

11281
Rej
6

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE FISILOGIA

INFLUENCIA DEL LOCUS COERULEUS EN LA REGULACION DEL CICLO
ESTRAL DE LA RATA

Tesis que para obtener

el grado de

Doctor en Ciencias Biomédicas

(Fisiología)

presenta

LUIS PASTOR SOLANO FLORES

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1989

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

RESUMEN

Diversos autores han mostrado que el ciclo estral de la rata hembra está determinado por procesos de naturaleza circádica que obedecen a un ritmo endógeno y que mantienen una sincronización con el fotoperiodo ambiental. Las evidencias indican que la estructura neural crítica en estos procesos es el núcleo supraquiasmático del hipotálamo (NSQ). Además, existen hechos experimentales que indican que en los procesos que determinan la ciclicidad estral influyen mecanismos noradrenergicos centrales. Diversas evidencias señalan que el núcleo noradrenérgico locus coeruleus (LC), al parecer, participa en estos mecanismos. De lo anterior y tomando en cuenta que, primero, el estro persistente (EP) inducido por luz brillante constante (LL) se presta como modelo de estudio de la actividad del NSQ relacionada con la ciclicidad estral en tanto que este EP es una respuesta específica determinada por la alteración del funcionamiento del NSQ y, segundo, tomando en cuenta que el EP producido por la lesión del NSQ se pudiera prestar como modelo de estudio de los procesos neuroendócrinos gonadotropicos en tanto que este EP es una respuesta determinada por la falta de suministro de claves que producen cambios de excitabilidad durante el ciclo estral, se decidió usar el EP experimentalmente inducido para hacer manifiesta la posible influencia que el LC ejerce sobre las acciones neuroendócrinas que determinan el ciclo estral. De esta forma, en un primer estudio, un lote de ratas hembras fue expuesto a LL. Alcanzado el EP, se lesionó electrolíticamente el LC. En un segundo estudio, otro lote de ratas hembras fue lesionado electrolíticamente en el NSQ. Alcanzado el EP se lesionó electrolíticamente el LC. Como control se usaron ratas expuestas a LL no lesionadas en el LC, ratas expuestas a LL con falsa lesión del LC y ratas falsamente lesionadas en el NSQ y en el LC. El EP de los animales lesionados en el LC se suspendió transitoriamente tanto más cuanto más LC fue lesionado. Esta suspensión del EP no se presentó en aquellos animales cuya sustancia gris periventricular adyacente al LC también fue involucrada en la lesión. Los resultados sugieren una participación moduladora del LC sobre la función neurosecretora relacionada con la regulación del ciclo estral. El presente trabajo se discute dentro del contexto que considera al LC como una estructura moduladora que participa en los procesos de valoración de la información sensorial interna y externa.

SUMMARY

It has been shown that the female rat estrous cycle is determined by an endogenous circadian activity synchronized to the environmental light cues. The main neural structure for this activity is the hypothalamic suprachiasmatic nucleus (NSQ). Also, some data indicate that central noradrenergic mechanisms are participating in this estrous cyclicity. It seems that the noradrenergic nucleus, locus coeruleus (LC), is involved in these mechanisms. Based on the above, and taking into account that, first, the persistent estrous (EP) induced by exposure to constant bright light (LL) can be used as an experimental model to study the NSQ activity related to estrous cyclicity, since this EP is a specific response to NSQ dysfunction, and, secondly, considering that the EP induced by NSQ lesion can be used as an experimental model to study the gonadotropic activity, for it is due to a lack of excitability-modifying signals during the estrous cycle; hence, it was decided to use the experimentally induced EP to determine a possible influence of LC upon the estrous cycle neuroendocrine actions. In this way, in a first study, one group of female rats was exposed to LL. Once established the EP, the LC was electrolytically lesioned. In a second study, the NSQ of another group of female rats was electrolytically lesioned and, once established the EP, the LC was also electrolytically lesioned. Sham-operated and non-lesioned rats were used as controls. LC lesions caused a transient loss of EP. A direct relation was found between the EP loss and the size of LC damage. This EP loss was not observed in the animals with adjacent periventricular gray substance lesions. The results suggest a physiological role played by the LC in the modulation of the neurosecretory functions involved in the regulation of the the estrous cycle. The present work is discussed within the scope that establishes the LC as a modulatory structure participating in the processes involved in the evaluation of internal and external sensory information.

INDICE

	página
PROLOGO	1
EL LOCUS COERULEUS COMO ESTRUCTURA RELEVANTE EN EL PROCESAMIENTO Y SELECCION DE INFORMACION	3
EL NUCLEO SUPRACHIASMÁTICO COMO ESTRUCTURA DETERMINANTE DE LAS FUNCIONES CICLICAS	11
EL ESTRÓ PERSISTENTE COMO MODELO DE ESTUDIO DE LOS FACTORES QUE DETERMINAN EL CICLO ESTRAL	16
INFLUENCIAS NORADRENERGICAS SOBRE LA ACTIVIDAD GONADOTROPICA	28
POSIBLE PARTICIPACION DEL LOCUS COERULEUS EN LOS FACTORES QUE DETERMINAN EL CICLO ESTRAL. Planteamiento del problema	36
Effect of Locus Coeruleus and Periventricular Gray Substance Lesions on Bright Light-Induced Persistent Estrous. Brain Research Bulletin 17: 759-765, 1986.	
Effect of Locus Coeruleus and Periventricular Gray Substance Lesions on Suprachiasmatic Damage-Induced Persistent Estrous. Brain Research Bulletin 18: 429-435, 1987.	
COMENTARIO FINAL	40
EPILOGO	50
BIBLIOGRAFIA	

PROLOGO

Una de las prioridades fundamentales de todo organismo, después de ser satisfecha la subsistencia individual presente, es la preservación de su especie en el futuro. Así, la generación de individuos nuevos que replacen a los viejos y desaparecidos parece ser una regla general en la naturaleza: todo ser vivo proviene de seres semejante a él; todo ser vivo cuenta con los sustratos necesarios para generar seres semejantes a él. Entre estos sustratos se encuentra el sistema neuroendócrino. En los mamíferos, la tarea reproductiva está repartida en dos tipos de individuos de la misma especie. De la unión de las células germinativas producidas en cada uno de ellos, se originará un tercer individuo. Este evento de unión es un evento extraordinario cuya probabilidad de que se lleve a cabo está ampliamente garantizada y, al parecer, la naturaleza de los organismos redonda en mecanismos fisiológicos que permiten asegurar esa unión. En la hembra, el evento final al cual se dirigen todas las acciones neuroendócrinas relacionadas con la reproducción es el de hacer viable la célula germinativa femenina, este evento es la ovulación. Estas acciones son efectivas debido a la armonía que entre ellas existe, lo que implica una exquisita coordinación. La complejidad de esta coordinación es manifiesta al considerar que han de tomarse en cuenta la actividad de numerosas estructuras así como una diversidad de circunstancias internas y externas del organismo. En el

7

manifero existen estructuras que participan en esta coordinación y que determinan las condiciones propicias para que dicho evento ovulatorio se lleve a cabo. El núcleo supraquiasmático del hipotálamo (NSQ) es una de estas estructuras.

El propósito del presente estudio fue el de hacer manifiesta la posible influencia que sobre estas acciones neuroendócrinas ejerce un sistema generalizado de control, el locus coeruleus (LC).

EL LOCUS COERULEUS COMO ESTRUCTURA RELEVANTE EN EL PROCESAMIENTO Y SELECCION DE INFORMACION

El locus coeruleus (LC) es un bien definido acumulo de neuronas, localizado bilateralmente en el piso del cuarto ventriculo a nivel del puente rostral, medial al núcleo mesencefálico del nervio trigemino y lateral a la substancia gris periventricular. El LC se presenta en todas las especies de mamíferos hasta ahora estudiadas (Russell, 1955). Este núcleo tomó su nombre del aspecto negroazulado que presenta debido al contenido de neuromelanina de sus somas y dendritas proximales. El LC de la rata tiene una longitud de 900 μm en dirección anteroposterior, un espesor de no más de 300 μm y ocupa un volumen de 0.8 mm^3 conteniendo no más de 1600 células (Swanson, 1976).

El estudio de las conexiones que el LC presenta con otras regiones cerebrales y el de su fisiología se han incrementado notablemente desde el trabajo de Dählstrom y Fuxe (1964) en el que se demuestra que el LC es el mayor de los acúmulos neuronales que contienen noradrenalina (NE) en el cerebro.

Mediante el rastreo retrógrado de la peroxidasa del rábano, Cedarbaum y Aghajanian (1978a) y Clavier (1979) encontraron que entre las diversas regiones cerebrales que proyectan hacia el LC se encuentra la corteza de la insula, el núcleo central de la amígdala, las áreas preóptica medial, lateral y magnocelular, los núcleos del lecho de la estria

terminalis, las áreas hipotalámicas dorso-medial, paraventricular y lateral, los núcleos ventrolateral y parafascicular talámicos, la sustancia gris central, formación reticular, núcleos del rafe, núcleo vestibular, núcleos del tracto solitario, los grupos catecolaminérgicos A₁, A₂, y A₅, el núcleo fastigio y las zonas marginales de los cuernos dorsales del cordón espinal.

Con base en las aferencias que recibe el LC provenientes de un gran número de regiones cerebrales que llevan a cabo una diversidad de funciones, es posible afirmar que el LC no es una simple estación de relevo de la información sensorial primaria. Además, ya que se ha demostrado que la actividad de las neuronas de estas regiones que proyectan al LC está relacionada con estímulos sensoriales tanto internos como externos así como con los estados afectivos, es posible sugerir que, el LC lleva a cabo una función integrativa relacionada, quizá, con la valoración y el establecimiento de prioridades del significado de los estímulos sensoriales internos y externos. (Foote et al., 1983).

Mediante técnicas de histofluorescencia, Andén et al. (1966) demostraron la existencia de sistemas monoaminérgicos cuyos axones ascienden desde el tronco cerebral bajo hacia el encéfalo rostral y señalaron al LC como una de las fuentes de estos sistemas. Loizou (1969) remarcó que las proyecciones del LC son difusas y Ungerstedt (1971) puso de manifiesto que estas proyecciones se encuentran prácticamente en todas las áreas del cerebro. Desde entonces un sinnúmero de estudios

han ampliado el conocimiento de los territorios de proyección de las eferencias del LC, entre éstos se comprenden el cordón espinal, el núcleo del tracto solitario, el núcleo motor dorsal del nervio vago, los núcleos comisurales, el LC contralateral, el núcleo parabraquial lateral, los núcleos pontis oralis y pontis caudalis, los núcleos del rafe, la substancia gris periaqueductal, el tectum, la corteza cerebelosa, ambos núcleos geniculados, diversos núcleos del tálamo ventral y anterior, diversos núcleos hipotalámicos como los periventriculares, arcuato y región hipotalámica lateral, la corteza frontal, parietal, temporal y occipital, la corteza del cíngulo, el hipocampo y el giro dentado, el núcleo central de la amígdala y los núcleos septales, el tubérculo olfatorio, núcleos olfatorios anteriores, el bulbo olfatorio y la corteza piriforme (Loizou, 1969; Olson y Fuxe, 1971; Ungerstedt, 1971; Lindvall y Bjärklund, 1974; Kobayashi et al., 1974; Swanson y Hartman, 1975; Mc Bride y Sutin, 1976; Sakai et al., 1977; Solano et al., 1981; Falers y Mogenson, 1976; Jones y Moore, 1977).

Los trabajos enfocados a determinar los campos de proyección de las fibras originadas en el LC indican que estas proyecciones presentan un patrón ordenado específico y a veces más denso de los que los trabajos iniciales sugirieron. Además, ahora se sabe que las neuronas que forman el LC, más que estar distribuidas al azar dentro del núcleo, están topográficamente organizadas respecto a sus proyecciones eferentes. También, esta organización de eferencias es particular en cuanto a que un pequeño número de

neuronas proyectan a muy diversas áreas cerebrales; es muy posible que cada neurona del LC mantenga ramas axónicas divergentes que inervan un gran campo terminal. Se ha demostrado que una sola neurona del LC puede proyectar a dos campos distintos (Morrison et al., 1979; Satoh et al., 1977; Mason y Fibiger, 1979; Room y Postema, 1988; Nakamura y Iwama, 1975).

En animales anestesiados, las neuronas del LC descargan espontáneamente, lenta y regularmente con frecuencias entre 1.1 y 2.6 Hz; en animales paralizados este valor es de 6-30 Hz (Foote et al., 1983). Los axones no mielinizados de estas células conducen los impulsos a una velocidad entre 0.2 a 0.86 m/seg (Aston-Jones et al., 1980; Faiers y Mogenson, 1976).

Experimentos en los que el LC fue lesionado o en los que el LC fue estimulado, observando respuestas electrofisiológicas o bien respuestas conductuales han permitido inferir que el LC participa en una diversidad de funciones. Por ejemplo, Sasa et al. (1974) demostraron que el LC produce una inhibición de la transmisión sensorial en las neuronas de relevo del núcleo espinal del nervio trigémino. Nakai y Takaori (1974) demostraron que el LC modula la respuesta de neuronas del núcleo geniculado lateral. Una gran mayoría de neuronas corticoespinales (Phillis y Kostoupoulos, 1977), de las piramidales del hipocampo (Segal y Bloom, 1974), de las de Furkinje del cerebelo (Hoffer et al., 1973), de las de la corteza del cíngulo (Dillier et al., 1978)

responden suprimiendo su frecuencia de descarga ante la estimulación del LC. Cambios en la presión arterial son provocados por estimulación del LC (Ward y Gunn, 1975). Una respuesta de hiperfagia en monos se describió después de la lesión del LC (Redmond et al., 1977). Osumi et al. (1975) observaron hiperdipsia en sus ratas lesionadas en el LC. Deficiencias en la capacidad de aprendizaje se presentaron en ratas lesionadas en el LC (Anlezark et al., 1973; Roberts et al., 1976).

Aunque diferentes manipulaciones experimentales alteran la descarga de las neuronas del LC, lo que indica que estas células reciben información de diversas regiones cerebrales, en los animales anestesiados el único estímulo sensorial externo que provoca respuesta es el nociceptivo (Cedarbaum y Aghajanian, 1976). Estímulos visuales, auditivos o táctiles no tienen efecto alguno (Cedarbaum y Aghajanian, 1978b). La estimulación del nervio vago, esplácnico o ciático, así como la estimulación de regiones como el bulbo olfatorio, región preóptica, hipotálamo ventromedial, sustancia gris, producen efectos convergentes excitadores y supresores en las neuronas del LC (Aghajanian et al., 1977; Takigawa y Mogenson, 1977; Igarashi et al., 1979). Así mismo, la hipercapnia y la hipoxia activan a estas neuronas (Elam et al., 1981). El cambio de volumen sanguíneo pero no el de la presión sanguínea altera la descarga neuronal del LC (Svensson y Thoren, 1979). Mientras que casi todas las neuronas cerebrales estudiadas durante el sueño MOR descargan a frecuencias semejantes a las observadas durante el estado de

vigilia, una población de neuronas del LC presenta una descarga lenta y regular durante la vigilia, menor actividad durante el sueño de ondas lentas y prácticamente no descargan durante el sueño MOR (Hobson et al., 1975). Adicionalmente, estas neuronas alteran su descarga inmediatamente antes de que se establezcan transiciones entre los estadios del ciclo sueño-vigilia. Dichos datos sugieren que las neuronas del LC pudieran llevar a cabo una función en el inicio o mantenimiento de las etapas del ciclo sueño-vigilia (Jouvet, 1967, 1969).

Por otra parte, existen evidencias que sugieren que las neuronas del LC cambian su actividad espontánea en relación a los niveles de vigilia. Un estado de vigilia marcado, como durante el despertar espontáneo o provocado por activación sensorial o bien durante la orientación hacia un estímulo inesperado o uno preferido, se asocia con un incremento tónico en la descarga de las neuronas del LC, mientras que, a estados de vigilia deprimidos como durante el sueño, el acicalamiento o ingesta, corresponden períodos de actividad disminuida del LC (Foote et al., 1980; Aston-Jones y Bloom, 1981a). Complementando lo anterior, en animales despiertos, ante estímulos simples como sonidos, destellos luminosos o táctiles y, ante estímulos complejos como la presencia de alimento u objetos novedosos, las neuronas del LC responden con trenes cortos (Aston-Jones y Bloom, 1981b).

Después de una extensa y profunda revisión de la literatura que sobre el LC se ha publicado, Amaral y Sinnamon

(1977) especulan sobre la importancia que este núcleo tiene para la integridad del organismo: "Una visión en conjunto de las teorías que postulan al LC como necesario y aun como agente privativo en los procesos de despertar, sueño, etcétera, parece que le otorgan una trascendencia desproporcionada a este núcleo. Estos estudios subestiman la complejidad de estas funciones y sobrestiman, quizás, la importancia de este pequeño núcleo. Es muy posible que el LC no sea esencial para estas funciones. Sin embargo, sus características anatómicas y fisiológicas le confieren una función moduladora. La influencia amplia y generalizada del LC se reflejará muy ligeramente en la conducta bajo diversas condiciones. En la mayoría de estas situaciones, la pérdida del LC difícilmente se notaría, sin embargo, bajo ciertas circunstancias, por ejemplo estrés intenso, la influencia del LC sería notable".

Footé et al. (1983) comentan, a su vez, que ya que las neuronas del LC presentan cambios sistemáticos en su frecuencia de descarga, dependientes de cambios específicos en la actividad cerebral o en el ambiente externo y, además, ya que existe una organización específica en la relación que guardan las neuronas del LC con otras áreas cerebrales, se puede sugerir que el LC lleva a cabo una función específica, no en términos de la modalidad sensorial a la que responden, ni en términos de mantener una comunicación con una zona particular. sino, más bien, el LC es específico en cuanto a que las características tanto de las señales que recibe como de las emitidas son alteradas en

una forma funcionalmente relevante.

Lo anterior sugiere que el LC es un componente integral de los sistemas cerebrales que procesan la información sensorial aumentando de alguna forma la eficiencia y confiabilidad de estos procesos.

**EL NUCLEO SUPRAQUIASMÁTICO COMO ESTRUCTURA
DETERMINANTE DE LAS FUNCIONES CICLICAS**

Los núcleos supraquiasmáticos (NSQ) del hipotálamo son un conglomerado de neuronas, de forma ovalada, cuyos ejes mayores se orientan en dirección anteroposterior, localizados en el hipotálamo anterior, justo al lado y abajo del tercer ventrículo e inmediatamente dorsales al borde caudal del quiasma óptico. En cortes coronales se presentan como un denso acúmulo celular en forma de círculo. La longitud anteroposterior es de aproximadamente 1 mm y su espesor máximo no es mayor de 0.5 mm. En cada núcleo se acumulan cerca de ocho mil neuronas en un volumen no mayor de 0.07 mm³. (Van den Pol, 1980).

Desde los trabajos de Richter (1967) en los que se demuestra que la lesión de la región ventral y medial del hipotálamo elimina los ritmos de ingesta y actividad en la rata, un gran número de trabajos se concentraron en el estudio de la fisiología y de las conexiones del NSQ.

Entre las aferencias notorias que recibe el NSQ se cuentan las provenientes de los núcleos del rafe (Saavedra et al., 1974) y las de la zona ventral del núcleo geniculado lateral (Swanson et al., 1974). Pero el hecho más trascendente en el estudio de las aferencias al NSQ fue presentado por Moore y Lenn en 1972, quienes pusieron fin a la controversia sobre la existencia de una vía retino-

hipotalámica. Así, después de la inyección de aminoácidos tritiados en la cámara posterior del ojo se encontró, mediante autorradiografía, proteínas marcadas en el NSQ, principalmente en su porción ventral. Otros núcleos hipotalámicos no fueron marcados, mientras que los relevos de la vía visual sí lo fueron. La vía retino-hipotalámica se presenta consistentemente en los mamíferos (Moore, 1973). Otras regiones que proyectan al NSQ son los núcleos septales mediales (Garris, 1979), el subiculum anteroventral del hipocampo (Meibach y Siegel, 1977), la región preóptica, el núcleo ventromedial y el núcleo arcuato del hipotálamo (Swanson, 1976; Meibach y Siegel, 1977; Zaborsky y Makara, 1979).

El estudio de las eferencias del NSQ se ha llevado a cabo mediante técnicas de autorradiografía (Berk y Finkelstein, 1981; Stephan et al., 1981), de inmunocitoquímica (Sofroniew y Weindl, 1978), de detección de axones degenerados subsecuentemente a la lesión del NSQ (Stephan et al., 1981) y de rastreo anterogrado (Watts et al., 1987). Entre las áreas de proyección del NSQ se encuentran el núcleo paraventricular y dorsomedial talámicos, el área preóptica, el septum lateral, el tálamo mediodorsal, la habénula lateral, la banda diagonal de Broca, el núcleo interpeduncular, la sustancia gris mesencefálica y el núcleo geniculado lateral.

Las neuronas del NSQ descargan espontáneamente a una frecuencia de 1 a 20 Hz; su descarga es oscilatoria. El haz retinohipotalámico ejerce una acción activadora sobre la

7

mayoría de las neuronas del NSQ, mientras que en un bajo porcentaje de neuronas ejerce una acción supresora (Nishino et al., 1976). La estimulación luminosa provoca una respuesta excitatoria de gran latencia en las neuronas del NSQ (Gross y Mason, 1978). Es posible que estas latencias representen una vía polisináptica a través del núcleo geniculado lateral (Swanson et al., 1974) puesto que la lesión del geniculado produce un decremento en el número de neuronas del NSQ que responden a la luz (Gross y Mason, 1978). La estimulación de los núcleos del rafe deprime la actividad de las neuronas del NSQ (Bloom et al., 1972). Por otro lado, la estimulación del NSQ produce una fuerte inhibición de la actividad neural del tronco cervical superior (Nishino et al., 1976) y de células hipotalámicas (Koizumi y Nishino, 1976).

Es un hecho claro que la mayoría de los fenómenos bioquímicos, fisiológicos y conductuales están sincronizados con el ritmo ambiental de 24 horas. Sin embargo, en condiciones ambientales constantes, persisten las variaciones de estos fenómenos, lo que indica la existencia de un ritmo endógeno que rige a estas funciones y, asimismo, implica la existencia de un oscilador o marcapaso interno. La localización de este oscilador y sincronizador ha sido motivo de varios trabajos (Turek, 1985).

Un hecho notorio enfocó la atención de los investigadores sobre el NSQ, ya que la destrucción bilateral del NSQ abole los ritmos circádicos de la conducta de ingesta, la actividad locomotriz y la secreción adrenal de

7

corticosterona en la rata (Moore y Eichler, 1972; Stephan y Zucker, 1972). Así también, una inmediata y mantenida supresión de los ritmos circádicos de sueño-vigilia y de temperatura es ocasionada por la lesión del NSQ (Ibuka et al., 1977; Eastman et al., 1984). La lesión del NSQ provoca pérdida del ciclo estral en la rata (Raisman y Brown-Grant, 1977).

La descripción del haz retinohipotalámico por Moore y Lénn, en 1972, ofreció evidencia suficiente para proponer a este haz junto con el NSQ como el sustrato anatómico a través del cual, la ciclicidad de diversas funciones que, al parecer dependen de la integridad del NSQ, sea sincronizada con el ritmo ambiental. La posibilidad de que la vía visual estuviera participando en esta sincronización quedó descartada por los trabajos de Stephan y Zucker (1972a), los de Dark y Asdourian (1975) y los de Moore y Eichler (1972) en los que la lesión de la vía visual o de sus núcleos de relevo no interfirió con los ritmos conductuales y hormonales ni con las respuestas sincronizadas por las señales luminosas.

La función de marcapaso autónomo de los ritmos circádicos, que el NSQ cumple, quedó establecida con los experimentos de Schwartz y Gainer (1977), en los que demostraron que la actividad del NSQ, expresada como consumo de glucosa por sus elementos neuronales, se incrementó durante la exposición a la luz; así mismo, mostraron que este consumo de glucosa sigue un ritmo endógeno aun en ausencia de las señales luminosas ambientales, cosa que no ocurre en otras regiones cerebrales. Por otro lado, esta función de

7

marcacao circádica fue aún mas apoyada por los experimentos de Inouye y Kawamura (1979) en los cuales registraron la descarga neuronal del NSQ y de otras zonas cerebrales. En las ratas intactas, la actividad espontánea presentó en dichas regiones una franca ritmicidad circádica, sin embargo, cuando el NSQ fue aislado del resto del cerebro mediante un corte efectuado con una cuchilla de Hálasz (Hálasz, 1965), la actividad circádica se perdió en las otras regiones cerebrales, no así en el NSQ donde el ritmo se mantuvo.

