

03081

7
2ej

RECUPERACION DE LA CONDUCTA SEXUAL POR TRANSPLANTES DE TEJIDO
EMBRIONARIO EN ANIMALES CON LESIONES EN EL AREA PREOPTICA
MEDIA.

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN INVESTIGACION
BIOMEDICA BASICA AREA NEUROCIENCIAS PRESENTA EL MAESTRO EN
CIENCIAS BIOMEDICAS:

RAUL GERARDO PAREDES GUERRERO

INSTITUTO DE FISILOGIA CELULAR, UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

MEXICO D.F. MAYO DE 1992

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

UNAM



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

<u>RESUMEN</u>	3
<u>INTRODUCCION</u>	4
<u>CAPITULO I GENERALIDADES SOBRE LA CONDUCTA SEXUAL</u>	
I.I Descripción.....	5
I.II Neurotransmisores y conducta sexual.....	8
I.III Control neural de la conducta sexual.....	13
I.III.I Area preóptica media y conducta sexual....	15
<u>CAPITULO II GENERALIDADES SOBRE TRANSPLANTES DE TEJIDO</u>	
<u>EMBRIONARIO AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL</u>	
II.I Recuperación anatómica.....	22
II.II Recuperación de funciones.....	24
II.III Mecanismos de recuperación.....	26
<u>CAPITULO III TRANSPLANTES DE HIPOTALAMO FETAL Y</u>	
<u>RECUPERACION DE FUNCIONES</u>	
III.I Recuperación de funciones.....	29
III.II Transplantes de Hipotálamo y reproducción.	31
<u>CAPITULO IV TRABAJO DE INVESTIGACION</u>	
IV.I Planteamiento del problema.....	35
IV.II Primer artículo.....	36
IV.III Segundo artículo.....	43
IV.IV Tercer artículo.....	63
<u>CAPITULO V CONCLUSIONES</u>	83
<u>REFERENCIAS</u>	90

SUMMARY

Large lesions of the medial preoptic area (MPOA) permanently abolished sexual behavior. Sexually experienced male rats received bilateral electrolytic lesions within the medial preoptic area (MPOA) that completely abolished sexual behavior. Hypothalamic fetal brain grafts induce a gradual recovery of sexual behavior, i.e. mounting returned first, followed by intromission and ejaculation. It was suggested that the MPOA functions as an interface between the mechanisms that initiate sexual behavior and those that will lead to ejaculation. In contrast, frontal cortex grafts did not induce sexual behavior despite the fact that healthy and well integrated grafts were observed. It appears that at least some especificity is needed in the grafted tissue to induce sexual behavior in MPOA lesioned male rats.

Cells containing fluorogold were found in the hypothalamic, but not in the cortical, grafts after this retrograde marker was injected in the dorsal tegmental area. These results suggest that the connectivity between brain grafts and host tissue appears to be necessary for the recovery of male sexual behavior in MPOA lesioned rats.

Vo.Bo. Dr. Federico Bermúdez Rattoni
(Asesor)

RESUMEN

El área preóptica media (APM) es una estructura importante en la expresión de la conducta sexual masculina en varias especies. Lesiones bilaterales de esta región cerebral provocan la desaparición de la conducta sexual en forma irreversible. Los trasplantes de tejido cerebral fetal pueden inducir la recuperación de funciones motoras y cognoscitivas en diferentes modelos en animales.

Ratas macho sexualmente activas que perdieron la conducta sexual por lesiones electrolíticas en el APM recibieron trasplantes de tejido cerebral fetal de 17 días. Animales que fueron transplantados con tejido hipotalámico fetal recuperaron la conducta sexual en forma paulatina. Sin embargo, la recuperación de la conducta sexual no fue completa ya que las latencias de monta e intromisión se mantuvieron prolongadas. Los resultados sugieren que el área preóptica media esta involucrada en los mecanismos relacionados tanto con la motivación como con la ejecución de la conducta sexual. Animales que recibieron trasplantes de corteza cerebral fetal no recuperaron la conducta. Más aún, los trasplantes hipotalámicos, pero no los de corteza cerebral, establecen conexiones con el tegmento dorsolateral, conexiones que se sabe son importantes para la expresión del patrón reproductor. Los resultados sugieren que las conexiones entre el tejido transplantado y el huésped son necesarias para la recuperación conductual en animales con lesiones en el APM.

RESUMEN

El área preóptica media (APM) es una estructura importante en la expresión de la conducta sexual masculina en varias especies. Lesiones bilaterales de esta región cerebral provocan la desaparición de la conducta sexual en forma irreversible. Los trasplantes de tejido cerebral fetal pueden inducir la recuperación de funciones motoras y cognoscitivas en diferentes modelos en animales.

Ratas macho sexualmente activas que perdieron la conducta sexual por lesiones electrolíticas en el APM recibieron trasplantes de tejido cerebral fetal de 17 días. Animales que fueron transplantados con tejido hipotalámico fetal recuperaron la conducta sexual en forma paulatina. Sin embargo, la recuperación de la conducta sexual no fue completa ya que las latencias de monta e intromisión se mantuvieron prolongadas. Los resultados sugieren que el área preóptica media esta involucrada en los mecanismos relacionados tanto con la motivación como con la ejecución de la conducta sexual. Animales que recibieron trasplantes de corteza cerebral fetal no recuperaron la conducta. Más aún, los trasplantes hipotalámicos, pero no los de corteza cerebral, establecen conexiones con el tegmento dorsolateral, conexiones que se sabe son importantes para la expresión del patrón reproductor. Los resultados sugieren que las conexiones entre el tejido transplantado y el huésped son necesarias para la recuperación conductual en animales con lesiones en el APM.

INTRODUCCION

La plasticidad es uno de los grandes campos de las neurociencias que se ha enfocado a estudiar los mecanismos involucrados en los cambios tanto funcionales con conductuales dentro del sistema nervios central (SNC). Independientemente del modelo utilizado para estudiar la plasticidad todos comparten como fin último el conocimiento del funcionamiento normal del SNC. El primer problema al que nos enfrentamos cuando tratamos de estudiar fenomenos plásticos consiste en definir el término "plasticidad". Una definición de este concepto puede abarcar desde cualquier tipo de aprendizaje hasta fenómenos neuronales específicos (para una discusión consultar Almlí y Finger 1988; Bach-y-Rita 1990). Desde el punto de vista clínico la plasticidad cobra gran importancia cuando en ésta se involucra la recuperación de funciones por diferentes tipos de lesiones.

Los transplantes de tejido fetal al SNC se han utilizado ampliamente para estudiar los posibles mecanismos relacionados con la recuperación de funciones perdidas por lesiones al SNC. Dentro de los modelos utilizados para estudiar estos mecanismos se encuentra el estudio de funciones reproductivas. En el presente trabajo se describirá como la recuperación de la conducta sexual en la rata macho por transplantes de tejido fetal puede ser de utilidad para conocer algunos mecanismos de plasticidad así como aquellos que se involucran en el control de este patrón reproductor.

CAPITULO I DESCRIPCION DE LA CONDUCTA SEXUAL

I.I Descripción

La conducta sexual es una de las expresiones conductuales más importantes para cualquier especie. La expresión de esta conducta representa la interacción de procesos neuroendocrinos, fisiológicos y anatómicos que se desarrollaron mucho antes de que se de la conducta. Es evidente que la conducta que nos ocupa varía dependiendo de la especie en estudio, por lo que la descripción de la conducta sexual estará limitada en el presente trabajo a la rata macho. Podemos dividir la conducta sexual en conducta precopulatoria, conducta copulatoria y conducta postcopulatoria.

