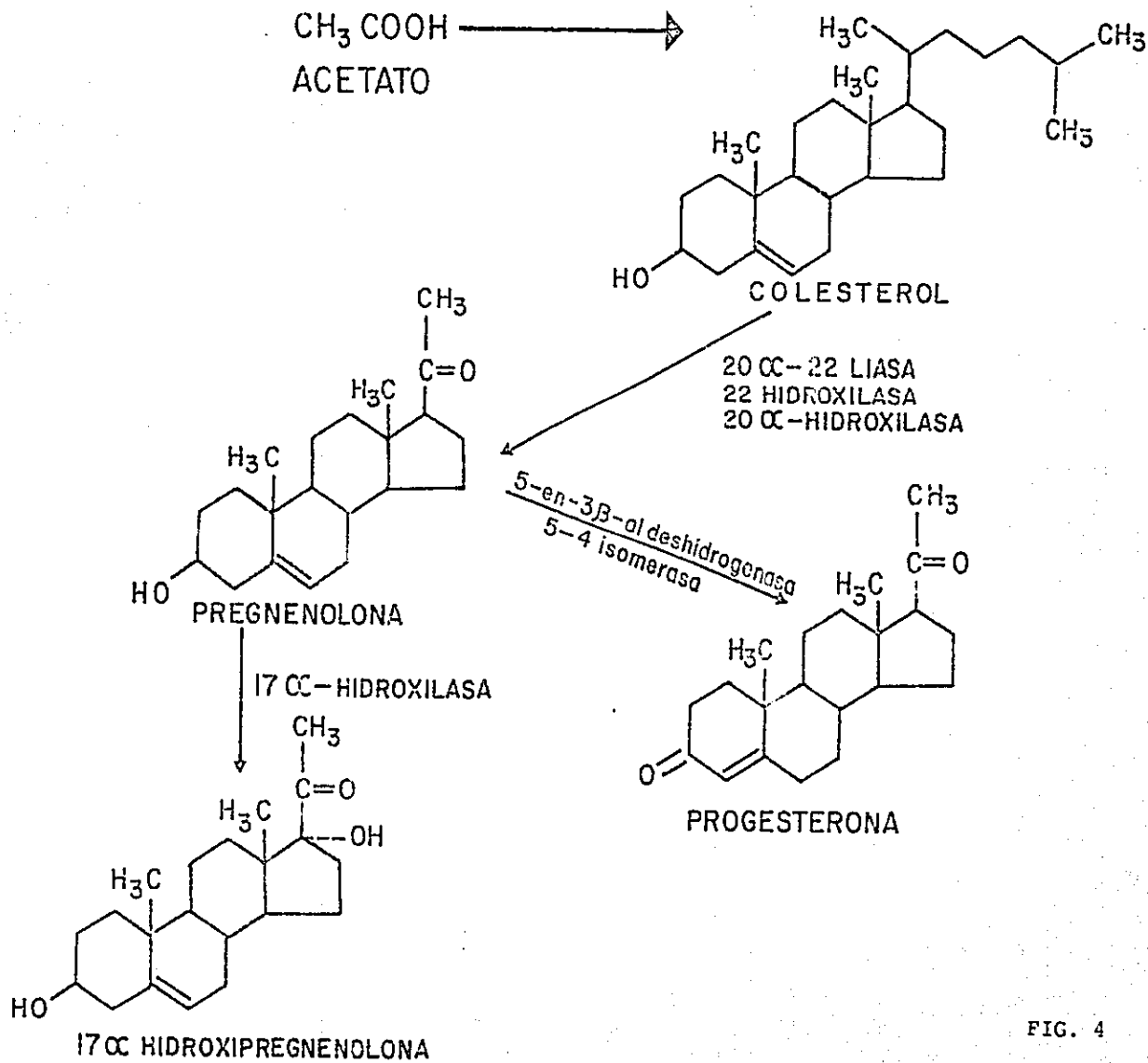


FIG. 4

reducidos de la progesterona y la 17α hidroxiprogesterona. En adelante, sólo nos referiremos a los derivados 5α y 5β reducidos de la progesterona, puesto que son éstos los compuestos que son de interés para el trabajo.

La progesterona, por medio de las enzimas 5α o 5β reductasas, se transforma en 5α o 5β dihidroprogesterona, las cuales, a su vez, pueden ser transformadas por medio de la 3α o la 3β ol deshidrogenasa en los siguientes compuestos:

5β pregnan	3β ol	20 ona	-----	pregnanolona
5α pregnan	3β ol	20 ona	-----	allopregnanolona
5β pregnan	3α ol	20 ona	-----	epipregnanolona
5α pregnan	3α ol	20 ona	-----	alloepipregnanolona

Fig. 5

Se ha encontrado que metabolitos de la progesterona, reducidos en el anillo A, están siendo liberados constantemente a la sangre venosa ovárica en forma no conjugada (Holzbauer, 1971a). El ovario de rata secreta alrededor de 1.5 - 3 mg/kg promedio de la suma de 5α pregnandiol y 5α pregnan 3α ol 20 ona (Holzbauer, 1971a).

Estas progestinas, reducidas en el anillo A, tienen un efecto depresor sobre el sistema nervioso central que produce un estado de anestesia general a dosis elevadas. Selye en 1941 reportó que la progesterona inyectada por vía intraperitoneal a una dosis de 35 mg/rata provoca anestesia profunda 15 minutos después de su administración. Sin embargo, esta dosis de progeste-

METABOLISMO DE LA PROGESTERONA

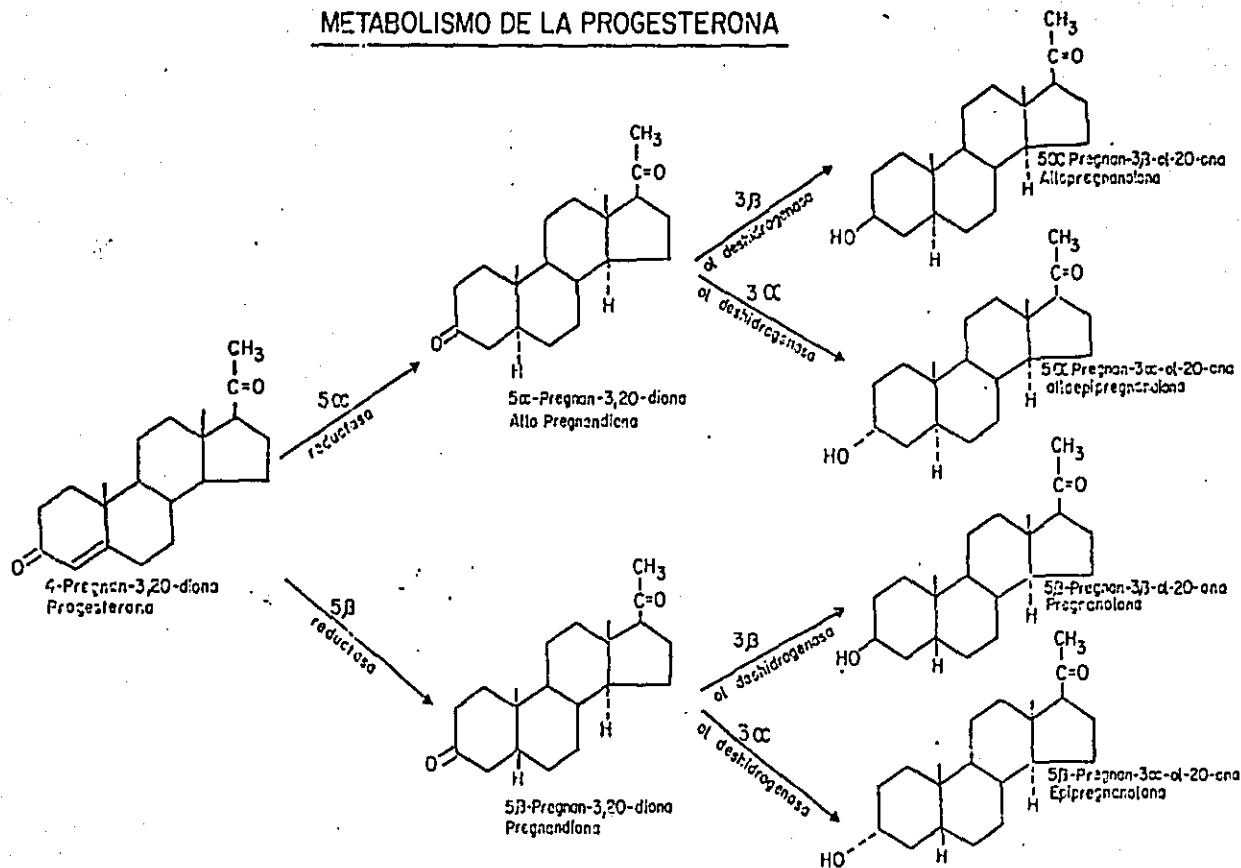


FIG. 3

rona fue letal ya que causó la muerte de todos los animales dentro de las 6 horas posteriores a su inyección, aparentemente debido a la anestesia de los centros respiratorios. La dosis anestésica media de progesterona, reportada por este autor, es de 15mg/rata.

La capacidad anestésica de estos compuestos ha sido investigada por numerosos autores (Atkinson, et. al., 1965; Figdor, et. al., 1957; Gyermek, et. al., 1968). Así, se ha clasificado a la 5 β pregnan 3 α ol 20 ona como un agente hipnótico notablemente potente (Gyermek, et. al., 1967), capaz de provocar la aparición de husos de sueño en el EEG y de suprimir las reacciones corticales del despertar, así como de causar depresión del sistema reticular activador mesencefálico (Gyermek, 1967).

La 5 β pregnan 3 β ol 20 ona también ha sido reportada como poseedora de capacidad anestésica, aunque menor que la de la 5 β pregnan 3 α ol 20 ona (P'an & Laubach, 1964), al igual que la 5 α pregnan 3 α ol 20 ona (Atkinson, et. al., 1965). La 5 α pregnan 3 β ol 20 ona, en cambio, parece no poseer esta capacidad (Lawrence & Gill, 1975).

Un estudio acerca de la posible relación entre la estructura química, la potencia anestésica y la actividad hormonal de los esteroides reveló que una serie de compuestos hormonalmente activos son capaces de inducir anestesia, pero que esta propiedad no está restringida a esteroides con actividad endócrina (Kappas & Palmer, 1963).

Selye en 1942 establece la existencia de correlaciones entre la estructura química y la capacidad anestésica de los esteroides en ratas, concluyendo que:

- Algunas acciones farmacológicas, como la anestésica, son comunes a la mayoría de los esteroides sin cadena lateral o con una que no sea mayor de 2 carbonos,
- el efecto anestésico máximo es presentado por esteroides oxigenados sólo en los dos extremos de la molécula (C₃ y C₁₇),
- una doble ligadura en el anillo A o B parece no interferir con el efecto anestésico, pero 2 o más dobles ligaduras en estos anillos o una sola en el anillo D, la disminuyen,
- la esterificación disminuye el efecto anestésico si retarda la absorción, y este efecto aumenta para ésteres solubles,
- la posición estérica del grupo hidroxilo en el carbono 3 no altera la capacidad anestésica,
- no es indispensable un anillo D de 5 miembros para el efecto anestésico,
- la presencia de un hidrógeno en el carbono 5 en posición cis al metilo del carbono 10 puede estar asociada a una potencia anestésica muy elevada.

Por otro lado, Kappas & Palmer en 1963 reportaron que los esteroides con la configuración 5 β H son especialmente anestésicos.

Es importante, sin embargo, hacer notar que el estado previo del sistema nervioso central interviene también en la potencia anestésica de estos compuestos, así como que el efecto anestésico

resulta de una respuesta integral del sistema nervioso central.

Biosíntesis de Estrógenos.-

La testosterona y la androstendiona (andrógenos) son los precursores principales del 17β estradiol y de la estrona respectivamente. La vía biosintética principal de los andrógenos es a través de la 17α hidroxiprogesterona o de la 17α hidroxipregnenolona. A partir de estos dos compuestos se forman la androstendiona y la testosterona. La androstendiona por medio de una 10 - 19 liasa se transforma en estrona y esta última a través de una 17β - oxidohidrogenasa en 17β estradiol. Por otro lado, la testosterona por medio de la enzima 10 - 19 liasa se convierte también en 17β estradiol y éste a su vez se puede transformar en estrona.