De esta forma tenemos que diferentes hallazgos experimentales indican que el NSQ de los mamíferos, al parecer, actúa como sincronizador de diversas funciones ritmicas con el ritmo ambiental, que un ritmo circádico neural endógeno se genera en este núcleo y que las señales ritmicas neurales provenientes del NSQ regulan, directa o indirectamente, muchas, sino es que todas, las funciones ritmicas bioquímicas, fisiológicas y conductuales (Turek, 1985).

EL ESTRO PERSISTENTE COMO MODELO DE ESTUDIO DE LOS FACTORES
QUE DETERMINAN EL CICLO ESTRAL

Es aceptado universalmente que el hipotálamo ejerce una influencia en la función hipofisiaria anterior mediante la liberación de hormonas polipeptídicas en los vasos portales de esta, las cuales aumentan o disminuyen la actividad de los diversos componentes de la glándula. El eje hipotálamo-hipófisis recibe numerosas entradas neuronales y humorales de gran diversidad de estructuras extra- e intra-hipotalámicas, las cuales armonizan en un complejo de circuitos (Martini, 1978).

La función ovárica depende de la actividad de uno de estos circuitos, el cual involucra tanto la secreción de hormonas como la activación de vías neurales intra- y extra-hipotalámicas. La maduración y liberación del óvulo en el ovario del mamífero acontece a intervalos regulares y predecibles, los cuales son específicos para cada especie. Esta ciclicidad de la actividad ovárica y sus mecanismos de control han sido un tema de intensa investigación interdisciplinaria en las décadas pasadas. El ciclo ovárico es producto de la interacción de un buen número de componentes en el sistema neuroendócrino. La secreción constante o comúnmente llamada secreción tónica tanto de la hormona luteinizante (LH) como de la hormona foliculoestimulante (FSH) (llamadas hormonas gonadotrópicas) por parte de la hipófisis anterior es ocasionada, a su vez, por

la liberación tónica de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LH-RH) por parte de la región ventromedial arcuata del hipotálamo. Adicionalmente a la secreción de estos componentes tónicos, estas hormonas gonadotrópicas son liberadas en grandes cantidades por la hipófisis a intervalos periódicos y regulares en la mayoría de los mamíferos; este componente cíclico, o descarga fásica, depende de la integridad de la región preóptica-supraquiasmática del hipotálamo. La liberación tónica de gonadotropinas estimula la maduración del folículo ovárico y la secreción de hormonas esteroideas ováricas, principalmente estradiol. La liberación fásica de gonadotropinas produce ovulación y la secreción de más hormonas esteroideas, principalmente progesterona. Estos esteroides ováricos actúan ambos tanto aisladamente como en un complejo de relaciones sinérgicas que aseguran la liberación periódica de gonadotropinas que da por resultado el proceso de ovulación y que, al final de cuentas, es el paso fundamental para que se lleve a cabo la fecundación y la generación de un nuevo individuo (Campbell y Turek, 1981). Así, los procesos que determinan la preservación de la especie se inician con una serie de eventos rítmicos.

Entre las funciones rítmicas que un organismo presenta están aquellas que se sincronizan con el ciclo luz-oscuridad que le impone el ambiente externo. De estas funciones dos categorías se pueden distinguir: las funciones rítmicas exógenas, que persisten sólo en presencia de las señales ambientales cotidianas y, los ritmos endógenos, los cuales

persisten aun en ausencia de esas señales. Los ritmos endógenos en ausencia de señales luminosas externas mantienen su oscilación libremente (Wurtman, 1975).

La naturaleza de ritmo endógeno de la actividad cíclica estral de la rata hembra es puesta de manifiesto cuando se suprimen las claves rítmicas luminosas provenientes del ambiente mediante exposición de los animales a oscuridad continua y se observa que éstos mantienen su actividad cíclica estral (Hoffman, 1967; Mc Cormack y Sridaran, 1978).

La actividad rítmica estral de la rata hembra, cuyo periodo es de 4-5 días (Mc Cormack y Sridaran, 1978), ha llamado la atención de diversos investigadores que se han dedicado a identificar las estructuras y a caracterizar los mecanismos que determinan la naturaleza cíclica de esta actividad estral.

Con base en experimentos en los que la administración diaria de barbituratos atrasó la ovulación en intervalos de 24 horas, Everett y Sawyer (1950) concluyeron que la secreción preovulatoria de la LH en la rata presenta una periodicidad de 24 horas. Por otro lado, ya que el momento de la descarga fásica de la LH en el plasma puede atrasarse en respuesta a cambios correspondientes del fotoperíodo (Blake, 1975), es posible pensar que esta periodicidad de 24 horas mantiene una sincronización con el horario de luz-oscuridad. Hansen et al. (1978) estudiaron la receptividad sexual en ratas estimuladas con estradiol. Los efectos conductuales de dicha estimulación dependieron del momento durante el ciclo luz-oscuridad en el que se efectuó la estimulación; los

efectos máximos se observaron solo cuando el estradiol fue suministrado a las 16 horas; además, estos efectos fueron eliminados por lesión del NSQ. Dichos datos sugirieron a los autores que el cambio en la respuesta al estradiol durante el ciclo de luz-oscuridad es debido a un ritmo diario en la capacidad de respuesta conductual, indicándose así la existencia de una organización circádica del ciclo estral de la rata en la que el NSQ está involucrado. Las lesiones del NSQ, en ratas de dos días de nacidas, efectuadas por Mosko y Moore (1979), provocaron un EP cuando éstas alcanzaron la edad adulta; así mismo, los niveles plasmáticos de LH se mantuvieron constantemente bajos, lo que les indicó que la principal anormalidad causada en las ratas lesionadas en el NSQ neonatalmente podría ser la ausencia de la señal generada diariamente para que se produzca la secreción fásica ovulatoria de LH.

Sin embargo, la naturaleza de ritmo endógeno del ciclo estral no puede ser demostrada cuando, mediante la exposición de la rata hembra a luz brillante constante (LL), se suprimen las claves ambientales rítmicas luminosas pues, en estas circunstancias, se obtiene un peculiar panorama conductual, hormonal y de citología vaginal, denominado **estro persistente (EP)**.

La condición de EP está caracterizada por una supresión de la actividad cíclica estral. La citología vaginal presenta un aspecto continuo de células cornificadas resultado de la constante secreción de estrógenos por los folículos

desarrollados hasta una etapa prevulatoria (Fiske, 1941). El peso uterino es mayor que el de las ratas expuestas a ciclos normales de luz y oscuridad (Daane y Parlow, 1971). La receptividad sexual es continua (Hoffman, 1967). Respecto a los niveles hormonales se tiene que las concentraciones de gonadotropinas hipofisiarias son mayores que las obtenidas durante el ciclo estral normal aunque por debajo de los niveles obtenidos durante el día de proestro (Daane y Parlow, 1971; Naftolin et al., 1972; Singh y Greenwald, 1967). El valor de los niveles séricos de estradiol está entre el valor alcanzado en la noche del diestro de un ciclo normal y el valor de la mañana del proestro (Takahashi, 1977).

Las alteraciones del ciclo estral que se suscitan en los animales expuestos a LL ha sido motivo de varios estudios. En 1941, Fiske presentó uno de los primeros trabajos sistematizados en el estudio de los eventos que se llevan a cabo durante el EP provocado por exposición de la rata a LL. Describe que en la rata hembra joven mantenida en un ambiente luminoso se encontraron periodos prolongados de estro; además, el ovario, el útero y la hipófisis de estos animales pesaron más que los órganos similares de los animales control. El aspecto del epitelio uterino le indicó una actividad secretora marcada de estrógenos. Los animales expuestos a la luz por casi un año frecuentemente presentaron metaplasia del útero y pyometria secundaria. Como ambos fenómenos han sido inducidos experimentalmente por inyección continua de estrógenos, la autora pudo inferir que durante la exposición a la luz se llevo a cabo una secreción alta de

estrogenos. Concluye la autora que la estimulación de la hipófisis de la rata hembra por la luz incrementa la producción y liberación de FSH.

Los niveles séricos de las hormonas gonadotrópicas fueron determinados en ratas expuestas a LL por Daane y Parlow (1971). El evento más notable fue la disminución de la incidencia de la descarga fásica normal de la LH durante la tarde del proestro aún durante el primer ciclo en LL. El valor sérico promedio de la LH fue ligeramente mayor que el obtenido el día del estro en un ciclo estral normal. El valor sérico promedio de FSH superó ligeramente al obtenido en el diestro y por debajo notablemente del valor obtenido en el estro de un ciclo normal. Los autores concluyen de sus resultados que el EP inducido en las ratas por exposición a LL pudiera ser explicado por una hipersecreción constante pero ligera de la FSH y de la LH más que por una elevada hipersecreción de dichas gonadotropinas.

Los efectos iniciales de la LL sobre los eventos que componen el ciclo estral de la rata hembra fueron descritos por Campbell y Schwartz (1980). Durante el primer ciclo estral en condiciones de LL, se distinguen dos poblaciones de animales, la primera responde a este régimen retardando los eventos del ciclo estral, la segunda población definitivamente no ovula. Durante el segundo ciclo en LL, los animales pueden ovular antes que el grupo control, ovular después que el grupo control o no ovular. Sin embargo, en general, los eventos hormonales y conductuales mantuvieron

una consistencia interna considerable. Durante el segundo ciclo en LL, el establecimiento de la actividad locomotriz se disoció de los otros ritmos que componen el ciclo estral como el conductual y el hormonal. Así, el ritmo de establecimiento de la actividad locomotriz presentó consistentemente un desenvolvimiento libre, al tiempo que los máximos de receptividad y de niveles hormonales presentaron adelantos o retrasos. En ciclos normales de luz-oscuridad, la actividad locomotriz mantiene una constancia en sus relaciones de fase con el momento de la ovulación en las ratas (Carter, 1972). Los autores concluyen que a pesar del hecho de que las ratas hembras responden a la LL cambiando los eventos del ciclo estral o dejando de ovular, en la mayoría de los casos, los eventos hormonales en estas circunstancias mantienen su relación interna normal.

Las evidencias hasta aquí presentadas respaldan la existencia de un mecanismo que confiere al ciclo estral una naturaleza circádica, puesto que presenta una periodicidad de 24 horas que parece obedecer a un ritmo endógeno y que mantiene una sincronización con el fotoperiodo ambiental. Las evidencias, además, indican que, al parecer, la estructura crítica que cumple la función de proporcionar la señal sincronizante que determina la ritmicidad de la actividad estral es el NSQ pues, por un lado, este núcleo es la única estructura fuera de la vía visual que recibe aferencias provenientes de la retina (Moore y Lenn, 1972) y, por otro lado, la vía visual no parece ser necesaria para mantener las funciones rítmicas (Dark y Asdourian, 1975; Moore y Eichler,

1972; Steonan y Zucker, 1972b). Por último, las evidencias también indican que cuando esa señal sincronizante, mediada por el NSQ, no se proporciona debido a la exposición a LL, se suprime la ritmicidad de la actividad estral.

De esta forma, puede considerarse al EP producido por la exposición a LL como una respuesta de los mecanismos neuroendócrinos que regulan la actividad gonadotrópica ante la alteración de una de sus etapas necesarias para su funcionamiento normal. En otras palabras, el EP inducido por LL es una respuesta producida por el cambio en el estado de funcionalidad del NSQ (Schwartz, 1982).

Otros factores que pudieran participar en la respuesta de EP ante la exposición a LL se han estudiado. Wurtman et al. (1964) sugirieron la posibilidad de que el EP inducido por LL pudiera estar mediado por la glándula pineal. Sin embargo, la pinealectomía no tuvo efecto alguno sobre el proceso de establecimiento del EP (Reitter, 1973). Moore y Rapport (1971) de sus experimentos de denervación de la glándula pineal indican que los efectos sobre la función de la pineal mediados por la luz no son esenciales para que se establezca y mantenga la respuesta de EP producido por la LL.

Por otro lado, es posible suponer que el EP inducido por LL es debido a la falta de oscuridad más que a la falta de una periodicidad externa. Eso se apoya en el hecho de que ratas expuestas a oscuridad constante, donde tampoco existe una periodicidad externa, no presentan un EP. También, ratas ciegas, incapaces de detectar la periodicidad externa tampoco

presentan un EP (Hoffman, 1967). Además, un incremento en la intensidad de la LL acelera el establecimiento del EP (McCormack y Sridaran, 1978). Sin embargo, animales expuestos a ciclos de 2 horas de luz por 2 horas de oscuridad presentan un EP aun cuando existe una periodicidad externa y estuvieron expuestos a la misma cantidad de oscuridad que las ratas expuestas a ciclos de 12 horas de luz por 12 horas de oscuridad (Chen y Besch, 1971).

Ya que el ciclo estral obedece a mecanismos circádicos (McCormack y Sridaran, 1978), no es de extrañar que la lesión del NSQ ocasione la pérdida del ciclo estral y de la ovulación manifestada por la presencia de cornificación vaginal persistente (Brown-Grant y Raisman, 1977; Raisman y Brown-Grant, 1977). Aún más, la lesión del NSQ a los dos días de edad produce el estado de EP cuando se alcanza la edad adulta (Mosko y Moore, 1979).

Para explicar el EP producido por la lesión del NSQ se ha sugerido que éste pudiera ser el sustrato neural que genera la liberación de LH debida a la estimulación por estrógenos. Así, la lesión del NSQ ocasionaría una desorganización de la variación normal diurna de la sensibilidad a los efectos facilitadores de las hormonas esteroideas ováricas (Brown-Grant y Raisman, 1977; Gray et al., 1978). Lo anterior se basa en el hecho de que la lesión del NSQ no produce una deficiencia en la regulación tónica de la LH, sin embargo, la lesión del NSQ abole la liberación rásica de LH en respuesta a estimulación por esteroides ováricos.

Varias semejanzas pueden encontrarse entre los efectos ocasionados por la lesión al NSQ y los ocasionados por la exposición a LL. En ambos casos se obtiene anovulación acompañada de cornificación vaginal persistente y de ovarios polifoliculares. Además no se encuentra facilitación normal de liberación de LH en respuesta a los esteroides gonadales. También los animales en dichas condiciones presentan una alta receptividad sexual (Brown-Grant, 1973; Brown-Grant y Raisman, 1977; Gray et al., 1978).

Aunque en la literatura han sido descritos ampliamente los eventos que componen el estado de EP, aún es difícil afirmar cual es la naturaleza exacta de sus mecanismos (Schwartz, 1982; Campbell y Schwartz, 1980; Lawton y Schwartz, 1967). Lo que si es claro, es que el NSQ y la vía retinohipotalámica son determinantes en el establecimiento del EP inducido por la LL. Campbell y Schwartz (1980) enfatizan que el complejo impacto que la LL produce sobre el ciclo estral va más allá de privar al organismo de señales temporales externas. Por otro lado, el que se presente también una respuesta de EP ante la lesión del NSQ bien pudiera indicar que el EP representa un síntoma generalizado de una alteración de la función reproductora que ocurre en los diversos niveles de la vía neuroendócrina hipotálamo-hipófisis-ovario (Schwartz, 1982).

Schwartz (1982) ha comentado que de alguna manera la respuesta de EP ante la exposición a LL pudiera ser considerada como respuesta a la "lesión funcional" del NSQ.

7

Esto sería aceptable considerando solamente las manifestaciones conductuales externas que presentan los animales expuestos a LL, y que son semejantes a las presentadas por animales lesionados en el NSQ. Sin embargo, conviene ser cauteloso al suponer que la exposición a la LL produce un efecto de cancelación total de actividad del NSQ de la misma forma que lo hace una lesión electrolítica del NSQ. Así, las evidencias experimentales indican que la luz, al contrario de disminuir la actividad del NSQ, activa a este núcleo. Schwartz y Gainer (1977) ofrecieron evidencias que señalan que el consumo de glucosa del NSQ, como indicador de su actividad, aumenta durante la exposición a la luz. Nishino et al. (1976) describieron que casi la mitad de las neuronas registradas en el NSQ aumentaron su actividad ante la estimulación del nervio óptico o ante la estimulación luminosa mientras que, una cuarta parte de las neuronas mostró una franca inhibición de su actividad ante estos estímulos.

Con estos datos es difícil pensar que la exposición a luz sea una maniobra semejante a la lesión del NSQ. Así, aunque en ambos casos el EP obtenido refleja una alteración de la organización normal neuroendócrina determinada por la actividad del NSQ, el mecanismo de establecimiento del EP producido por exposición a LL, que necesariamente implica la participación del NSQ y del haz retino-hipotalámico, deberá ser completamente diferente al mecanismo de establecimiento del EP producido por la lesión del NSQ en el cual, obviamente, este núcleo ya no participa.

De lo anterior, el EP producido en la rata por exposición a LL se pudiera prestar como modelo de estudio de la actividad del NSQ relacionada con la ciclicidad estral en tanto que este EP es una respuesta específica determinada por la alteración del funcionamiento del NSQ, mientras que, el EP producido por la lesión del NSQ se pudiera prestar como modelo de estudio de los procesos neuroendócrinos gonadotrópicos en tanto que este EP es una respuesta determinada por la falta de suministro de claves sincronizantes que producen cambios de excitabilidad a lo largo del ciclo estral.

INFLUENCIAS NORADRENERGICAS SOBRE LA ACTIVIDAD GONADOTROPICA

Para que la actividad ciclica estral de la rata se lleve a cabo, una serie de estructuras combinan sus acciones ocasionando una diversidad de eventos neuroendocrinos como liberación de hormonas y liberación de neurotransmisores en sitios especificos. Existen numerosas evidencias de que mecanismos noradrenergicos centrales influyen en la secreción y liberación de hormonas gonadotropicas.

Los primeros experimentos al respecto, realizados por Markee et al. (1946) indicaron que la hipófisis anterior era inevitable eléctricamente ante estímulos localizados, los cuales, por otra parte, si indujeron ovulación cuando fueron aplicados al hipotálamo basal. Dichos experimentos sugirieron que la hipófisis anterior pudiera ser activada por un mediador humoral proveniente del hipotálamo. Posteriormente, el grupo de Sawyer indujo ovulación en el conejo por infusión de adrenalina directamente en la hipófisis (Markee et al., 1948). Sawyer (1952), ya disponiendo de equipo estereotáxico y de NE pura, efectuó inyecciones de esta hormona en el tercer ventrículo cerebral y pudo inducir ovulación. Sin embargo, surgió la pregunta de si la NE inyectada en el ventrículo fue acarreada hacia el sistema portal y ejerció un estímulo directo en la hipófisis o si la infusión alcanzó y estimuló a neuronas hipotalámicas y ejerció una influencia indirecta. En aquel entonces (Sawyer, 1952) y en experimentos mas recientes (Sawyer y Redford, 1978), se encontró que el

efecto ovulatorio producido por la inyección intraventricular de NE pudo ser bloqueado por suministro de pentobarbital a dosis bajas. Dichos resultados les sugirieron que la acción ovulatoria de la NE se ejerce en el cerebro, más que a nivel de la hipófisis.

Diseños experimentales aún más específicos han puntualizado que la actividad noradrenérgica cerebral está involucrada en la regulación de la secreción de gonadotropinas. La inyección de NE intraventricular puede inducir la ovulación en ratas en las que se ocasionó anovulación por lesión del hipotálamo anterior o por exposición a LL (Tima y Flerkó, 1974). Kalra y McCann (1974) encontraron que una dosis grande de alfa metil paratirostina, que es una sustancia que inhibe la síntesis de catecolaminas, fue capaz de bloquear tanto la elevación preovulatoria plasmática de LH como la ovulación en ratas durante la fase de proestro. De forma similar, una dosis grande de dietilditiocarbamato, que es una sustancia que produce depleción de las reservas noradrenérgicas cerebrales, también inhibió la ovulación y la liberación de LH. La administración de NE intraventricular en ratas despiertas ambulantes que fueron ovariectomizadas y tratadas con hormonas ováricas produjo un aumento de la LH plasmática (Krieg y Sawyer, 1976).

Desde los trabajos iniciales de Vogt (1954) que mostraron que el hipotálamo del perro contiene altas concentraciones de NE, numerosos investigadores han dedicado su trabajo a localizar el origen y la terminación de las vías

de este y otros neurotransmisores. En 1971, Ungerstedt publicó un atlas de la distribución de fibras monoaminérgicas en el cerebro de la rata, donde se muestra que las fibras noradrenérgicas, que terminan en la zona interna de la eminencia media, provienen del tallo cerebral. Swanson y Hartman (1975) describieron una vía adrenérgica principal proveniente del LC que viaja ventrolateralmente a la sustancia gris hacia el encéfalo rostral. Los núcleos hipotalámicos, además de la inervación noradrenérgica que reciben desde el LC vía el haz noradrenérgico dorsal reciben también un importante suministro de terminales noradrenérgicas de otros diversos núcleos del tallo cerebral vía el haz noradrenérgico ventral (Palkovits et al., 1977). Posteriormente, Palkovits et al. (1976), haciendo uso de la técnica de Halász (1965), mostraron que el hipotálamo al ser aislado pierde hasta un 80% de su contenido de NE.

Los trabajos posteriores exploraron los efectos de manipular las vías noradrenérgicas que proyectan al hipotálamo y que, al parecer, participan en la función gonadotrófica: el panorama se complicó ante los resultados conflictivos presentados por diversos grupos de investigación. Martinovic y McCann (1977) encontraron que la lesión neuroquímica del haz noradrenérgico ventral con la neurotoxina 6-hidroxidopamina en ratas normales y en ratas ovariectomizadas tratadas con hormonas ováricas, ocasionó una reducción del contenido de NE en el hipotálamo y la secreción de hormonas gonadotróficas fue bloqueada o afectada. Dichos

resultados sugirieron a los autores que la NE esta involucrada en la descarga preovulatoria de gonadotropinas. Por otro lado, existen datos que estan en conflicto con esta última aseveración. Nicholson et al. (1978) inyectaron la neurotoxina, 6-hidroxi-dopamina, en las zonas por donde se desplaza el haz noradrenérgico ventral y encontraron un marcado abatimiento de los niveles de NE en diversos núcleos hipotalámicos, sin embargo, a pesar de la lesión neuroquímica, los valores plasmáticos de hormonas gonadotrópicas en ratas intactas y castradas no fueron significativamente diferentes a los valores de las ratas control. Clifton y Sawyer (1979) efectuaron cortes bilaterales de ambas vías noradrenérgicas dorsal y ventral y encontraron que dicha maniobra parece no interferir con el proceso de ovulación ni con la descarga fásica de LH en la fase del proestro a pesar de que se provocó una depleción sustancial de los niveles de NE hipotalámica.

Posteriormente, varios grupos de trabajo enfocaron su atención a estudiar la participación del LC sobre la función ovulatoria. En experimentos realizados en rata prepúberes y ovariectomizadas, la lesión electroquímica del LC provocó una reducción del contenido de NE hipotalámica y provocó también un marcado decremento de los niveles de gonadotropinas plasmáticas (Endröczy et al., 1978). La estimulación electroquímica del LC de ratas anovulatorias por exposición a LL no indujo ovulación (Carrer y Taleisnik, 1979). En contraste, en 1982, Dotti y Taleisnik, al estimular electroquímicamente al LC de ratas ovariectomizadas y

estrogenizadas, lograron bloquear la liberación de LH que se produce por la estimulación eléctrica de la región preóptica medial. Con esa misma maniobra aplicada al LC, también bloquearon la ovulación y la descarga fásica de LH en ratas despiertas. En ese mismo año, Solano et al. (1982) al lesionar electrolíticamente el LC de ratas, produjeron una supresión transitoria de la actividad ciclica estral. Más adelante, en 1985, Anselmo y Antunes indicaron que, al lesionar el LC de ratas, bloquearon la descarga fásica de LH del día del proestro en el que efectuaron la lesión y produjeron un ciclo estral irregular y errático con periodos prolongados de diestro y de estro. Leung et al. (1981), por su parte, describen que la estimulación electroquímica del LC a veces no tiene efectos, produce bloqueos parciales o, a veces, totales de la secreción de LH en ratas ovariectomizadas. Como consecuencia de estos estudios se ha propuesto que la NE pudiera tener ambos efectos, el facilitador y el inhibidor, sobre la liberación de gonadotropinas, dependiendo, en parte, del ambiente esteroideo en que se encuentra la rata.

Clifton y Sawyer (1980) estudiaron los efectos facilitadores e inhibidores que las hormonas esteroideas ejercen sobre la secreción de LH, y encontraron que ambas acciones permanecen intactas después de cancelar los mecanismos noradrenergicos hipotalámicos. Concluyen los autores que aunque es claro que la NE normalmente está involucrada en el control de la secreción de LH, puesto que

el bloqueo de la NE también produce un bloqueo de la liberación de LH, no parece que la NE sea un factor determinante para que se produzca la secreción de la LH, mas, sin embargo, sí ejerce una influencia moduladora amplia.