Conducta precopulatoria:

La mayoría de los estudios relacionados con conducta sexual se enfocan básicamente sobre los aspectos relacionados con la expresión de la conducta copulatoria. Esto es, el estudio de los patrones de monta, intromisión y eyaculación y las variables que los pueden afectar. Sin embargo, un aspecto que puede determinar la aparición o no de la conducta sexual es el despliegue de las conductas precopulatorias. La conducta precopulatoria puede durar desde unos cuantos segundos hasta minutos u horas dependiendo de la especie (Sachs y Meisel 1988). La conducta precopulatoria en las ratas consiste básicamente de olfateo, exploración genital y aseo del compañero además de persecución (Hlinak 1986; Hlinak y cols. 1987). El despliegue de conductas de atracción por

parte de la hembra (hopping-darting) es también determinante para la aparición de la conducta copulatoria (Hlinak 1990). Es evidente que sin una adecuada conducta precopulatoria, la copulación puede no ocurrir. Manipulaciones que disminuyen la estimulación adecuada necesaria para desencadenarla (Sachs y Meisel 1988) o tratamientos farmacológicos que alteran la conducta precopulatoria (Paredes y Agmo 1989) inhiben la conducta sexual. Se ha postulado que la transición de la conducta precopulatoria a la fase copulatoria parece ser el momento clave en la interacción sexual (Hlinak y cols. 1987).

Conducta copulatoria:

La conducta copulatoria en la rata macho consta de patrones motores fácilmente identificables que se dividen en monta, intromisión y eyacuación. En la monta el macho se aproxima por detrás a la hembra, se para en las patas posteriores y toca los flancos de la hembra realizando movimientos pélvicos relativamente débiles. La intromisión consiste de una monta con movimiento pélvico extenso que termina con una desmonta vigorosa y que generalmente va acompañada de penetración vaginal. La eyacuación se caracteriza por una intromisión que se mantiene por algunos segundos con flexiones repetidas de los cuartos delanteros y una desmonta lenta. Durante la conducta copulatoria el macho puede o no desplegar montas y el número de intromisiones varía entre 8 a 15 antes de alcanzar la eyacuación. Un macho sexualmente experto puede alcanzar la eyacuación entre 5 y

10 minutos después de entrar en contacto con una hembra receptiva. Posterior a la eyaculación el macho es refractario a la estimulación sexual por 5-8 minutos. Después de el período refractario, el animal puede reiniciar la copula y completar varias series copulatorias. El número de intromisiones, así como la latencia de eyaculación se reducen en la segunda y tercera serie copulatoria incrementándose en las series subsecuentes. Un animal con experiencia sexual puede eyacular entre 8 a 10 veces antes de quedar sexualmente exhausto (una descripción detallada de la conducta copulatoria se puede encontrar en las excelentes revisiones de Larsson 1979 y Sachs y Meisel 1988). El patrón copulatorio no parece ser sensible a alteraciones perceptuales. La privación de diferentes modalidades sensoriales como el olfato, la visión y la sensibilidad de la piel en la cara de la rata no alteran la conducta de la rata en forma importante (Beach 1942). Más aún, la anosmia producida por lesiones del bulbo olfatorio, así como la ceguera producida al cortar los nervios ópticos y la sordera, no afectan la copulación en ratas que han tenido cuando menos la experiencia de una serie copulatoria (Larsson 1979).

Conducta postcopulatoria

Después de eyacular el macho entra en un intenso período de acicalamiento seguido por inactividad, siendo refractario a la estimulación sexual. El período refractario se divide en

absoluto y relativo. Durante el período refractario absoluto no ocurre conducta sexual mientras que durante el período refractario relativo el animal puede montar si recibe la suficiente estimulación. Por ejemplo, estimulación eléctrica a los flancos del macho reduce el intervalo posteyaculatorio en un 25% (Barfield y Sachs 1968). Se ha demostrado, además, que durante aproximadamente el 75% del intervalo posteyaculatorio los machos emiten vocalizaciones ultrasónicas de 22KHz que se modifican de acuerdo al número de eyaculaciones previas (Larsson 1979; Sachs y Meisel 1988).

I.II Neurotransmisores y conducta sexual

Estudios farmacológicos sugieren que varios neurotransmisores o neuromoduladores parecen estar involucrados en el control de la conducta sexual. Sin embargo, gran parte de la literatura apoya la participación de la serotonina (5-HT), la dopamina (DA), el GABA y los opiáceos como los principales candidatos responsables de la regulación de esta conducta. En el presente trabajo no se pretende hacer una revisión profunda sobre los datos que apoyan a estos neurotransmisores como reguladores de la conducta sexual, sino simplemente dar un panorama general de el papel de estos neurotransmisores en la conducta. El lector interesado en una descripción detallada puede consultar las revisiones publicadas (Bitran y Hull 1987; Agmo y Fernández 1989; Agmo y Paredes 1988; Paredes y Agmo 1992; Pfau y Gorzalka 1987).

Serotonina. La inhibición de la síntesis de 5-HT con p-clorofenilalanina (PCPA) produce una facilitación de la conducta sexual aumentando la proporción de animales que despliegan la conducta y reduciendo la latencia de eyaculación (Ahlenius y col. 1980). En contraste los incrementos en los niveles cerebrales de 5-HT por la administración de 5-hidroxitriptofano disminuye el número de animales que montan e intromiten y aumenta la latencia de monta e intromisión de aquellos que copulan (Malmnas 1976; Malmnas y Meyerson 1972). Así, se ha postulado que la 5-HT ejerce un papel inhibitorio en el control de la conducta sexual. Sin embargo, estudios donde se administran agonistas o antagonistas de 5-HT han reportado efectos contradictorios (para una discusión ver Bitran y Hull 1987). Los efectos más dramáticos de la manipulación de 5-HT se observan después de la administración de los agonistas parciales 8-hidroxi-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) y lisuride que producen una facilitación extrema de la conducta sexual reduciendo el número de intromisiones y la latencia de eyaculación (Ahlenius y Larsson 1984). Efectos diferenciales para los subtipos de receptores serotoninérgicos han sido descritos. Por ejemplo, se ha demostrado que agonistas del receptor de 5-HT 1A facilitan los mecanismos de eyaculación mientras que agonistas del receptor 1B inhibien la conducta copulatoria de la rata macho (Fernandez-Guasti y Agmo 1990).

Dopamina. La administración del precursor L-DOPA facilita la conducta sexual (Gessa y Tagliamonte 1974). En

contraste, la disminución en los niveles de catecolaminas con 6 hidroxidopamina (6-OH) inhibe la conducta sexual (Caggiula y cols. 1976). La administración aguda de agonistas dopaminérgicos como anfetamina (Soulariac y Soulariac 1957) cocaína (Leavitt 1969) y apomorfinina producen efectos facilitatorios sobre la conducta sexual (Gessa y Tagliamonte 1975). Más aún, la administración de apomorfinina revierte los efectos inhibitorios sobre la conducta producidos por la castración (Malmnas 1973). Microinyecciones de apomorfinina en el APM facilitan varios aspectos de la conducta sexual mientras que la administración de un antagonista dopaminérgico (cis-flupentixol) inhibe la conducta sexual. Los efectos facilitatorios del agonista de DA se bloquean por la administración de dosis subefectivas de flupentixol. Los autores sugieren que receptores dopaminérgicos en el APM regulan factores motivacionales de la conducta sexual (Warner y cols. 1991).

Las evidencias más directas sobre la posible participación de DA en la conducta sexual, se derivan de estudios que han medido la liberación de este neurotransmisor en distintas etapas de la interacción sexual. Se ha demostrado que la liberación de DA aumenta significativamente en el núcleo accumbens cuando se introduce a los machos en una caja de prueba y cuando se añade una hembra receptiva a esta situación (Louilot y cols. 1991; Mas y cols 1990; Pfaus y cols. 1990). Durante la copulación, la cantidad de DA liberada aumenta significativamente tanto en el accumbens

como en el estriado (Mas y cols 1990; Pfaus y cols. 1990). Cuando los animales eran expuestos a una hembra no receptiva o a un macho castrado, no se detectaron cambios importantes en la liberación de DA (Louilot y cols. 1991; Mas y cols 1990). La transmisión dopaminérgica aumenta en el núcleo accumbens durante la fase anticipatoria de la conducta sexual y se incrementa tanto en el estriado como en el accumbens durante la fase consumatoria (Pfaus y cols. 1990). En conjunto, los resultados arriba descritos permiten suponer que la dopamina ejerce un papel facilitatorio sobre la conducta sexual.

GABA. Se ha demostrado que la concentración de GABA en el líquido cerebroespinal aumenta significativamente en el macho después de eyacular (Qureshi y Sodersten 1986). La inyección de bicuculina, antagonista de GABA, en el área preóptica media (APM) facilita varios parámetros del patrón reproductor (Fernandez-Guasti y cols. 1985) y reduce las vocalizaciones ultrasónicas emitidas durante el intervalo posteyaculatorio (Fernandez-Guasti y cols. 1986). Se ha postulado que GABA está involucrado en los procesos inhibitorios que se activan durante el intervalo posteyaculatorio (Fernandez-Guasti y cols. 1985, 1986).