El estriol es formado a partir de la estrona por un proceso irreversible que involucra una 16α hidroxilasa, o a partir de la dehidroepiandrosterona que es un andrógeno. (Fig. 6)

Glándulas Secretoras de Esteroides.-

Las hormonas esteroideas, al igual que el resto de las hormonas, son secretadas por glándulas especializadas y transportadas a través del torrente sanguíneo a sus órganos blanco donde ejercerán efectos específicos. Así, las hormonas son transmisores de información química a distancia. La definición más adecuada de las hormonas está dada por su acción más que por su origen: es una sustancia que induce crecimiento, diferenciación y/o alteración en la acti-

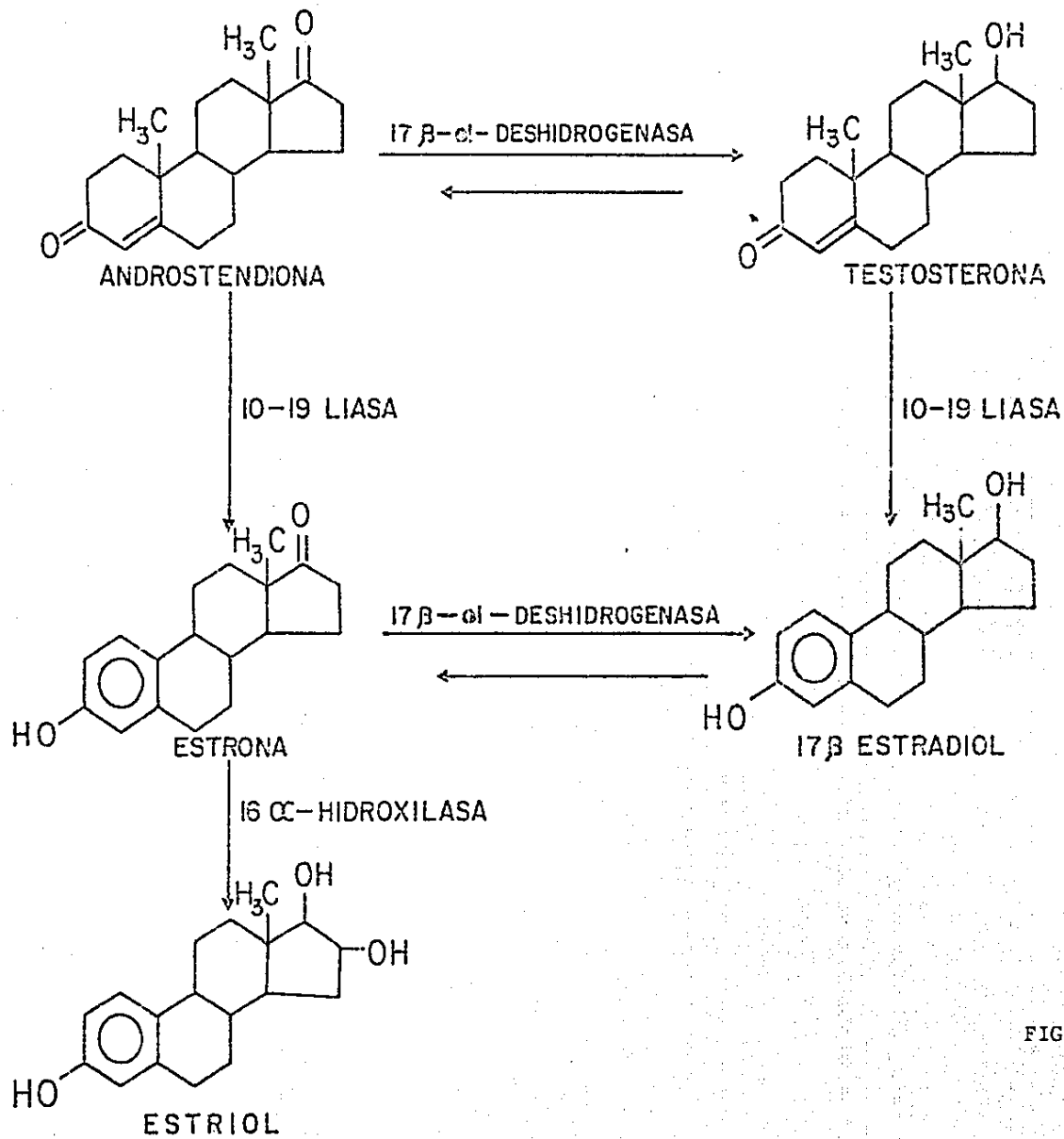


FIG. 6

vidad metabólica de las células blanco.

En este punto nos referiremos únicamente a las glándulas que secretan estrógenos y progesterona en la rata hembra, puesto que son éstas las dos hormonas esteroides involucradas directamente en el control de la conducta sexual femenina en rata.

Todos los tipos celulares del ovario tienen la capacidad de producir hormonas esteroides. Los estrógenos son secretados en grandes cantidades por las células de la teca del folículo en el ovario; las células de la glándula intersticial y el cuerpo lúteo también los producen (Fortune & Armstrong, 1978). La progesterona es secretada por las células de la granulosa del folículo ovárico y de manera muy especial por las células de la granulosa luteinizadas del cuerpo lúteo (Smith, et. al., 1975). En el ovario, las hormonas esteroides secretadas por un tipo celular particular están determinadas por la etapa del ciclo estral.

Otra fuente importante de progesterona en la rata hembra es la corteza de la glándula adrenal, la cual es responsable de la producción de una gran cantidad de esteroides (alrededor de 40). Sin embargo, muchos de ellos son únicamente precursores o metabolitos intermediarios, otros son sólo detectables en cantidades mínimas. De especial interés para nuestros fines son sólo aquéllos que se encuentran en la sangre de la vena adrenal, puesto que son éstos los compuestos de los que se puede presumir que son secretados por la corteza adrenal. Entre ellos encontramos varios corticoides, algunos andrógenos y varias progestinas. De estas últimas

se han detectado la 17-hidroxiprogesterona, la 17-hidroxipregnenolona, la 11-oxoprogesterona, la 11-hidroxiprogesterona, la progesterona misma, la 20α hidroxiprogesterona y la pregnenolona.

En cuanto a los estrógenos, el único secretado en cantidades detectables por la corteza adrenal es la estrona (Samuels & Uchikawa, 1967).

Papel de las Hormonas Esteroides en la Regulación de la Conducta Sexual Femenina en la Rata.

La ovariectomía prepuberal evita la aparición de la conducta sexual en mamíferos subprimates, mientras que la ovariectomía postpuberal abole gradualmente la motivación sexual, así como la mayoría de los componentes de la conducta de estro en los mamíferos (Young, 1961). Los patrones proceptivos también desaparecen rápidamente después de la ovariectomía (Beach, 1976). Estas observaciones llevaron a la conclusión de que la conducta sexual femenina estaba regulada por las secreciones ováricas, i.e. los estrógenos y las progestinas.

Se ha demostrado que el tratamiento prolongado con estrógenos en ratas ovariectomizadas es condición suficiente para inducir receptividad (Edwards, et. al., 1968). Un análisis del efecto de los diferentes estrógenos sobre la conducta sexual femenina de ratas ovariectomizadas reveló que el estradiol es el más potente para inducir conducta de lordosis, seguido en orden decreciente por la estrona y el estriol (Beyer, et. al., 1971). También se encontró que los estrógenos esterificados son más potentes que los estrógenos libres para inducir conducta de estro en ratas ovariectomizadas. El umbral para la inducción de conducta sexual femenina en estas ratas es 10 veces mayor para el estradiol que para el benzoato de estradiol (Powers, 1975).

Por otro lado, tanto la atractividad como los diferentes componentes de la conducta de estro tienen diferentes umbrales a la

estimulación estrogénica. Así, las ratas ovariectomizadas muestran conducta proceptiva sólo cuando el benzoato de estradiol es administrado en dosis mucho mayores que las requeridas para la presentación de la lordosis (Zemlan & Adler, 1977). Tanto la intensidad como la frecuencia de presentación de algunos patrones proceptivos (ear wiggling y hopping) están correlacionadas con la dosis de estrógenos administrada (Hardy & De Bold, 1971). Algunas otras características de la lordosis, como son el grado de arqueamiento de la columna vertebral, la latencia de respuesta y la duración de la postura, tienen una relación directamente proporcional a la dosis de estrógenos administrada (Boling & Blandau, 1939; Zemlan & Adler, 1977).

No obstante, una vez alcanzada la dosis umbral, la latencia para la lordosis (intervalo entre la administración de la hormona y la aparición de la lordosis) permanece más o menos constante (i. e. 16-24 hrs. post benzoato de estradiol), en ratas ovariectomizadas.

A pesar de que los estrógenos son capaces de inducir conducta sexual femenina en ratas por sí solos, se reconoce ampliamente el hecho de que, bajo circunstancias fisiológicas normales, los estrógenos primero condicionan al sustrato neural para la expresión de la lordosis y que posteriormente es la progesterona la que desencadena el inicio de la receptividad (Boling & Blandau, 1939; Beach, 1942). La ovariectomía realizada poco antes del pico preovulatorio de progesterona interfiere con la subsecuente presentación de

la lordosis. El estro conductual es, entonces, inducido por la acción combinada de estrógenos y progesterona. La progesterona por sí sola no es capaz de inducir conducta sexual femenina, sino que requiere de un pretratamiento con estrógenos por un período mínimo para ejercer su acción. De esta manera se considera que los estrógenos son inductores de la conducta sexual y que la progesterona la facilita.

La duración del período mínimo de pretratamiento con estrógenos es independiente de la cantidad de estrógenos administrada (Quadagno, et. al., 1972). En el caso de las ratas es de 16 a 24 hrs. (Green, et. al., 1970).

En cuanto a la progesterona, existen grandes diferencias en la dosis requerida para facilitar lordosis en roedores ovariectomizados. Después del pretratamiento con dosis subumbrales de estrógenos, la dosis mínima de progesterona/100 gr de peso corporal necesaria para producir conducta de estro en ratas es de 100 μ g (Powers, 1975), de 50 μ g en hamster y de 10 μ g en cuyo. La latencia para la aparición de la lordosis después de la administración de progesterona varía de acuerdo a la vía de administración. Si se inyecta por vía subcutánea, se observa una respuesta significativa a las 2 horas, mostrándose el pico de actividad a las 4 horas (Nadler, 1970). Por vía intravenosa, en cambio, la latencia para la presentación de la lordosis es de sólo 10-60 min. (Kubli-Garfias & Whalen, 1977; Lisk, 1960; Meyerson, 1972). Administrada por vía intracerebral la latencia es de 15 min. (Ross, et. al., 1971).

La administración intracerebral de estrógenos no altera la latencia requerida para la presentación de la lordosis.

Por otro lado, una serie de derivados del pregnano (C_{21}), incluyendo a algunos corticoides, ejercen efectos facilitatorios sobre la conducta sexual femenina en roedores pretratados con estrógenos. Entre éstos encontramos progestinas 5α y 5β reducidas (Feder & Marrone, 1977; Kubli-Garfias & Whalen, 1977; Langford & Hilliard, 1967; Meyerson, 1972; Whalen & Corzalka, 1972).

La progesterona promueve la atractividad en ratas pretratadas con estrógenos (Carr, et. al., 1965), así como la aparición de componentes proceptivos como el car wiggling y el darting en ratas (Whalen, 1974). Se ha demostrado la existencia de una correlación importante entre la presentación del car wiggling y la dosis de progesterona administrada.

Centros Neurales Involucrados en el Control de la Conducta Sexual Femenina en la Rata.

La estimulación periférica desencadenada en la rata hembra como resultado de la monta es conducida a través de la médula espinal hacia estructuras neurales superiores (Kow, et. al., 1977). Sin embargo, la transección espinal no abole todos los componentes motores involucrados en la conducta sexual femenina en animales experimentados y en condiciones hormonales adecuadas para la presentación de la conducta de lordosis (Hart, 1969). Este hecho sugiere que el sitio de acción primario de las hormonas sexuales para la expresión de la conducta sexual femenina es central, más que periférico. Evidencias adicionales acerca de la acción central de las hormonas esteroides provienen de reportes acerca de que lesiones hipotálamicas circunscritas inhiben o facilitan la presentación de la conducta de lordosis. Más aún, la implantación de hormonas esteroides en diferentes zonas del cerebro de ratas hembras promueve la expresión de la lordosis.

Como se muestra en la Figura 7, lesiones electrolíticas en hipotálamo rostral (Singer, 1968), en núcleo ventromedial (Mathews & Edwards, 1977), y en hipotálamo anterior (Greer, 1953), abolen la conducta de estro en ratas. Por otro lado, Beach en 1967 reportó que lesiones en la región premamilar del hipotálamo posterior y en el área preóptica aumentan la frecuencia de lordosis. Este mismo efecto ha sido reportado para lesiones del área preóptica dorsal y ventral (Nance, 1977). Asimismo la depresión propagante (decortica-

LESIONES ELECTROLITICAS EN SNC Y SU EFECTO SOBRE LA CONDUCTA
SEXUAL FEMENINA EN LA RATA

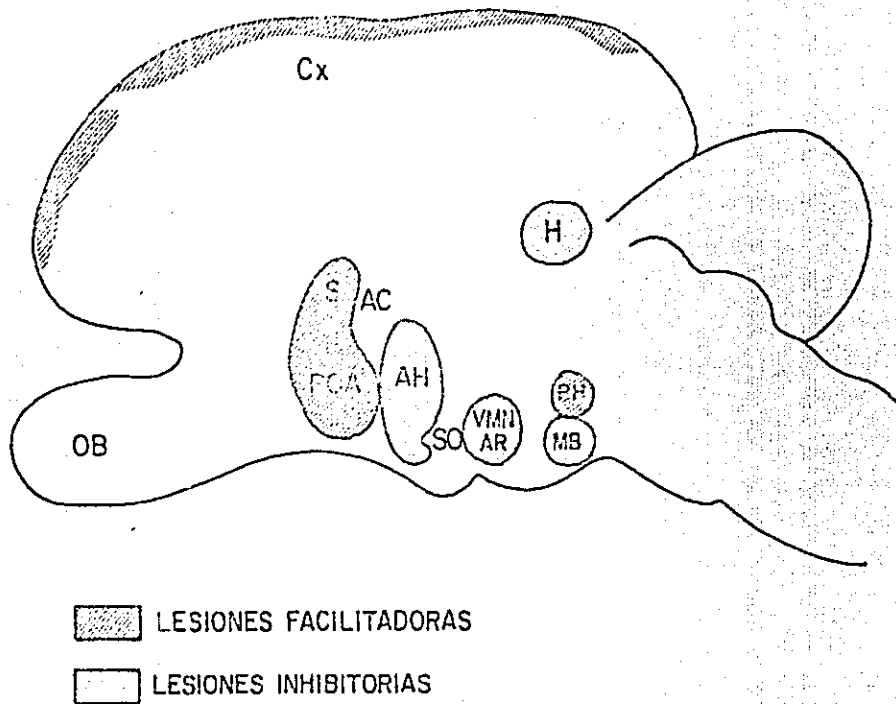


FIG. 7

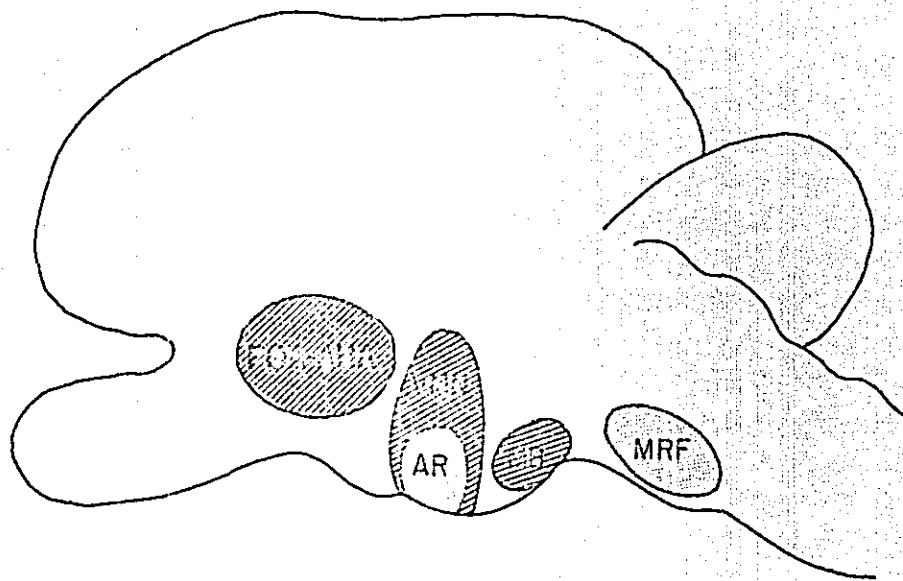
ción funcional) por aplicación de cloruro de potasio a la corteza cerebral de ratas pretratadas con estrógenos aumenta la frecuencia de lordosis (Clemens, et. al., 1967).