De esta forma, se han concretado evidencias experimentales que apoyan la existencia de sustratos anatómicos que explican las influencias noradrenérgicas en el control de la secreción de hormonas gonadotrópicas y de la función ovárica, sin embargo estos trabajos no estudian el lugar o núcleo específico sobre el cual estas influencias noradrenérgicas se transducen en acciones moduladoras de la secreción de gonadotropinas.

Mediante la técnica de microdissección de núcleos cerebrales (Palkovits, 1973) y los métodos de detección de neurotransmisores se demostró que el núcleo paraventricular del hipotálamo, el NSQ, el perifornical, el área retroquiasmática, el núcleo dorsomedial y la eminencia media presentan altas concentraciones de NE (Palkovits et al., 1974). Usando estas técnicas, Selmanoff et al., (1976), encontraron que solamente en el NSQ se presentó un aumento significativo en la concentración de NE entre la mañana y la tarde del proestro, mientras que en otros núcleos hipotalámicos no hubo cambios, sugiriendo los autores que terminales noradrenérgicas en el NSQ pudieran estar involucradas en la descarga fásica de gonadotropinas. Por otro lado, Moore (1970) indica que es muy posible que proyecciones noradrenérgicas provenientes del tallo cerebral alcancen el NSQ. Aunque el NSQ no presenta un número

significante de fibras noradrenergicas, si esta rodeado por una densa capsula de terminales axonicas noradrenergicas, con las cuales pudieran establecer contacto las dendritas del NSQ que hacia fuera de el se extienden (Krieg, 1932). El grupo de Barraclough efectuó una correlación de los fenómenos de liberación de NE en diversos núcleos hipotalámicos con los cambios en los niveles de gonadotropinas séricas durante el diestro y el proestro en la rata. Los autores encontraron que antes y durante la descarga fásica de gonadotropinas, la liberación de NE en la eminencia media aumentó notablemente. Conforme las gonadotropinas alcanzaron su valor máximo, aumentó la NE liberada en los núcleos preópticos mediales, en el NSQ y en el núcleo arcuato. Dichos eventos no ocurrieron en el diestro. Los autores concluyen que la liberación de NE es esencial para afectar el sistema preoptico-supraquiasmático-tuberoinfundibular para la expresión completa de la descarga fásica de LH (Rancé et al. 1981).

Las evidencias experimentales hasta aquí descritas indican que la participación de influencias noradrenergicas y, en particular, la del haz noradrenergico dorsal proveniente del LC sobre la regulación de la actividad gonadotrópica y de la ciclicidad ovárica es un tema que requiere aún de estudio adicional. La complejidad y delicadeza de los diversos eventos neurohumorales que intervienen en esta función obliga a que los diseños experimentales sean aún más específicos y localizados para detectar el significado funcional de la posible influencia

que este núcleo -el LC- ejerce sobre las estructuras y los
mecanismos involucrados en la función gonadotrópica.

POSIBLE PARTICIPACION DEL LOCUS COERULEUS EN LOS FACTORES QUE DETERMINAN EL CICLO ESTRAL

Planteamiento del problema

En 1982, Solano et al. describieron que la lesión electrolítica del LC ocasionó una supresión transitoria de la actividad ciclica estral en la rata hembra no manipulada previamente. Este hecho indicó que el LC pudiera estar participando en la modulación de los mecanismos neuroendócrinos que determinan la expresión normal de la actividad ciclica estral. Pero además, ya que una actividad ciclica fue trastornada por el daño anatómico al LC, en forma más general, puede sugerirse que existe una posible interacción del LC con la actividad de aquellas regiones cerebrales que regulan funciones ritmicas.

Varios trabajos ofrecen evidencias experimentales que indican que el ciclo estral depende de una organización circádica (Hansen et al., 1978; McCormack y Sridaran, 1978; Mosko y Moore, 1979; Everett y Sawyer, 1950; Blake, 1975; Hoffman, 1967). Existen evidencias que apoyan al NSQ como un marcapaso circádico (Schwartz y Gainer, 1977; Inoue y Kawamura, 1979). Diversos autores han enfatizado que el NSQ es un regulador circádico esencial (Brown-Grant y Raisman, 1977; Eastman et al., 1984; Raisman y Brown-Grant, 1977). Por ejemplo, ciertos ritmos conductuales (Stephan y Zucker, 1972a) y ritmos hormonales (Moore y Eichler, 1972) se cancelan despues de que el NSQ ha sido dañado. Parece ser que

estos ritmos dependen de la información luminosa que impacta en el NSQ, ya que dichos ritmos no se ven afectados al ser seccionados los tractos ópticos (Moore y Eichler, 1972; Stephan y Zucker, 1972b). Evidencias histológicas (Moore y Lenn, 1972) y electrofisiológicas (Nishino et al., 1976) apoyan la existencia de una proyección directa desde la retina hacia los elementos neurales del NSQ. Esta proyección retinohipotalámica parece ser específica para el NSQ ya que no existen evidencias histológicas que indiquen la existencia de proyecciones retinohipotalámicas a otros núcleos hipotalámicos (Moore, 1973). Las proyecciones visuales centrales parecen no ser esenciales para las funciones que dependen del ciclo luz-oscuridad, ya que la destrucción de los tractos ópticos (Stephan y Zucker, 1972b) o de los núcleos visuales centrales (Dark y Asdourian, 1975) no interfieren con los ritmos conductuales ni con las respuestas esperadas normalmente a las señales luminosas. Por otro lado, se ha sugerido que terminales noradrenérgicas en el NSQ pudieran estar involucradas en la neurosecreción de gonadotropinas pues, la liberación de NE en el NSQ aumenta durante la tarde del proestro (Selmanoff et al., 1976; Moore, 1970; Rance et al., 1981). Y, por último, ya que la actividad multiunitaria del NSQ aumenta notablemente durante la noche del proestro, cosa que no ocurre en animales con sección del tracto óptico, se ha señalado que la integridad de la conexión retinohipotalámica se requiere para mantener la ciclicidad hormonal (Pardey-Borrero et al., 1995). Los

7

experimentos anteriores apoyan la idea de que la vía retinohipotalámica y el NSQ transmiten y procesan la información luminosa hacia aquellas estructuras cerebrales que regulan las respuestas conductuales y neuroendócrinas ocasionadas por las señales luminosas (Moore y Lenn, 1972).

En vista de estos hechos, se decidió realizar el presente proyecto con el propósito de determinar la existencia de una posible interacción funcional entre el NSQ como una estructura esencial para la regulación del ciclo estral y el LC como una estructura moduladora de la actividad cíclica estral. Si esta interacción funcional existiera, entonces, una respuesta específica dependiente del estado de funcionalidad del NSQ debería ser alterada cuando la función del LC fuera afectada. Para someter a prueba esta última aseveración se consideraron los hechos siguientes. La exposición de las ratas hembras a LL provoca que estas desarrollen un estado mantenido de cornificación vaginal, anovulación, una conducta de receptividad continua y diversos desequilibrios de los eventos hormonales. Este estado, que implica la participación del NSQ, es conocido como EP (Campbell y Schwartz, 1980; Lawton y Schwartz, 1967; Schwartz, 1982). Así pues, en la primera parte del presente estudio, un lote de ratas hembras fue expuesto a LL, una vez alcanzado el estado de EP, el LC de estos animales fue lesionado electrolíticamente.

Adicionalmente, cuando el NSQ es lesionado, se obtiene también un estado de EP (Brown-Grant y Raisman, 1977; Raisman y Brown-Grant, 1977). Se ha sugerido que el hecho de que el

EP se presente también ante la lesión del NSQ bien pudiera indicar que el EP representa un síntoma generalizado de una alteración en la función reproductora que ocurre en los diversos niveles de la vía neuroendócrina hipotálamo-hipófisis-ovario (Schwartz, 1982). Por otro lado, el LC está comunicado con diferentes sistemas neurales involucrados en la actividad neuroendócrina y sexual (Berk y Finkelstein, 1981; Cedarbaum y Aghajanian, 1978; Jones et al., 1977; Jones y Moore, 1977; Velasco y Taleisnik, 1969a, 1969b). En vista de estos hechos, la posible acción moduladora del LC sobre los mecanismos neuroendócrinos gonadotrópicos propuesta previamente (Solano et al., 1982) podría aún más ser apoyada si el EP inducido por lesión del NSQ fuera afectado por la alteración de las funciones del LC. Así pues, en la segunda parte del presente estudio, un lote de ratas hembras fue lesionado en el NSQ y, una vez alcanzado el estado de EP, el LC de estos animales fue lesionado electrolíticamente.

La descripción de la metodología empleada y la de los resultados obtenidos así como su discusión se presentan en los siguientes dos documentos.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Effect of Locus Coeruleus and Periventricular Gray Substance Lesions on Bright Light-Induced Persistent Estrous¹

LUIS PASTOR SOLANO-FLORES,^{2,3} OLGA ALEJANDRA DONATTI-ALBARRÁN AND ROSALINDA GUEVARA-AGUILAR

*Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, U.N.A.M.
Apdo. Postal 70250, 04510-México, D. F. México*

Received 12 February 1986

SOLANO-FLORES, L. P., O. A. DONATTI-ALBARRÁN AND R. GUEVARA-AGUILAR. *Effect of locus coeruleus and periventricular gray substance lesions on bright light-induced persistent estrous.* BRAIN RES BULL 17(6) 759-765, 1986.—To assess the relation between the suprachiasmatic nucleus and the locus coeruleus, persistent estrous was induced in female rats by exposure to constant bright light followed with electrolytic damage of the locus coeruleus. Locus coeruleus lesions resulted in a transient loss of persistent estrous indicated by sustained diestrous aspect of the vaginal smears. There was a direct correlation between duration of estrous loss and the amount of locus coeruleus damage. Simultaneous damage to the periventricular gray substance adjacent to the locus coeruleus prevented the suppression effects of locus coeruleus damage upon persistent estrous. These results suggest a physiological role of the locus coeruleus and periventricular gray substance in the modulation of the neuroendocrine control of ovarian function due to suprachiasmatic nucleus activity.

Estrous cycle Locus coeruleus Constant bright light Periventricular gray substance
Persistent estrous Suprachiasmatic nucleus

SINCE the noradrenergic neurons of the locus coeruleus (LC) innervate practically the entire brain [20,40], it is involved in several functions [1,11]. There is evidence that the LC plays a role in feeding and drinking [30], sleep [4, 7, 17], aggression [10], attention [31], stress [4,18], memory [44] and in the somatosensory [32], visual [26] and olfactory [35,36] pathways.

The suprachiasmatic nucleus (SCN) of the hypothalamus is an autonomous circadian pacemaker [14,34], and its role as a regulator of circadian rhythms has been emphasized [3, 9, 29]. For example, some behavioral [38] and hormonal [23] rhythms are eliminated following damage to the SCN. Since these rhythms are not affected by sectioning the optic tracts [23,39], it seems likely that these rhythms depend on light information impinging upon the SCN. Histological [24] and electrophysiological [27] evidence supports the hypothesis of a direct projection from the retina to the SCN. The retinohypothalamic pathway seems to be specific for the SCN, since there is no evidence for retinohypothalamic projections

to other hypothalamic nuclei [22]. The central visual projections do not seem essential for functions which are dependent upon the light-dark cycle, since destruction of the optic tracts [39] or of central visual nuclei [8] does not interfere with behavioral rhythms nor with the responses to light cues, as would be expected normally. The aforementioned data support the idea that the retinohypothalamic pathway and the SCN transmit and process light information to those brain structures regulating behavioral and neuroendocrine responses to environmental light cues [24].

The estrous cycle depends on a circadian organization [13, 21, 25]. We have recently shown that electrolytic damage of the LC causes a transient cessation of the rhythmic estrous cyclicity in the naive female rat [37]. This suggests that the LC might participate in the modulation of the normal expression of the estrous cycle.

The present study was performed to assess whether a possible functional interaction exists between the SCN, as an essential structure for the estrous cycle regulation, and

¹This research was supported in part by CONACYT grant PCSABEU-002187.

²Requests for reprints should be addressed to Luis Pastor Solano-Flores, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, U.N.A.M., Apdo. Postal 70250, 04510, México, D. F., México.

³Holder of CONACYT fellowship No. 51305.

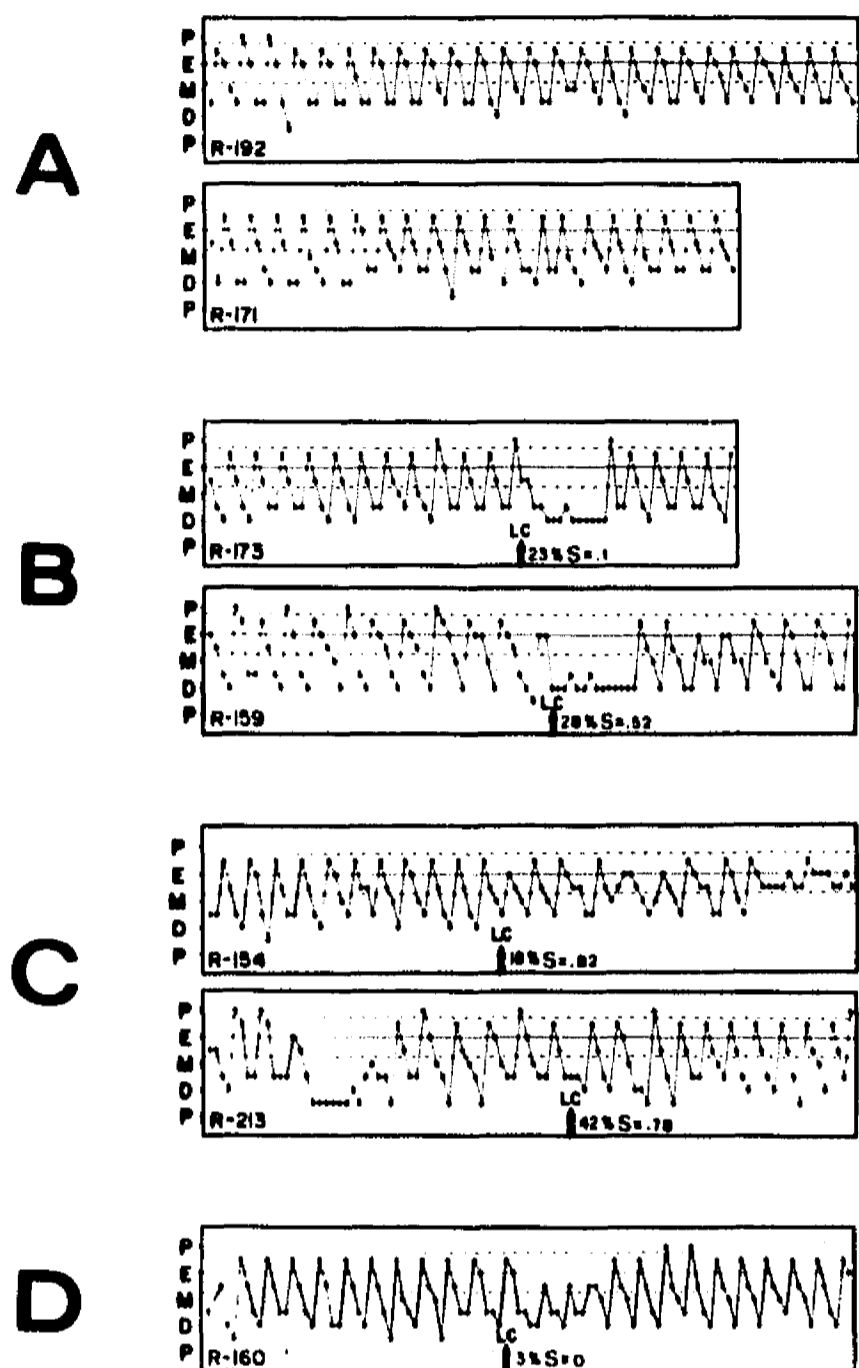


FIG. 1. Estrous cyclicity charts from normal cycling, non manipulated and LC lesioned rats. P=proestrous, E=estrous, M=metaestrous and D=diestrous. Each black dot represents the corresponding stage of the vaginal smear for that day. Notice that intermediate stages are also indicated. The E position is indicated by a continuous horizontal line. Both dashed lines delimit the E band. Any point enclosed by the E band corresponds to a vaginal cytology in which estrous elements were observed. Lower left labels are the rat identification numbers. The black vertical arrow at the bottom of a chart signals the day in which the locus coeruleus (LC) lesion was made. The number accompanied by the percentage symbol refers to the percentage of LC destroyed. The S letter refers to the ratio of damaged periventricular gray substance adjacent to the LC relative to the total LC area. A: Charts from normal cycling non manipulated rats. B: Charts from normal cycling rats with LC lesion effect. C: Charts from normal cycling rats with ineffective LC lesion. D: Charts from a rat with only a very small LC lesion.

the LC, as a modulating structure for the estrous cyclic activity. If this interaction exists, a specific response, depending upon the functional state of the SCN, might be altered by a disturbance of LC function. To attain this, the following was considered. Exposure of female rats to constant bright light (LL) leads to the development of a sustained state of vaginal cornification, anovulation, continuous behavioral receptivity and hormonal disturbances. This status is known as persistent estrus (PE) [5, 19, 33]. Lesions of the SCN also result in development of PE [3,29]. While damage of the

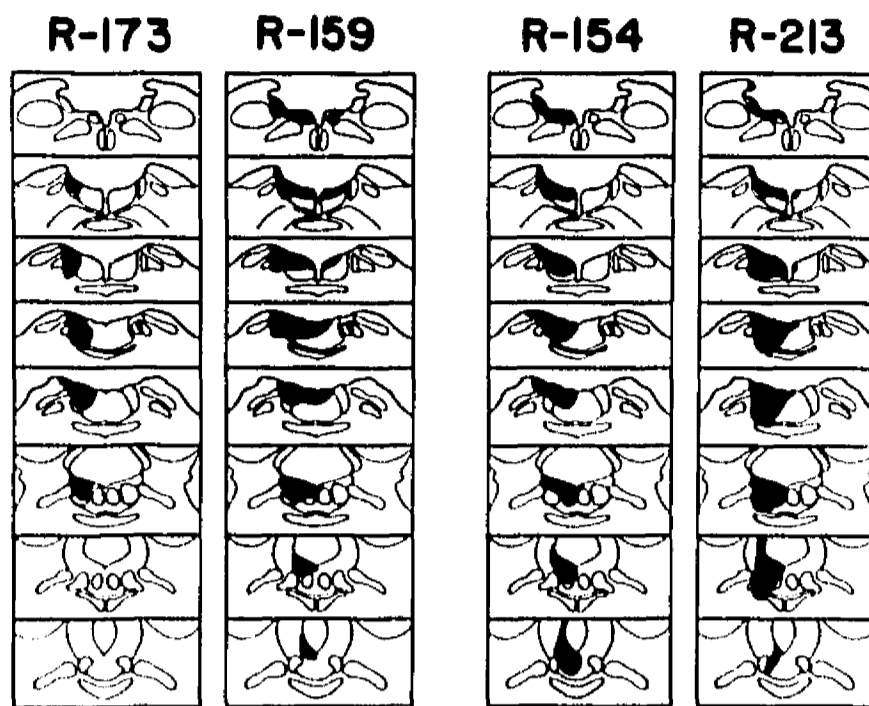


FIG. 2. Histological drawings of the LC area from normal cycling rats with LC lesion effect and from rats with ineffective LC lesion, whose estrous cyclicity charts are presented in Fig. 1. The labels of each vertical histological set are the rat identifications. The drawings were taken from the Pellegrino and Cushman Atlas from the -8.2 (top drawing) to the -6.8 anteroposterior levels. The black area depict the damaged tissue.

SCN is a "true SCN lesion," exposure to LL might be thought of as a "functional SCN lesion" [33].

This work presents the effect of LC electrolytic lesion upon the PE induced in female rats by exposure to LL. The prevention of this effect by damage to the periventricular gray substance (PVG) adjacent to the LC is also presented.

METHOD

The experiments were performed on 42 experimentally naive rats. They were mature and virgin weighing from 200 to 300 g. Four or five estrous cycles were recorded as control before animals were exposed to LL. Then, rats were exposed to LL and after PE was established the LC was lesioned. Except for the period of exposure to LL, the rats were maintained on a schedule of 10 hours of darkness and 14 hours of light. Vaginal smears were sampled daily from 10 a.m. to 2 p.m. For sampling, a modified Pasteur pipette was used: 1 mm outside diameter tip with 3 mm length of tip bent perpendicularly to the main shaft. Samples were obtained by irrigating the rat's vagina two to three times with 0.15 ml of 0.9% NaCl solution. Samples were allowed to dry and then stained with a Gröndwalds-Giemsa Azure Eosin Methyleneblau mixture (Merk) in methanol, rinsed in phosphate buffer pH=7.4, washed with tap water and coverslipped. Vaginal smears were examined with the aid of a Polyvar (Reichert Jung) microscope under bright field illumination at 400 \times magnification. The samples were labelled according to the four estrous cycle phases (proestrous, estrous, metaestrous and diestrous) or any of the four intermediate stages [37]. These data were recorded on estrous cyclicity charts. On each chart the ordinate represents the 8 stages for all of the successive days of the experiments. Each sample was represented as a point in the chart. The E band is arbitrarily defined as the three periods of proestrous-estrous, estrous and estrous-metaestrous. The E band provides a visual means for easy detection of the cessation of PE. The rats were always

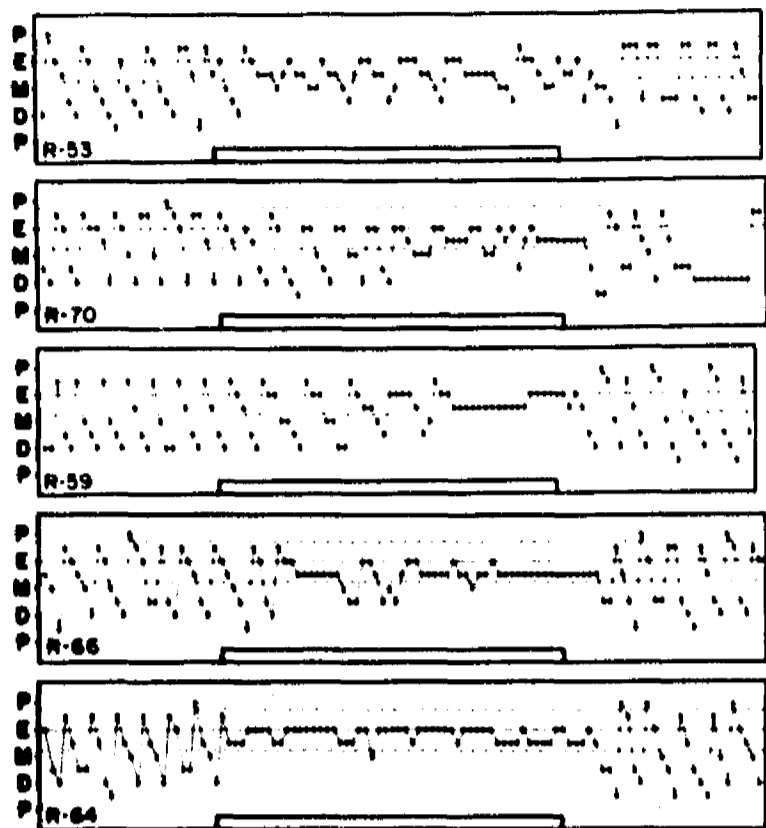


FIG. 3. Estrous cyclicity charts from control rats exposed to continuous bright light. The horizontal empty bar, at the bottom of each chart, signals the period of bright light exposure.

handled by the same researcher and they had free access to food and water. LL was provided by a 100 W white light bulb placed 10 cm above each cage. To avoid shades, aluminum foil covered the back side of the cages' racks. Additional bulbs were set in front and on the sides of each level of the rack. The exposure period started on the 28th day and continued until the 81st day. The environmental temperature was kept at 19–21°C. During exposure to LL, the temperature increased no more than two degrees. When PE was established, the LC was lesioned. Surgical procedures were performed under chloral hydrate anesthesia (400 mg/kg IP). Xylocaine paste was applied as local anesthetic to the tissue points contacting the stereotaxic frame. A small hole was made in the skull with a dental drill to introduce the lesioning electrode. Bipolar parallel stainless steel electrodes were driven stereotaxically to the LC by a vertical approach. Reliability of LC electrode placement was tested by obtaining respiratory frequency enhancement and depression of respiratory amplitude immediately after the onset of a 1 second, 20–30 Hz, 0.2–0.4 msec, 400–800 μ A stimulus [43]. After the electrode was withdrawn, a small piece of surgical gelatine foam was put in the hole of the skull, and the skin wound closed with cotton surgical suture stitches. The electrodes were 300 μ m in diameter, and 300 μ m separated the upper tip from the lower one. The lower tip was anterior to the upper tip. The lower tip was used to approach the stereotaxic landmarks. LC stereotaxic coordinates were $p=8.6-8.8$ from bregma in the horizontal skull, $L=0.8$ and $H=-5.5$ from the brain surface. LC lesions were made in the left side applying 1.5 mA DC current for 20 seconds in both polarities. Unoperated and sham operated rats served as controls. In the sham operated rats all the surgical procedures were made, but the electrodes were left 1.0 mm above the target and no current was delivered. The animals were allowed to recover from anesthesia for approximately 12 hours in warm individual cages, before being returned to their home cages. The rats were caged in sets of four to five animals, but due to