La administración sistémica de drogas que aumentan los niveles de GABA o que estimulan específicamente los receptores GABA-A inhiben la conducta sexual (Agmo y Paredes 1985; Agmo y cols. 1987). Sin embargo, esta inhibición esta

asociada a severas alteraciones motoras. Esto es, la conducta sexual se inhibe solo en dosis que inhiben la ejecución motora sugiriendo que el receptor GABA_A es de poca importancia en el control de esta conducta (Agmo y cols. 1987).. En contraste, la estimulación específica del receptor GABA-B, por baclofen, inhibe la conducta sexual alterando las conductas precopulatorias en dosis que no producen alteraciones motoras importantes (Paredes y Agmo 1989). El baclofen afecta también los reflejos penianos ex-copula, mientras que la estimulación del receptor GABA-A no produce ningún efecto (Bitran y cols. 1989). Estos estudios sugieren que la estimulación específica de los receptores GABA-B inhiben la conducta sexual.

Opiáceos. Se ha demostrado que la conducta sexual produce analgesia (Forsberg y cols. 1987; Szechtman y cols. 1981) y una reducción en los niveles de endorfinas en el cerebro medio (Szechtman y cols. 1981). La reducción en la sensibilidad al dolor producida por la eyaculación se bloquea con naloxona, sugiriendo que la analgesia producida por la actividad sexual esta mediada por la estimulación de receptores a opiáceos (Forsberg y cols. 1987). Se ha demostrado también, que la administración de morfina así como de DALA, análogo sintético de las encefalinas, facilitan la conducta sexual (Agmo y Paredes 1988). La facilitación observada con opiáceos es similar a la observada después de la primera eyaculación en animales control (Larsson 1979). Se

ha postulado entonces que la facilitación inducida por la eyaculación sea consecuencia de la liberación de opiáceos. La eyaculación produce preferencia de lugar condicionada que es bloqueada por administración de naloxona en el APM (Agmo y Gomez 1991). Se ha demostrado también, que la depresión postictal conductual (fenomeno observado después de una crisis convulsiva producida por kindling eléctrico) se incrementa cuando se produce una crisis convulsiva después de eyacular. La depresión postictal conductual es opioide dependiente y el incremento observado después de eyacular se bloquea con la administración de naloxona. Estos efectos se observan al estimular el APM y no la amígdala, sugiriendo que la liberación de opiáceos se localiza a el APM (Paredes y cols. 1992).

I.III Control neural de la conducta sexual

Buscando el posible sustrato neural de la conducta sexual se han estimulado y lesionado diferentes áreas cerebrales. A continuación se describirán algunas evidencias que involucran a algunas regiones cerebrales en el control de la conducta sexual.

Bulbo olfatorio. Al remover el bulbo olfatorio en ratas macho, se reduce el número de animales que eyaculan y de aquellos que inician la conducta sexual (Larsson 1969, 1975). La administración de testosterona no revierte los déficits observados al remover el bulbo olfatorio, sugiriendo que los déficits copulatorios no se deben a alteraciones en el

funcionamiento de las gónadas (Larsson 1969,1975). En contraste, la aplicación de choques eléctricos en los flancos del macho lesionado facilita que estos copulen hasta eyacular (Meisel y cols. 1980).

Amígdala. Lesiones del núcleo basolateral de la amígdala (AMG) no producen alteraciones importantes en el patrón reproductor (Sachs y Meisel 1988). Por otro lado, lesiones del núcleo corticomédial de la AMG producen alteraciones en la conducta sexual aumentando la latencia de eyaculación y reduciendo el número de eyaculaciones en el tiempo de prueba (Giantonio y cols. 1970). Otros estudios han demostrado que lesiones de núcleo corticomédial de la AMG además de aumentar la latencia de eyaculación, incrementan el número de intromisiones preeyaculatorias (Harris y Sachs 1975).

Estria terminal. Eferentes del núcleo corticomédial amigdalino viajan a través de la estria terminal para inervar el núcleo de la cama de la estria terminal y el APM (Krettek y Price 19780). Lesiones de la estria terminal aumentan la latencia de eyaculación (Giantonio y cols. 1970). Asimismo, lesiones del núcleo de la cama de la estria terminal aumentan significativamente el número de intromisiones y la latencia de eyaculación (Emery y Sachs 1976; Veleourt y Sachs 1979). Puesto que los efectos de las lesiones del núcleo corticomédial de la AMG, de la estria terminal y del núcleo de la cama de la estria terminal son muy parecidos, se ha propuesto que la estria terminal es un

punto de relevo de la información proveniente de la AMG hacia otras estructuras cerebrales (Sachs y Meisel 1988).

Hipocampo. La lesión del hipocampo ventral no parece alterar la conducta sexual. Lesiones del hipocampo dorsal producen alteraciones de la conducta sexual reduciendo la duración del intervalo posteyaculatorio (Bermant y cols. 1968), mientras que la lesión total del hipocampo aumenta la latencia de monta e intromisión (Dewsbury y cols. 1968).

Tegmento dorso lateral. Lesiones electrolíticas y químicas del tegmento dorsolateral (TDL) producen alteraciones importantes en el patrón de conducta sexual. Se reduce la proporción de animales que despliegan la conducta así como del número de montas e intromisiones (Hansen y cols. 1982; Edwards y Einhorn 1986). Una inhibición similar se observa al lesionar unilateralmente el APM y el TDL contralateral. Se ha propuesto que las conexiones entre el APM y el TDL son determinantes para la expresión de la conducta sexual (Brackett y Edwards 1986).

El presente trabajo se enfoca en el APM, por lo que en el siguiente inciso se describirán detalladamente las evidencias que apoyan la participación de esta estructura en el control de la conducta sexual.

I.III.I Area preóptica media y conducta sexual

A pesar de que lesiones de diferentes estructuras cerebrales pueden afectar de alguna forma la expresión del patrón reproductor, la mayoría de los autores coinciden en

que el área preóptica media parece ser la estructura más importante en el control de la conducta sexual masculina. Las evidencias que involucran a neurotransmisores en el APM y su control sobre la conducta sexual fueron descritas previamente (ver neurotransmisores y conducta sexual). En este inciso se discutirán las evidencias relacionadas con estimulación o lesión del APM.

La estimulación eléctrica del APM facilita la conducta sexual. Esta facilitación involucra una reducción en el número de intromisiones necesarias para eyacular (Malsbury 1971; Merari y Ginton 1975; Vandis y Larsson 1971) así como una reducción en la latencia de eyaculación y un incremento en el número de eyaculaciones durante la prueba (Merari y Ginton 1975; Vandis y Larsson 1971). Asimismo, se observa una gran reducción en el intervalo posteyaculatorio (Madlafousek y cols. 1970; Malsbury 1971; Merari y Ginton 1975; Vandis y Larsson 1971). Estos efectos se observan únicamente durante la administración de la estimulación o inmediatamente después de haberse administrado y se conoce como estimulación asociada a la copulación. Otra forma de estimulación eléctrica, kindling (estimulación subconvulsiva repetida que eventualmente desarrolla crisis generalizadas y que se ha asociado con mecanismos de plasticidad) en el APM induce conducta sexual en animales no copuladores. El mismo procedimiento en la AMG no induce conducta sexual, sugiriendo que los cambios locales en el APM y no la propagación de la

actividad neuronal producida por el kindling inducen conducta sexual (Paredes y cols. 1990).

Lesiones electrolíticas bilaterales del APM alteran la conducta sexual en la rata macho mientras que las lesiones unilaterales en la misma región no afectan la conducta sexual (Lisk 1968). Cuando las lesiones son pequeñas, la alteración de la conducta sexual es temporal pero cuando la lesión es suficientemente grande la conducta sexual desaparece por completo (Heimer y Larsson 1966/1967). Las alteraciones conductuales no dependen de un solo tipo de lesión ya que los efectos se observan también con lesiones con ácido iboténico (Hansen y cols. 1982), radiofrecuencia (Lupo y cols. 1983) y cortes con cuchillo (Szechtman y cols. 1978). Más aún, los efectos de la lesión se han descrito en diferentes especies como son: pollos, ranas, raton, hamsters, cabras, gatos, perros y monos (para una discusión ver, Hart y Leedy 1985; Larsson 1979; Sachs y Meisel 1988).