El tratamiento con estrógenos y progesterona restablece la conducta sexual normal en animales lesionados en hipotálamo ventromedial, pero no tiene efecto sobre aquéllos con lesiones en hipotálamo anterior (Mathews & Edwards, 1977).

Otra técnica utilizada para localizar las áreas cerebrales relacionadas con la expresión de la conducta de lordosis es la implantación de cantidades mínimas de esteroides sexuales en áreas cerebrales específicas (Lisk, 1962).

En la Fig. 8 se muestra que la implantación de benzoato de estradiol en área preóptica media (Lisk, 1962; Lisk & Barfield, 1975; Yanase & Gorski, 1976a) e hipotálamo anterior, o en hipotálamo ventromedial (Barfield & Chen, 1977; Rubin & Barfield, 1983) induce conducta sexual femenina. De la misma manera, la implantación de progesterona en diversas áreas cerebrales facilita la conducta de estro en ratas ovariectomizadas y pretratadas con benzoato de estradiol. Sin embargo, los resultados son en ocasiones contradictorios. Así, la progesterona implantada en hipotálamo basal medial (incluyendo núcleos ventromedial y arcuato) y en el área interpeduncular-tegmental ventral, mas no en formación reticular mesencefálica, facilita la conducta de lordosis en ratas ovariectomizadas y pretratadas con estrógenos (Luttge & Hughes, 1976; Powers, 1972). Sin embargo, Ross & Clemens en 1969 aseguran que la progesterona facilita

IMPLANTES DE ESTEROIDES QUE FACILITAN LA CONDUCTA SEXUAL FEMENINA
EN LA RATA



IMPLANTES FACILITATORIOS

 ESTROGENOS

 PROGESTERONA

FIG. 8

la conducta sexual femenina en ratas ovariectomizadas y pretratadas con estrógenos cuando es implantada en formación reticular mesencefálica o en los núcleos caudado-putamen, no así en hipotálamo (Gorski & Yanase, 1976; Ross, et. al., 1969; Yanase & Gorski, 1976b).

Por otro lado parece existir concenso en cuanto a que la progesterona no facilita la lordosis si es implantada en área preóptica. (Luttge & Hughes, 1976; Ross & Clemens, 1969; Ross, et. al., 1971).

Otros estudios de lesiones han revelado la existencia de un sistema inhibitorio tónico sobre la expresión de la conducta sexual femenina en ratas. Por ejemplo, lesiones en el APO media de ratas ovariectomizadas reducen la cantidad de estrógenos requeridos para inducir receptividad (Powers & Valenstein, 1972) o aumentan el cociente de lordosis (Nance, 1977) por sí mismas. Komisaruk, et. al. en 1972 demostraron que lesiones septales promovían la lordosis aún en ausencia de hormonas ováricas. La deaferentación dorso-anterior del APO (Nance, 1977) y lesiones en la región premamilar también aumentan el I.Q. (Law & Meagher, 1958). Por último, como ya se mencionó anteriormente, la decorticación funcional por cloruro de potasio aumenta la conducta de lordosis (Clemens, et. al., 1967).

La localización de estas lesiones sugiere la existencia de una vía inhibitoria que se origina en el telencéfalo y pasa a través del APO (continuum bulbo olfatorio-APO). Esta idea es apoyada por varios autores (Beach, 1967; Clemens, et. al., 1967; Law & Meagher,

1958; Napoli, et. al., 1972; Powers & Valenstein, 1972). Moss, et. al. en 1974 reportaron que la estimulación del APO media reduce la intensidad de la receptividad sexual en ratas hembras ovariectomizadas y pretratadas con BE₂ + P. La neocorteza parece ejercer también un efecto inhibitorio tónico sobre la receptividad sexual ya que la inducción de depresión cortical propagante facilita la conducta de lordosis en ratas hembras ovariectomizadas y pretratadas con estrógenos (Clemens, et. al., 1967; Colombo, et. al., 1973/4; Ross & Gorski, 1973).

Mecanismo de Acción de Esteroides.

El mecanismo de acción de los esteroides fue descrito para estrógenos en el útero. Durante los 60's Jensen y sus colegas administraron 17β -estradiol radiactivo a ratas hembras y examinaron diferentes tejidos en busca de la radiactividad determinando de esta manera que el útero y la vagina eran los principales concentradores de esta radiactividad. Asimismo, por medio de estos experimentos, Jensen, et. al., establecieron que era el estradiol, y no la estrona, la forma activa de estrógenos en el útero (Jensen & Jacobson, 1962).

Posteriormente se propuso un mecanismo de captura de estradiol consistente en dos fases (Gorski & Gannon, 1976; Gorski, et. al., 1968; Jensen, et. al., 1968; King & Mainwaring, 1974). Según este mecanismo en la primera etapa el estradiol penetra las células uterinas por difusión pasiva y se une a una proteína receptora en citoplasma. Se encontró que el complejo E_2 -receptor tenía un coeficiente de sedimentación de 8 - 9.5 S. La segunda etapa involucra la traslocación del complejo E_2 -receptor del citoplasma al núcleo, donde su coeficiente de sedimentación es de 4 - 5 S. Esta segunda etapa no ocurre en ausencia de la primera, i.e. el estradiol no se une en el núcleo a menos que haya formado previamente un complejo con el receptor citoplásmico. Una vez que el estradiol fue traslocado al núcleo por las moléculas receptoras, provoca cambios en la función genómica de la célula blanco; su acción involucra la activación de la síntesis de RNA mensajero y la sub-

secuente síntesis de proteínas. Esta última fase incluye la formación de una nueva proteína receptora a estrógenos (Gorski & Gannon, 1976) además de un incremento en la actividad celular.

Este mecanismo ha sido comprobado para la progesterona y el estradiol en oviducto de pollo (O'Malley & Mc Guire, 1968). El estradiol aumenta la producción de RNAm para la síntesis de ovalbúmina y la progesterona aumenta la producción de RNAm para la síntesis de avidina (O'Malley & Means, 1974; O'Malley, 1967).

Debido a que este mecanismo ha sido comprobado también para andrógenos y corticosteroides en otros tejidos, se le ha considerado como el mecanismo de acción de las hormonas esteroides en órganos blanco periféricos (útero, glándula mamaria, tracto reproductor masculino, etc.)

Sin embargo, estudios subsecuentes utilizando técnicas estereotáxicas establecieron que el principal sitio de acción de los esteroides para estimular la conducta sexual es el sistema nervioso central (Bermont & Davidson, 1974; Clemens, 1974). Surge entonces la pregunta acerca de si el mecanismo de acción descrito para los esteroides en órganos periféricos es aplicable al SNC. Asumiendo que los eventos en el SNC son cruciales para la manifestación de la conducta sexual, existen tres posibles loci para la acción de las hormonas gonadales:

- a) pueden actuar periféricamente, sobre tejidos genitales o de otro tipo para modificar la información aferente al SNC;
- b) pueden actuar sobre regiones difusas dentro del SNC; y

c) pueden ejercer su acción de manera más específica alterando regiones neurales discretas.

La relación hormona gonadal-SNC es complicada, más aún, por el hecho de que estas tres posibilidades no son mutuamente excluyentes.

Sin embargo, los experimentos electrofisiológicos de Sawyer y su grupo (Beyer & Sawyer, 1969; Kawakami & Sawyer, 1959) demostraron que una de las acciones de los esteroides sexuales es modificar la excitabilidad de estructuras cerebrales específicas alterando la conectividad neuronal. Estos datos hicieron que la investigación se dirigiera hacia la sinapsis como blanco de la acción de las hormonas gonadales en SNC.

La idea de que los esteroides sexuales modifican los mecanismos sinápticos para facilitar o inhibir la conducta sexual ha recibido apoyo de experimentos farmacológicos y bioquímicos. Así, se ha demostrado que estos compuestos alteran el índice de síntesis y el metabolismo de varios neurotransmisores (Brownstein, 1976; Fuxe, et. al., 1976) y que la administración de drogas que actúan a nivel sináptico alteran la conducta sexual.

Estos estudios han provisto de ideas generales acerca de los sitios de acción anatómicos de los esteroides sexuales, así como de los procesos neuronales alterados por éstos, pero existe muy poca información acerca de los mecanismos moleculares que yacen a la expresión de la conducta sexual femenina.

El ataque experimental bioquímico de las interacciones este-

roide-cerebro se ha enfocado a 3 aspectos: a) reconocimiento de los sitios receptores putativos y mapeo de su distribución; b) determinación del grado e importancia funcional de la transformación de esteroides en tejido neural, c) delimitación de los efectos celulares de las hormonas esteroides y sus metabolitos.

Una serie de investigadores han aportado datos acerca de la captación de estradiol tritiado en sistema nervioso central, que sugieren la existencia de receptores a este estrógeno en hipotálamo anterior y ventromedial, área preóptica, núcleo arcuato, núcleo premamilar y septum (Anderson & Greenwald, 1969; Kato & Vilee, 1967; Pfaff, 1968; Pfaff & Keiner, 1973).

Los criterios que deben ser cumplidos por una molécula para ser considerada un receptor son los siguientes:

- a) que la molécula se una específicamente a una hormona;
- b) que la unión sea de gran afinidad;
- c) que la unión ocurra rápidamente;
- d) que el sistema receptor putativo sea saturable;
- e) que la unión esté ligada a una respuesta biológica específica; y
- f) que los antagonistas que inhiban la unión de la hormona a la molécula también inhiban la respuesta biológica (Feder, et. al., 1979).

Estudios en homogenados de hipotálamo de rata han demostrado que este tejido capta y retiene estradiol radiactivo de manera saturable (Eisenfeld, 1970; Kato & Vilee, 1967). Lo mismo fue demostra-

do para el área preóptica (Mc Ewen & Pfaff, 1973). Por otro lado, la implantación intracerebral de antiestrógenos sintéticos (CN-69, 725-27 y CI-628) en área preóptica, hipotálamo anterior y cerebro medio inhibió la conducta de lordosis inducida por estradiol en ratas (Luttge, 1976; Yanase & Gorski, 1976a). Otros antiestrógenos sintéticos (MER-25, nafoxidina y CI-628) redujeron la captación de E₂ marcado en la fracción nuclear en APO e hipotálamo basal medial (Luine & Mc Ewen, 1977), además de inhibir la conducta sexual femenina inducida por estrógenos (Roy & Wade, 1977).

Blaustein et. al. en 1979 reportaron que la captación de estradiol tritiado en los núcleos de células cerebrales llega a su máximo valor a las 2 horas después de la inyección intravenosa y afirman que el estradiol estaba unido de manera específica a los receptores. Los datos anteriormente expuestos apoyan la existencia de receptores a estradiol en SNC.

En cuanto al mecanismo de acción de estos estrógenos en SNC existen evidencias que sugieren que su naturaleza es semejante a la del mecanismo de acción periférico. Así, se ha demostrado la traslocación del estradiol marcado a fracciones nucleares de neuronas del hipotálamo basal medial y el APO en ratas (Gentry, et. al., 1976; Mc Ewen & Pfaff, 1973; Stumpf, 1968; Whalen & Massicci, 1975; Zigmond & Mc Ewen, 1970). El complejo estrógeno - receptor ha sido localizado en hipotálamo (Anderson, et. al., 1973).

Por otro lado, la implantación intracerebral en actinomicina-D (inhibidor de síntesis protéica) en área preóptica dentro de las

12 primeras horas posteriores a la inyección de estrógenos suprime la conducta de lordosis (Whalen, et. al., 1974).

Por último, la respuesta de lordosis inducida por estrógenos requiere de 16 a 24 horas después de su inyección intravenosa para expresarse. Este curso temporal de la respuesta va de acuerdo con el de la síntesis de proteínas (Green, et. al., 1970).

En cuanto a la progesterona, no existen claras evidencias de que actúe a nivel central para la expresión de la conducta sexual a través de modificar la expresión genómica.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El mecanismo molecular responsable de la acción neural de estrógenos y progesterona para la activación de la conducta sexual femenina en ratas no ha sido claramente dilucidado.

Como ya mencionamos en una sección anterior, se sabe que el estradiol se une a receptores nucleares en cerebro de rata (Zigmond & Mc Ewen, 1970). Además, se ha reportado que este estrógeno es capaz de inducir síntesis protéica en tejido nervioso, la cual parece no ser relevante sino hasta las 6 horas posteriores a la administración del esteroide (Green, et. al., 1970). Sin embargo, no se ha observado ni receptividad, ni síntesis de receptores a progestinas por estrógenos (efecto que implica la activación genómica) a las 6 horas (Moguilewsky & Raynaud, 1979). La conducta de lordosis inducida por estrógenos se presenta de 16 - 24 horas después de la inyección sistémica de estrógenos. En cuanto a la inducción de los receptores a progestinas, se ha reportado que su incremento máximo tiene lugar 24 - 48 horas después de la administración de estrógenos (Moguilewsky & Raynaud, 1979). Finalmente en el momento en que la conducta sexual femenina inducida por estrógenos se manifiesta, muy poco o nada de estradiol unido a los receptores se detecta, sugiriendo que una acción genómica de la hormona pudiera ser responsable del inicio de la conducta sexual femenina (Mc Ewen, et. al., 1975). De esta manera podríamos afirmar que las evidencias sugieren que el estradiol actúa a través del mecanismo de acción descrita para esteroides en tejidos periféricos, i.e. sín-

tesis de proteínas, para la inducción de la conducta de lordosis en la rata.