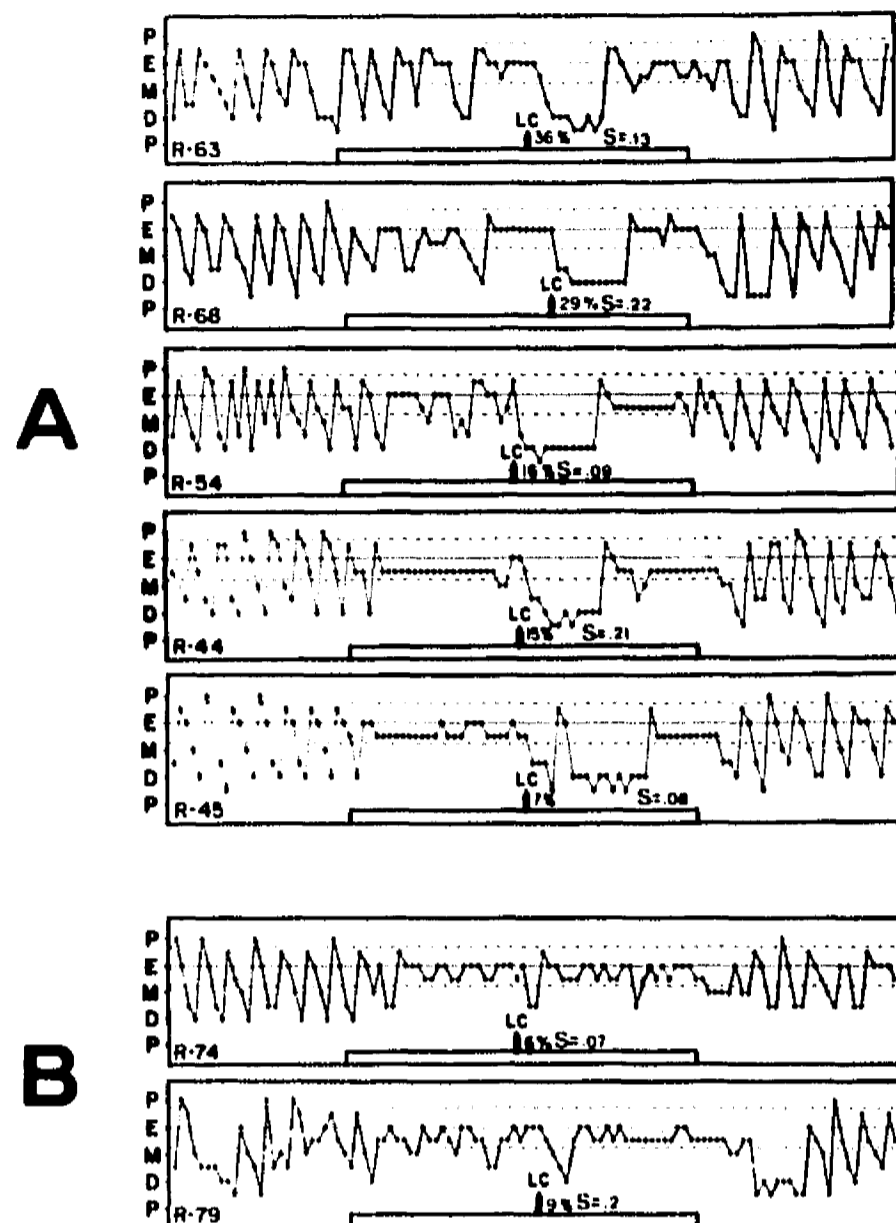


FIG. 4. Estrous cyclicity charts from rats with LC lesion effects exposed to continuous bright light. A: Pronounced effects rats. B: Rats with small lesions.

postsurgical mortality, they were sometimes reduced to two or one animals. Approximately 60% of the animals died due to the lesions.

At the end of the experiment, an overdose of chloral hydrate was applied, and the rats were intracardially perfused with isotonic saline solution followed by 10% formalin. Then 150 μ m thick brain slices were obtained and stained with cresyl violet. The lesioned areas were localized in the corresponding section of the stereotaxic atlas [28]. Sections were placed in a projector and the total area of the LC and the areas of the PVG and LC lesions were measured. From these measurements the percentage of tissue destroyed was calculated. "S" was defined as the percentage of the PVG damage relative to the total LC area. The number of days after the lesion outside the E band and the percentage of LC destroyed were plotted in a scatter diagram. A simple regression analysis was applied only to the data from the normal cycling rats with LC lesion effects. Additional data obtained under identical conditions in previous experiments with similar results [37] were combined in the present analysis. LC sham lesioned rats provided data for the 0.0% LC lesion position in the scatter diagram. From the scatter diagram, those animals which displayed four or fewer days of PE interruption after the LC lesion were considered to have an ineffective LC lesion. This consideration was based upon the regression line confidence limits. The mean S ratios of the LC lesion effect group and the ineffective LC lesion group

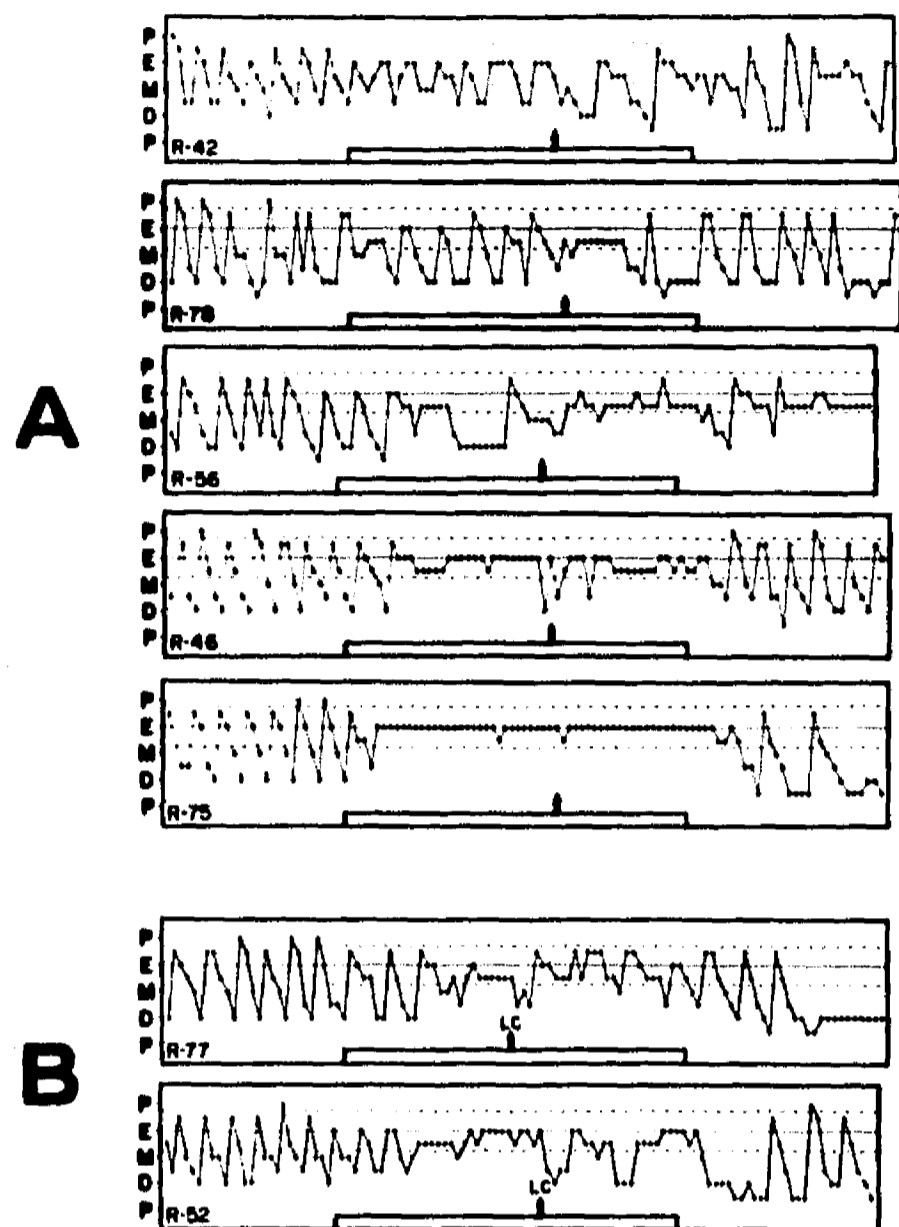


FIG. 5. Estrous cyclicity charts from LC sham lesioned rats exposed to continuous bright light. A: The vertical black arrow signals the day in which the sham lesion was made. B: Rats in which the lesioning electrode was misplaced. In rat 77, the peduncle of the inferior colliculus and adjacent cerebellar folia were lesioned. In rat 52, the lesion encompassed the midline and the lowest ventral part of the periventricular gray substance; the fasciculus longitudinalis medialis was also damaged at the midline level. In these two rats the anteroposterior coordinates correspond to those of the LC levels.

were compared statistically by means of a Student's-test for independent groups.

RESULTS

The results are based upon 34 animals. In general, four to five days of regular cycles could be recorded in the rats prior to any manipulation, though in some rats the regularity was disturbed by a suppression of the cyclicity (rat 213, Fig. 1), by a quick alternation of stages (rat 54, Fig. 4), by irregular cycling (rat 79, Fig. 4), by lengthening of one cycle (fifth cycle of rat 56, Fig. 5) or by shortening of one cycle (fifth cycle of rat 66, Fig. 3). Thus, an adequate baseline for each animal was established before it was retained for further study. Non manipulated control rats kept cycling during the course of the experiments (Fig. 1A). In normal cycling rats, as soon as the LC lesion was made, the cycling activity was disrupted (Fig. 1B). These rats were called normal cycling rats with LC lesion effect. During this period, the vaginal smears maintained a diestrous aspect. Thereafter, the cyclic activity was reestablished and maintained until the end of the experiment. A clear direct correlation could be observed be-

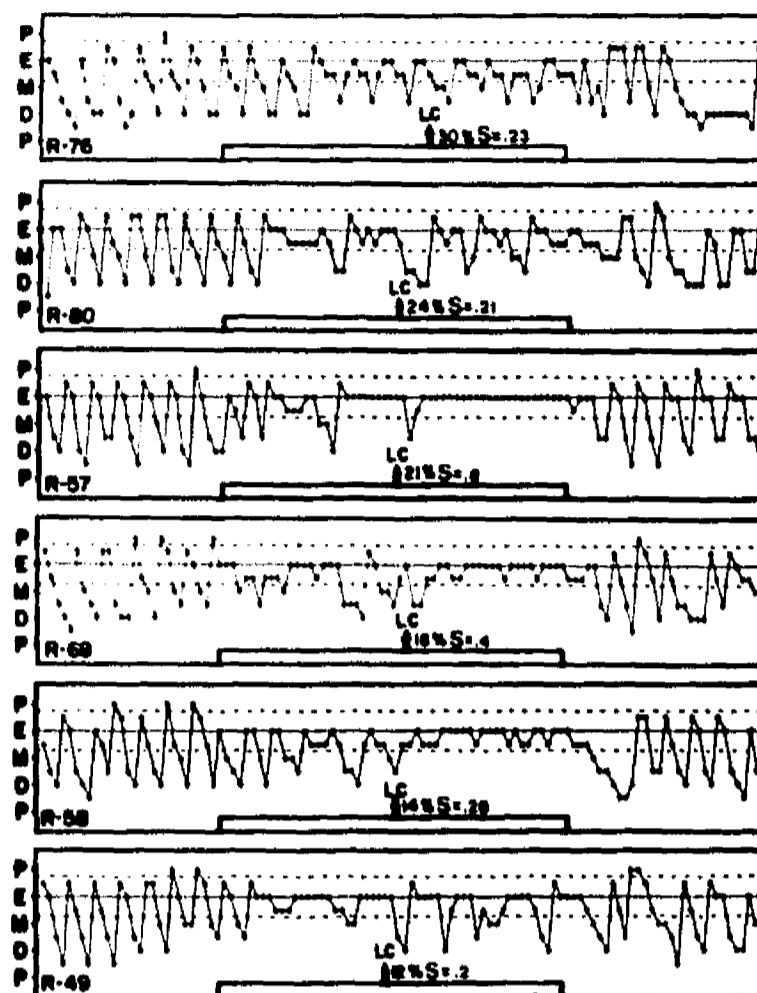


FIG. 6. Estrous cyclicity charts from rats with ineffective LC lesions, exposed to continuous bright light.

tween the amount of LC damaged and the number of days post-lesion that the vaginal cytology was out of the E band. The equation of the regression line is $Y = 2.5813 + 0.3466 X$ with a correlation coefficient of 0.9546 and a determination coefficient of 0.91122 (Fig. 9, open circles). The regression line was determined only for the open circles in Fig. 9. Even a very small LC lesion could affect the amplitude of the cycling activity, although it was unable to suppress it (Fig. 1D). Those rats in which the PVG adjacent to the LC was extensively damaged, in the attempt to destroy the LC, showed a lack of the expected suppression of the cycling activity after the LC lesion (Figs. 1C, 2 and 9, solid circles).

Exposure to continuous bright light increased the number of days in which estrous elements could be found in the vaginal smears (Fig. 3). The vaginal cytology qualification was preferentially enclosed within the E band during that period. The cycling activity was damped: the amplitude of the cycles was diminished and the duration of the cycles was longer. Some rats maintained this pattern for the duration of the exposure to LL (rat 53, Fig. 3), whereas others finally developed a PE (rat 59, Fig. 3). Some rats immediately established the PE (rat 64, Fig. 3). Occasionally the PE ceased briefly and cytological observations occurred outside the E band (rat 66, Fig. 3). Once exposure to LL was over, the cycling activity was reestablished. In general, this reestablishment took about one week. The cycling activity after exposure to LL was not necessarily clean and regular as compared with the control cycles before LL exposure (rat 53 and 70 in contrast to rats 66 and 64, Fig. 3). All these effects could be seen also in the rats exposed to LL that were LC manipulated.

The PE induced by exposure to LL was suppressed after LC lesion (Fig. 4). During this period the vaginal cytology

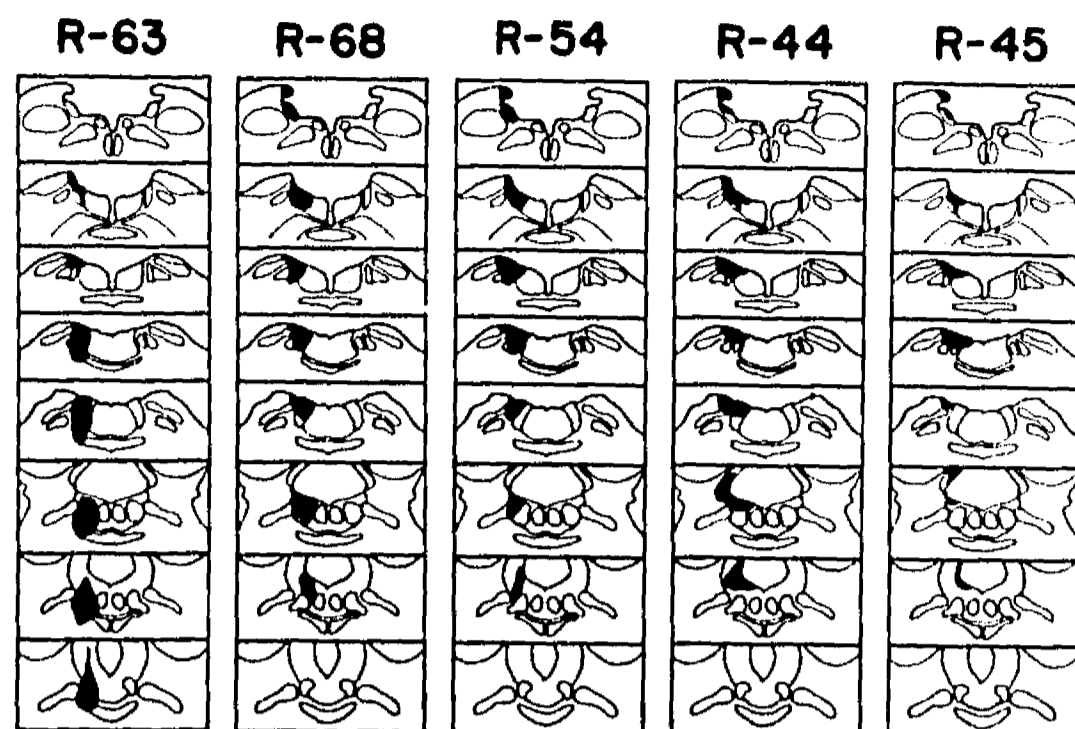


FIG. 7. Histological drawings of the LC area from rats exposed to continuous bright light with LC lesion effect.

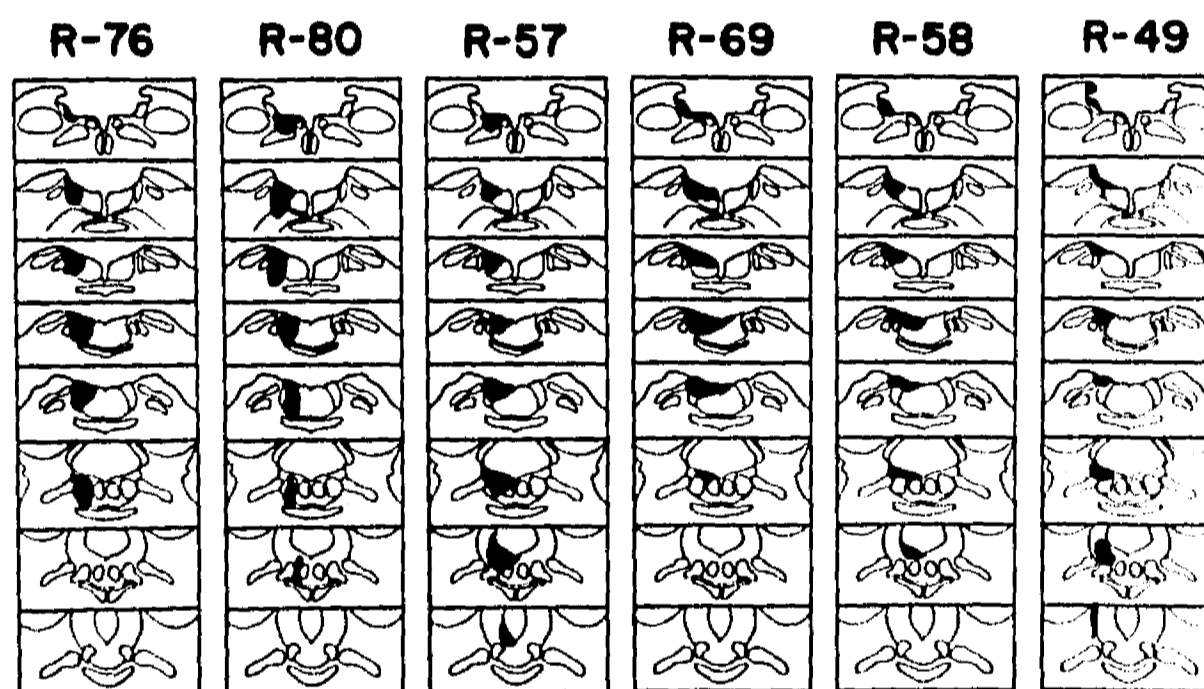


FIG. 8. Histological drawings of the LC area from rats exposed to continuous bright light with ineffective lesion.

showed a diestrous aspect. This effect was maintained for some days before PE was reestablished. The reestablishment of PE was characterized by a day of proestrous-estrous cytology. In general, the larger the lesion of LC, the greater the number of days of PE suppression (Fig. 9, open triangles). Very small LC lesions resulted in very small effects upon the PE (Fig. 4-B). LC sham operated rats showed no alteration in PE (rats 78 and 75, Fig. 5), or showed just a slight disturbance in the particular PE pattern established for that rat (rat 42, Fig. 5). In the rats with ineffective LC lesion and exposed to LL, the expected suppression of PE after LC lesion was not present, even despite a substantial LC lesion (Fig. 6 and Fig. 9, solid triangles). The histological analysis of the brains of these rats indicated that a large amount of PVG adjacent to the LC had been damaged in the attempt to destroy LC (compare Fig. 7 with Fig. 8). Comparison of the means S ratio of the rats with LC lesion effect exposed to LL

and the means S ratio of the rats with ineffective LC lesion exposed to LL, showed a statistically significant difference ($t(8)=2.5975, p<0.05$).

DISCUSSION

The present work provides evidences supporting a possible modulatory function of the LC upon the brain activity and neuroendocrine events related to estrous cycle regulation and PE response to LL. The data also suggest that the PVG play a role in the manifestation of this modulatory function.

Since experimental evidence indicates the existence of a direct projection from the retina to the SCN [24,27] and, since destruction of central visual structures does not disturb physiological rhythms nor the expected responses to light cues [8, 23, 39], it is reasonable to suggest that the PE re-

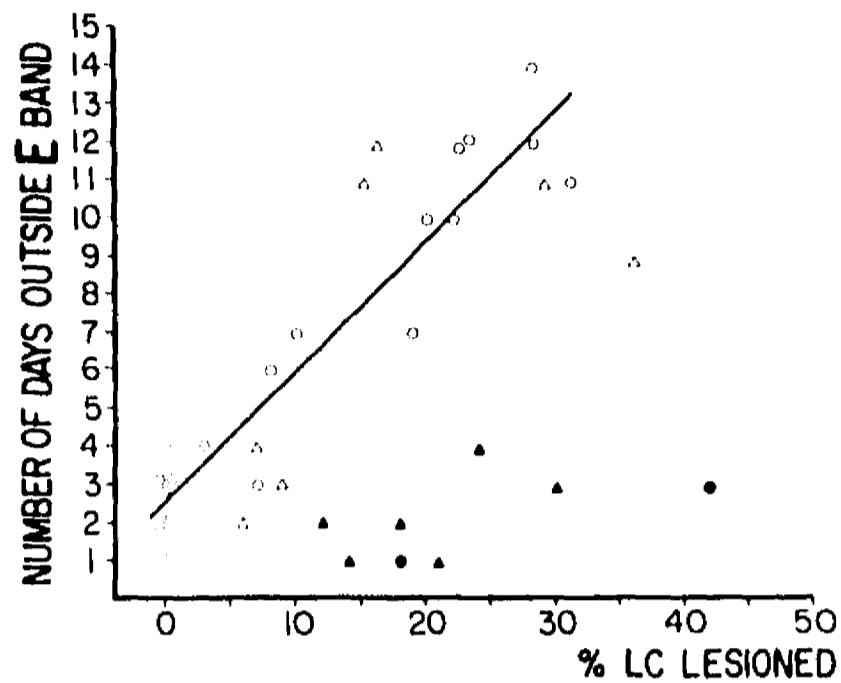


FIG. 9. Scatter plot of the number of days outside the E band against the size of the lesion. Open symbols for rats with LC lesion effects. Solid symbols for rats with ineffective LC lesions. Circles are for normal cycling rats with LC surgery. Triangles are for the constant bright light rats. The straight line was obtained from data on normal cycling rats with LC lesions effect using a regression analysis.

response to LL might be importantly dependent on the activity of the SCN. This response was transiently suppressed after LC damage; therefore, it is worthwhile proposing that LC might well be involved in the modulation of the events due to SCN activity.

Suppression of PE was directly related to the amount of LC damaged. In addition, simultaneous damage of the PVG adjacent to the LC prevented the expected suppression effects of LC damage upon the PE induced by LL. This sup-

ports a physiological involvement of LC in the events for PE response to LL and indicates that the PVG might be participating in the mediation of those effects.

Though an adequate explanation for the complex impact upon the neuroendocrine events related to reproductive function in rats exposed to LL is not yet available, despite considerable investigation [5, 19, 33], it seems clear from the present study that LC might be involved in those neuroendocrine events.

The possible interaction of LC and PVG function with the neuroendocrine events controlling ovarian function, as well as the anatomical substrates possibly involved, are discussed in whole with the data presented in the following paper.