Los déficits en la conducta sexual producidos por lesiones bilaterales del APM no se asocian con alteraciones del eje hipófisis-gonadas o alteraciones relacionados con los mecanismos de erección o eyaculación (Heimer y Larsson 1966/1967; Lisk 1968; Lupo y cols. 1983; Stefanick y Davidson 1987). Tratamientos con testosterona y procedimientos que inducen conducta sexual en ratas poco activas sexualmente (reemplazo de la hembra, manipulación del macho, choques eléctricos al macho) no restablecen la conducta sexual en ratas con lesiones en el APM (Caggiula y cols. 1974; Heimer y

Larsson 1966/1967; Lisk 1968; Stefanick y Davidson 1987). Los déficits conductuales producidos por la lesión parecen ser permanentes, ya que no se ha detectado recuperación de la conducta en animales aun 8 meses después de la lesión (Ginton y Merari 1977).

Diferentes hipótesis se han planteado para tratar de explicar los mecanismos por los que la lesión del APM afecta la conducta sexual. Ratas macho entrenadas para responder instrumentalmente y obtener acceso a una hembra receptiva, dejan de copular pero siguen mostrando la respuesta instrumental después de lesionar el APM (Everitt y Stacey 1987). Resultados similares se han descrito utilizando el paradigma de preferencia de lugar. Utilizando este procedimiento se ha demostrado que animales con lesiones en el APM prefieren la compañía de una hembra receptiva o estar donde estuvo ésta, sugiriendo que el APM esta involucrada en las respuestas motoras y no en las motivacionales relacionadas con la conducta sexual (Hughes y cols. 1990). Otros estudios que apoyan esta hipótesis han demostrado que animales con lesiones en el APM muestran interés por la hembra y despliegan montas incompletas (Hansen y cols. 1982). Más aún, monos rhesus lesionados en el APM no despliegan conducta copulatoria pero se masturban y aprietan la palanca para obtener la compañía de una hembra (Sлимп y cols. 1978).

Aunque los datos arriba descritos demuestran que la ausencia de conducta sexual en animales con lesiones en el APM se deben a alteraciones relacionadas con la ejecución de

la conducta, existen también datos que sugieren que al lesionar el APM se producen alteraciones en los mecanismos motivacionales. Por ejemplo se ha demostrado que animales con lesiones en el APM muestran menor preferencia por una hembra receptiva que los animales control. Esta preferencia disminuye aún más al aumentar el tiempo de prueba después de la lesión, sugiriendo que la conducta desaparece por una reducción en la motivación sexual (Edwards y Einhorn 1986). La estimulación-asociada a la copulación y la inducción de conducta sexual en animales no copuladores producida por el kindling (arriba descritos) facilitan los aspectos motivacionales de la conducta sexual (Madlafousek y cols. 1970; Paredes y cols. 1990).

La tercera hipótesis sugiere que el APM esta involucrada tanto en los mecanismos relacionados con la ejecución como con los de motivación de esta conducta. Por ejemplo, algunas ratas con lesiones en el APM despliegan algunas montas e intromisiones pero no alcanzan la eyaculación (Ginton y Merari 1977). Secciones del APM han demostrado que cortes dorsales y sagitales producen alteraciones conductuales diferenciales relacionadas con la ejecución e inicio de la conducta respectivamente (Szechtman y cols. 1978). La estimulación eléctrica del APM (Merari y Ginton 1975) y la infusión de bicuculina en esta región (Fernandez-Guasti y cols. 1985) reduce el número de intromisiones, la latencia de eyaculación, el intervalo posteyaculatorio y aumenta el número de eyaculaciones en el tiempo de prueba. Resultados

similares se han observado poco tiempo después de lesiones pequeñas del APM que afectan tanto los mecanismos motores como los de ejecución relacionados con la conducta sexual (Paredes y Agmo 1992).

Resumiendo, lesiones bilaterales del APM desaparecen la conducta sexual en machos de varias especies. Los efectos sobre la conducta no están asociados a alteraciones hormonales, de erección o eyaculación. Además no se ha detectado recuperación espontánea de la conducta y tratamientos que inducen copulación en animales con poca actividad sexual no inducen copulación en animales con lesiones en el APM. Este modelo representa entonces una excelente posibilidad de evaluar la recuperación funcional por transplantes de tejido embrionario en una conducta innata que requiere de patrones conductuales complejos. En el siguiente capítulo se describirán algunas generalidades sobre los transplantes de tejido embrionario al sistema nervioso central.

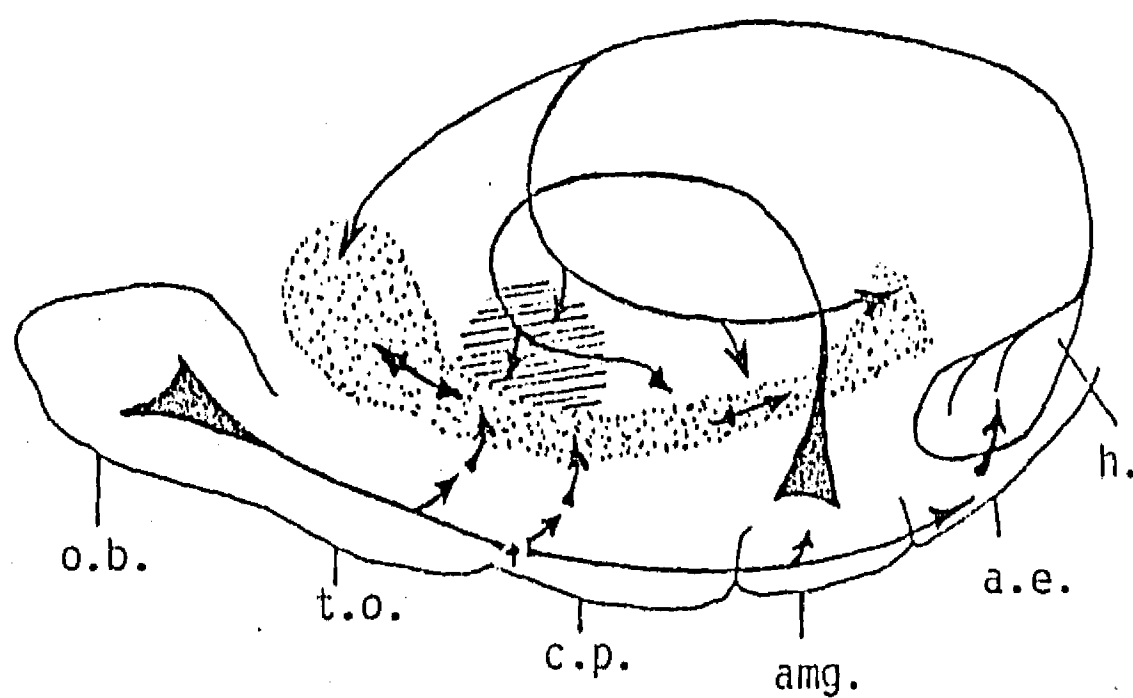


Fig 1. Algunas conexiones hipotalámicas y límbicas involucradas en el control de la conducta sexual en la rata macho. El área rayada representa el área preóptica media. o.b. bulbo olfatorio; t.o. tuberculo olfatorio; c.p. corteza piriforme; amg. amígdala; a.e. área entorinal; h. hipocampo (tomado de Larsson 1979).

CAPITULO II GENERALIDADES SOBRE TRANSPLANTES DE TEJIDO
EMBRIONARIO AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.

II.I Generalidades

Las primeras descripciones de estudios sobre la viabilidad de transplantar tejido del sistema nervioso central (SNC) datan de 1890. Thompson (citado en Das 1990) transplantó tejido cortical de perros y gatos adultos a cerebro de perros adultos con un tiempo de sobrevivencia aproximado de 7 semanas. A partir de entonces los reportes sobre transplantes de tejido cerebral fueron esporádicos. No fue sino hasta la década de los setentas que el estudio de los transplantes al SNC cobró un gran auge que se mantiene hasta la fecha. El presente trabajo no pretende ser una revisión exhaustiva sobre la historia de los transplantes, por de más interesante. Para el lector interesado, dos excelentes revisiones pueden encontrarse en Gash 1984 y Das 1990.