En cambio, la evidencia para una acción genómica de la progesterona en sistema nervioso central está más limitada. Más aún, existen datos que señalan que no es éste el mecanismo de acción.

Así, se ha demostrado que la progesterona o sus metabolitos pueden facilitar la conducta de estro en ratas pretratadas con estrógenos, con una latencia de muy pocos minutos (10 - 60) (Kubli-Garfias & Whalen, 1977; Lisk, 1960; Meyerson, 1972) cuando es administrada por vía intravenosa. Por vía intracerebral se obtiene una respuesta a los 15 min. (Ross, et. al., 1971). Esta latencia de respuesta tan corta es difícil de explicar en términos de síntesis protéica "de novo", puesto que como ya mencionamos, la síntesis de proteínas en respuesta a esteroides parece requerir de por lo menos 6 horas (Green, et. al., 1970).

Por otro lado, la administración de bloqueadores de síntesis protéica a nivel transcripcional o traduccional no es capaz de bloquear la facilitación de la lordosis en respuesta a la administración de progesterona (Beyer, et. al., 1978; Meyerson, 1973; Wallen, et. al., 1972).

Por último, hasta hace poco tiempo, no existían evidencias de la retención neural específica de progesterona. Sin embargo, Kato y Onouchi en 1977 detectaron receptores específicos a progesterona, de alta afinidad y baja capacidad, en hipotálamo e hipófisis anterior de rata. Posteriormente se demostró la existencia de recepto-

res nucleares a progesterona en hipotálamo, cerebro medio, área preóptica-septum e hipófisis anterior (Blaustein & Wade, 1978). La caracterización de estos receptores no fue hecha con progesterona, sino con una progestina sintética (R 5020) que se une con una elevada especificidad a receptores para progestinas en útero. Además se demostró que los estrógenos modulaban las concentraciones de receptores a progestinas en algunas áreas cerebrales como hipotálamo y área preóptica (MacLusky & Mc Ewen, 1978).

Los datos, tomados en conjunto, no proveen de evidencia suficiente para establecer que las progestinas activan la conducta sexual femenina a través de la inducción de síntesis proteica.

Por otro lado, se ha sugerido la posibilidad de que la progesterona actúe a nivel membranal para facilitar la lordosis (Feder & Marrone, 1977). Existen datos que indican que la progesterona o sus metabolitos pueden alterar la función membranal de las neuronas (Seeman, 1972), al provocar fluidización y desorden de la bicapa lipídica y estabilizar la membrana eléctricamente al deprimir los flujos facilitados de solutos. La administración de progesterona y particularmente de sus metabolitos reducidos en el anillo A, provoca una marcada inhibición de la actividad multiunitaria de la formación reticular mesencefálica, hipocampo e hipotálamo, así como la sincronización del EEG (Kubli-Garfias, et. al., 1976), posiblemente debido a su capacidad anestésica (Atkinson, etl. al., 1965; Gyermek, et. al., 1967; Gyermek, et. al., 1968; Figdor, et. al., 1957; P'an & Laubach, 1964). Estos esteroides con actividad depresora central

son producidos normalmente por el ovario de la rata y secretados a través de la vena ovárica (Holzbauer, 1969; Holzbauer, 1971a; Holzbauer, 1971b; Zmigrod & Lindner, 1969).

Por otra parte, una serie de autores han reportado la existencia de una vía inhibitoria tónica sobre la conducta sexual femenina en ratas (Beach, 1967; Law & Meagher, 1958; Nance, 1977; Napoli, et. al., 1972; Powers & Valenstein, 1972) en el continuum bulbo olfatorio-área preóptica.

Con el objeto de establecer si en el mecanismo de facilitación de la conducta de lordosis está involucrada la reducción del anillo A de la progesterona, se implantaron progestinas reducidas en la posición C-5, con diferente capacidad anestésica, en el área preóptica y el hipotálamo ventromedial (centros neurales involucrados en la expresión de la conducta de estro) de ratas ovariectomizadas y pretratadas con benzoato de estradiol. Nosotros suponemos que las progestinas reducidas en el anillo A son capaces de facilitar la conducta sexual femenina posiblemente debido a su efecto depresor sobre una vía inhibitoria de la receptividad en la rata.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron ratas hembras Sprague-Dawley con un peso aproximado de 200 - 250 gr. Los animales fueron alimentados con Purina Rat Chow y agua ad libitum. Se mantuvieron en un cuarto a 23°C con un ciclo invertido de luz/oscuridad (14 horas luz/10 horas oscuridad). Las ratas fueron ovariectomizadas bilateralmente bajo anestesia con éter. Se les permitió un periodo de recuperación de 30 días, después de la operación, para asegurar que los niveles circulantes de hormonas gonadales desaparecieran. Posteriormente, los animales fueron implantados unilateralmente con una cánula guía de calibre 23 g. La implantación se realizó bajo anestesia con éter utilizando un aparato estereotáxico Kopf. Las cánulas fueron dirigidas al área preóptica o al hipotálamo ventromedial seleccionando las coordenadas de implantación de acuerdo al atlas de De Groot de 1959 (Fig. 9). Las cánulas guía fueron cortadas de 1 cm de longitud, se introdujeron a 1/2 mm arriba de la zona cerebral seleccionada, con el objeto de no lesionar la zona, a través de un orificio perforado en el cráneo con la ayuda de un taladro dental. Las cánulas guía se fijaron al cráneo con cemento dental y posteriormente se suturó la piel. Por otro lado, se cortaron cánulas de inserción de calibre 28 g, también de 1 cm de longitud. Estas cánulas se cargaron con hormona cristalina introduciéndolas suavemente (tapping) en un platillo que contenía un montecillo de hormona. La superficie externa de estas cánulas de inserción se limpió para asegurarse que no contenían residuos hormonales. La carga de las cánulas de inserción

CORTE SAGITAL DEL HIPOTALAMO DE RATA

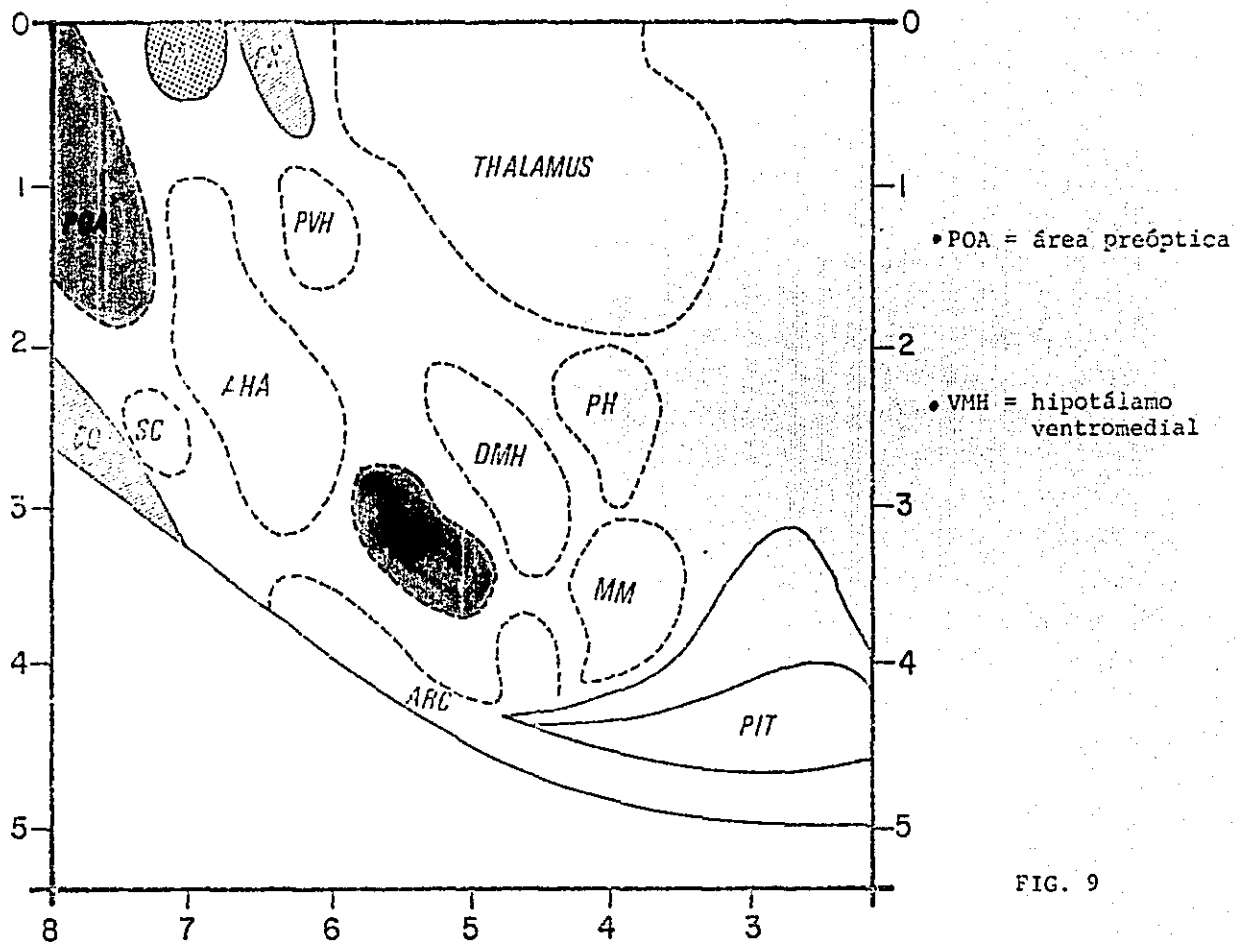


FIG. 9

se hizo poco antes de insertarlas.

Diez días después de la implantación de las cánulas guía, las hembras fueron inyectadas por vía subcutánea, con 4 μ g de benzoato de estradiol disuelto en 0.1 ml de aceite de girasol. El momento de esta inyección fue considerado como la hora 0. 44 horas después de esta inyección, las progestinas fueron liberadas, a la zona cerebral en cuestión, introduciendo la cánula de inserción cargada en la cánula guía y expulsando su contenido con la ayuda de un estilete.

Los compuestos utilizados fueron los siguientes:

5 β pregnan 3 β ol- 20 ona o pregnanolona

5 β pregnan 3 α ol- 20 ona o epipregnanolona

5 α pregnan 3 β ol- 20 ona o allopregnanolona

4- pregnen- 3,20 diona o progesterona.

Todas las progestinas fueron implantadas tanto en APO como en hipotálamo ventromedial. Los compuestos se obtuvieron de Sigma Chem. Co. El número de animales para cada caso fue de 10. (Tabla 1).

Las pruebas para conducta sexual se realizaron 30 min. antes de la implantación (como control) y 30 min., 1, 2, 4, 6, 24, 30 y 48 horas después de la implantación de las progestinas. Para ello se colocaron las hembras experimentales en una jaula cilíndrica de plexiglass con machos activos. A estos últimos se les permitió estar en las jaulas solos por un periodo de 15 min., para que se ambientaran. Cada rata recibió 10 montas por parte de los machos y su receptividad fue cuantificada por medio del cociente de lordosis

(L.Q.), que consiste en: número de lordosis observadas dividido entre las 10 montas del macho por 100 (# de lordosis/# de montas X 100). Al final de los experimentos las ratas fueron sacrificadas con una sobredosis de éter, perfundidas con formol al 10% a través del corazón y se les extrajeron los cerebros.

Estos fueron procesados con las técnicas histológicas habituales para corroborar el sitio de implantación de la cánula. El análisis estadístico de los resultados se hizo utilizando la U de Mann-Whitney y la F de Fisher (Siegel, 1956). Se seleccionó $p \leq 0.01$ como nivel de significancia.

RESULTADOS

T A B L A 1

EFECTO DE IMPLANTACION DE PROGESTINAS EN AREA PREOPTICA (APO) E HIPOTALAMO VENTROMEDIAL (HVM) EN
RATAS OVX PRETRATADAS CON BE (4 µg)

TRATAMIENTO Implantacion	N	-30' % Responsivos LQ ($\bar{X} \pm DE$)	30' % Responsivos LQ ($\bar{X} \pm DE$)	1 Hr % Responsivos LQ ($\bar{X} \pm DE$)	2 Hrs % Responsivos LQ ($\bar{X} \pm DE$)	4 Hrs % Responsivos LQ ($\bar{X} \pm DE$)
Progesterona APO	10	0% a 000+000 b	30% a 11.0+20.2 b	30% a 7.0+14.8 b	60% a 14.0+14.2 b	50% a 14.0+18.5 b
Progesterona HVM	10	0% a 000+000 b	30% a 4.0+ 6.6 b	10% a 1.0+ 3.0 b	20% a 2.0+ 4.0 b	40% a 8.0+11.6 b
5β Pregnan 3β ol 20 ona. APO	10	0% a 000+000 b	80% a 24.0+19.5*b	100% a 49.0+24.2*b	100% a 74.0+25.3*b	100% a 78.0+24.4*b
5β Pregnan 3β ol 20 ona. HVM	10	0% a 000+000 b	100% a 24.0+ 9.1*b	100% a 26.0+12.0*b	100% a 26.0+11.1*b	90% a 27.0+15.5*b
5β Pregnan 3α ol 20 ona. APO	10	0% a 000+000 b	10% a 2.0+ 6.0 b	50% a 6.0+ 6.6 b	0% a 000+000 b	0% a 000+000 b
5β Pregnan 3α ol 20 ona. VNH	10	0% a 000+000 b	0% a 000+000 b	0% a 000+000 b	10% a 1.0+ 3.0 b	10% a 1.0+ 3.0 b
5α Pregnan 3β ol 20 ona. APO	10	0% a 000+000 b	30% a 4.0+ 6.6 b	10% a 2.0+ 6.0 b	20% a 3.0+ 6.4 b	20% a 4.0+ 8.0 b
5α Pregnan 3β ol 20 ona. HVM	10	0% a 000+000 b	0% a 000+000 b	0% a 000+000 b	0% a 000+000 b	0% a 000+000 b

*p < 0.001

°p < 0.005

°°p < 0.01

a) Porcentaje de animales responsivos comparados con pretratamiento de BE (4 µg) (F de Fisher).
b) Cociente de receptividad (LQ) antes (-30') y después de la implantación de las progestinas
(U de Mann - Whitney).