Lesions of SCN also cause PE syndrome [3,29]. It has been suggested that the PE induced under different experimental conditions might indicate that the PE response is a symptom representing a dysfunction at various levels in the neuroendocrine pathway controlling ovarian function [33]. On the other side, LC maintains broad anatomical connections with several neural systems related to sexual and neuroendocrine functions [2, 6, 12, 15, 16, 41, 42]. Thus, LC influences upon the complex neuroendocrine chain might be demonstrated independent of the PE inducing maneuver. For this purpose, the following work was performed.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Mr. Carlos de los Santos Toledo and Ms. Ingrid Mascher for their technical assistance, to Dr. Baltazar Barrera Mera and Dr. Roberto Prado Alcalá for their valuable suggestions and scientific comments and to Dr. Matthew J. Wayner for final revision of this paper. The first author is gratefully indebted to Mrs. Alicia Flores de Solano and to Mr. Delfino Solano Yáñez for their encouragement and financial support, without which this work would not have been completed.

REFERENCES

1. Amaral, D. G. and H. M. Sinnamon. The locus coeruleus: neurobiology of a central noradrenergic nucleus. *Prog Neurobiol* 9: 147-196, 1977.
2. Berk, M. L. and J. A. Finkelstein. Afferent projections to the preoptic area and hypothalamic regions in the rat brain. *Neuroscience* 6: 1601-1624, 1981.
3. Brown-Grant, K. and G. Raisman. Abnormalities in reproductive function associated with the destruction of the suprachiasmatic nuclei in female rats. *Proc R Soc Lond [Biol]* 198: 279-296, 1977.
4. Bubenik, G. and M. Monnier. Nuclear size variations in cells of the locus coeruleus during sleep, arousal and stress. *Exp Neurol* 35: 1-12, 1972.
5. Campbell, C. S. and N. B. Schwartz. The impact of constant light on the estrous cycle of the rat. *Endocrinology* 106: 1230-1238, 1980.
6. Cedarbaum, J. M. and G. K. Aghajanian. Afferent projections to the rat locus coeruleus as determined by a retrograde tracing technique. *J Comp Neurol* 178: 1-16, 1978.
7. Chu, N. and F. E. Bloom. Norepinephrine-containing neurons: changes in spontaneous discharge patterns during sleeping and waking. *Science* 179: 908-910, 1973.
8. Dark, J. G. and D. Asdourian. Entrainment of the rat's activity rhythm by cyclic light following lateral geniculate nucleus lesions. *Physiol Behav* 15: 295-301, 1975.
9. Eastman, Ch. I., R. E. Mittleberger and A. Rechtschaffen. Suprachiasmatic nuclei lesions eliminate circadian temperature and sleep rhythms in the rat. *Physiol Behav* 32: 357-368, 1984.
10. File, S. E., J. F. W. Denkin, A. Longden and T. J. Crow. An investigation of the role of the locus coeruleus in anxiety and agonistic behavior. *Brain Res* 169: 411-420, 1979.
11. Foote, S. L., F. E. Bloom and G. Aston-Jones. Nucleus locus coeruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. *Physiol Rev* 63: 844-914, 1983.
12. Gray, G. D., P. Södersten, D. Tallentire and J. M. Davidson. Effects of lesions in various structures of the suprachiasmatic-preoptic region on LH regulation and sexual behavior in female rats. *Neuroendocrinology* 25: 174-191, 1978.
13. Hansen, P., P. Södersten and B. Srebro. A daily rhythm in the behavioral sensitivity of the female rat to oestradiol. *J Endocrinol* 77: 381-388, 1978.
14. Inouye, S. and H. Kawamura. Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 5962-5966, 1979.
15. Jones, B. E., A. E. Halaris, M. Mellhany and R. Y. Moore. Ascending projections of the locus coeruleus in the rat. I. Axonal transport in central noradrenaline neurons. *Brain Res* 127: 1-21, 1977.
16. Jones, B. E. and R. Y. Moore. Ascending projections of the locus coeruleus in the rat. II. Autoradiographic study. *Brain Res* 127: 23-53, 1977.
17. Jouvet, M. Biogenic amines and the states of sleep. *Science* 163: 32-41, 1969.
18. Korf, J., G. K. Aghajanian and R. H. Roth. Increased turnover of norepinephrine in the rat cerebral cortex during stress: role of the locus coeruleus. *Neuropharmacology* 12: 933-938, 1973.

19. Lawton, I. E. and N. B. Schwartz. Pituitary-ovarian function in rats exposed to constant light: a chronological study. *Endocrinology* **81**: 497-508, 1967.
20. Lindvall, O. and A. Björklund. The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain. *Acta Physiol Scand [Suppl]* **412**: 1-48, 1974.
21. Mc. Cormack, C. E. and R. Sridaran. Timing of ovulation in rats during exposure to continuous light: evidence for a circadian rhythm of luteinizing hormone secretion. *J Endocrinol* **76**: 135-144, 1978.
22. Moore, R. Y. Retinohypothalamic projection in mammals: a comparative study. *Brain Res* **49**: 403-409, 1973.
23. Moore, R. Y. and V. B. Eichler. Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Res* **42**: 201-206, 1972.
24. Moore, R. Y. and N. J. Lenn. A retinohypothalamic projection in the rat. *J Comp Neurol* **146**: 1-14, 1972.
25. Mosko, S. S. and R. Y. Moore. Neonatal ablation of the suprachiasmatic nucleus: Effects on the development of the pituitary-gonadal axis in the female rat. *Neuroendocrinology* **29**: 350-361, 1979.
26. Nakai, Y. and S. Takaori. Influence of norepinephrine-containing neurons derived from the locus coeruleus on lateral geniculate neuronal activities of cats. *Brain Res* **71**: 47-60, 1974.
27. Nishino, H., K. Koizumi and Ch. McC. Brooks. The role of suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus in the production of circadian rhythm. *Brain Res* **112**: 45-59, 1976.
28. Pellegrino, L. J., A. S. Pellegrino and A. J. Cushman. *A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain*. New York: Plenum Press, 1979.
29. Ruisman, G. and K. Brown-Grant. The 'suprachiasmatic syndrome': endocrine and behavioural abnormalities following lesions of the suprachiasmatic nuclei in the female rat. *Proc R Soc Lond [Biol]* **198**: 297-314, 1977.
30. Redmond, D. E., Y. H. Huang, D. R. Snyder, J. W. Maas and J. Baulu. Hyperphagia and hyperdipsia after locus coeruleus lesions in the stump-tailed monkey. *Life Sci* **20**: 1619-1628, 1977.
31. Roberts, D. C. S., M. T. C. Price and H. C. Fibiger. The dorsal tegmental noradrenergic projection: an analysis of its role in maze learning. *J Comp Physiol Psychol* **90**: 363-372, 1976.
32. Sasa, M., K. Munekiyo, H. Ikeda and S. Takaori. Noradrenaline-mediated inhibition by locus coeruleus of spinal trigeminal neurons. *Brain Res* **80**: 443-460, 1974.
33. Schwartz, S. M. Effects of constant bright illumination on reproductive processes in the female rat. *Neurosci Biobehav Rev* **6**: 391-406, 1982.
34. Schwartz, W. J. and H. Gainer. Suprachiasmatic nucleus: use of ¹⁴C-labeled deoxyglucose uptake as a functional marker. *Science* **197**: 1089-1091, 1977.
35. Solano-Flores, L. P., H. U. Aguilar-Baturoni and R. Guevara-Aguilar. Locus coeruleus influences upon the olfactory tubercle. *Brain Res Bull* **5**: 383-389, 1980.
36. Solano-Flores, L. P., H. U. Aguilar-Baturoni and R. Guevara-Aguilar. Olfactory tubercle's different neural elements activated by locus coeruleus. *Brain Res Bull* **7**: 655-660, 1981.
37. Solano-Flores, L. P., H. U. Aguilar-Baturoni and R. Guevara-Aguilar. Transient cessation of female rat sexual cycle after electrolytic damage of locus coeruleus. *Brain Res Bull* **8**: 703-709, 1982.
38. Stephan, F. K. and I. Zucker. Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. *Proc Natl Acad Sci USA* **69**: 1583-1586, 1972.
39. Stephan, F. K. and I. Zucker. Rat drinking rhythms: Central visual pathways and endocrine factors mediating responsiveness to environmental illumination. *Physiol Behav* **8**: 315-326, 1972.
40. Ungerstedt, U. Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol Scand [Suppl]* **367**: 1-48, 1971.
41. Velasco, M. E. and S. Taleisnik. Release of gonadotropins induced by amygdaloid stimulation in the rat. *Endocrinology* **84**: 132-139, 1969.
42. Velasco, M. E. and S. Taleisnik. Effect of hippocampal stimulation on the release of gonadotropin. *Endocrinology* **85**: 1154-1159, 1969.
43. Ward, D. G. and C. G. Gunn. Locus Coeruleus complex: elicitation of a pressor response and a brain stem region necessary for its occurrence. *Brain Res* **107**: 401-406, 1976.
44. Zornetzer, S. F., W. C. Abraham and R. Appleton. Locus coeruleus and labile memory. *Pharmacol Biochem Behav* **9**: 227-234, 1978.

Effect of Locus Coeruleus and Periventricular Gray Substance Lesions on Suprachiasmatic Damage-Induced Persistent Estrous¹

LUIS PASTOR SOLANO-FLORES,² OLGA ALEJANDRA DONATTI-ALBARRÁN AND ROSALINDA GUEVARA-AGUILAR

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, U.N.A.M., Apdo. Postal 70250 04510-México, D.F. México

Received 12 February 1986

SOLANO-FLORES, L. P., O. A. DONATTI-ALBARRÁN AND R. GUEVARA-AGUILAR. *Effect of locus coeruleus and periventricular gray substance lesions on suprachiasmatic damage-induced persistent estrous.* BRAIN RES BULL 18(3) 429-435, 1987.—To assess the relation between the suprachiasmatic nucleus and the locus coeruleus, persistent estrous was induced in female rats by damage of the suprachiasmatic nucleus followed with electrolytic damage of the locus coeruleus. Locus coeruleus lesions resulted in a transient loss of persistent estrous indicated by sustained diestrous aspect of the vaginal smears. There was a direct correlation between duration of estrous loss and the amount of locus coeruleus damage. Simultaneous damage to the periventricular gray substance, adjacent to the locus coeruleus, prevented the suppression effects of locus coeruleus damage upon persistent estrous. These results suggest a physiological role of the locus coeruleus and periventricular gray substance in the modulation of the neuroendocrine control of ovarian function due to suprachiasmatic nucleus activity.

Estrous cycle Locus coeruleus Periventricular gray substance Persistent estrous
Suprachiasmatic nucleus

WE have shown that electrolytic damage of the noradrenergic nucleus, locus coeruleus (LC), causes a transient cessation of the rhythmic estrous cyclic activity of the naive female rats [33,34]. Also, in a preceding paper, we reported that the persistent estrous (PE) induced by exposure to constant bright light (LL) is transiently suppressed by electrolytic damage of the LC [34]. In both experiments the effects showed a direct correlation with the amount of LC lesioned. The fact that a cyclic activity was disturbed by the anatomical disruption of the LC and the fact that a specific response, depending upon the functional state of the suprachiasmatic nucleus (SCN), is altered by disturbance of the LC function suggest a possible functional interaction between LC and SCN in the regulation of the cyclic neuroendocrine events for ovarian control.

Lesions of the SCN also result in PE syndrome: failure to ovulate, persistent vaginal cornification, continuous behavioral estrous and disruption of hormonal events [3, 6, 14, 23]. The similarities in the results obtained after exposure to LL and after SCN lesions have been emphasized, thus, while damage of the SCN is a "true SCN lesion," it has been

proposed that exposure to LL might be thought of as a "functional SCN lesion" [29].

The fact that PE can be induced under different conditions suggests that the PE represents a dysfunction at various levels in the neuroendocrine pathway controlling ovarian function [29]. LC terminals innervate virtually the entire brain [19,36], and different neural systems related to sexual and neuroendocrine functions are anatomically connected with the LC [5, 7, 14, 16, 17, 38, 39]. The possible modulatory action of the LC upon the neuroendocrine activity which has been proposed previously [33,34] might be further supported if the PE induced by SCN damage is altered by a disturbance of LC function.

This work presents the effect of LC electrolytic lesion upon the PE induced in female rats by SCN lesions. The prevention of this effect by damage to the periventricular gray substance (PVG) adjacent to the LC is also presented.

METHOD

The experiments were performed using 81 experimentally

¹This research was supported in part by CONACYT grant PCSABEU-002187.

²Holder of CONACYT fellowship No. 51305.

naive rats. They were mature and virgin, weighing from 200 to 300 g. Vaginal smears were taken daily between 10 a.m. and 2 p.m. Six or more cycles were recorded as control before the SCN was lesioned to induce PE; after PE was established, the LC was subsequently lesioned. Procedures for smear sampling, smear staining and analysis, data presentation, type of electrodes, surgery, general experimental conditions and brain tissue analysis are similar to those described previously [34]. SCN stereotaxic coordinates were $P=0.0$ in the horizontal skull, $L=0.1$ and $H=-8.2$ – -8.5 from the brain surface. LC stereotaxic coordinates were $P=8.6$ – 8.8 from bregma in the horizontal skull, $L=0.8$ and $H=-5.5$ from the brain surface. LC lesions were made in the left side applying 1.5 mA DC current for 20 seconds in both polarities. SCN lesions were performed bilaterally applying 4.0 mA DC current for 20 seconds in both polarities. Unoperated and sham operated rats served as controls. In the sham operated rats, all the surgical procedures were performed, but the electrodes were placed 1.0 mm above the target and no current was delivered. In the histological analysis, when 0–25% of the SCN was damaged, the lesion was labelled as a small lesion; medium, large and total lesions corresponded respectively to 25–50%, 50–75% and 75–100% damage. The ratio between the preoptic area that was damaged adjacent to the SCN and the total SCN area was computed and called "r." Similarly, "S" was defined as the percentage of the PVG damage relative to the total LC area. The percentage of LC lesioned, and the number of days after the LC lesion outside the E band [34] were plotted in a scatter diagram. From data previously obtained from normal cycling rats with LC lesion [33,34], a simple regression analysis was performed. The regression line ($Y = 2.5813 + 0.3466X$) had a correlation coefficient of 0.9546 and a determination coefficient of 0.91122. LC sham lesioned rats provided data for the 0.0% LC lesion position in the scatter diagram. From the diagram, rats showing only a few days (four or fewer) of interruption of the PE after LC lesion were considered to be rats with an ineffective LC lesions. This determination was based upon the confidence limits of the regression line. The mean S ratios of the LC lesion group and the ineffective LC lesion group were compared statistically by means of Student's *t*-test for independent groups.

RESULTS

The results are based upon 32 animals. In general, four to five days of regular cycles could be recorded in the rats prior to any manipulation. Thus, for every rat, a preliminary control stage was available. Damage to the SCN area produced the development of a PE vaginal cytology (Figs. 1 and 2, and rat 219 Fig. 5A). This effect was preceded either by a couple of cycles (rat 184 Fig. 1 and rat 156 Fig. 2) or by a number of days in which a diestrous cytology could be seen (rat 168 Fig. 1 and rat 164 Fig. 2). Sometimes, the continuity of the PE was interrupted by the presence of vaginal cytology out of the E band (rat 180 Fig. 1 and rat 207 Fig. 2). The PE induced by SCN area lesion was suppressed after LC lesion (Fig. 1 and Fig. 6 open squares). During this period, the vaginal cytology was typically diestrous. After some days of this effect, some rats reestablished PE (rats 218, 180 and 161 Fig. 1). Two rats presented a peculiar estrous chart after LC lesion: whereas rat 168 maintained a diestrous condition, initially interrupted by a single cycle, rat 184 reestablished the PE after two days of vaginal cytology outside of the E band,

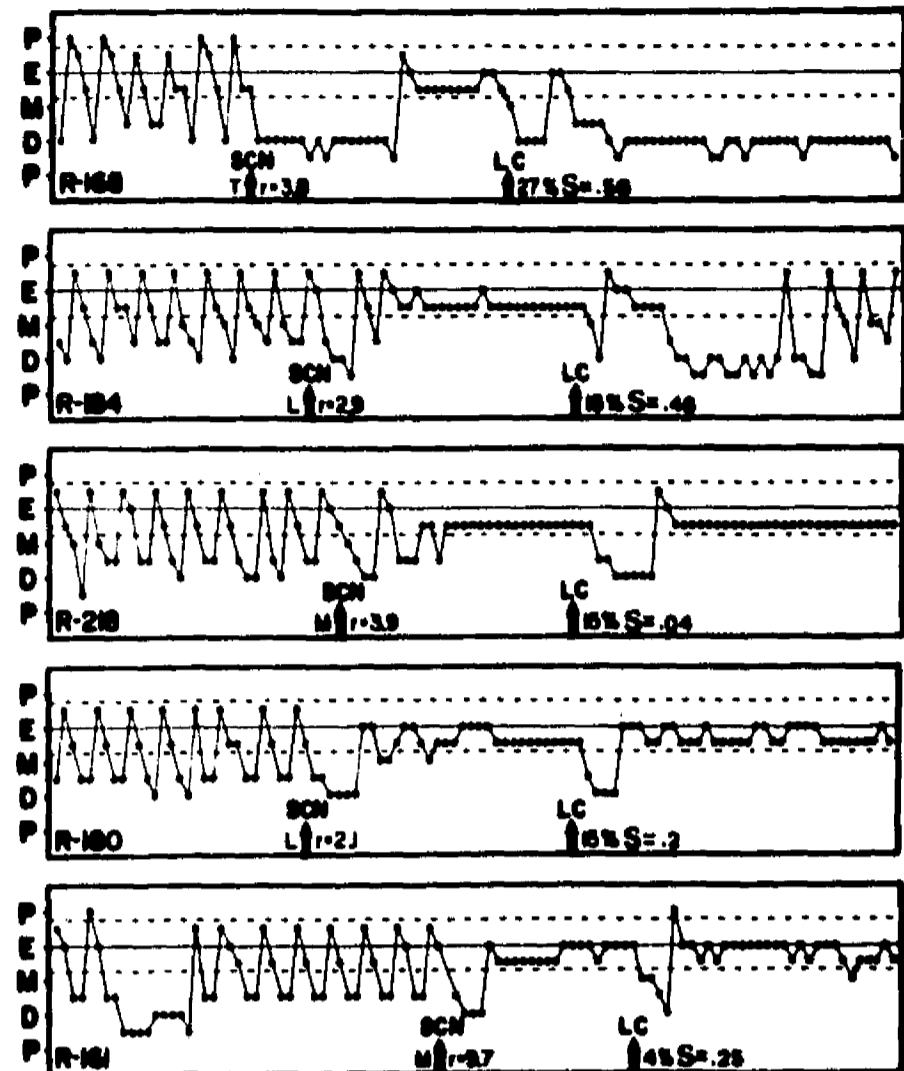


FIG. 1. Estrous cyclicity charts from rats with SCN area lesion plus LC lesion effect. P=proestrous, E=estrous, M=metaestrous and D=diestrous. Each black dot represents the corresponding stage of the vaginal smear for that day. Notice that intermediate stages are also indicated. The pure E position is indicated by a continuous horizontal line. Both dashed lines delimit the E band. Any point enclosed by the E band corresponds to a vaginal cytology in which estrous elements were observed. Lower left labels are the rat identification numbers. The left vertical black arrow at the bottom of the chart signals the day in which the supra-chiasmatic nucleus (SCN) area was damaged. The letter at the left of that arrow means: T=total lesion, when 75–100% of the SCN was destroyed; similarly, L=large lesion and M=medium lesion corresponding to 50–75% and 25–50% of SCN damaged, respectively. The r letter refers to the ratio of the area of preoptic area adjacent to the SCN that was damaged with respect to the total SCN. The black vertical right arrow at the bottom of the chart signals the day in which the locus coeruleus (LC) lesion was made. The number accompanied by the percentage symbol refers to the percentage of LC destroyed. The S letter refers to the ratio of damaged periventricular gray substance adjacent to the LC relative to the total LC area.

maintained a diestrous condition for several days and then started cycling. In the rats with SCN area lesion plus ineffective LC lesion, the vaginal smears were out of the E band for no more than three days after LC lesion in spite of substantial LC damage (Fig. 2 and Fig. 6 solid squares). Histological analysis of the brains of these rats indicated that in the attempts to destroy the LC, considerable damage was done to the PVG adjacent to the LC (compare Fig. 3 with Fig. 4). Comparison of the mean S ratio of the rats with SCN area lesion plus LC lesion effect, and the mean S ratio of the rats with SCN area lesion plus ineffective LC lesion, showed

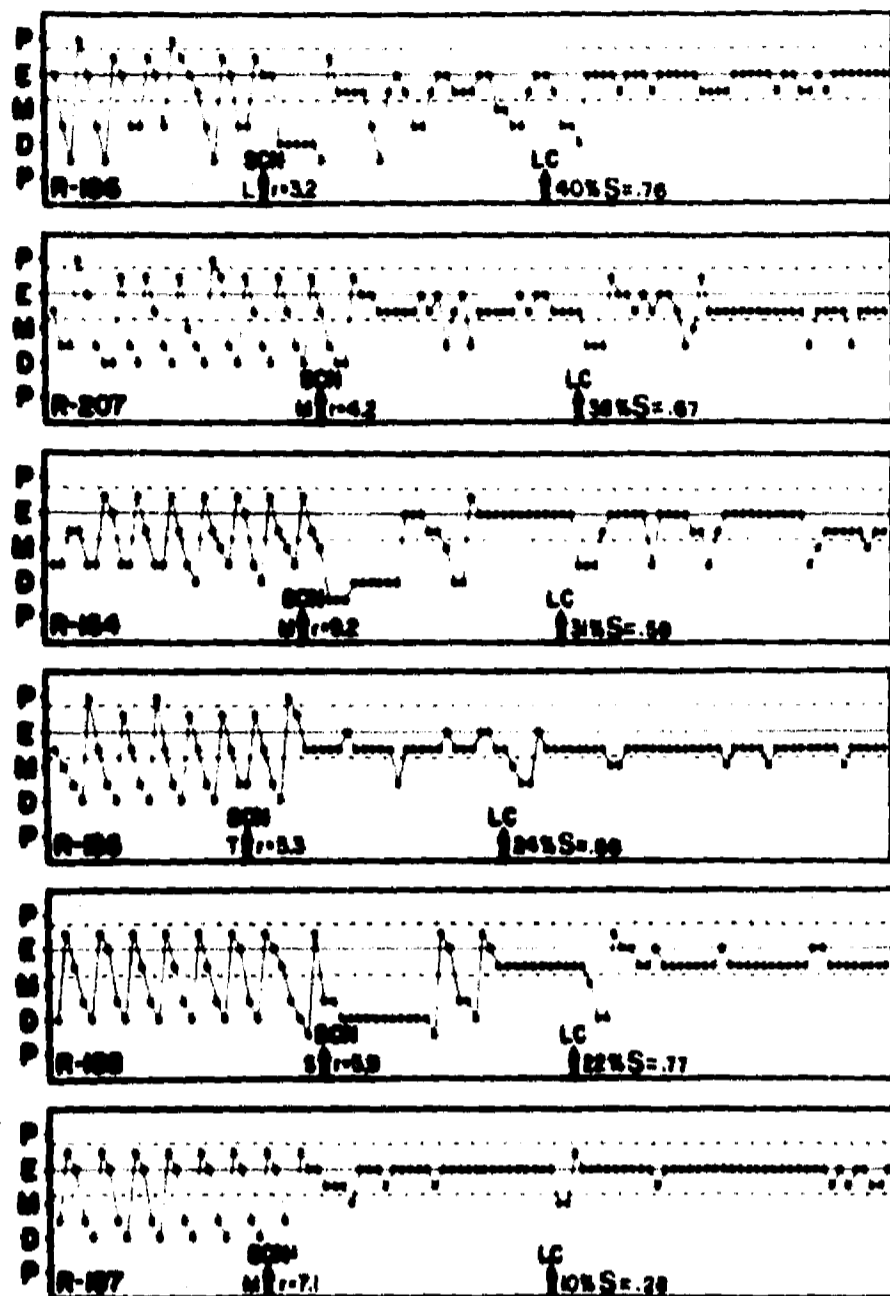


FIG. 2. Estrous cyclicity charts from rats with SCN area lesion plus ineffective LC lesion. In rat 198 a small SCN lesion was made and is signalled with a small letter *s* at the left of the left black vertical arrow.

a statistically significant difference, $t(9)=2.7324$, $p<0.05$. Sham operated rats did not exhibit PE after SCN area electrode placement nor any alteration in the cycling activity after LC electrode placement (Fig. 5B). SCN area electrode placement resulted in a transient suppression of the cycling activity in two rats (rats 181 and 187 Fig. 5) and a decrease in the cycle's amplitude in another rat (rat 189 Fig. 5). A very small lesion of the SCN area transiently suppressed the cycling activity (Fig. 5C); after the reestablishment of the cycling activity, a very small LC lesion in this same rat also produced a transient suppression of the cycling activity.