El rápido desarrollo del campo de transplantes ha llevado a plantear a esta técnica como un posible acercamiento para diferentes trastornos del SNC. Así por ejemplo, autotransplantes de médula adrenal (Larsson 1986; Madrazo 1987) y de células dopaminérgicas humanas (Freed y cols. 1990) han sido utilizados con éxito aparente en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson. Acercamientos similares se han utilizado también para el tratamiento de la esquizofrenia (Kolaric y cols. 1988). Además, a nivel de experimentación la técnica de transplantes fetales al SNC se

ha utilizado en diferentes modelos de demencia (Dunnett 1990), depresión (1990) y epilepsia (Barry y cols. 1987; 1989) entre otros. Con el rápido desarrollo de la biología molecular se han utilizado células modificadas genéticamente para realizar trasplantes intracerebrales (Gage y cols. 1991; Kawaja y cols. 1991). Esto tendría la enorme ventaja de poder implantar células que produjeran factores o sustancias específicas, que se suponen alteradas, minimizando la respuesta inmunológica del tejido huésped. Sin embargo, antes de poder usar los trasplantes como una técnica terapéutica en desórdenes neurológicos humanos es necesario responder preguntas como: Que tiempo pueden vivir las células in vivo?, Que condiciones son las adecuadas para mantener estable la relación trasplante-huésped? entre otras (Gage y cols 1991). Además, la descripción de algunos datos negativos dentro de la literatura de los trasplantes hace necesario evaluar gran cantidad de factores antes de poder usarlo como técnica terapéutica. Por ejemplo, se ha observado que algunos efectos benéficos a corto plazo del trasplante desaparecen cuando se realizan pruebas a largo plazo, al menos en algunas tareas de aprendizaje (Dunnet y cols. 1987). Efectos negativos similares se han descrito para diferentes tareas motoras (Lu y cols. 1990; Deckel y cols. 1988 a y b). Así, la maduración anormal del estriado transplantado se correlaciona con déficits en la actividad de los animales transplantados, sugiriendo que el desarrollo anormal del tranplante tiene un impacto importante en los cambios conductuales (Deckel y

cols. 1988 a y b). Es evidente entonces que deben considerarse tanto los efectos benéficos así como los posible efectos negativos de los tranplantes antes de utilizarlos como técnica terapéutica. La disponibilidad de diferentes modelos en donde evaluar las consecuencias de los transplantes de tejido fetal es sin duda de gran utilidad.

II.II Modelos de transplantes

Varios modelos animales han sido desarrollados para tratar de estudiar los mecanismos involucrados en la recuperación de funciones por transplantes de tejido fetal. Es evidente que una revisión de todos ellos esta fuera del objetivo del presente trabajo (para una revisión ver Kimble 1988; Kordower y cols. 1988), por lo que a continuación describiremos brevemente algunos de ellos. Uno de los modelos más utilizados consiste en lesionar unilateralmente la vía nigro-estriado lo que produce un trastorno motor conocido como conducta de giro que puede inducirse por la administración de diferentes fármacos. Varios grupos han demostrado que transplantes de tejido fetal pueden prevenir los déficits motores producidos por la lesión de la vía nigro-estriada (Bjorklund y Stenevi 1979; Dunnet y cols. 1983 Perlow y cols. 1979;). Recuperación similar se ha demostrado en otros modelos de conducta motora que incluyen lesiones en el cerebro anterior (Dunnett y cols. 1987) y lesiones en la corteza frontal (plumet y cols. 1990).

Otro modelo ampliamente utilizado consiste en producir déficits en la adquisición de diferentes aprendizaje y valorar la recuperación inducida por los trasplantes. Así por ejemplo, lesiones de la corteza frontal producen alteraciones en tareas de alternancia. Estas alteraciones pueden revertirse por la implantación de tejido embrionario (Kesslak y cols. 1986; Stein y cols. 1988). En otro modelo de aprendizaje se ha demostrado que la administración de etanol produce alteraciones severas de memoria. Estas alteraciones de memoria se revirtieron por trasplantes fetales en la corteza y el hipocampo (Arendt y cols. 1988). Se ha demostrado también que los trasplantes fetales del SNC son capaces de inducir la recuperación de la habilidad para aprender el condicionamiento aversivo a los sabores que se había perdido por lesiones de la corteza gustativa (Bermudez-Rattoni y cols. 1987; Escobar y cols. 1989).

Los trasplantes parecen ser efectivos también en modelos de vejez. Por ejemplo, se ha demostrado que trasplantes de tejido fetal sobreviven hasta la vejez de los sujetos y que tanto el trasplante como el tejido huésped mantienen las características morfológicas observadas en los trasplantes jóvenes (Russell y cols. 1990). Asimismo, ratas viejas que recibieron trasplante de células noradrenérgicas mejoraron significativamente la retención de una tarea de prevención pasiva en comparación de ratas de la misma edad no transplantadas (Collier y cols. 1988).

Las evidencias arriba descritas demuestran claramente que los trasplantes de tejido embrionario pueden mejorar déficits en funciones motoras y cognitivas. Independientemente del modelo utilizado son varios los posibles mecanismos que se han asociado con la recuperación de funciones. En el siguiente inciso se revisarán brevemente 3 de los mecanismos que más se han relacionado con la recuperación de funciones por trasplantes de tejido embrionario.

II.III Mecanismos de recuperación.

En general son 3 los posibles mecanismos que se han planteado para explicar la recuperación funcional producida por los trasplantes de tejido fetal al SNC. Estos incluyen factores humorales, factores tróficos y restablecimiento de conexiones. A continuación se describirán brevemente algunas evidencias que apoyan a cada uno de estos.

Factores humorales: Se ha propuesto que el trasplante libera factores humorales hacia el huésped (neurotransmisores u hormonas) recuperando las neuronas sensibles a estas moléculas su actividad. Así por ejemplo, la recuperación del control motor por trasplantes de sustancia nigra o células de la médula adrenal en ratas con lesiones en el sistema nigro-estriado parece deberse a liberación de dopamina (Dunnett y cols. 1983; Freed y cols. 1981; Perlow y cols. 1979). Asimismo, trasplantes hipotalámicos con altas cantidades de hormona liberadora de gonadotropinas,

restablecen el funcionamiento normal en animales con deficiencias genéticas en la producción de esta hormona (Gibson y cols. 1985). Por otro lado, la sobrevivencia de neuronas inmunoreactivas para tirosina hidroxilasa (TH) en transplantes corticales se ha asociado con factores humorales tanto en el tejido huésped como en el transplantado (Herman y cols. 1988). Otros estudios han demostrado que la recuperación de la conducta exploratoria producida por transplantes de pituitaria puede estar asociada a factores humorales (Bouchon y Ropartza 1986).

Factores tróficos: Se ha propuesto que el cerebro responde a una lesión produciendo factores tróficos que incrementan la supervivencia neuronal y promueven el crecimiento de neuritas (Cotman y Nieto-Sampedro 1984; Needels y cols. 1985). Se ha demostrado que el hipocampo denervado contiene un factor neurotrófico para neuronas de 5-HT que puede indirecta o indirectamente influir también en neuronas no serotoninérgicas (Zhou y Azmitia 1990). Por otro lado, se conoce que los transplantes cerebrales contiene factores tróficos que pueden promover la supervivencia de células nerviosas, el crecimiento de neuritas así como la diferenciación de neuronas periféricas y del SNC (Cotman y Kesslak 1988). Así se ha propuesto que factores tróficos ya sea producidos por la lesión o contenidos en el trasplante promueven la supervivencia y crecimiento del trasplante (Nieto-Smpedro y Cotman 1986).