N: # de animales

\bar{X} : media

DE: desviación estandar

T A B L A 1

(Continuación)

TRATAMIENTO Implantación	N	6 Hrs %Responsivos LQ ($\bar{X} \pm DE$)	24 Hrs %Responsivos LQ ($\bar{X} \pm DE$)	30 Hrs %Responsivos LQ ($\bar{X} \pm DE$)	48 Hrs %Responsivos LQ ($\bar{X} \pm DE$)
Progesterona APO	10	50% a 14.0 \pm 18.0 b	50% a 12.0 \pm 15.3 b	40% a 10.0 \pm 12.6 b	30% a 5.0 \pm 9.2 b
Progesterona HVM	10	30% a 5.0 \pm 8.0 b	30% a 4.0 \pm 6.6 b	20% a 2.0 \pm 4.0 b	10% a 1.0 \pm 3.0 b
5 β Pregnan 3 β ol 20 ona. APO	10	100% °a 69.0 \pm 25.8*b	80% °a 29.0 \pm 20.7*b	60% °°a 24.0 \pm 26.5 b	60% °°a 17.0 \pm 21.4 b
5 β Pregnan 3 β ol 20 ona. HVM	10	90% °a 28.0 \pm 21.3*b	80% °a 20.0 \pm 12.6*b	70% a 13.0 \pm 11.0°b	30% a 4.0 \pm 6.6 b
5 β Pregnan 3 α ol 20 ona. APO	10	20% a 2.0 \pm 4.0 b	10% a 1.0 \pm 3.0 b	0% a 000 \pm 000 b	0% a 000 \pm 000 b
5 β Pregnan 3 α ol 20 ona. HVM	10	10% a 2.0 \pm 6.0 b	20% a 2.0 \pm 4.0 b	0% a 000 \pm 000 b	0% a 000 \pm 000 b
5 α Pregnan 3 β ol 20 ona. APO	10	20% a 4.0 \pm 9.1 b	20% a 4.0 \pm 8.0 b	10% a 2.0 \pm 6.0 b	10% a 1.0 \pm 3.0 b
5 α Pregnan 3 β ol 20 ona. HVM	10	0% a 000 \pm 000 b	0% a 000 \pm 000 b	0% a 000 \pm 000 b	0% a 000 \pm 000 b

*p < 0.001 °p < 0.005 °°p < 0.01

- a) Porcentaje de animales responsivos comparados con pretratamiento de BE (4 μ g) (F de Fisher).
- b) Cociente de receptividad (LQ) antes (-30') y después de la implantación de las progestinas (U de Mann - Whitney).

N: # de animales.

 \bar{X} : media

DE: desviación estandar

La Tabla 1 muestra el efecto de la implantación de las diferentes progestinas en las 2 áreas cerebrales analizadas, el área preóptica (APO) y el hipotálamo ventromedial (HVM), de ratas ovariectomizadas y pretratadas con estrógenos. La tabla está dividida en columnas que indican las horas a las que se probaron los animales para conducta sexual. Los resultados expresan el porcentaje de animales responsivos en cada prueba (a) y la media y desviación estandar del cociente de lordosis en cada prueba (b).

Los datos de la prueba control (-30 min.) muestran que la dosis de benzoato de estradiol utilizada (4 μ g) no produjo conducta por sí misma.

Por otro lado, los resultados posteriores a la implantación de las progestinas (30' - 48 horas) muestran que la administración intracerebral de progesterona y algunos de sus metabolitos tiene un efecto diferencial en la facilitación de la conducta sexual femenina de ratas ovariectomizadas y pretratadas con estrógenos.

Así, la progesterona, implantada tanto en el APO como en el HVM no fue capaz de facilitar conducta de lordosis de manera significativa. En cambio la pregnanolona (5 β pregnan 3 β ol 20 ona) implantada en el área preóptica provocó niveles elevados de receptividad. Se observaron niveles significativos de conducta de lordosis en la mayoría de las ratas (8 de 10) desde los 30 min. posteriores a su implantación. Pero los valores máximos se presentaron a las 2 y 4 horas después de la misma. Desde los 60 min. todos los animales eran responsivos. A las 30 horas posteriores a la implantación el 60% de

La Tabla 1 muestra el efecto de la implantación de las diferentes progestinas en las 2 áreas cerebrales analizadas, el área preóptica (APO) y el hipotálamo ventromedial (HVM), de ratas ovariectomizadas y pretratadas con estrógenos. La tabla está dividida en columnas que indican las horas a las que se probaron los animales para conducta sexual. Los resultados expresan el porcentaje de animales responsivos en cada prueba (a) y la media y desviación estandar del cociente de lordosis en cada prueba (b).

Los datos de la prueba control (-30 min.) muestran que la dosis de benzoato de estradiol utilizada ($4 \mu\text{g}$) no produjo conducta por sí misma.

Por otro lado, los resultados posteriores a la implantación de las progestinas (30' - 48 horas) muestran que la administración intracerebral de progesterona y algunos de sus metabolitos tiene un efecto diferencial en la facilitación de la conducta sexual femenina de ratas ovariectomizadas y pretratadas con estrógenos.

Así, la progesterona, implantada tanto en el APO como en el HVM no fue capaz de facilitar conducta de lordosis de manera significativa. En cambio la pregnanolona (5β pregnan 3β ol 20 ona) implantada en el área preóptica provocó niveles elevados de receptividad. Se observaron niveles significativos de conducta de lordosis en la mayoría de las ratas (8 de 10) desde los 30 min. posteriores a su implantación. Pero los valores máximos se presentaron a las 2 y 4 horas después de la misma. Desde los 60 min. todos los animales eran responsivos. A las 30 horas posteriores a la implantación el 60% de

las hembras todavía presentaba conducta de lordosis aunque los valores del L.Q. a esta hora no son significativamente diferentes de los valores controles.

La implantación de esta misma progestina (pregnanolona) en HVM dió lugar a una respuesta mucho más débil, pero significativa. El curso temporal de ambas respuestas es similar.

Ninguno de los otros dos pregnanos, epipregnanolona y allopregnanolona, facilitó la conducta sexual femenina de manera significativa. La allopregnanolona incluso no provocó respuesta alguna.

La implantación de ninguna de estas progestinas indujo la aparición de conducta proceptivas (darting, hopping o ear wiggling).

El análisis histológico de los sitios de implantación demostró que todas las cánulas estaban colocadas en el APO media y el núcleo ventromedial o en 1 min. alteredor de estas zonas. (Figs. 10 y 11).

ZONA DE IMPLANTACION EN HIPOTALAMO VENTROMEDIAL

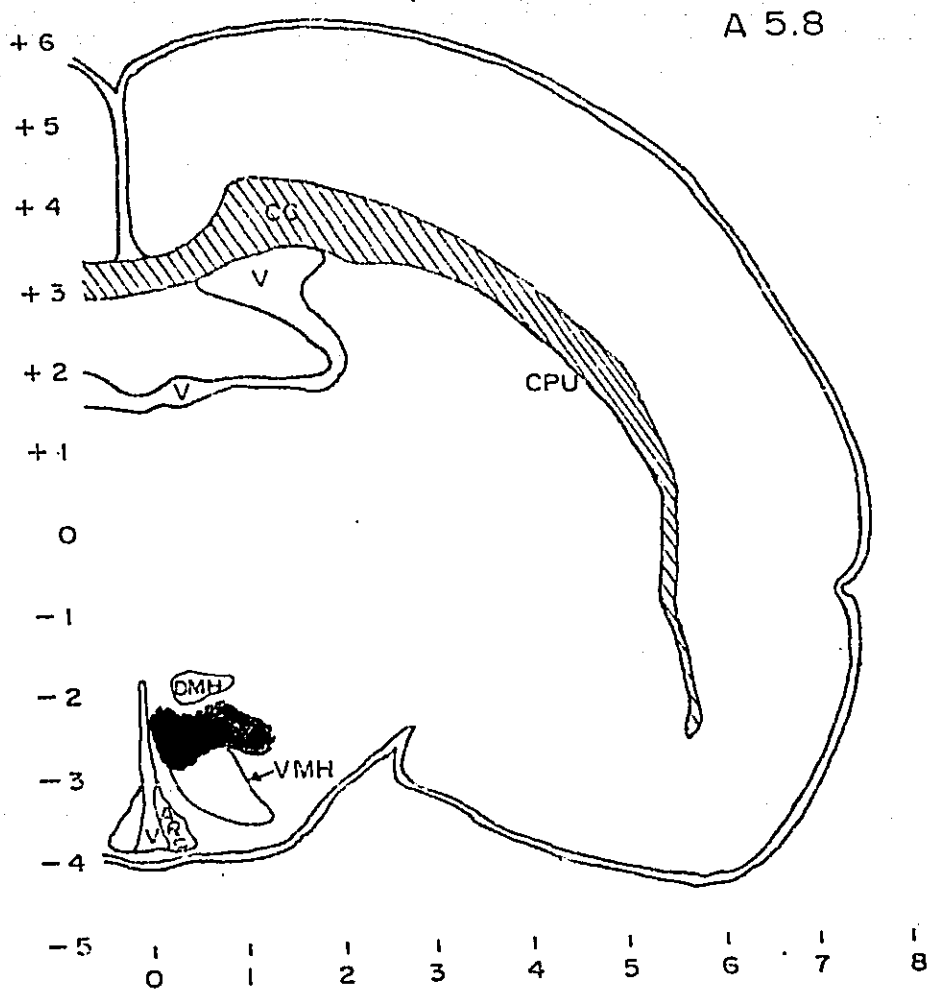


FIG. 10

ZONA DE IMPLANTACION EN AREA PREOPTICA

A 7.4

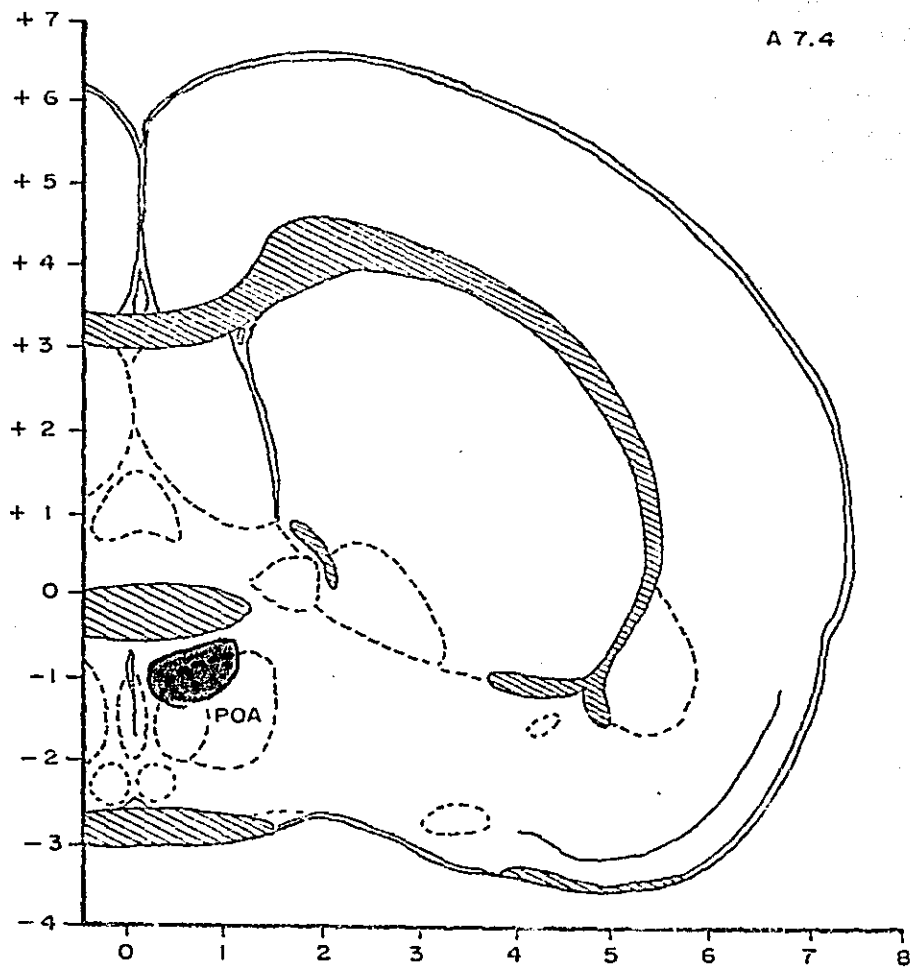


FIG. 11

DISCUSSION

Los resultados obtenidos en el experimento aquí reportado muestran que la implantación de 5β pregnan 3β ol 20 ona (pregnanolona) en el área preóptica media facilita de manera consistente la conducta de lordosis en ratas ovariectomizadas y pretratadas con estrógenos. Una respuesta menor, aunque significativa, se observa con este mismo pregnano implantado en hipotálamo ventromedial o en sus alrededores. Ningún otro pregnano, incluyendo a la progesterona, fue efectivo para facilitar la receptividad en ninguna de las dos áreas cerebrales.