DISCUSSION

The preceding [34] and the present work provide evidence that the LC may modulate brain activity related to the neuroendocrine events of estrous cycle regulation and experimentally induced PE activity. Our results also suggest that the PVG has a role in the manifestation of this LC modulatory function.

In the PE rat, the continuous state of vaginal cornification reflects constant estrogen activity [3, 12, 14]. In rats exposed

to LL, plasma estrogen levels are higher than those seen in control rats on the morning of estrous, but are below the proestrous levels [21]. Experimental evidence indicates high plasma estrogenic levels in the PE rat after SCN [3] or hypothalamic lesions [37]. The PE developed by rats exposed to LL has been attributed to a constant, slight hypersecretion of gonadotropins [9,21]. Lesions of the SCN do not affect tonic LH levels, but eliminate completely phasic LH release [14]. It appears that estrogen is the main ovarian regulator for both cyclic and tonic LH release [13]. It has been proposed that the SCN lesion effects are related to a general deficiency in the regulation of circadian rhythms, which could suppress phasic gonadotropin release [14] by disrupting the normal diurnal variation in sensitivity to the facilitatory effects of ovarian steroid hormones [6]. A similar explanation has been suggested for the PE induced by LL [28].

In view of the above, the fact that LC lesions suppress PE activity suggests a disruption of the neural and neuroendocrine events which maintain gonadotropin and ovarian steroids secretion during PE activity. In the normal cycling rat, the suppression of the estrous cyclicity after LC damage [33,34] might well reflect a disruption in the controlling mechanisms of the hormonal feedback loops between the hypothalamic structures and the ovary. Disturbances in gonadotropin secretion occur after LC damage [2] and after LC stimulation [11]. From the PE studies, since specific responses, depending on the functional state of the SCN, were affected after LC damage, the LC might well be involved in the modulation of the events due to SCN activity. Simultaneous damage to the PVG adjacent to LC prevented the expected effect of LC damage to suppress normal estrous cycling [33,34] or PE activity induced either by exposure to LL [34] or by SCN damage. If these effects were due to a generalized norepinephrine depression of the structures innervated by the LC [16,20], these effects should also have been present in those rats with PVG damage. However, this did not occur, suggesting strongly a physiological role of the LC in the modulation of the neuroendocrine chain for ovarian function control, and indicates that the PVG might be involved in the mediation of those effects. In previous work, it has been shown that cessation of estrous cycling is directly related to the amount of LC destroyed [33,34]. In the present work and in the preceding one [34] the PE suppression was directly correlated with the extent of LC lesioned. Rats with LC lesion, which were also PVG lesioned, did not conform to this correlation and were statistically different from the LC lesion effect rats. This further indicates a LC noradrenergic involvement in the modulation of the neuroendocrine activity and a PVG participation in this modulation.

LC's influence upon the complex neuroendocrine chain related to estrous cycling seems more likely to be accomplished indirectly rather than through a direct pathway. LC is anatomically related to a number of structures which have been shown to be involved in the neuroendocrine control. LC and different hypothalamic nuclei are reciprocally innervated [5, 7, 16, 17]. The medial preoptic area, which has been suggested to have some role in the phasic component of LH regulation [14], contains LH-RH neurons [30], projections to the median eminence [10] and to the SCN [22], and is reciprocally innervated with the LC [5,7]. The hippocampus, whose stimulation is effective in preventing the release of gonadotropins [39], receives LC fibers [17] and also sends fibers to the SCN [22,24]. The amygdala, which has been shown to exert a stimulatory effect on the release of gonadotropins [38] is reciprocally innervated with the LC

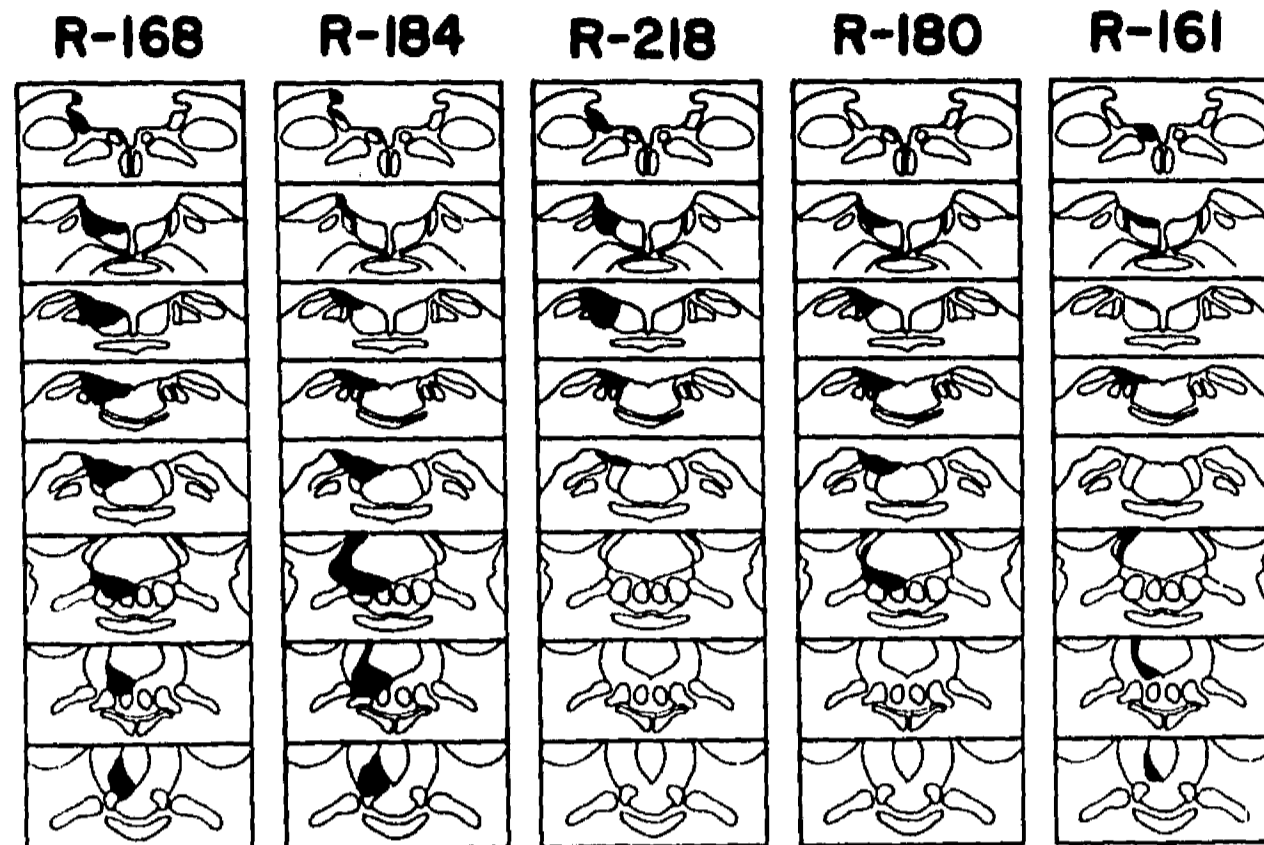


FIG. 3. Histological drawings of the LC area from rats with SCN area lesion plus LC lesion effect. The labels of each vertical histological set are the rat identification. The drawings were taken from the Pellegrino and Cushman Atlas from the -8.2 (top drawing) to the -6.8 anteroposterior levels. The black areas depict the damaged area.

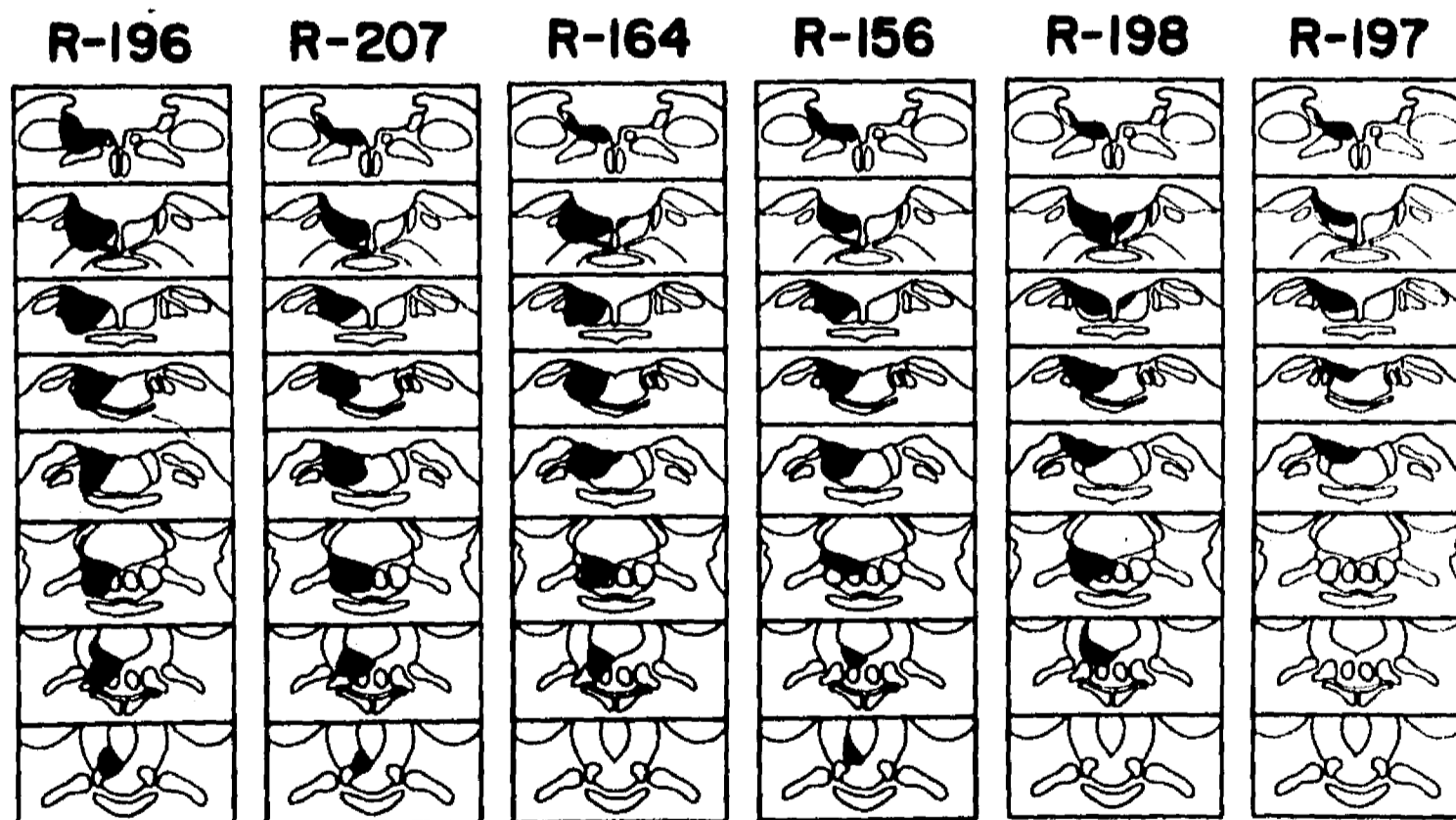


FIG. 4. Histological drawings of the LC area from rats with SCN area lesion plus ineffective LC lesion.

[7,17]. To complete the above, the amygdala and amygdalo-hippocampal area project to the medial preoptic area [5]. It is interesting to point out that the SCN projects fibers to the median eminence, arcuate and ventromedial nuclei, as well as to several other hypothalamic nuclei and amygdaloid area; a few projections to the preoptic region have also been described [35]. Arcuate and ventromedial

nuclei project to SCN [22]. Although arcuate and SCN projections to LC have not been demonstrated in the rat [7], they have been described in the cat [26]. Few cells projecting from the LC to the SCN in the hamster have been described [22]. The mesencephalic central gray which is reciprocally innervated with the LC [7,17] receives fiber projection from the SCN [18,35] and send fibers to the hypothalamic nuclei

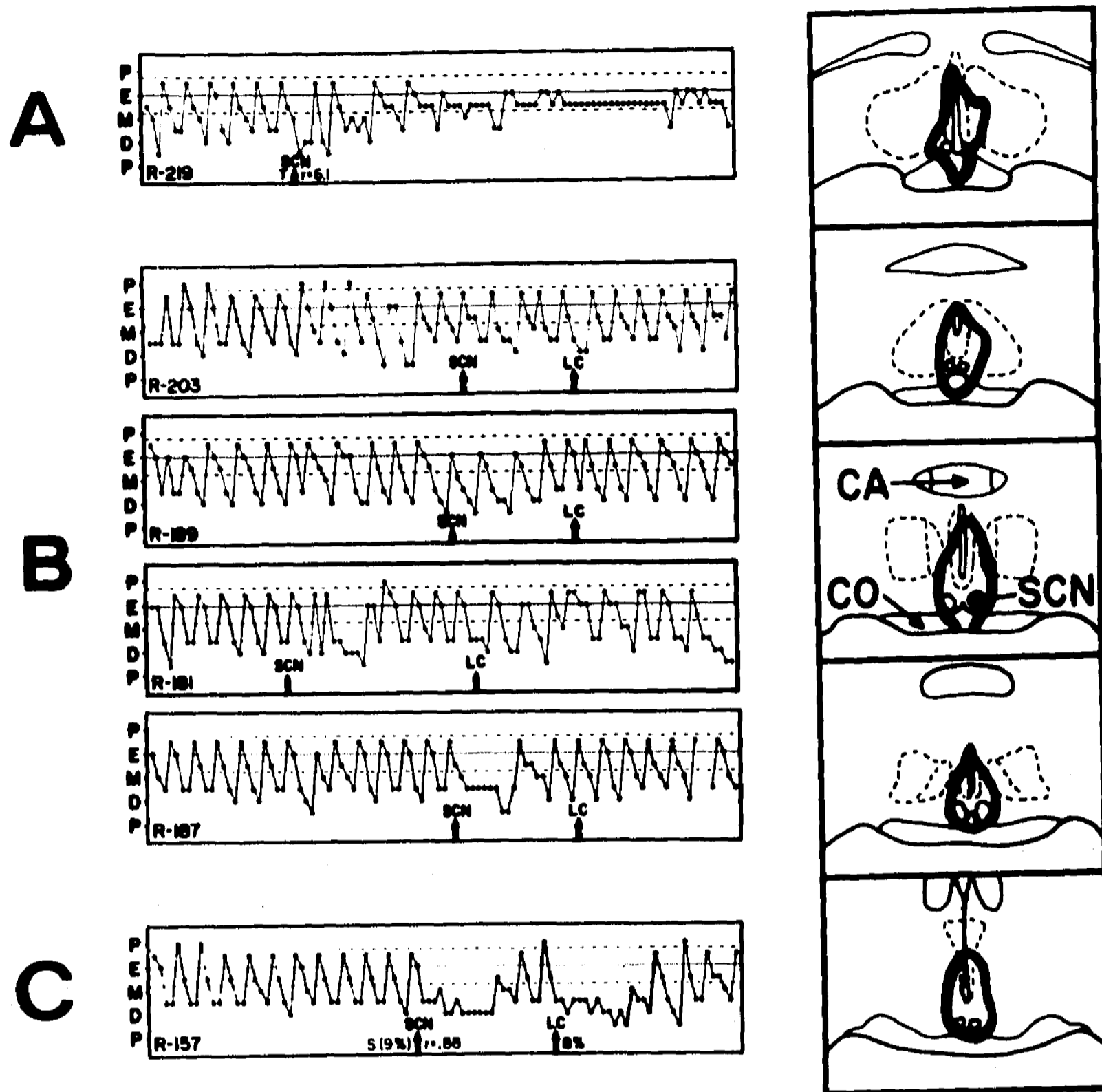


FIG. 5. Estrous cyclicity charts from a control SCN area lesioned rat and from rats with sham SCN area lesion plus sham LC lesion. A: Control rat in which the SCN was totally destroyed and a great amount of preoptic area was also involved. The lesion for this rat is shown at the right of the charts. The lesioned area is enclosed by the heavy black line. The histological drawings were made from the Pellegrino and Cushman atlas from the 2.0 (top drawings) to the 1.2 anteroposterior levels. CO=optic chiasm, CA=anterior commissure, SCN=suprachiasmatic nucleus. B: Sham operated rats for both nuclei. C: In this rat very small lesions were attained in both nuclei.

and medial preoptic area [5]. Furthermore, fibers from the SCN have been found to reach more posterior regions of the central gray, up to the area of the nucleus of the solitary tract [32]. Finally, a diffuse interstitial plexus, that lies in the ventrolateral angle of the periventricular gray adjacent to the LC, has been known to send afferent connections to the LC [25]. It is very important to point out that the central gray substance, medial to the LC, projects to the hypothalamic nuclei and medial preoptic area [5].

The functional importance of PVG and its connections in the neuroendocrine control is suggested by the fact that simultaneous damage to this area and the LC prevents the LC effect upon the estrous cyclicity [33,34] and upon PE

activity induced either by exposure to LL or by SCN damage.

Effects of anesthesia, sampling, and surgical procedures, or mechanical damage of brain tissue by the lesioning electrodes are discarded as causes of the suppression of the normal estrous cycling of PE activity after LC damage because these suppressing effects were not present in control and sham operated rats. In these series of studies, we have shown effects due only to a partial impairment of LC function. A very large lesion of LC has been reported to result in the development of a sudden death syndrome [31], therefore it is necessary to spare a certain amount of LC to be able to study the animals. It is probable that the non-damaged LC

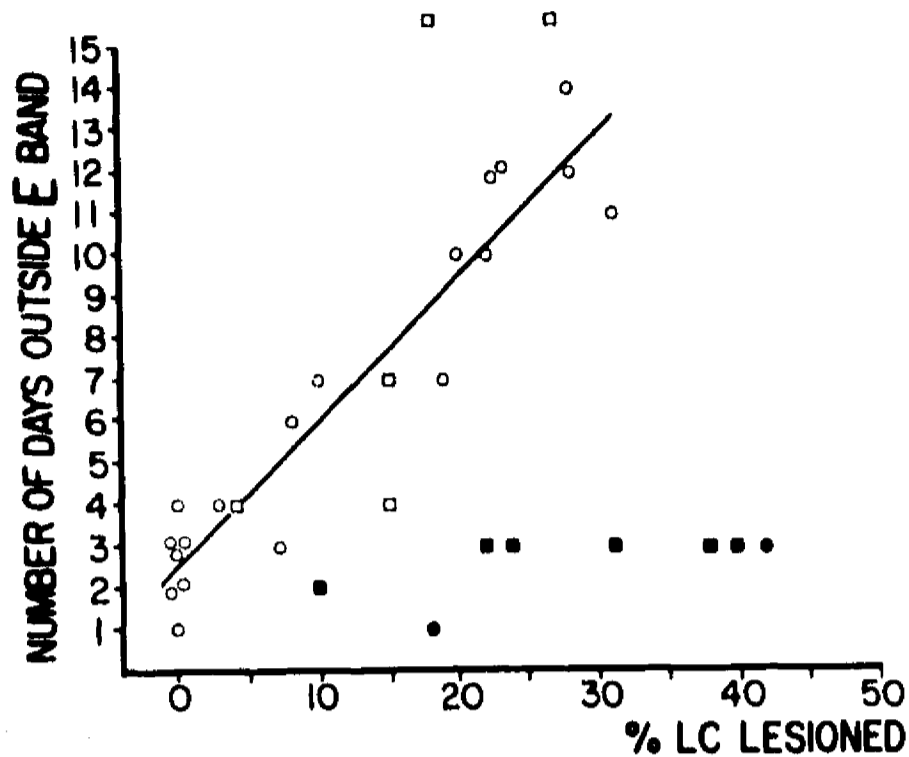


FIG. 6. Scatter plot of the number of days outside the E band against the size of the lesion. Open symbols for rats with LC lesion effects. Solid symbols for rats with ineffective LC lesions. Circles are for normal cycling rats with LC operation. Squares are for the SCN damage experiment rats. The straight line was obtained from the normal cycling rats with LC lesion effect using a regression analysis.

covers for the LC function shortcomings caused by the lesion, and after a recuperation period, the estrous cyclicality or PE activity is reestablished. A supersensitivity phenomena to norepinephrine could also be involved in the reestablishment of the estrous cyclicality or PE activity after LC damage. Administration of noradrenaline, at doses so small as to be ineffective in normal rats, markedly increased plasma

gonadotropins in rats treated with the neurotoxin 6-hydroxydopamine [4]. Supersensitivity of the noradrenergic system in the spinal cord after the same neurotoxin treatment has also been described [15].

The reestablishment of estrous cyclicality or PE activity after LC damage further supports the conclusion that the rat brain can compensate for the loss of noradrenergic input on a chronic basis [8]. Further experimental work is necessary for a better understanding of the functional significance of the LC noradrenergic modulation and the PVG role upon the neuroendocrine activity. For example, electrical stimulation of the LC or of the PVG during critical periods of the estrous cycle or during an experimental PE would provide data indicating facilitatory or obstructing influences. The effects of PVG damage on sex hormone levels remain to be determined. Also, it seems appropriate to try to prevent the suppression effect due to LC lesion upon the normal cycle or PE by adequate hormonal treatments. Our work reinforces the hypothesis that an adequate level of noradrenergic activity is ordinarily necessary for neuroendocrine activity [8], but emphasize the participation of LC as a specific noradrenergic source. A modulatory, rather than a mandatory, role of this noradrenergic source is also manifested [27]. This last agrees well with the proposition that the function of LC is, after all, to maintain optimal levels of excitability throughout the neuraxis [1].

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Mr. Carlos de los Santos Toledo and Ms. Ingrid Maseher for their technical assistance, and to Dr. Baltazar Barrera Mera and Dr. Roberto Prado Alcalá for their valuable suggestions and comments. The first author is gratefully indebted to Mrs. Alicia Flores de Solano and to Mr. Delfino Solano Yáñez for their encouragement and financial support, without which this work would not have been completed.

REFERENCES

1. Amaral, D. G. and H. M. Sinnamon. The locus coeruleus: neurobiology of a central noradrenergic nucleus. *Prog Neurobiol* 9: 147-196, 1977.
2. Anselmo-Franci, J. A. and J. Antunes-Rodrigues. Effect of locus ceruleus lesion on luteinizing hormone secretion under different experimental conditions. *Neuroendocrinology* 41: 44-51, 1985.
3. Antunes-Rodrigues, J. and S. M. McCann. Effect of supra-chiasmatic lesions on the regulation of luteinizing hormone secretion in the female rat. *Endocrinology* 81: 666-670, 1967.
4. Bacha, J. C. and A. O. Donoso. Enhanced luteinizing hormone release after noradrenaline treatment in 6-hydroxydopamine-treated rats. *J Endocrinol* 62: 169-170, 1974.
5. Berk, M. L. and J. A. Finkelstein. Afferent projections to the preoptic area and hypothalamic regions in the rat brain. *Neuroscience* 6: 1601-1624, 1981.
6. Brown-Grant, K. and G. Raisman. Abnormalities in reproductive function associated with the destruction of the supra-chiasmatic nuclei in female rats. *Proc R Soc Lond [Biol]* 198: 279-296, 1977.
7. Cedarbaum, J. M. and G. K. Aghajanian. Afferent projections to the rat locus coeruleus as determined by a retrograde tracing technique. *J Comp Neurol* 178: 1-16, 1978.
8. Crifton, D. K. and C. H. Sawyer. LH release and ovulation in the rat following depletion of hypothalamic norepinephrine: chronic vs. acute effects. *Neuroendocrinology* 28: 442-449, 1979.
9. Daane, T. A. and A. F. Parlow. Serum FSH and LH in constant light-induced persistent estrus: short-term and long-term studies. *Endocrinology* 88: 964-968, 1971.
10. Daikoku, S., H. Matsumura and Y. Shinohara. Efferent projection of the nucleus praepopticus medialis to the median eminence in rats. *Neuroendocrinology* 21: 130-138, 1976.
11. Dotti, C. and S. Taleisnik. Inhibition of the release of LH and ovulation by activation of the noradrenergic system. Effect of interrupting the ascending pathways. *Brain Res* 249: 281-290, 1982.
12. Fiske, V. M. Effect of light on sexual maturation, estrous cycles and anterior pituitary of the rat. *Endocrinology* 29: 187-196, 1941.
13. Goodman, R. L. A quantitative analysis of the physiological role of estradiol and progesterone in the control of tonic and surge secretion of luteinizing hormone in the rat. *Endocrinology* 102: 142-150, 1978.
14. Gray, G. D., P. Södersten, D. Tallentire and J. M. Davidson. Effects of lesions in various structures of the supra-chiasmatic-preoptic region on LH regulation and sexual behavior in female rats. *Neuroendocrinology* 25: 174-191, 1978.
15. Jones, D. J., O. F. Alcántara and R. M. Ademe. Supersensitivity of the noradrenergic system in the spinal cord following intracisternal injection of 6-hydroxydopamine. *Neuropharmacology* 23: 431-438, 1984.