Restablecimiento de conexiones: diversos autores han observado una integración completa del transplante y el huésped por medio del establecimiento de conexiones recíprocas entre ambos. Por ejemplo se ha demostrado que trasplantes talámicos pueden integrarse funcionalmente en los circuitos neurales del huésped pocas semanas después del transplante (Nothias y cols. 1988). Conexiones similares se han descrito entre trasplantes del hipocampo y el huésped (Daszuta y cols. 1988) así como entre el neostriado y el huésped (McAllister y cols. 1989). Se ha demostrado además, que las neuronas dopaminérgicas del transplante del estriado pueden restaurar funciones perdidas por degeneraciones genéticas del sistema nigro-estriado (Low y cols. 1987). Además pueden proteger a ratas lesionadas con 6-hidroxidopamina en el estriado de adipsia y afagia (Rogers y cols. 1990). Recuperación de axones catecolaminérgicos (Dunn-Meynell y Levin 1991) así como la normalización de los receptores dopaminérgicos (Dawson y cols. 1991) se ha observado en animales lesionados en la vía nigro-estriada después de trasplantes de tejido fetal. Más aun, neuronas de trasplantes de tejido embrionario son capaces de producir respuestas electrofisiológicas y farmacológicas (Bassant y cols. 1988; Buzsaki y cols. 1987).

CAPITULO III TRANSPLANTES DE HIPOTALAMO FETAL Y RECUPERACION
DE FUNCIONES

III.I Recuperación de funciones.

En el capítulo anterior se describieron evidencias sobre la recuperación funcional por transplantes de tejido embrionario en varias partes del SNC. En el presente capítulo describiré específicamente trabajos de transplantes de tejido hipotalámico que incluye el APM. Como se describió en el primer capítulo la integridad de esta estructura es determinante para la expresión de la conducta sexual masculina.

Los transplantes de tejido hipotálamico se han utilizados en diferentes modelos que incluyen cepas de ratones con deficiencias hormonales genéticas (Krieger y cols. 1985), ratas viejas (Huang y cols 1987), diferenciación sexual (Arendash y Gorski 1985), neuroendocrinología (Paden y cols 1985) y funciones circadianas hipotalámicas (Earnest y cols. 1989).

El ratón hipogonadal (HPG) es una cepa mutante que presenta como características una deficiencia en la hormona hipotalámica liberadora de gonadotrofinas tanto en machos como en hembras, permaneciendo los genitales externos e internos poco desarrollados. El hipogonadismo observado en estos animales puede corregirse al implantar área preóptica fetal en el tercer ventrículo de estos animales. Los transplantes producen apertura vaginal en las hembras y estas desarrollan la capacidad de preñarse y parir crías

aparentemente normales (Krieger y cols. 1985). Resultados similares se han descrito en ratas hembras seniles que presentaban estados de estro irregular, estro constante o pseudo-embarazo. Esto es, las hembras que recibieron el transplante de área preóptica en el tercer ventrículo mostraron mejoría en sus estados irregulares mientras que en el grupo control los trastornos se acentuaron. Esta mejoría se correlacionó con la aparición de células inmunoreactivas para el factor liberador de la hormona luteinizante en el transplante (Rogers y cols. 1985).

No sólo el transplante implantado en el espacio ventricular es efectivo para la recuperación funcional. Cuando el tejido se aplica en el parenkima, esto es en contacto directo con el tejido huésped, se observa también recuperación funcional (Arendash y Gorski 1986). Por ejemplo, se ha observado diferenciación neuronal entre las 2 y 10 semanas después del transplante de hipotálamo fetal. Las células presentaban procesos extensos y elaboraban productos característicos como DA, LHRH y somatostatina (Paden y cols. 1985). Los transplantes fetales hipotalámicos se integran adecuadamente presentando una organización vascular extensa entre el transplante y el huésped (Scott y Kelsick 1985). Además, las neruonas hipotalámicas transplantadas sobreviven largo tiempo estableciendo conexiones anatómicas y funcionales con el tejido adulto (Marciano y cols. 1989). Por ejemplo, al transplantar tejido embrionario de 16 días al hipotálamo lateral de huéspedes de 60 días se forman plexos

densos en las fibras catecolaminérgicas del huésped. Estos plexos densos hacen contactos sinápticos con las dendritas y el soma de las neuronas transplantadas (Silverman y cols. 1987). No solamente se ha demostrado que los trasplantes son capaces de hacer conexiones con el tejido huésped sino también que son capaces de recuperar su actividad bioquímica. Así, se ha demostrado que la actividad de aromatización en trasplantes fetales del APM es muy similar a la del APM intacta (Paden y Roselli 1987). Los trasplantes hipotalámicos también recuperan actividades circadianas perdidas por las lesiones del núcleo supraquiasmático (Drucker-Colin y cols. 1984). Estas actividades incluyen tanto la recuperación cíclica de la secreción de diferentes sustancias (Earnest y cols. 1989; Ralph y Lehman 1991) así como la recuperación cíclica de diferentes patrones conductuales (Drucker-Colin y cols. 1984; Ralph y Lehman 1991).

III.II Transplantes al hipotálamo y reproducción.

En el inciso anterior se describieron trabajos que relacionan los trasplantes de hipotálamo fetal con diferentes funciones reproductivas. En este inciso describiremos los 3 trabajos que en nuestro conocimiento han relacionado los trasplantes con la conducta sexual.

El primer trabajo en esta línea fué realizado por Victoria Luine y colaboradores (1984). Lesiones selectivas de fibras serotoninérgicas en el núcleo ventral hipotalámico con

5,7-dihidroxitriptamina, producen una facilitación de la conducta sexual femenina. Transplantes de células fetales del rafé al hipotálamo de ratas lesionadas, revierten la facilitación de la conducta de lordosis producida por la lesión (Luine y cols. 1984). Análisis inmunocitoquímico y de los niveles de aminos indican que la reinervación del núcleo ventromedial del hipotálamo por el transplante se correlaciona con la recuperación conductual (Luine y cols. 1984). Sin embargo, es necesario mencionar que los efectos de la lesión duran únicamente 8 semanas después de las cuales se reinerva el hipotálamo por fibras serotoninérgicas (Frankfurt y Azmitia 1984). En el trabajo de Luine y cols. (1984) la recuperación conductual producida por el transplante ocurre a las 4 semanas post implante. Esto sugiere que el transplante lo que hace, es acelerar un proceso espontáneo.

Otro de los estudios que han relacionado los transplantes de tejido fetal con la conducta sexual fué el realizado por Arendash y Gorski (1986). En ese estudio el APM de machos de un día de nacido fué transplantado a hembras de la misma camada. Las hembras transplantadas mostraron mayor cantidad de conducta sexual masculina y femenina, cuando adultas, en comparación con animales que recibieron transplante de núcleo caudado o implante falso (Arendash y Gorski 1986). Sin embargo, es necesario mencionar que el despliegue de conducta sexual femenina por ratas macho, puede obtenerse por diferentes manipulaciones experimentales. Tratamientos hormonales y farmacológicos pueden inducir

también conducta sexual masculina en hembras (Rodríguez-Sierra y cols. 1976; Sodersten 1972, 1973). Más aún, se ha descrito que ratas hembras pueden desplegar la conducta sexual masculina espontáneamente (Beach 1938, 1942).

Huang y cols. (1987) transplantaron tejido hipotalámico fetal al tercer ventrículo de ratas viejas que tenían, por la edad, deficiencias en los niveles de testosterona y de hormona luteinizante, así como de conducta sexual. Los animales transplantados mostraron una mejoría significativa en la función neuroendocrina (Huang y cols.). Esto es, aumentaron los niveles de testosterona y de hormona luteinizante. Además, varios de los animales que recibieron transplante de hipotálamo fetal recuperaron la capacidad de fertilizar hembras. El grupo de Huang sugiere que el transplante funciona como una minibomba facilitando la liberación de testosterona y hormona luteinizante.

A diferencia de los trabajos arriba descritos el modelo de lesiones en el APM tiene varias ventajas. Dentro de estas podemos mencionar que la conducta sexual en la ratas es una conducta innata que requiere de patrones conductuales complejos. Como se describió en el primer capítulo las lesiones del APM desaparecen la conducta sexual en forma irreversible. Existe en nuestro conocimiento solamente un estudio que ha descrito una recuperación parcial y temporal de la conducta sexual con tratamiento farmacológico en animales con lesiones en el APM. Métodos que inducen conducta sexual en animales con baja actividad sexual son incapaces de

revertir los efectos de lesiones del APM. Finalmente, pero no menos importante, la pérdida de la conducta sexual no esta asociada con alteraciones hormonales. Todo esto hace que la conducta sexual en animales con lesiones en el APM sea un modelo ideal para estudiar los mecanismos involucrados en la recuperación funcional por transplantes de tejido embrionario.