El hecho de que la progesterona implantada en área preóptica no haya sido capaz de producir conducta de estro está de acuerdo con los resultados reportados por otros autores (Luttge & Hughes, 1976; Ross & Clemens, 1969; Ross, et. al., 1971). Pero, el que esta hormona implantada en HVM tampoco facilitara la lordosis no está de acuerdo con otros reportes. Investigaciones recientes (Rubin & Barfield, 1983) han demostrado que la progesterona implantada en esta zona es capaz de facilitar la lordosis en ratas pretratadas con estrógenos. Sin embargo, la explicación a esta aparente contraposición de resultados parece residir en la técnica de implantación, ya que los investigadores que han reportado que la P_4 facilita la conducta sexual femenina cuando es implantada en HVM, han hecho implantes bilaterales (Rubin & Barfield, 1983; Powers, 1972), mientras que aquellos que reportan que no la facilita han hecho, al igual que nosotros, implantes unilaterales (Yanase & Gorski, 1976a; Ross et. al., 1969).

Por otro lado, el hecho de que la pregnanolona haya facilitado tan claramente la receptividad y que la epipregnanolona no la haya

facilitado indica que el efecto depresor de las progestinas anestésicas sobre la excitabilidad neuronal de las vías involucradas en la expresión de la conducta sexual femenina no es inespecífico, ya que la epipregnanolona tiene una capacidad anestésica superior a la de la pregnanolona (Gyermek, et. al., 1967).

La allopregnanolona tampoco facilitó la conducta de estro, pero este hecho no es sorprendente puesto que esta progestina carece de capacidad anestésica (Lawrence & Gill, 1975).

Estos datos sugieren que las características estructurales de las progestinas pudieran jugar un papel importante en la facilitación de la conducta de estro. A este respecto ha sido previamente citado en la literatura que las progestinas 5β -reducidas son más efectivas que las 5α -reducidas para deprimir la actividad multiunitaria de la formación reticular mesencefálica, hipocampo e hipotálamo e inducir sincronización del EEG cortical (Kubli-Garfias, et. al., 1976). Más aún, todas las progestinas reducidas en el anillo A son más eficientes que la progesterona en ambos efectos (Kubli-Garfias, et. al., 1976). Por otro lado, Lawrence & Gill en 1975 reportaron que las membranas de las células nerviosas muestran un alto grado de discriminación a las características estructurales y estereoquímicas de las moléculas. Existen evidencias de que las progestinas 5β -reducidas ejercen sus efectos depresores sobre la excitabilidad neuronal a través de alterar las propiedades físicas de las membranas neuronales (Seeman, 1966).

Estos datos, tomados en conjunto, nos llevan a sugerir la po-

sibilidad de que algunas acciones de la progesterona se deban a su conversión a 5β pregnan 3β ol 20 ona y que fuera esta progestina la que actuara de modo específico sobre las membranas neuronales de vías involucradas en el control de la conducta sexual.

En apoyo a esta posibilidad se encuentra el hecho de que se haya reportado la existencia del sistema enzimático necesario para la transformación de progesterona a pregnanolona en tejido cerebral (Kawahara, et. al., 1975), además de que se han detectado pequeñas cantidades de este metabolito en hipotálamo basal medial de rata (Cheng & Karavolas, 1973). Por otro lado, Holzbauer en 1971a demostró que el ovario secretaba metabolitos 5α y 5β -reducidos en forma no conjugada, lo que los hace capaces de cruzar la barrera hematoencefálica.

El hecho de que la implantación de pregnanolona en área pre-óptica sea el sitio más efectivo para la facilitación de la lordosis y que reportes previos en la literatura señalen la existencia de vías inhibitorias en esta zona (Beach, 1967; Law & Meagher, 1958; Nance, 1977; Napoli, et. al. 1971; Powers & Valenstein, 1972) sugiere que la pregnanolona podría deprimir la excitabilidad de neuronas que inhiben tónicamente la lordosis. Estas neuronas involucradas en la vía inhibitoria de la conducta sexual femenina pudieran ser de naturaleza dopaminérgica o serotoninérgica, pues son estos dos los neurotransmisores a los que se les ha atribuido un papel inhibitorio en la receptividad (Everitt, et. al., 1975). En la Fig. 12 se muestra un modelo hipotético de la interacción hormona-monoamina en la conducta

sexual. Existen 2 posibilidades: 1) que las hormonas no influyan en los mecanismos monoaminérgicos y 2) que los sistemas endócrino y monoaminérgico estén relacionados de alguna manera (a, b y c).

El postulado de la existencia de una inhibición tónica sobre la conducta de lordosis da lugar a un modelo basado en la segunda alternativa según el cual la conducta sexual femenina se expresa gracias a la depresión de la descarga neuronal de una vía inhibitoria (DA o 5-HT) (remoción de la inhibición) o a que las vías facilitadoras (NA?) sobrepasan a la inhibición tónica.

Finalmente, lo único que podemos afirmar es que la pregnanolo-na es un metabolito de la progesterona con aparente significado funcional. Establecer con precisión cuál sea el significado funcional de los efectos de esta progestina sobre el SNC será objeto de investigaciones futuras.

A P E N D I C E

INTERACCIONES HORMONA-MONOAMINA

Avances relativamente recientes en las técnicas neurológicas han hecho posible el reconocimiento de un sistema de células nerviosas consistente de neuronas monoaminérgicas que actúan a través de la liberación de catecolaminas (noradrenalina o dopamina) o de indolaminas (serotonina).

El sistema monoaminérgico puede ser detectado directamente debido a que las monoaminas fluorescen en tejidos tratados con formaldehído. La noradrenalina (NA) y la dopamina (DA) producen una fluorescencia verde y la serotonina (5-HT) una fluorescencia amarilla (Shute & Lewis, 1966).

En el hipotálamo de rata se han detectado concentraciones particularmente elevadas de terminales dopaminérgicas en el núcleo dorsomedial hipotalámico y en la capa externa de la eminencia media. Las terminales noradrenérgicas son profusas en el núcleo hipotalámico periventricular, en la región localizada entre el núcleo ventromedial y el área hipotalámica lateral, en los núcleos supraóptico y paraventricular entre otros. Las terminales serotoninérgicas son relativamente numerosas en el núcleo supraquiasmático (Shute & Lewis, 1966).

Existen evidencias acerca de la existencia de variaciones cíclicas en la actividad monoaminérgica del hipotálamo a lo largo del ciclo estral (Shute & Lewis, 1966).

El papel de las catecolaminas (NA y DA) y de las indolaminas (5-HT) en la regulación hormonal de la receptividad sexual de ratas hembras ha sido investigado. Everitt, et. al. en 1975 sugirieron

que tanto la DA y la NA como la 5-HT pudieran jugar papeles específicos en el control hormonal de la receptividad sexual. A través de la manipulación química de la transmisión dopaminérgica, noradrenérgica y serotoninérgica se ha llegado a establecer un posible papel para cada una de estas monoaminas en la regulación de la conducta de lordosis. Así, se ha observado que los inhibidores de la síntesis de DA, NA y 5-HT provocan un incremento en la receptividad de hembras pretratadas con estrógenos. Lo mismo sucede con drogas que bloquean receptores a DA, particularmente si se combinan con amfetamina, la cual aumenta la actividad de los receptores noradrenérgicos. La inhibición de la actividad de neuronas serotoninérgicas aumenta la receptividad de tal manera que es indistinguible de la facilitada por progesterona (Everitt, et. al., 1975).

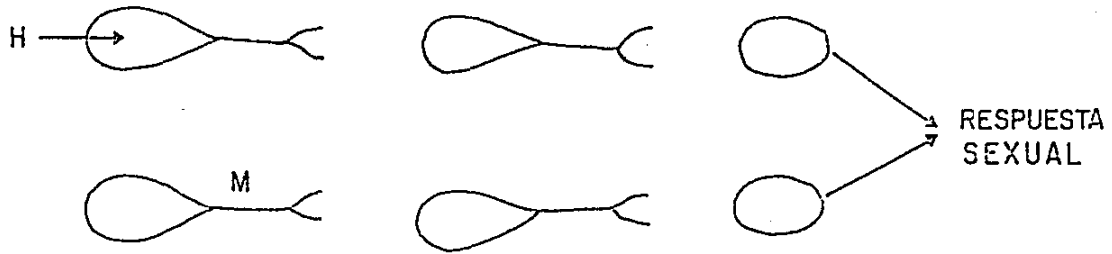
Por otro lado, los estrógenos aumentan ligeramente los niveles de serotonina, pero la progesterona los reduce significativamente.

La administración de un estimulador de receptores a DA (agonista dopaminérgico) a ratas pretratadas con estrógenos y progesterona, provoca una disminución significativa en el L.Q. La combinación de esta droga con un agonista serotoninérgico que induce la liberación de serotonina, provoca una inhibición casi total de la receptividad inducida por estrógenos y progesterona (Everitt, et. al., 1975).

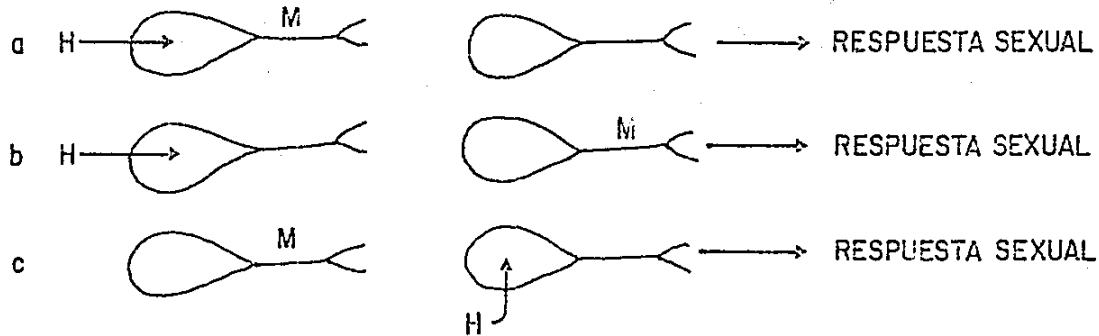
Los resultados de estas investigaciones sugieren que la 5-HT tiene un papel inhibitorio en la receptividad hormono-inducida de ratas. La DA pareciera jugar también un papel inhibitorio y la NA

un papel excitador. Por lo tanto los estrógenos y la progesterona pudieran inducir conducta de estro a través de disminuir la neurotransmisión serotoninérgica y dopaminérgica, mientras estimulan la noradrenérgica.

1 MECANISMOS HORMONAL (H) Y MONOAMINERGICO (M) INDEPENDIENTES.



2 MECANISMOS HORMONAL (H) Y MONOAMINERGICO (M) RELACIONADOS.



BASADO EN LA HIPOTESIS DE LA EXISTENCIA DE VIAS NEURALES MEDIANDO:

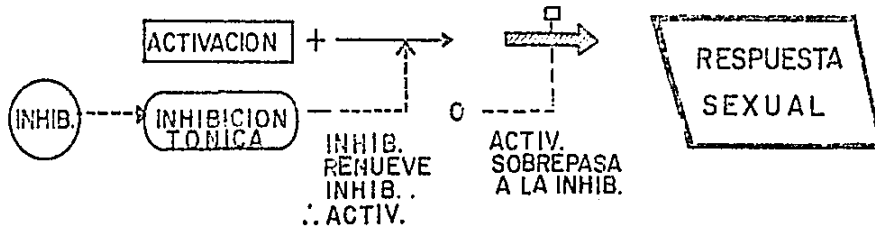


FIG. 12

BIBLIOGRAFIA

- Anderson, C.H. & G.S. Greenwald (1969): Autoradiographic analysis of estradiol uptake in the brain and pituitary of the female rat. Endocrinology, 85: 1160-65.
- Anderson, J.N., E.J. Peck Jr. & J.H. Clark (1973): Nuclear receptor estrogen complex: accumulation, retention and localization in the hypothalamus and pituitary. Endocrinology, 93: 711-17.
- Atkinson, R.H., B. Davis, M.A. Pratt, H.M. Sharpe & E.G. Tomich. (1965): Action of some steroids on the central nervous system of the mouse. II. Pharmacology. J. Med. Chem., 8: 426-32.
- Astwood, E.B. (1939): A six-hour assay for the quantitative determination of estrogen. Endocrinology, 23: 25
- Barfield, R.J. & J.J. Chen. (1977): Activation of estrous behavior in ovariectomized rats by intracerebral implants of estradiol benzoate. Endocrinology, 101: 1716-25.
- Barracrough, C.A., R. Collin, R. Massa & L. Martini. (1971): Temporal interrelationships between plasma LH, ovarian secretion rates and peripheral plasma progestin concentrations in the rat: effects of nembutal and exogenous gonadotropins. Endocrinology, 88: 1437-47.
- Bastock, M. (1967): Courtship: an ethological study. Aldine Publishing, Chicago.
- Beach, F.A. (1942): Importance of progesterone to induction of sexual receptivity in spayed female rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 51: 369-71.
- Beach, F.A. (1967): Cerebral and hormonal control of reflexive mechanisms involved in copulatory behavior. Physiol. Rev., 47: 289-316.
- Bech, F.A. (1976): Sexual attractivity, proceptivity and receptivity in female mammals. Horm. Behav., 7: 105-38.
- Bélanger, A., L. Cusan, S. Caron, N. Barden & A. Dupont. (1981): Ovarian progestins, androgens and estrogen throughout the 4-day estrous cycle in the rat. Biol. Reprod., 24: 591-6.
- Bermont, G. & W.H. Westbrook. (1966): Peripheral factors in the regulation of sexual contact by female rats. J. Comp. Physiol. Psychol., 61: 744-50.
- Bermont, G. & J. Davidson. (1974): Biological Basis of Sexual Behavior. Harper & Row, New York.

Beyer, C. & C.H. Sawyer. (1969): Hypothalamic unit activity related to control of the pituitary gland. p.p. 255 - 87. In: Ganong, W.F. & L. Martini (Eds.) Frontiers in Neuroendocrinology. Oxford University Press, New York.

Beyer, C., G. Morali & R. Vargas. (1971): Effect of diverse estrogens on estrous behavior and genital tract development in ovariectomized rats. Horm. Behav., 2: 273 - 77.

Beyer, C., E. Canchola, F. Caracheo & M. L. Cruz. (1978): Efecto de la administración intracerebral de bloqueadores de la síntesis de proteínas sobre el comportamiento sexual inducido por esteroides en la rata hembra. En: Resúmenes del XXI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, Chihuahua, Chih., México, p. 46.

Blake, C.A. (1976a): A detailed characterization of the proestrous rat luteinizing hormone surge. Endocrinology, 98: 445 - 50.