16. Jones, B. E., A. E. Halaris, M. McIlhany and R. Y. Moore. Ascending projections of the locus coeruleus in the rat. I. Axonal transport in central noradrenaline neurons. *Brain Res* 127: 1-21, 1977.
17. Jones, B. E. and R. Y. Moore. Ascending projections of the locus coeruleus in the rat. II. Autoradiographic study. *Brain Res* 127: 23-53, 1977.
18. Kučera, P. and P. Favrod. Suprachiasmatic nucleus projection to mesencephalic central grey in the woodmouse (apodemus sylvaticus L.). *Neuroscience* 4: 1705-1715, 1979.
19. Lindvall, O. and A. Björklund. The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain. *Acta Physiol Scand [Suppl]* 412: 1-48, 1974.
20. Loizou, L. A. Projections of the nucleus locus coeruleus in the albino rat. *Brain Res* 15: 563-566, 1969.
21. Naftolin, F., K. Brown-Grant and C. S. Corker. Plasma and pituitary luteinizing hormone and peripheral plasma oestradiol concentrations in the normal oestros cycle of the rat and after experimental manipulation of the cycle. *J Endocrinol* 53: 17-30, 1972.
22. Pickard, G. E. The afferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the golden hamster with emphasis on the retino-hypothalamic projection. *J Comp Neurol* 211: 65-83, 1982.
23. Raisman, G. and K. Brown-Grant. The 'suprachiasmatic syndrome': endocrine and behavioural abnormalities following lesions of the suprachiasmatic nuclei in the female rat. *Proc R Soc Lond [Biol]* 198: 297-314, 1977.
24. Raisman, G., W. M. Cowan and T. P. S. Powell. An experimental analysis of the efferent projection of the hippocampus. *Brain* 89: 83-108, 1966.
25. Russell, G. V. The nucleus locus coeruleus (dorsolateralis tegmenti). *Tex Rep Biol Med* 13: 939-988, 1955.
26. Sakai, K., M. Touret, D. Salvert, L. Leger and M. Jouvet. Afferent projections to the cat locus coeruleus as visualized by the horseradish peroxidase technique. *Brain Res* 119: 21-41, 1977.
27. Sawyer, C. H. and D. K. Clifton. Aminergic innervation of the hypothalamus. *Fed Proc* 39: 2889-2895, 1980.
28. Schwartz, N. B. Mechanisms controlling ovulation in small mammals. In: *Handbook of Physiology: Endocrinology*, Sec 7, Vol II, Part 1, edited by R. O. Greep and E. B. Astwood. Washington, DC: American Physiological Society, 1973, pp. 125-141.
29. Schwartz, S. M. Effects of constant bright illumination on reproductive processes in the female rat. *Neurosci Biobehav Rev* 6: 391-406, 1982.
30. Sétáló, G., S. Vigh, A. V. Schally, A. Arimura and B. Flerkó. Immunohistological study of the origin of LH-RH-containing nerve fibers of the rat hypothalamus. *Brain Res* 103: 597-602, 1976.
31. Snyder, D. W. and D. J. Reis. Sudden death following bilateral lesions of nucleus locus coeruleus. *Soc Neurosci Abstr* 1: 425, 1975.
32. Sofroniew, M. V. and A. Weindl. Projections from the parvocellular vasopressin- and neurophysin-containing neurons of the suprachiasmatic nucleus. *Am J Anat* 153: 391-430, 1978.
33. Solano-Flores, L. P., H. U. Aguilar-Baturoni and R. Guevara Aguilar. Transient cessation of female rat sexual cycle after electrolytic damage of locus coeruleus. *Brain Res Bull* 8: 703-709, 1982.
34. Solano-Flores, L. P., O. A. Donatti-Albarrán and R. Guevara-Aguilar. Effect of locus coeruleus and periventricular gray substance lesions on bright light-induced persistent estrous. *Brain Res Bull* 17: 759-765, 1986.
35. Stephan, F. K., K. J. Berkley and R. L. Moss. Efferent connections of the rat suprachiasmatic nucleus. *Neuroscience* 6: 2625-2641, 1981.
36. Ungerstedt, U. Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol Scand [Suppl]* 367: 1-48, 1971.
37. Van Rees, G. P., J. J. Van der Werff Ten Bosch and O. L. Wolthuis. Prolonged vaginal oestrus and the normal oestrous cycle in the rat. *Acta Endocrinol (Copenh)* 40: 95-102, 1962.
38. Velasco, M. E. and S. Taleisnik. Release of gonadotropins induced by amygdaloid stimulation in the rat. *Endocrinology* 84: 132-139, 1969.
39. Velasco, M. E. and S. Taleisnik. Effect of hippocampal stimulation on the release of gonadotropin. *Endocrinology* 85: 1154-1159, 1969.

COMENTARIO FINAL

El presente trabajo presenta evidencias que indican una posible participación del LC en la modulación de los eventos neuroendócrinos relacionados con la regulación del ciclo estral y del EP inducido experimentalmente.

Debido a que el establecimiento del EP inducido por LL como respuesta específica que depende de un cambio en el estado de funcionalidad del NSQ, los resultados del primer estudio, en el que este EP fue suprimido por la lesión del LC, sugieren una participación moduladora del LC sobre la función del NSQ relacionada con el control de la actividad neuroendócrina gonadotrópica.

Debido a que el establecimiento del EP inducido por lesión del NSQ es una respuesta de los mecanismos neuroendócrinos gonadotrópicos ante la falta de señales provenientes del NSQ, los resultados del segundo estudio, en el que dicho EP fue suprimido por la lesión del LC, sugieren una participación moduladora del LC sobre los eventos neuroendócrinos gonadotrópicos.

Los resultados del presente trabajo y su implicación en la función gonadotrópica, así como las posibles vías involucradas, ya han sido discutidos en su oportunidad en los dos documentos anteriores.

La posible participación moduladora del LC sobre los eventos debidos a la actividad del NSQ queda aún más respaldada por datos electrofisiológicos presentados

recientemente por nuestro laboratorio, los que indican que, al parecer, existe una comunicación bidireccional polisináptica entre el LC y el NSQ (Legoratti et al., 1989). Así, los autores registraron, en ratas, un potencial en el área del NSQ provocado por la estimulación eléctrica del LC. Además, un potencial en el LC fue provocado por la estimulación del NSQ. De las maniobras efectuadas en sus experimentos, los autores infirieron que la región de proyección del LC hacia el NSQ es específica y que la zona de proyección del NSQ hacia el LC también es específica. Asimismo, la zona activada en el LC por la estimulación del NSQ es específica y la zona de activación en el NSQ por la estimulación del LC también es específica. La funcionalidad de las vías anatómicas involucradas en la mutua comunicación entre el LC y el NSQ demostradas electrofisiológicamente en el trabajo anterior pudieran explicar el efecto supresor de la lesión del LC sobre la ciclicidad estral y el EP inducido por LL. Ya caracterizada así la respuesta electrofisiológica de cada uno de estos núcleos por la estimulación del otro, quedan aún por determinarse los posibles cambios en la configuración de potenciales, su amplitud o duración, durante los diversos estadios del ciclo estral, lo que pudiera dar información de las variaciones en la excitabilidad de cada uno de estos núcleos a lo largo del ciclo.

Al lesionar el LC de ratas hembras, Solano et al. (1982) produjeron una supresión transitoria del ciclo estral con lo que sugirieron que el LC pudiera estar desempeñando una función moduladora en la expresión normal de la

7

ciclicidad estral. El trabajo aquí presentado ofrece evidencias que indican que el LC pudiera estar participando en la actividad cerebral relacionada con los eventos neuroendócrinos que determinan el ciclo estral así como el EP experimentalmente inducido. Evidencias experimentales proporcionadas recientemente por Gittler y Barraclough (1987a) respaldan lo anterior pues ellos evaluaron los efectos de la estimulación eléctrica del LC sobre el patrón y concentración plasmática de la LH inducido por la estimulación electroquímica de los núcleos preópticos mediales (NPM) en la rata hembra ovariectomizada y estrogenizada. La estimulación de los NPM produjo un aumento significativo en los niveles plasmáticos de LH. La estimulación del LC contralateral pero no del LC ipsilateral 30 min después de la estimulación de los NPM produjo un aumento adicional y mantenido de la concentración plasmática de la LH. La estimulación del LC en ratas en las cuales no se estimuló los NPM no tuvo efecto alguno en los niveles basales de LH. Dichos efectos fueron suprimidos completamente por la administración de bloqueadores farmacológicos de los receptores adrenérgicos, lo que indica que la NE es el neurotransmisor involucrados en dichos efectos (Gittler y Barraclough, 1987b). En suma, los resultados presentados por dichos autores indican que el LC tiene un efecto facilitador sobre la liberación de LH. Los resultados de Solano et al. (1982) y los aquí presentados sugieren por su parte, también, un efecto facilitador modulador del LC sobre la liberación de

7

las hormonas gonadotrópicas, pues tanto de la ausencia de la actividad cíclica como de la ausencia del EP asociadas a la lesión del LC se puede inferir que dicha lesión produjo un bloqueo de la secreción de gonadotropinas y de esteroides ováricos necesarios para mantener el ciclo estral así como el EP. Cabe enfatizar que los resultados presentados por Gittler y Barraclough (1987a, 1987b) fueron obtenidos mediante un modelo experimental en el que fue necesario forzar al sistema para hacer manifiesta la supuesta acción del LC sobre el control de la secreción gonadotrópica, pues la estimulación del LC por sí sola no produjo elevación de la LH plasmática en su ratas, sino sólo hasta que los NPM fueron activados previamente por estimulación electroquímica para provocar liberación de LH. Esta situación está de acuerdo con el postulado de que la actividad del LC ante situaciones normales para una función específica, de entre las muchas en las que está involucrado, pudiera quizá no ser trascendente, pero que, en ciertas situaciones especiales, novedosas o estresantes, la influencia del LC puede hacerse manifiesta (Foote et al., 1983; Amaral y Sinnamon, 1977).

La postulación de la participación del LC en los procesos de modulación de la actividad secretora gonadotrópica se respalda, y se complica, aún más, considerando el hecho de que las neuronas del LC capturan hormonas esteroideas. Así, Heritage et al. (1980), después de inyectar ratas hembras castradas con estradiol tritiado, demostraron que el 25% de las neuronas del LC presentan una gran concentración de gránulos de plata en la

autoradiografía, lo que les indicó que estas neuronas son sitios blanco de dicha hormona. Aunque aún no es posible establecer el significado funcional de ese hallazgo, claramente sugiere que la información del ambiente hormonal en el que el animal se encuentra pudiera ser un factor necesario que determine la actividad de las neuronas noradrenergicas del LC. Seria interesante, por un lado, determinar si los patrones de captura de la hormona por el LC son semejante a lo largo del ciclo estral y, por otro lado, seria interesante determinar mediante técnicas electrofisiológicas los cambios de excitabilidad de LC presentados ante diferentes ambientes hormonales. De la información así obtenida podría localizarse aún más la posición que el LC guarda en los circuitos de control de la secreción de gonadotropinas.

La participación moduladora del LC sobre los mecanismos de secreción de agentes humorales, al parecer, no es privativa para el sistema de secreción de gonadotropinas. Experimentos realizados por nuestro mismo grupo de investigación (Rosas et al., 1989) han mostrado una influencia del LC sobre la actividad diurética en la rata. Así, los autores obtuvieron un notable aumento de la diuresis acuosa en ratas despiertas sobrehidratadas ante la estimulación eléctrica del LC, de tal forma que el volumen de sobrehidratación en estos animales fue excretado en la tercera parte del tiempo que, un animal no estimulado en el LC, requiere para excretar cargas de sobrehidratación

7

semejantes. Dichos resultados les sugirieron a los autores una posible participación moduladora supresora del LC sobre la función del sistema antidiurético pues, la rapidez con la que sus animales excretaron la carga de agua ante la estimulación del LC pudiera indicar que un bloqueo de la secreción de hormona antidiurética se llevó a cabo.

Además, es conveniente puntualizar que en esta serie de experimentos se estimuló el LC durante la obtención de flujo urinario normal en animales que no recibieron carga de agua y cuya ingesta de agua fue *ad libitum*. Los resultados así obtenidos no indican que, ante estas circunstancias, se afecte mayormente el flujo urinario, lo que parece indicar de nuevo que el papel del LC en las funciones en las que participa se hace manifiesto ante situaciones especiales, novedosas o asustantes como, en este caso, lo es una sobrehidratación. Ante estos resultados y los aquí presentados en conjunto con los estudios realizados por otros grupos (Sawchenko y Swanson, 1981; Cunningham y Sawchenko, 1988) es posible especular sobre la especificidad tanto de las proyecciones como de la función moduladora que el LC ejerce sobre la actividad secretora de agentes humorales.

Así, es conocido que la hormona antidiurética es sintetizada en el núcleo paraventricular y supraóptico del hipotálamo (Sawchenko y Swanson, 1981). Cunningham y Sawchenko (1988) mediante estudios histológicos mostró que el LC inerva al núcleo paraventricular pero no al núcleo supraóptico, lo que sugiere que la secreción de esta hormona puede ser modulada específicamente, al menos por el LC, a

través de un núcleo particular. Esta acción pudiera ser necesaria para un control específico de la liberación de dicha hormona ante situaciones diversas, como lo son el estrés, cambios posturales, ingesta o pérdida de líquidos e ingesta o pérdida de electrolitos en las que se ha demostrado que la secreción de esta hormona se afecta. En otras palabras, la hormona antidiurética circulante en un momento dado podría no tener el mismo origen que la circulante en otro momento previo o posterior. Para esclarecer esto, podrían colocarse precursores tritiados de dicha hormona en cada uno de sus núcleos de origen, por separado, y someter a los animales a maniobras que afecten la secreción de la hormona, determinando por último sus niveles séricos. Posteriormente se replicarían estos experimentos ante la estimulación o lesión del LC con el propósito de determinar la participación moduladora del LC sobre la secreción de esta hormona ante dichas situaciones.

Por otra parte, es válido pensar que es posible que la vía proveniente del LC involucrada en la modulación de secreción de gonadotropinas también sea específica para ciertas circunstancias. Así, células que contienen LH-RH se encuentran tanto en la región preóptica como en el núcleo arcuato (Sétáló et al., 1976; Kelly et al., 1984) mismas zonas que están inervadas por el LC (Berk y Finkelstein, 1981; Lindvall y Björklund, 1974). Por lo pronto, Gittler y Barraclough (1983) han mostrado que de entre las cuatro zonas por las que las fibras del LC se decusan, las que lo

hacen por la decusación dorsal supraóptica son las que afectan la actividad de las neuronas liberadoras de LH-RH.

En este momento, es conveniente buscar un posible significado funcional de la actividad del LC sobre la función gonadotrófica. Ya Clifton y Sawyer (1979) han enfatizado que un nivel adecuado de actividad noradrenérgica es necesario ordinariamente para la actividad neuroendócrina aunque esta actividad noradrenérgica, más que una función determinante, desempeña una función moduladora (Sawyer y Clifton, 1980). Por su parte, Amaral y Sinnamon (1979) remarcan que la función del LC bien pudiera ser la de mantener al neuroeje en su nivel óptimo de excitabilidad, seleccionando y valorando el significado de las entradas sensoriales internas y externas (Foote et al., 1983).

Ante este contexto, el estado de excitabilidad en el que se encuentran las estructuras involucrados en dicha función así como las condiciones del ambiente hormonal que determinan la descarga fásica de gonadotropinas y, aun la propia descarga en sí, pudieran considerarse eventos que vienen a romper una cierta estabilidad del sistema, son eventos novedosos dentro del ambiente interno propio del animal, ante los cuales el sistema requiere, quizá, modificar constantemente la prioridad de las señales presentes indicadoras del ambiente interno. En otros sistemas se ha puntualizado la posible participación del LC en procesos de atención selectiva y de modificación de la relación señal-ruido en la transmisión de información sensorial (Gervais et al. 1988; Solano y Guevara, 1988).

De lo anterior, sería interesante, entonces, determinar a lo largo del ciclo estral los efectos sobre la excitabilidad de las estructuras que de alguna u otra forma participan en la secreción de gonadotropinas, cuando, condicionando el sistema por la estimulación del LC o por su ausencia, se activen aferencias de dichas estructuras, pudiendo determinarse así, si la activación del LC propicia que en ciertos periodos o condiciones las estructuras estudiadas sean más o sean menos susceptibles de ser excitadas ante otras aferencias. Por ejemplo, podría caracterizarse la actividad unitaria de neuronas de la región preóptica medial en la cual se encuentran células que contienen LH-RH (Sétaló et al., 1976) a lo largo del ciclo estral. Además deberá de caracterizarse el patrón de respuesta de dichas neuronas ante, por ejemplo, la estimulación de la amígdala o del hipocampo, estructuras que proyectan hacia la región preóptica medial (Berk y Finkelstein, 1981) y que, al parecer, ejercen una influencia sobre la secreción gonadotrópica (Velasco y Taleisnik, 1969a, 1969b). Hecho esto, se determinarían los posibles cambios en esos patrones de respuesta ante el bloqueo de actividad del LC o ante su estimulación. Puesto que, tanto el hipocampo como la amígdala reciben fibras provenientes del LC, la influencia de la estimulación del LC sobre estas estructuras podría suprimirse previamente mediante el suministro localizado de algún bloqueador adrenérgico, descartando así que cualquier posible efecto que se observara en la región

7

preoptica medial ante la estimulación de dichas estructuras, pudiera deberse a un cambio de excitabilidad provocado por la misma estimulación del LC, en la propia amígdala o hipocampo.

Información adicional sobre la participación moduladora del LC en los procesos de regulación neuroendócrina gonadotrópica pudiera obtenerse por la aplicación de la técnica de detección de actividad metabólica mediante 2-deoxy-glucosa tritiada. De tal manera, el marcador se suministraría a ratas hembras despiertas en diferentes periodos del ciclo, aún más, en diferentes horas alrededor de la tarde del proestro, para así obtener un patrón control de densidad óptica en la autoradiografía de zonas involucradas en los procesos endócrinos gonadotrópicos. En otro lote de ratas implantadas con electrodos en el LC se suministraría el marcador y se estimularía el LC en esos periodos. El posible cambio en la densidad óptica de la autoradiografía indicaría modificación de la actividad por la estimulación del LC. Algo semejante pudiera hacerse pero en ratas en EP.

EPILOGO

Las características anatómicas y funcionales del LC le confieren a este núcleo una curiosa y particular posición entre todas las estructuras que componen el sistema nervioso. Una posición moduladora generalizada, por un lado, y especializada, por el otro. Generalizada, por la diversidad de estructuras con las que está comunicado. Especializada, por la sutileza de su acción ante condiciones particulares.

Un organismo está expuesto a constantes cambios y estímulos provenientes de su ambiente interno y externo. Otorgándosele el significado adecuado y la debida prioridad a estos cambios y estímulos el organismo responde y funciona óptimamente.

La función neuroendócrina gonadotrópica implica circunstancias en constante cambio. Cambio del ambiente hormonal. Cambio en la excitabilidad de las estructuras participantes. Cambio en la importancia y trascendencia que, en un momento y en un lugar, puede tener una señal neural o humoral.

Así, el organismo requiere de sistemas que determinen la relevancia de las señales que impactan en la cadena de estructuras involucradas en la función neuroendócrina gonadotrópica. El presente estudio ofrece evidencias experimentales que sugieren que el LC, al parecer, es uno de estos sistemas.

BIBLIOGRAFIA

1. Aghajanian, G. K., Cedarbaum, J. M., and Wang, R. Y. Evidence for norepinephrine-mediated collateral inhibition of locus coeruleus neurons. *Brain Res.* 136: 570-577, 1977.
2. Amaral, D. G., and Sinnamon, H. M. The locus coeruleus: neurobiology of a central noradrenergic nucleus. *Prog. Neurobiol.* 9: 147-196, 1977.
3. Anden, N. E., Dhalstrom, A., Fuxe, K., Larsson, K., Olson, L., and Ungerstedt, U. Ascending monoamine neurons to the telencephalon and diencephalon. *Acta Physiol. Scand.* 67: 313-326, 1966.
4. Anlezark, G. M., Crow, T. J., and Greenway, A. P. Impaired learning and decreased cortical norepinephrine after bilateral locus coeruleus lesions. *Science* 181: 682-684, 1973.
5. Anselmo-Franci, J. A., and Antunes-Rodriguez, J. Effect of locus coeruleus lesion on luteinizing hormone secretion under different experimental conditions. *Neuroendocrinology* 41: 44-51, 1985.
6. Antunes-Rodriguez, J., and McCann, S. M. Effect of suprachiasmatic lesions on the regulation of luteinizing hormone secretion in the female rat. *Endocrinology* 81: 660-670, 1967.
7. Aston-Jones, G., and Bloom, F. E. Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. *J. Neurosci.* 1: 876-886, 1981a.
8. Aston-Jones, G., and Bloom, F. E. Norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats exhibit pronounced responses to non-noxious environmental stimuli. *J. Neurosci.* 1: 887-900, 1981b.
9. Aston-Jones, G., Segal, M., and Bloom, F. E. Brain aminergic axons exhibit marked variability in conduction velocity. *Brain Res.* 195: 215-222, 1980.
10. Bacha, J. C., and Donoso, A. O. Enhanced luteinizing hormone release after noradrenaline treatment in 6-hydroxydopamine-treated rats. *J. Endocrinol.* 62: 169-170, 1974.
11. Berk, M. L., and Finkelstein, J. A. Afferent projections to the preoptic area and hypothalamic regions in the rat brain. *Neuroscience* 5: 1601-1624, 1981.
12. Blake, C. A. Effects of pinealectomy on rat pituitary gonadotropin release. *Fed. Proc.* 34: 220, 1975.

13. Brown-Grant, K., and Raisman, G. Abnormalities in reproductive function associated with the destruction of the suprachiasmatic nuclei in female rats. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 198: 279-296, 1977.
14. Bubenik, G., and Monnier, M. Nuclear size variations in cells of the locus coeruleus during sleep, arousal and stress. *Exp. Neurol.* 35: 1-12, 1972.
15. Campbell, C. S., and Schwartz, N. B. The impact of constant light on the estrous cycle of the rat. *Endocrinology* 106: 1230-1238, 1980.
16. Campbell, C. S., and Turek, F. W. Cyclic function of the mammalian ovary. In: J. Aschoff (Ed.), *Handbook of Behavioral Neurobiology*. Plenum Press, New York, 1981.
17. Carrer, H. F., and Taleisnik, S. Effect of mesencephalic stimulation on the release of gonadotrophins. *J. Endocrinol.* 48: 527-539, 1979.
18. Carter, S. B. The relationship of the time of ovulation to the activity pattern in the rat. *J. Endocrinol.* 53: 333, 1972.
19. Cedarbaum, J. M., and Aghajanian, G. K. Noradrenergic neurons of the locus coeruleus: inhibition by epinephrine and activation by the alpha-antagonist piperoxane. *Brain Res.* 112: 413-419, 1976.
20. Cedarbaum, J. M., and Aghajanian, G. K. Afferent projections to the rat locus coeruleus as determined by a retrograde tracing technique. *J. Comp. Neurol.* 178: 1-16, 1978a.
21. Cedarbaum, J. M., and Aghajanian, G. K. Activation of locus coeruleus neurons by peripheral stimuli: modulation by collateral inhibitory mechanisms. *Life Sci.* 23: 1383-1392, 1978b.
22. Chen, C., and Besch, E. Effect of short day photoperiod (SDP) on estrous cycle, pregnancy and onset of puberty in the rat. *Fed. Proc.* 30: 309-310, 1971.
23. Chu, N., and Bloom, F. E. Norepinephrine-containing neurons: changes in spontaneous discharge patterns during sleeping and waking. *Science* 179: 908-910, 1973.
24. Clavier, R. M. Afferent projections to the self-stimulation regions of the dorsal pons, including the locus coeruleus, in the rat as demonstrated by the horseradish peroxidase technique. *Brain Res. Bull.* 4: 497-504, 1979.