CAPITULO IV TRABAJO DE INVESTIGACION

IV.I Planteamiento del problema

Lesiones bilaterales del APM desaparecen la conducta sexual en machos de varias especies. Las alteraciones en la conducta parecen ser permanentes y no se ha detectado recuperación espontánea. Los déficits observados en el patrón reproductor por estas lesiones no están asociados a alteraciones hormonales. Métodos que inducen conducta en machos con baja actividad sexual son inefectivos para inducir conducta en animales lesionados en el APM.

Los trasplantes de tejido embrionario inducen la recuperación de funciones motoras y cognoscitivas. Diferentes hipótesis se han postulado para tratar de explicar los posibles mecanismos que subyacen la recuperación. Entre ellos podemos mencionar, la liberación por el tejido huésped o el trasplante de factores humorales y/o factores de crecimiento, o el establecimiento de conexiones entre el huésped y el trasplante.

En el presente trabajo se evaluó la posibilidad de inducir recuperación de la conducta sexual en animales con lesiones en el APM por trasplantes de tejido fetal. Esto nos permitiera determinar si los trasplantes embrionarios al SNC pueden inducir la recuperación de una conducta innata que requiere de patrones conductuales complejos.

IV.II. Trabajo 1.

Fetal brain transplants induce recovery of male sexual behavior in medial preoptic area-lesioned rats.

BRES 24190

Fetal brain transplants induce recovery of male sexual behavior in medial preoptic area-lesioned rats

Raúl G. Paredes^{1,2}, Ana Luisa Piña², Juan Fernández-Ruiz² and Federico Bermúdez-Rattoni²

¹Escuela de Psicología, Universidad Anáhuac and ²Instituto de Fisiología Celular, UNAM, Mexico D.F. (Mexico)

(Accepted 3 April 1990)

Key words: Sexual behavior; Medial preoptic area; Bilateral lesion; Fetal brain transplant; Tyrosine hydroxylase immunoreactivity

Male rats received bilateral lesions within the medial preoptic area which completely abolished sexual behavior. Hypothalamic fetal brain transplants gradually restored sexual behavior to prelesion levels by the 6th week after the transplant. Immunocytochemical analyses revealed tyrosine hydroxylase immunoreactivity neurons within the transplanted tissue. These results demonstrate that fetal brain transplants can restore an innate complex behavior in which no spontaneous recovery is observed.

The medial preoptic area (MPOA) plays a crucial role in the expression of male sexual behavior in several species. Bilateral lesions within this forebrain region disrupt sexual behavior and, when the lesions are sufficiently large, copulation is completely abolished^{20,26}. The deficits in sexual behavior produced by bilateral MPOA lesions are not associated with pituitary-gonadal dysfunction or impairment of erectile and ejaculatory mechanisms^{21,27,29,39}. Testosterone treatment and procedures known to induce sexual behavior, such as tail pinching, in sluggish male rats do not restore copulation in MPOA-lesioned rats^{8,21,27,39}. Moreover, spontaneous recovery has not been detected in male rats tested up to 8 months after the MPOA lesion¹⁷.

Previous findings indicate that fetal brain transplants establish anatomical connections with the host brain and, under some conditions, restore deficits in motor and cognitive functions^{6,9,12,14,16,25}. Transplantation of MPOA tissue of male neonatal rats into the MPOA of female littermates increases both feminine and masculine sexual behaviors of the recipients during adulthood³. This finding is consistent with that, which was first reported by Beach, indicating that female rats can spontaneously display male sexual behavior^{4,5}, as well as the finding that hormonal and pharmacological treatments can enhance the masculine sexual behavior displayed by females^{34,37,38}. It has also been shown that transplants of fetal raphe cells restore the facilitation of lordotic behavior produced by lesions of serotonin-containing fibers in the hypothalamus²⁸. However, such effects last for only 8

weeks, which period coincides with the reinnervation of the hypothalamus by serotonin-containing fibres¹⁵. At most, these studies indicate that the transplant accelerates a spontaneous process. Similarly, hypothalamic fetal grafts placed in the third ventricle can restore the neuroendocrine function and fertility in senescent rats. However, in this case the transplant appears to function as a minipump since the recovery of the lost function is associated with an increase in the release of luteinizing hormone and testosterone²².

In the present study, the ability of fetal hypothalamic transplants to induce sexual behavior in MPOA-lesioned rats was evaluated. It has been shown that incerto-hypothalamic dopaminergic neurons are involved in the execution of sexual behavior⁷ and voltammetric studies have shown an increase in dopamine release during copulation³³. Similarly, dopaminergic neurotransmission plays an important role in the mechanisms that initiate sexual behavior¹. Although several other neurotransmitters have been proposed to play a role in the mechanisms related to sexual behavior, dopamine is the one most closely associated with initiation and execution of that behavior. Therefore, immunocytochemistry for tyrosine hydroxylase (TH) was performed, in addition to acetylcholinesterase (AChE) and Nissl techniques.

Adult male Wistar rats weighing 250-350 g were maintained under a 12 h light-dark cycle and fed commercial rat pellets and tap water ad libitum. They were tested for sexual behavior 3 times, once weekly, with receptive females brought into estrous by hormone

treatment. A detailed description of the methodology used to observe sexual behavior can be found elsewhere^{2,30}. The following parameters of sexual behavior were recorded: mount latency (time from introduction of the male until the first mount with pelvic thrusting); intromission latency (time from introduction of the male until the first mount with vaginal penetration); ejaculation latency (time from the first intromission until ejaculation); postejaculatory interval (time from ejaculation until the next intromission); number of mounts with pelvic thrusting; number of intromissions. Only those animals that ejaculated in each of the screening tests were used in the experiment. Under ether anesthesia male rats received bilateral lesions according to the following coordinates: anterior bregma, 0.9 mm lateral to the midline, and 7.0 mm below the dura level. A stainless-steel electrode, insulated except for the tip (0.5 mm), was connected to a Grass constant current unit, which in turn was connected to a Grass (S48) stimulator. Anodal current of 0.75 mA was applied for 30 s. Starting one week after the lesion, the animals were retested with receptive females at weekly intervals three times for sexual behavior in 1 h tests. Those animals that did not show any sexual behavior in any of the tests, received bilateral hypothalamic fetal transplants according to the following procedure. Seventeen-day-old fetuses were removed from the abdominal cavity of pregnant rats under barbiturate anesthesia (50 mg/kg). The brain was extracted and the fetal hypothalamus dissected. Solid blocks of tissue, about 2 mm³, were bilaterally placed with a Hamilton microsyringe (100 μ l) into the area where the previous lesion was done. The animals were then tested for sexual behavior as mentioned. One group of animals with sham lesions in the MPOA (sham; Sh-group) was observed for the same time.

At the end of the experiment, serial brain sections were processed with Nissl, immunocytochemical and acetylcholinesterase histochemistry techniques. Immunocytochemistry for TH was visualized using primary antibodies (from Eugene Tech International, Inc.) at a dilution of 1:500. The sections were developed with a rabbit IgG avidin-biotin immunoperoxidase kit (Vector Labs) after 8 days of incubation with the primary antibodies. The tissue was mounted with Permount and coverslips. The AChE histochemistry technique was according to Paxinos and Watson³².

Of the 17 animals that received bilateral transplants, 7 had healthy and well integrated transplants (graft; G-group). At the site of the implant an intense proliferation of cells and fibers was found. The transplants were clearly delineated from the host tissue and no necrosis was observed (see Fig. 2). No signs of transplanted tissue were found in 10 animals (without graft; WG-group).