Blake, C.A. (1976b): Stimulation of the early phase of the proestrous follicle-stimulating hormone rise after infusion of luteinizing hormone-releasing hormone in cyclic rats. Endocrinology, 102: 1043 - 52.

Blaustein, J.D. & G.N. Wade. (1978): Progesterin binding by brain and pituitary cell nuclei and female rat sexual behavior. Brain. Res., 140: 360 - 7.

Blaustein, J.D., S.D. Dudley, J.M. Gray, E.J. Roy & G.N. Wade. (1979): Long-term retention of estradiol by brain cell nuclei and female rat sexual behavior. Brain. Res., 173: 355 - 9.

Boling, J.L. & R.J. Blandau. (1939): The estrogen-progesterone induction of mating responses in the spayed female rat. Endocrinology, 25: 359 - 64.

Brownstein, M.J. (1976): Hormonal regulation of the synthesis and metabolism of neurotransmitters. p.p. 185 - 92. In: Naftolin, F., R.J. Ryan & I.J. Davies (Eds.) Subcellular Mechanisms in Reproductive Neuroendocrinology. Elsevier, Amsterdam.

Butcher, R.L., W.E. Collins & N.W. Fugo. (1974): Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol - 17β throughout the 4-day estrous cycle of the rat. Endocrinology, 94: 1704 - 8.

Carter, C.S., & M.W. Schein. (1971): Sexual receptivity and exhaustion in the female golden hamster. Horm. Behav., 2: 191 - 200.

Carr, W.J., L.S. Loeb & M.L. Dissinger. (1965): Responses of rats to sex odors. J. Comp. Physiol. Psychol., 59: 370 - 77.

- Cheng, Y.J. & H.J. Karavolas. (1973): Conversion of progesterone to 5α -pregnane-3,20-dione and 3α -hydroxy- 5α -pregnan-20-one by rat medial basal hypothalamus and the effects of estradiol and stage of estrous cycle on the conversion. Endocrinology, 93: 1157-62.
- Clemens, L.G., K. Wallen & R.A. Gorski. (1967): Mating behavior: facilitation in the female rat after cortical application of potassium chloride. Science, 157: 1208-9.
- Clemens, L.G. (1974): Neuronal control of male sexual behavior, p.23. In: Montagno, N. & W.A. Sadles (Eds.), Advances in Behavioral Biology. Vol. 11, Plenum Press, New York.
- Colombo, J.A., D.J. Whitmoyer, F. Ellendorf & C.H. Sawyer. (1973/4): Effects of cortical spreading depression on multiunit activity in the preoptic area and hypothalamus of the female rat. Neuroendocrinology, 13: 189-200.
- Cross, B.A. & R.G. Dyer. (1971): Ovarian modulation of unit activity in the anterior hypothalamus of the cyclic rat. J. Physiol., 222: 25P.
- De Groot, J. (1959): The rat forebrain in stereotaxic coordinates. Vech. Kn. Ned. Acad. Wetensch. Ser. 2, 52: 1-40.
- Diakow, C. (1975): Motion picture analysis of rat mating behavior. J. Comp. Physiol. Psychol., 88: 704-12.
- Dewsbury, D.A. (1979): Description of sexual behavior in research on hormone-behavior interactions. p.p. 3-32. In: Beyer, C. (Ed.), Endocrine Control of Sexual Behavior. Raven Press, New York.
- Dyer, R.G., C.J. Pritchett & B.A. Cross. (1972): Unit activity in the diencephalon of female rats during the oestrus cycle. J. Endocr., 53: 151-60.
- Edwards, P.A., R.E. Whalen & R.D. Nadler. (1968): Induction of estrus: estrogen-progesterone interactions. Physiol. Behav., 3: 29-33.
- Eisenfeld, A.J. (1970): $3H$ -estradiol: in vitro binding to macromolecules from the rat hypothalamus, anterior pituitary and uterus. Endocrinology, 86: 1313-18.
- Everett, J.W. (1961): The mammalian female reproductive cycle and its controlling mechanisms. p.p.497-555. In: Young, W.C. (Ed.), Sex and Internal Secretions. Vol.I., Williams & Wilkins, Baltimore.
- Everitt, B.J., K. Fuxe, T. Hökfelt & G. Jonsson. (1975): Role of monoamines in the control by hormones of sexual receptivity in the female rat. J. Comp. Physiol. Psychol., 89: 556-72.

Feder, H.H., J.A. Resko & R.W. Goy. (1968): Progesterone levels in the arterial plasma of pre-ovulatory and ovariectomized rats. J. Endocrinol., 41: 563-69.

Feder, H.H., K. Brown-Grant & C.S. Corker. (1971): Preovulatory progesterone, the adrenal cortex and the "critical period" for luteinizing hormone release in rats. J. Endocrinol., 50: 29-39.

Feder, H.H. & B.L. Marrone. (1977): Progesterone: its role in the central nervous system as a facilitator and inhibitor of sexual behavior and gonadotropin release. Ann. N. Y. Acad. Sci., 286: 331-53.

Feder, H.H., I.T. Landau & W.A. Walker. (1979): Anatomical and biochemical substrates of the actions of estrogens and antiestrogens on brain tissues that regulate female sex behavior of rodents. p.p. 317-40. In: Beyer, C. (Ed.), Endocrine Control of Sexual Behavior. Raven Press, New York.

Feder, H.H. (1981a): Essentials of steroid structure, nomenclature, reactions, biosynthesis and measurements. p.p. 19-63. In: Adler, N. T. (Ed.), Neuroendocrinology of Reproduction. Plenum Press, New York, London.

Feder, H.H. (1981b): Estrous cyclicity in mammals. p.p.279-348. In: Adler, N.T. (Ed.), Neuroendocrinology of Reproduction. Plenum Press, New York, London.

Figdor, S.K., M.J. Kodet, B.M. Bloom, E.J. Agnello, S.Y. P'an & G.D. Laubach. (1957): Central activity and structure in a series of water-soluble steroids. J. Pharmacol. Exp. Ther., 119: 299-309.

Fletcher, I.C. & D.R. Lindsay. (1968): Sensory involvement in the mating behavior of domestic sheep. Anim. Behav., 16: 410-14.

Fortune, J.E. & D.T. Armstrong. (1978): Hormonal control of 17β estradiol biosynthesis in proestrus rat follicles: estradiol production by isolated theca versus granulosa. Endocrinology, 102: 227-35.

Fuxe, K., T. Hökfelt, A. Löfstrom, O. Johansson, L. Agnati, B. Everitt, M. Goldstein, S. Jeffcoate, N. White, P. Eneroth, J.A. Gustafsson & P. Skatt. (1976): On the role of neurotransmitters and hypothalamic hormones and their interactions in hypothalamic and extrahypothalamic control of pituitary function and sexual behavior. In: Naftolin, F., K.J. Ryan & I.J. Davies (Eds.), Subcellular Mechanisms in Reproductive Neuroendocrinology. Elsevier, Amsterdam.

Gelato, M., J. Dibbet, S. Marshall, J. Meites & W. Wuttke. (1976): Prolactin-adrenal interaction in the immature female rat. Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., 16: 395.

- Gentry, R.T., G.N. Wade & E.J. Roy. (1976): Individual differences in estradiol-induced behaviors and in neural 3H-estradiol uptake in rats. Physiol. Behav., 17: 195-200.
- Gorski, J. & F. Gannon. (1976): Current models of steroid hormone action: A critique. Ann. Rev. Physiol., 38: 425-50.
- Gorski, J., D. Toft, G. Shymala, D. Smith & A. Notides. (1968): Hormone receptors: studies on the interaction of estrogen with the uterus. Recent. Prog. Horm. Res., 24: 45-80.
- Gorski, R.A. & M. Yanase. (1976): An interaction between estrogen (E) and progesterone (P) in the mesencephalic reticular formation (MRF): facilitation of lordosis behavior in the rat. Anat. Rec., 184: 413-4.
- Green, R., W.G. Luttge & R.E. Whalen. (1970): Induction of receptivity in ovariectomized female rats by a single intravenous injection of estradiol-17 β . Physiol. Behav., 5: 137-41.
- Greer, M.A. (1953): The effect of progesterone on persistent vaginal estrus produced by hypothalamic lesions in the rat. Endocrinology, 53: 38-90.
- Gyermek, L. (1967): Pregnanolone: a highly potent, naturally occurring hypnotic-anesthetic agent. Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.), 125: 1058-62.
- Gyermek, L., G. Genter & N. Fleming. (1967): Some effects of progesterone and related steroids on the central nervous system. Int. J. Neuropharmacol., 6: 191-8.
- Gyermek, L., J. Iriarte & P. Crabbé. (1968): Structure-activity relationship of some steroid hypnotic agents. Steroids, 11: 117-25.
- Hardy, D.F. & J.F. De Bold. (1971): The relationship between levels of exogenous hormones and the display of lordosis by the female rat. Horm. Behav., 2: 287-97.
- Hardy, D.F. & J.F. De Bold. (1972): Effects of coital stimulation upon behavior of the female rat. J. Comp. Physiol. Psychol., 78: 400-408.
- Hardy, D.F. & J.F. De Bold. (1973): Effects of repeated testing on sexual behavior of the female rat. J. Comp. Physiol. Psychol., 85: 195.
- Hart, B.L. (1969): Gonadal hormones and sexual reflexes in the female rat. Horm. Behav., 1: 65-71.
- Hashimoto, I., D.M. Henricks, L.L. Anderson & R.M. Melampy. (1968): Progesterone and preg-4-en-20 α -ol-3-one in ovarian venous blood during various reproductive states in the rat. Endocrinology, 82: 333-41.

Herbert, J. (1973): Behavioral patterns. p.p. 34-68. In: Austin, C.R. & R.V. Short (Eds.), Reproduction in Mammals. Cambridge University Press.

Holzbauer, M. (1969): Pregnenolone and metabolites of progesterone in the ovary. J. Physiol. London, 204: 8p - 10p.

Holzbauer, M., H. M. Newport, M.K. Birmingham & H. Traikov. (1969): Secretion of pregn-4-ene-3,20-dione (progesterone) in vivo by the adrenal gland of the rat. Nature, 221: 572 - 73.

Holzbauer, M. & P. Mason. (1970): Increase in the ovarian content of progesterone metabolites during late proestrus in the rat. J. Physiol. London, 210: 128 - 30.

Holzbauer, M. (1971a): In vivo production of steroids with central depressant actions by the ovary of the rat. Br. J. Pharmacol., 43: 560 - 9.

Holzbauer, M. (1971b): Ovarian secretion of steroids with central depressant actions. J. Physiol. London, 215: 16p - 17p.

Hori, T., M. Ide & T. Miyake. (1968): Ovarian estrogen secretion during estrous cycle and under the influence of exogenous gonadotropins in rats. Endocrinol. Jpn., 15: 215.

Jensen, E.V. & H.I. Jacobson. (1962): Basic guides to the mechanism of estrogen action. Rec. Progr. Horm. Res., 18: 387 - 414.

Jensen, E.V., T. Suzuki, T. Kawashima, W.E. Stumpf, P.W. Jungblut & E.R. De Sombre. (1968): A two-step mechanism for the interaction of estradiol with rat uterus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 59: 632 - 38.

Kappas, A. & R.H. Palmer. (1963): Selected aspects of steroid pharmacology. Anesthetic action of steroids. Pharmacol. Rev., 15: 124 - 28.

Kato, J. & C.A. Villee. (1967): Preferential uptake of estradiol by the anterior hypothalamus of the rat. Endocrinology, 80: 567 - 75.

Kato, J. & T. Onouchi. (1977): Specific progesterone receptors in the hypothalamus and anterior hypophysis of the rat. Endocrinology, 101: 920 - 28.

Kawahara, F.S., M.L. Berman & O.C. Green. (1975): Conversion of progesterone-1,2-3H to 5 β pregnan-3,20 dione by brain tissue. Steroids, 25: 459 - 63.

Kawakami, M. & C.H. Sawyer. (1959): Induction of behavioral and electroencephalographic changes in the rabbit by hormone administration or brain stimulation. Endocrinology, 65: 631 - 43.

Kawakami, M.E. Terasawa & T. Ibuki. (1970): Changes in multiple unit activity of the brain during the estrous cycle. Neuroendocrinology, 6: 30 - 48.

Kawakami, M., T. Akema & S.T., Ando. (1979): Electrophysiological studies on the neural networks among estrogen and progesterone effective brain areas on lordosis behavior of the rat. Brain. Res., 169: 287 - 301.

Kennedy, T.G. & D.T. Armstrong. (1972): Extra-ovarian action of prolactin in the regulation of uterine lumen fluid accumulation in rats. Endocrinology, 90: 1503 - 9.

King, R.J.B. & W.I.P. Mainwaring. (1974): Steroid - Cell Interactions. University Park Press, Baltimore.

Komisaruk, B.R., K. Larsson & R. Cooper. (1972): Intense lordosis in the absence of ovarian hormones after septal-ablations in rat. 2nd. Annual Meet. Soc. Neurosci., p. 230.

Kow, L.M. & D.W. Pfaff. (1976): Sensory requirements for the lordosis reflex in female rats. Brain. Res., 101: 47 - 66.

Kow, L.M., M.O. Montgomery & D.W. Pfaff. (1977): Effects of spinal cord transection on lordosis reflex in female rats. Brain Res., 123: 75 - 88.

Kubli-Garfias, C. M. Cervantes & C. Beyer. (1976): Changes in multi-unit activity and EEG induced by the administration of natural progestins to flaxedil-immobilized cats. Brain. Res., 114: 71 - 81.

Kubli-Garfias, C. & R. Whalen. (1977): Induction of lordosis behavior in female rats by intravenous administration of progestins. Horm. Behav., 9: 380 - 86.

Kuehn, R.E. & F.A. Beach. (1963): Quantitative measurements of sexual receptivity in female rats. Behaviour, 21: 282 - 99.

Langford J. & J. Hilliard. (1967): Effect of 20 α -hydroxypregn-4-en-3-one on mating behavior in spayed female rats. Endocrinology, 80: 381 - 3.