25. Clifton, D. K., and Sawyer, C. H. LH release and ovulation in the rat following depletion of hypothalamic norepinephrine: chronic vs. acute effects. *Neuroendocrinology* 28: 442-449, 1979.
26. Clifton, D. K., and Sawyer, C. H. Positive and negative feedback effects of ovarian steroids on luteinizing hormone release in ovariectomized rats following chronic depletion of hypothalamic norepinephrine. *Endocrinology* 106: 1099-1102, 1980.
27. Cunningham, E. T., and Sawchenko, P. E. Anatomical specificity of noradrenergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* 274: 60-76, 1988.
28. Daane, T. A., and Parlow, A. F. Serum FSH and LH in constant light-induced estrus: short-term and long-term studies. *Endocrinology* 88: 964-968, 1971.
29. Dahlstrom, A., and Fuxe, K. Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. *Acta Physiol. Scand.* (Suppl. 232) 62: 1964.
30. Daikoku, S., Matsumara, H., and Shinohara, Y. Efferent projection of the nucleus praepopticus medialis to the median eminence in rats. *Neuroendocrinology* 21: 130-138, 1976.
31. Dark, J. G., and Asdourian, D. Entrainment of the rat's activity rhythm by cyclic light following lateral geniculate nucleus lesions. *Physiol. Behav.* 15: 295-301, 1975.
32. Dillier, N., Laszlo, J., Muller, B., Koella, W. P., and Olpe, H. R. Activation of an inhibitory noradrenergic pathway projecting from the locus coeruleus to the cingulate cortex of the rat. *Brain Res.* 154: 61-68, 1978.
33. Dotti, C., and Taleisnik, S. Inhibition of the release of LH and ovulation by activation of the noradrenergic system. Effect of interrupting the ascending pathways. *Brain Res.* 249: 281-290, 1982.
34. Eastman, C. h. I., Mistlberger, R. E., and Rechtschaffen, A. Suprachiasmatic nuclei lesions eliminate circadian temperature and sleep rhythms in the rat. *Physiol. Behav.* 32: 357-368, 1984.
35. Elam, M., Yao, T., Thoren, P., and Svensson, T. H. Hypercapnia and hypoxia: chemoreceptor-mediated control of locus coeruleus neurons and splanchnic sympathetic nerves. *Brain Res.* 222: 373-381, 1981.

36. Endroczi, E., Marton, I., Radnai, Z., and Biro, J. Effect of the depletion of brain noradrenaline on the plasma FSH and growth hormone levels in ovariectomized rats. *Acta endocr.* 87: 55-60, 1978.
37. Everett, J. W., and Sawyer, C. H. A 24-hour periodicity in the "LH-release apparatus" of female rats, disclosed by barbiturate sedation. *Endocrinology* 47: 198-218, 1950.
38. Faiers, A. A., and Mogenson, G. J. Electrophysiological identification of neurons in locus coeruleus. *Exptl. Neurol.* 53: 254-266, 1976.
39. File, S. E., Deakin, J. F. W., Longden, A., and Crow, T. J. An investigation of the role of the locus coeruleus in anxiety and agonistic behavior. *Brain Res.* 169: 411-420, 1979.
40. Fiské, V. M. Effect of light on sexual maturation, estrous cycles and anterior pituitary of the rat. *Endocrinology* 29: 187-196, 1941.
41. Foote, S. L., Aston-Jones, G., and Bloom, F. E. Impulse activity of locus coeruleus neurons in awake rats and monkeys is a function of sensory stimulation and arousal. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 77: 3033-3037, 1980.
42. Foote, S. L., Bloom, F. E., and Aston-Jones, G. Nucleus locus coeruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. *Physiol. Rev.* 63: 844-914, 1983.
43. Garris, D. R. Direct septo-hypothalamic projections in the rat. *Neurosci. Lett.* 13: 83, 1979.
44. Gervais, R., Holley, A., and Keverne, B. The importance of central noradrenergic influences on the olfactory bulb in the processing of learned olfactory cues. *Chemical Senses* 13: 3-12, 1988.
45. Gittler, M. S., and Barraclough, C. h. A. Locus coeruleus (LC) stimulation augments LHRH release induced by medial preoptic stimulation. Evidence that the major LC stimulatory component enters contralaterally into the hypothalamus. *Brain Res.* 422: 1-10, 1987a.
46. Gittler, M. S., and Barraclough, C. h. A. Effects of drugs which modify catecholamine activity on amplification of LH release induced by locus coeruleus electrical stimulation. *Brain Res.* 437: 332-338, 1987b.
47. Gittler, M. S., and Barraclough, C. h. S. Identification of the hypothalamic site through which locus coeruleus axons decussate to reach and stimulate contralateral LH-RH neurons. *Brain Res.* 447: 205-214, 1988.

48. Goodman, R. L. A quantitative analysis of the physiological role of estradiol and progesterone in the control of tonic and surge secretion of luteinizing hormone in the rat. *Endocrinology* 102: 142-150, 1978.
49. Gray, G. D., Sodersten, P., Tallentire, D., and Davidson, J. M. Effects of lesions in various structures of the suprachiasmatic-preoptic region on LH regulation and sexual behavior in female rats. *Neuroendocrinology* 25: 174-191, 1978.
50. Groos, G. A., and Mason, R. Maintained discharge of rat suprachiasmatic neurons at different adaptation levels. *Neurosci. Letters* 8: 59-64, 1978.
51. Halasz, B., and Pupp, L. Hormone secretion of the anterior pituitary gland after physical interruption of all nervous pathways to the hypophysiotropic area. *Endocrinology* 77: 553-562, 1965.
52. Hansen, P., Sodersten, P., and Srebro, B. A daily rhythm in the behavioral sensitivity of the female rat to oestradiol. *J. Endocrinol.* 77: 381-388, 1978.
53. Heritage, A. S., Stumpf, W. E., Sar, M., and Grant, L. D. Brainstem catecholamine neurons are target sites for sex steroid hormones. *Science* 207: 1377-1379, 1980.
54. Hobson, J. A., McCarley, R. W., and Wyzinski, P. W. Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. *Science* 189: 55-58, 1975.
55. Hoffer, B. J., Siggins, G. R., Oliver, A. P., and Bloom, F. E. Activation of the pathway from locus coeruleus to rat cerebellar purkinje neurons: pharmacological evidence of noradrenergic central inhibition. *J. Pharmac. exp. Ther.* 184: 553-569, 1973.
56. Hoffmann, J. C. Effects of light deprivation on the rat estrous cycle. *Neuroendocrinology* 2: 1-10, 1967.
57. Ibuka, N., Inouye, S. T., and Kawamura, H. Analysis of sleep-wakefulness rhythms in male rats after suprachiasmatic nucleus lesions and ocular enucleation. *Brain Res.* 122: 33-47, 1977.
58. Igarashi, S., Sasa, M., and Takaori, S. Convergence of sensory input from tooth pulp, optic chiasm and sciatic nerve onto locus coeruleus neurons in the rat. *Neurosci. Lett.* 12: 189-193, 1979.
59. Inouye, S., and Kawamura, H. Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*. 76: 5962-5966, 1979.

60. Jones, B. E., Halaris, A. E., McIlhenny, M., and Moore, R. Y. Ascending projections of the locus coeruleus in the rat. I. Axonal transport in central noradrenaline neurons. *Brain Res.* 127: 1-21, 1977.
61. Jones, B. E., and Moore, R. Y. Ascending projections of the locus coeruleus in the rat. II. Autoradiographic study. *Brain Res.* 127: 23-53, 1977.
62. Jones, D. J., Alcantara, O. F., and Adame, R. M. Supersensitivity of the noradrenergic system in the spinal cord following intracisternal injection of 6-hydroxydopamine. *Neuropharmacology* 23: 431-438, 1984.
63. Jouvet, M. Neurophysiology of the states of sleep. *Physiol. Rev.* 47: 117-177, 1967.
64. Jouvet, M. Biogenic amines and the sites of sleep. *Science* 163: 32-41, 1969.
65. Kalra, S. P., and McCann, S. M. Effects of drugs modifying catecholamines synthesis on plasma LH and ovulation in the rat. *Neuroendocrinology* 15: 79-91, 1974.
66. Kelly, M. J., Ronnekleiv, O. K., and Eskay, R. Identification of estrogen-responsive LH-RH neurons in the guinea pig hypothalamus. *Brain Res.* 12: 399-407, 1984.
67. Kobayashi, R. M., Palkovits, M., Kopin, I. J., and Jacobowitz, D. M. Biochemical mapping of noradrenergic nerves arising from the rat locus coeruleus. *Brain Res.* 77: 269-279, 1974.
68. Koizumi, K., and Nishino, H. Circadian and other rhythmic activity of neurons in the ventromedial nuclei and lateral hypothalamic area. *J. Physiol.* 263: 331-356, 1976.
69. Korf, J., Aghajanian, G. K., and Roth, R. H. Increased turnover of norepinephrine in the rat cerebral cortex during stress: role of the locus coeruleus. *Neuropharmacology* 12: 933-938, 1973.
70. Krieg, R. J., and Sawyer, C. h. Effects of intraventricular catecholamines on luteinizing hormone release in ovariectomized-steroid-primed rats. *Endocrinology* 99: 411-419, 1976.
71. Krieg, W. J. S. The hypothalamus of the albino rat. *J. Comp. Neurol.* 55: 19-89, 1932.
72. Kucera, P., and Favrod, P. Suprachiasmatic nucleus projection to mesencephalic central grey in the woodmouse (*Apodemus sylvaticus* L.). *Neuroscience* 4: 1705-1715, 1979.

73. Lawton, I. E., and Schwartz, N. B. Pituitary-ovarian function in rats exposed to constant light: a chronological study. *Endocrinology* 81: 497-508, 1967.
74. Legoratti-Sanchez, M. O., Guevara-Guzman, R., and Solano-Flores, L. P. Electrophysiological evidences of a bidirectional communication between the locus coeruleus and the suprachiasmatic nucleus. *Brain Res. Bull.* 23: 000-000, 1989.
75. Leung, P. C. K., Arendash, G. W., Whitmoyer, D. I., Gorski, R. A., and Sawyer, C. H. Electrical stimulation of mesencephalic noradrenergic pathway: effects on luteinizing hormone levels in blood of ovariectomized and ovariectomized, steroid-primed rats. *Endocrinology* 109: 720-728, 1981.
76. Lindvall, O., and Bjorklund, A. The organization of the ascending catecholaminergic neuron systems in the rat brain. *Acta Physiol. Scand. (Suppl)* 412: 1-48, 1974.
77. Loizou, L. A. Projections of the nucleus locus coeruleus in the albino rat. *Brain Res.* 15: 563-566, 1969.
78. Markee, J. E., Sawyer, C. H., and Holligshead, W. H. Adrenergic control of the release of luteinizing hormone from the hypophysis of the rabbit. *Recent. Prog. Horm. Res.* 2: 117-131, 1948.
79. Markee, J. E., Sawyer, C. H., and Hollinshead, W. H. Activation of the anterior pituitary by electrical stimulation in the rabbit. *Endocrinology* 38: 345-357, 1946.
80. Martini, L. Neuroendocrine control of the pituitary-ovarian axis. In: C. Mac Gregor (Ed.), *Gynecology and Obstetrics*. Excerpta Medica, Amsterdam, 1978.
81. Martinovic, J. V., and McCann, S. M. Effect of lesions in the ventral noradrenergic tract produced by microinjection of 6-hydroxydopamine on gonadotropine release in the rat. *Endocrinology* 100: 1206-1213, 1977.
82. Mason, S. T., and Fibiger, H. C. Regional topography within noradrenergic locus coeruleus as revealed by retrograde transport of horseradish peroxidase. *J. Comp. Neurol.* 187: 703-724, 1979.
83. McBride, R. L., and Sutin, J. Projections of the locus coeruleus and adjacent pontine tegmentum in the cat. *J. comp. Neurol.* 165: 265-284, 1976.
84. McCormack, C. E., and Sridaran, R. Timing of ovulation in rats during exposure to continuous light: evidence for a circadian rhythm of luteinizing secretion. *J. Endocrinol.* 76: 135-144, 1978.

85. Meibach, R. C., and Siegel, A. Efferent connections of the hippocampal formation in the rat. *Brain Res.* 124: 197-224, 1977.
86. Moore, R. Y. Retinohypothalamic projection in mammals: a comparative study. *Brain Res.* 49: 403-409, 1973.
87. Moore, R. Y. Central neural control of circadian rhythm. Chapter 7. In: Ganong and Martini (Eds.), *Frontiers in neuroendocrinology*, New York, 1978. pp. 185-206.
88. Moore, R. Y., and Eichler, V. B. Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Res.* 42: 201-206, 1972.
89. Moore, R. Y., and Lenn, N. J. A retinohypothalamic projection in the rat. *J. Comp. Neurol.* 146: 1-14, 1972.
90. Moore, R. Y., and Rapport, R. L. Pineal and gonadal function in the rat following cervical sympathectomy. *Neuroendocrinology* 7: 361-374, 1971.
91. Morrison, J. H., Molliver, M. E., and Grzanna, R. Noradrenergic innervation of cerebral cortex: wide spread effects of local cortical lesions. *Science* 205: 313-316, 1979.
92. Mosko, S. S., and Moore, R. Y. Neonatal ablation of the suprachiasmatic nucleus. Effects on the development of the pituitary-gonadal axis in female rat. *Neuroendocrinology* 29: 350-361, 1979.
93. Naftolin, F., Brown-Grant, K., and Corker, C. S. Plasma and pituitary luteinizing hormone and peripheral plasma oestradiol concentrations in the normal oestrous cycle of the rat and after experimental manipulation of the cycle. *J. Endocrinol.* 53: 17-30, 1972.
94. Nakai, Y., and Takaori, S. Influence of norepinephrine-containing neurons derived from the locus coeruleus on lateral geniculate neuronal activities of cats. *Brain Res.* 71: 47-60, 1974.
95. Nakamura, S., and Iwama, K. Antidromic activation of the rat locus coeruleus neurons from hippocampus, cerebral and cerebellar cortices. *Brain Res.* 99: 372-376, 1975.
96. Nicholson, G., Greeley, G., Humm, J., Youngblood, W., and Kizer, J. S. Lack of effect of noradrenergic denervation of the hypothalamus and medial preoptic area on the feedback regulation of gonadotropin secretion and the estrous cycle of the rat. *Endocrinology* 103: 559-566, 1978.
97. Nishino, H., Koizumi, K., and McC Brooks, C. h. The role of suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus in the production of circadian rhythm. *Brain Res.* 112: 45-59,

1976.

98. Olson, L., and Fuxe, K. On the projections from the locus coeruleus noradrenaline neurons. The cerebellar innervation. *Brain Res.* 28: 165-171, 1971.
99. Osumi, Y., Oishi, R., Fujiwara, H., and Takagiri, S. Hyperdipsia induced by bilateral destruction of the locus coeruleus in rats. *Brain Res.* 86: 419-427, 1975.
100. Palkovits, M. Isolated removal of hypothalamic or other brain nuclei of the rat. *Brain Res.* 59: 449-450, 1973.
101. Palkovits, M., Brownstein, M., Saavedra, J. M., and Axelrod, J. Norepinephrine and dopamine content of hypothalamic nuclei of the rat. *Brain Res.* 77: 137-149, 1974.
102. Palkovits, M., Fekete, M., Makara, G. B., and Herman, J. P. Total and partial hypothalamic deafferentations for topographical identification of catecholaminergic innervations of certain pre-optic and hypothalamic nuclei. *Brain Res.* 127: 127-136, 1977.
103. Palkowitz, M., Brownstein, M., and Kizer, S. J. Effect of total hypothalamic deafferentation on releasing hormone and neurotransmitter concentrations of the mediobasal hypothalamus in rat. In: E. Endroczi (Ed.), *International Symposium on Cellular and Molecular Bases of Neuroendocrine Processes.* Akademiai Kiado, Budapest, 1976. pp. 575-599.
104. Pardey-Borrero, B. M., Tamasy, V., and Timinas, P. S. Circadian pattern of multiunit activity of the rat suprachiasmatic nucleus during the estrous cycle. *Neuroendocrinology* 40: 450-456, 1985.
105. Pellegrino, L. J., Pellegrino, A. S., and Cushman, A. J. *A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain.* Plenum Press, New York, 1979.
106. Phillis, J. W., and Kostopoulos, G. K. Activation of a noradrenergic pathway from the brain stem to rat cerebral cortex. *Gen. Pharmac.* 8: 207-211, 1977.
107. Pickard, G. E. The afferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the golden hamster with emphasis on the retino-hypothalamic projection. *J. Comp. Neurol.* 211: 65-83, 1982.
108. Raisman, G., and Brown-Grant, K. The 'suprachiasmatic syndrome': endocrine and behavioural abnormalities following lesions of the suprachiasmatic nuclei in the female rat. *Proc. R. Soc. Lond. (Biol.)* 198: 297-314, 1977.

109. Raisman, G., Cowan, W. M., and Fowel, T. P. S. An experimental analysis of the efferent projection of the hippocampus. *Brain* 89: 93-108, 1966.
110. Rance, N., Wise, P. M., Selmanoff, M. K., and Barraclough, C. A. Catecholamine turnover rates in discrete hypothalamic areas and associated changes in median eminence luteinizing hormone-releasing hormone and serum gonadotropins on proestrous and diestrous day 1. *Endocrinology* 108: 1795-1802, 1981.
111. Redmond, D. E., Huang, Y. H., Snyder, D. R., Maas, J. W., and Baulu, J. Hyperphagia and hyperdipsia after locus coeruleus lesions in the stump-tailed monkey. *Life Sci.* 20: 1619-1628, 1977.
112. Reiter, R. J. Comparative effects of continual lighting and pinealectomy on the eyes, the Harderian glands and reproduction in pigmented and albino rats. *Comp. Biochem. Physiol.* 44: 503-509, 1973.
113. Richter, C. P. Sleep and activity: Their relation to the 24-hour clock. *Proc. Assoc. Res. Nerv. Mental. Dis.* 45: 8-27, 1967.
114. Roberts, D. C. S., Price, M. T. C., and Fibiger, H. C. The dorsal tegmental noradrenergic projection: an analysis of its role in maze learning. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 90: 363-372, 1976.
115. Room, P., Postema, F., and Korf, J. Divergent axon collaterals of rat locus coeruleus neurons: demonstration by a fluorescent double labeling technique. *Brain Res.* 221: 219-230, 1981.
116. Rosas-Arellano, M. P., Guevara-Guzman, R., and Solano-Flores, L. P. Homeostasis de los liquidos corporales I: Efecto supresor del locus coeruleus sobre el sistema antidiuretico. *Res. XXXII Congr. Nac. Ciencias Fisiol. Oaxtepec. Mor.* 1989 : , 1989.
117. Russell, G. V. The nucleus locus coeruleus (*dorsolateralis tegmenti*). *Tex. Rep. Biol. Med.* 13: 939-988, 1955.
118. Saavedra, J. M., Palkovits, M., Brown-Stein, M. J., and Axelrod, J. Serotonin distribution in the nuclei of the rat hypothalamus and preoptic region. *Brain Res.* 77: 157-165, 1974.
119. Sakai, K., Touret, M., Salvart, D., Leger, L., and Jouviet, M. Afferent projections to the cat locus coeruleus as visualized by the horseradish peroxidase technique. *Brain Res.* 119: 21-41, 1977.

120. Sasa, M., Munekiyo, K., Ikeda, H., and Takaori, S. Noradrenaline-mediated inhibition by locus coeruleus of spinal trigeminal neurons. *Brain Res.* 80: 443-460, 1974.
121. Satoh, K., Tohyama, M., Yamamoto, K., Sakumoto, T., and Shimizu, N. Noradrenaline innervation of the spinal cord studied by the horseradish peroxidase method combined with monoamine oxidase staining. *Exp. Brain Res.* 30: 175-186, 1977.
122. Sawchenko, P. E., and Swanson, L. W. Central noradrenergic pathways for the integration of hypothalamic neuroendocrine and anatomic responses. *Science* 214: 685-687, 1981.
123. Sawyer, C. H. Stimulation of ovulation in the rabbit by the intraventricular injection of epinephrine or norepinephrine. *Anat. Rec.* 112: 385, 1952.
124. Sawyer, C. H., and Clifton, D. K. Aminergic innervation of the hypothalamus. *Fed. Proc.* 39: 2889-2895, 1980.
125. Sawyer, C. H., and Radford, H. M. Effect of intraventricular injections of norepinephrine on brain-pituitary-ovarian function in the rabbit. *Brain Res.* 146: 83-93, 1978.
126. Schwartz, N. B. Mechanisms controlling ovulation in small mammals. In: R. O. Greep and E. B. Astwood (Eds.), *Handbook of Physiology: Endocrinology*. Sec. 7, Part I. Am. Physiol. Soc., Washington, D.C., 1973. pp. 125-141.
127. Schwartz, S. M. Effects of constant bright illumination on reproductive processes in the female rat. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 6: 391-406, 1982.
128. Schwartz, W. J., and Gainer, H. Suprachiasmatic nucleus: use of ¹⁴C labeled deoxyglucose uptake as a functional marker. *Science* 197: 1089-1091, 1977.
129. Segal, M., and Bloom, F. E. The action of norepinephrine in the rat hippocampus. II. Activation of the input pathway. *Brain Res.* 72: 99-114, 1974.
130. Selmanoff, M. K., Pramik-Holdaway, M. J., and Weiner, R. I. Concentration of dopamine and norepinephrine in discrete hypothalamic nuclei during the rat estrous cycle. *Endocrinology* 99: 326-329, 1976.
131. Setalo, G., Vigh, S., Schally, A. V., Arimura, A., and Flerko, B. Immunohistological study of the origin of LH-RH-containing nerve fibers of the rat hypothalamus. *Brain Res.* 103: 597-602, 1976.

143. Swanson, L. W. The locus coeruleus: a cytoarchitectonic Gogi and immuno-histo-chemical study in the albino rat. *Brain Res.* 110: 39-56, 1976a.
144. Swanson, L. W. An autoradiographic study of the efferent connections of the proptic region in the rat. *J. Comp. Neurol.* 16: 227-, 1976b.
145. Swanson, L. W., Cowan, W. M., and Jones, E. C. An autoradiographic study of the efferent connections of the ventral lateral geniculate nucleus in the albino rat and cat. *J. Comp. Neurol.* 156: 143-164, 1974.
146. Swanson, L. W., and Hartman, B. K. The central adrenergic system. An immunofluorescence study of the location of cell bodies and their efferent connections in the rat utilizing dopamine- β -hydroxylase as a marker. *J. Comp. Neurol.* 163: 467-506, 1975.
147. Takahashi, M., Ford, J., Yoshinga, K., and Greep, R. Ovulation in light-estrous rats induced by darkness. *Endocr. jap.* 24: 89-96, 1977.
148. Takigawa, M., and Mogenson, G. J. A study of inputs to antidromically identified neurons of the locus coeruleus. *Brain Res.* 135: 217-230, 1977.
149. Tima, L., and Flerko, B. Ovulation induced by norepinephrine in rats made anovulatory by various experimental procedures. *Neuroendocrinology* 15: 346-354, 1974.
150. Turek, F. W. Circadian neural rhythms in mammals. *Ann. Rev. Physiol.* 47: 49-64, 1985.
151. Van Rees, G. R., Van den Werff Ten Bosch, J. J., Wolthuis, O. L., and Wolthuis, O. L. Prolonged vaginal oestrus and the normal oestrous cycle in the rat. *Acta Endocrinol. (Copenh)* 40: 95-102, 1962.
152. Van den Pol, A. N. The hypothalamic suprachiasmatic nucleus of rat: Intrinsic anatomy. *J. Comp. Neurol.* 191: 661-702, 1980.
153. Velasco, M. E., and Taleisnik, S. Release of gonadotropins induced by amygdaloid stimulation in the rat. *Endocrinology* 84: 132-139, 1969a.
154. Velasco, M. E., and Taleisnik, S. Effect of hippocampal stimulation on the release of gonadotropin. *Endocrinology* 85: 1154-1159, 1969b.
155. Vogt, M. The concentration of sympathin in different parts of the central nervous system under normal conditions and after administration of drugs. *J. Physiol (London)* 123: 451-481, 1954.

156. Ward, D. G., and Gunn, C. G. Locus coeruleus complex: elicitation of a pressor response and a brain stem region necessary for its occurrence. *Brain Res.* 107: 401-406, 1976.
157. Watts, A. G., Swanson, L. W., and Sanchez-Watts, G. Efferent projections of the suprachiasmatic nucleus. I. Studies using anterograde transport of phaseolus vulgaris leuco-agglutinin in the rat. *J. Comp. Neurol.* 258: 204-229, 1987.
158. Wurtman, R. The effects of light on man and other mammals. *Ann. Rev. Physiol.* 37: 467-483, 1975.
159. Wurtman, R., Axelrod, J., Chu, E., and Fisher, J. Mediation of some effects of illumination on the rat estrous cycle by the sympathetic nervous system. *Endocrinology* 75: 266-272, 1964.
160. Zaborsky, L., and Makara, G. B. Intrahypothalamic connections: an electron microscopic study in the rat. *Exp. Brain Res.* 34: 201-, 1979.
161. Zornetzer, S. F., Abraham, W. C., and Appleton, R. Locus coeruleus and labile memory. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 9: 227-234, 1978.