Law, O.T. & W. Meagher. (1958): Hypothalamic lesions and sexual behavior in the female rat. Science, 128: 1626 - 7.

Law, O.T. & G.P. Sackett. (1965/6): Hypothalamic potentials in the female rat evoked by hormones and vaginal stimulation. Neuroendocrinol., 1: 31 - 44.

Lawrence, D.K. & E.W. Gill. (1975): Structurally specific effects of some steroid anesthetics on spin- labeled liposomes. Mol. Pharmacol., 11: 280 - 86.

Lehninger, A.L. (1978): Bioquímica. Ed. Omega, Barcelona.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Lisk, R.D. (1960): A comparison of the effectiveness of intravenous, as opposed to subcutaneous injections of progesterone for the induction of estrous behavior in the rat. Can. J. Biochem. Physiol., 38: 1381 - 83.

Lisk, R.D. (1962): Diencephalic placement of estradiol and sexual receptivity in the female rat. Am. J. Physiol., 203: 493 - 96.

Lisk, R.D. & M.A. Barfield. (1975): Progesterone facilitation of sexual receptivity in rats with neural implantation of estrogen. Neuroendocrinol., 19: 28 - 35.

Long, J.A. & H.M. Evans. (1922): The oestrus cycle in the rat and its associated phenomena. Mem. Univ. California, 6: 1 - 113.

Luine, V.N., & B.S. Mc Ewen. (1977): Effects of an estrogen antagonist on enzyme activities and (3-H) estradiol nuclear binding in uterus, pituitary and brain. Endocrinology, 100: 903 - 10.

Luttge, W.G. (1976): Intracerebral implantation of the antiestrogen CN-69,725-27: effects on female sexual behavior in rats. Pharmacol. Biochem. Behav., 4: 685 - 88.

Luttge, W.G. & J. Randall Hughes. (1976): Intracerebral implantation of progesterone: re-examination of the brain sites responsible for facilitation of sexual receptivity in estrogen-primed ovariectomized rats. Physiol. Behav., 17: 771 - 75.

Mac Donald, G.J., D.T. Armstrong & R.O. Greep. (1966): Stimulation of estrogen secretion from normal rat corpora lutea by luteinizing hormone. Endocrinology, 79: 289 - 93.

Mac Lusky, N.J. & B.S. Mc Ewen. (1978): Oestrogen modulates progesterin receptor concentrations in some rat brain regions but not in others. Nature, 274: 276 - 78.

Mathews, D. & D. E. Edwards. (1977): The ventromedial nucleus of the hypothalamus and the hormonal arousal of sexual behaviors in the female rat. Horm. Behav., 8: 40 - 51.

Mc Cann, S.M. & J.D. Ramirez. (1964): The neuroendocrine regulation of hypophysal luteinizing hormone secretion. Recent Progr. Horm. Res., 20: 131 - 70.

Mc Clintock, M.K. (1974): Sociobiology of reproduction in the Norway rat (*Rattus norvegicus*) estrous synchrony and the role of the female in copulatory behavior. Doctoral dissertation, Univ. of Pennsylvania.

Mc Ewen, B.S., R.E. Zigmond & J.L. Gerlach. (1972): Sites of steroid binding and action in the brain. p.p. 205 - 91. In: Bourne, G.H. (Ed.), Structure and Function of Nervous Tissue, Vol. 5, New York Academic.

Mc Ewen, B.S. & D.W. Pfaff. (1973): Chemical and physiological approaches to neuroendocrine mechanisms: attempts at integration. p.p. 267 - 335. In: Ganong, W.F. & L. Martini (Eds.), Frontiers in Neuroendocrinology. Oxford University Press.

Mc Ewen, B.S., D.W. Pfaff, C. Chaptal & V.N. Luine. (1975): Brain cell nuclear retention of (3H) estradiol doses able to promote lordosis: temporal and regional aspects. Brain Res., 86: 155 - 61.

Meyerson, B. (1972): Latency between intravenous injection of progestins and the appearance of estrous behavior in estrogen - treated ovariectomized rats. Horm. Behav., 3: 1 - 9.

Meyerson, B.J. (1973): Mechanism of action of sex steroids on behavior: inhibition of estrogen-activated behavior by ethamoxytriphetol (MER-25), colchicine and cycloheximide. Progr. Brain Res., 39: 135 - 47.

Mogkilewsky, M & J. P. Raynaud. (1979): The relevance of hypothalamic and hypophyseal progesterin receptor regulation in the induction and inhibition of sexual behavior in the female rat. Endocrinology, 105: 516 - 22.

Morali, G & C. Beyer. (1979): Neuroendocrine control of mammalian estrous behavior. p.p. 33 - 75. In: Beyer, C. (Ed.), Endocrine Control of Sexual Behavior. Raven Press. New York.

Moss, R.L. & O.T. Law. (1971): The estrous cycle: its influence on single unit activity in the forebrain. Brain Res., 30: 435 - 8

Moss, R.L., R.F. Poloutzian & O.T. Law. (1974): Electrical stimulation of forebrain structures and its effect on copulatory as well as stimulus-bound behavior in ovariectomized hormone-primed rats. Physiol. Behav., 12: 997 - 1004.

Nadler, R.D. (1970): A biphasic influence of progesterone on sexual receptivity of spayed female rats. Physiol. Behav., 5: 95 - 7.

Naftolin, F., K. Brown-Grant & C.S. Corker. (1972): Plasma and pituitary luteinizing hormone and peripheral plasma oestradiol concentrations in the normal oestrus cycle of the rat and after experimental manipulation of the cycle. J. Endocrinol., 53: 17 - 30.

Nance, D.M. (1977): Effects of small hypothalamic and preoptic lesions on gonadotropin control and reproductive behavior in the rat. Anat. Rec., 187: 664.

- Napoli, A., J.B. Powers & E.S. Valenstein. (1972): Hormonal induction of behavioral estrus modified by electrical stimulation of hypothalamus. Phys. Behav., 9: 115 - 17.
- Nequin, L.G. & N.B. Schwartz. (1971): Adrenal participation in the timing of mating and LH release in the cyclic rat. Endocrinology, 88: 325 - 31.
- Nequin, L.G., J. Alvarez & N.B. Schwartz. (1975): Steroid control of gonadotropin release. J. Steroid Biochem., 6: 1007 - 1012.
- O'Malley, B.W. (1967): In vitro hormonal induction of a specific protein (avidin) in chick oviduct. Biochemistry, 19: 2546 - 51.
- O'Malley, B.W. & W.L. Mc Guire. (1968): Studies on the mechanism of action of progesterone in regulation of the synthesis of specific proteins. J. Clin. Invest., 47: 654 - 64.
- O'Malley, B.W. & A.R. Means. (1974): Female steroid hormones and target cell nuclei. Science, 183: 610 - 15.
- P'an, S.Y. & G.D. Laubach. (1964): Steroid central depressants. p.p. 415 - 75. In: Dorfman, R.E. (Ed.), Methods in Hormone Research. Vol. III., Academic Press.
- Pfaff, D.W. (1968): Uptake of 3H- estradiol by the female rat brain. An autoradiographic study. Endocrinology, 82: 1149 - 55.
- Pfaff, D.W. & M. Keiner. (1973): Atlas of estradiol concentrating cells in the central nervous system of the female rat. J. Comp. Neur., 151: 121 - 58.
- Pfaff, D.W. & C. Lewis. (1974): Film analyses of lordosis in female rats. Horm. Behav., 5: 317 - 35.
- Powers, J.B. (1972): Facilitation of lordosis in ovariectomized rats by intracerebral progesterone implants. Brain. Res., 48: 311 - 25.
- Powers, J.B. & E.S. Valenstein. (1972): Sexual receptivity: facilitation by medial preoptic lesions in female rats. Science, 175: 1003 - 5.
- Powers, J.B. (1975): Anti-estrogenic suppression of the lordosis response in female rats. Horm. Behav., 6: 379 - 92.
- Quadagno, D.M., J. Mc Cullough & R. Langan. (1972): The effect of varying amounts of exogenous estradiol benzoate on estrous behavior in the rat. Horm. Behav., 3: 175 - 79.
- Rapoport, S.I. (1976): Blood Brain Barrier in Physiology and Medicine. Raven Press, New York.

- Ross, J. & L. Clemens. (1969): Short latency induction of estrous behavior with intracerebral progesterone in ovariectomized rats. Anat. Rec., 163: 252 - 53.
- Ross, J., C. Claybough, L.G. Clemens & R.A. Gorski. (1971): Short latency induction of estrous behavior with intracerebral gonadal hormones in ovariectomized rats. Endocrinology, 89: 32 - 38.
- Ross, J. & R.A. Gorski. (1973): Effects of potassium chloride on sexual behavior and the cortical EEG in ovariectomized rats. Physiol. Behav., 10: 643 - 46.
- Roy, E.J. & G.N. Wade. (1977): Binding of $3H$ - estradiol by brain cell nuclei and female rat sexual behavior: inhibition by anti-estrogens. Brain Res., 126: 73 - 88.
- Rubin, B.S. & R.J. Barfield. (1983): Progesterone in the ventromedial hypothalamus facilitates estrous behavior in ovariectomized, estrogen-primed rats. Endocrinology, 113: 797 - 804.
- Samuels, L.T. & T. Uchikawa. (1967): The Adrenal Cortex. Little, Brown & Co., Boston.
- Seeman, P. (1966): Membrane stabilization by drugs: tranquilizers, steroids and anesthetics. Int. Rev. Neurobiol., 9: 145 - 221.
- Seeman, P. (1972): The membrane actions of anesthetics and tranquilizers. Pharmacol. Rev., 24: 583 - 655.
- Selye, H. (1941): Anesthetic effect of steroid hormones. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 46: 116 - 21.
- Selye, H. (1942): Correlations between the chemical structure and the pharmacological actions of the steroids. Endocrinology, 30: 437 - 53.
- Shaikh, A.A. (1971): Estrone and estradiol levels in the ovarian venous blood from rats during the estrous cycle and pregnancy. Biol. Reprod., 5: 297 - 307.
- Shute, C.C. & P.R. Lewis. (1966): Cholinergic and monoaminergic pathways in the hypothalamus. Br. Med. Bull., 22: 221 - 26.
- Siegel, S. (1956): Non Parametric Statistics for the Behavioral Sciences. Mc Graw-Hill Book Co., New York.
- Singer, J.J. (1968): Hypothalamic control of male and female sexual behavior in female rats. J. Comp. Physiol. Psychol., 66: 738 - 42.

Smith, M.S., M.E. Freeman & J.D. Neill. (1975): The control of progesterone secretion during the estrous cycle and early pseudopregnancy in the rat: prolactin, gonadotropin and steroid levels associated with rescue of the corpus luteum of pseudopregnancy. Endocrinology, 96: 219 - 26.

Stumpf, W.E. (1968): Estradiol-concentrating neurons: topography in the hypothalamus by dry mount autoradiography. Science, 162: 1001 - 1003.

Taleisnik, S., L. Caligaris & J.J. Astrada. (1966): Effect of copulation on the release of pituitary gonadotropins in male and female rats. Endocrinology, 79: 49 - 54.

Terasawa, E. & C.H. Sawyer. (1969): Changes in electrical activity in the rat hypothalamus related to electrochemical stimulation of adenohipophyseal function. Endocrinology, 85: 143 - 49.

Tsang, B.K., Y.S. Moon, C.W. Simpson & D.T. Armstrong. (1979): Androgen biosynthesis in human ovarian follicle: cellular source, gonadotropin control and adenosine 3',5'-monophosphate mediation. J. Clin. Endocrinol. Metab., 48: 153 - 8.

Wallen, K., D.A. Goldfoot, W.D. Joslyn & C.A. Paris. (1972): Modification of behavioral estrous in the guinea pig following intracranial cycloheximide. Physiol Behav., 8: 221 - 23.

Welson, J.R., R.E. Kuehn & F.A. Beach. (1963): Modification in the sexual behavior of male rats produced by changing the stimulus female. J. Comp. Physiol. Psychol., 56: 636 - 44.

Whalen, R.E. & B.B. Gorzalka. (1972): The effects of progesterone and its metabolites on the induction of sexual receptivity in rat. Horm. Behav., 3: 221- 6.

Whalen, R.E. (1974): Estrogen - progesterone induction of mating in female rats. Horm. Behav. 5: 157 - 62.

Whalen, R.E., B.B. Gorzalka, J.F. De Bold, D.M. Quadagno, G.K. Ho & J.C. Hough Jr. (1974): Studies on the effects on intracerebral actinomycin-D implants on estrogen- induced receptivity in rats. Horm. Behav. 5: 337 - 43.

Whalen, R.E. & J. Massicci. (1975): Subcellular analysis of the accumulation of estrogen by the brain of male and female rats. Brain Res., 89: 255 - 64.

Wuttke, W. & J. Meites. (1971): Luteolytic role of prolactin during the estrous cycle of the rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 137: 988 - 91.

Yanase M. & R.A. Gorski. (1976a): Sites of estrogen and progesterone facilitation of lordosis behavior in the spayed rat. Biol. Reprod., 15: 536 - 46.

Yanase, M. & R.A. Gorski. (1976b): The ability of the intracerebral exposure to progesterone on consecutive days to facilitate lordosis behavior: an interaction between progesterone and estrogen. Biol. Reprod., 15: 544 - 50.

Young, W.C. (1961): The hormones and mating behavior. p.p. 1173 - 1239. In: Young W.C. (Ed.), Sex and Internal Secretions, Vol. II. William & Wilkins, Baltimore.

Zemlan, F.P. & N.T. Adler. (1977): Hormonal control of female sexual behavior in the rat. Horm. Behav., 9: 345 - 57.

Zigmond, R.E. & B.S. Mc Ewen. (1970): Selective retention of oestradiol by cell nuclei in specific brain regions of the ovariectomized rat. J. Neurochem., 17: 889 - 99.

Zmigrod, A. & H.R. Lindner. (1969): Metabolism of progesterone by the rat ovary: formation of 3β hidroxy- 5α -pregnan-20-one by ovarian microsomes. Acta Endocrinol., 61: 618 - 28.