The relatively high incidence in which transplanted tissue was not detected can be explained considering that large MPOA lesions destroyed the ventral boundaries of the brain. Thus, the graft could have been deposited outside the nervous tissue. It has been reported that extraparenchymal transplants located in ventricular cavities or in the subarachnoid space surrounding the hypothalamus survive transplantation only for short periods¹¹. All the animals with successful brain grafts recovered sexual behavior while animals in which no transplanted tissue was detected did not show signs of sexual behavior even 15 weeks after the transplant. The transplanted (G-group) group showed a steady increase in the percentage of animals that reached ejaculation (Fig. 1b). From the 4th week on, there was no significant difference in the number of animals in the Sh- and G-group that achieved ejaculation. Only incomplete mounts in 3 different sessions were displayed by the WG-group (Fig. 1a). No other type of sexual behavior was displayed by these animals. As previously described¹⁷, a group of animals in which copulation was disrupted by MPOA lesion showed no signs of recovery even 15 weeks after the lesion (data not shown). Although the transplanted animals engage in sexual behavior, their motivation to do so was lower in comparison to the sham-lesioned animals, as can be seen in the great variability in the intromission latency displayed by these animals (Fig. 1d). Similar variability in mount latency was observed (Fig. 1c). In contrast, in the G-group the execution of the complete copulatory pattern, once the behavior was initiated, greatly improved with time, as is indicated by the reduction of ejaculation latencies (Fig. 1f). The number of intromissions necessary to achieve ejaculation showed no difference between the G- and the Sh-group (Fig. 1e). No differences were observed in testicular and seminal vesicle weight among the three groups of animals (Table 1), suggesting no pituitary-gonadal dysfunction. Fig. 2 shows an example of the healthy bilateral transplant detected within the target area of the host brain in 5 animals. In 2 animals the transplant was located in the middle of the MPOA and made contact with both lateral preoptic areas of the host brain. AChE reactivity and immunoreactive TH neurons, were found within the transplants (Fig. 2c,d). Moreover, groups of TH cells were mainly found in the border of the transplant and host tissue (Fig. 2d). The graft of the only animal that did not show recovery of sexual behavior was located dorsal and anterior to the MPOA.

The recovery of sexual behavior in the transplanted group is similar to that observed in castrated rats after hormone treatment²⁶; i.e., mounting returned first, followed by intromission and ejaculation. However, neither the lesion nor the transplant appears to alter endocrine

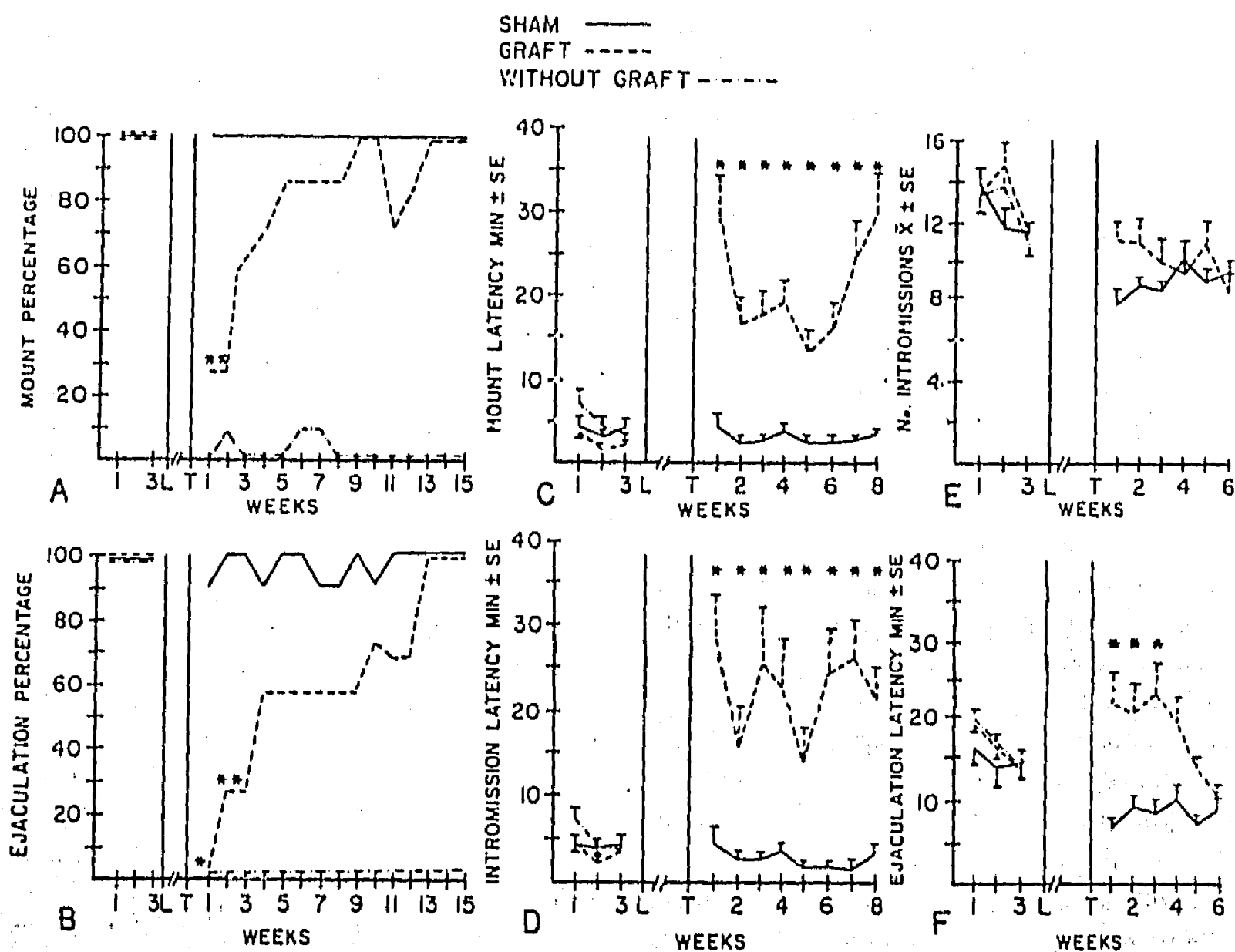


Fig. 1. Parameters of sexual behavior in Sh-group ($n = 10$), G-group ($n = 7$), WG-group ($n = 10$). Bilateral hypothalamic transplants (T) were placed within the lesion site in animals that showed no sexual behavior in three postlesion tests (L). a: percentage of animals displaying mounts. b: percentage of animals reaching ejaculation during the 15 weeks following the graft. * Different from sham ($P < 0.05$) Fisher's exact probability test. In order to compare mount, intromission and ejaculation latencies, the first session post-transplant or post-sham lesion in which the behavior was displayed, was considered as week one for each group. The WG-group did not display the behavior, therefore no data was obtained; (c) mount latency; (d) intromission latency; (e) number of intromissions preceding ejaculation; (f) ejaculation latency. * Different from sham ($P < 0.05$) *t*-test.

and seminal vesicle weight (Table I). Therefore, the possibility that the transplant induced sexual behavior by stimulating the pituitary gonadal function can be rejected. To our knowledge there is only one study that reported that sexual behavior was partially and temporarily restored in MPOA-lesioned rats¹⁹. In that study, male rats bearing lesions in the MPOA were injected i.p. with lisuride (semi-synthetic ergoline) on 4 consecutive days. Only 50% of the rats displayed the full mating pattern and sexual behavior disappeared immediately when treatment with lisuride was discontinued. Moreover, the results are difficult to interpret since lisuride interacts with different neurotransmitters including nor-

adrenaline, serotonin and dopamine^{10,23,24,35}. In the present study all the animals in which grafted tissue was detected displayed sexual behavior. Furthermore, once each animal recovered the ability to engage in sexual behavior, the copulatory pattern was displayed consistently until the end of the experiment suggesting a long-lasting effect of the transplant. Since no other treatment examined to date has fully restored sexual behavior in MPOA-lesioned rats and since spontaneous recovery does not occur in such animals, it could be argued that the functional connectivity between the transplanted tissue and the host brain is responsible for the recovery of sexual behavior. Studies designed to test this possibility are currently being undertaken in our laboratory. Further support for this hypothesis can be obtained considering the fact that an apparently well integrated graft located just outside the MPOA did not induce recovery of sexual behavior. Similar specificity of localization has been described in a recent study in which kindling, an electrical model of epilepsy, was used to induce sexual behavior in noncopulating male rats. In that study, repeated electrical stimulation of the MPOA induced sexual behavior in noncopulating male rats. However, the stimulation electrode had to be well within

TABLE I

Testicular and seminal vesicles weight (in grams) in the sham (Sh-group); the graft (G-group) and the without-graft group (WG-group)

Values are mean \pm S.E.M.

	Sh-group	G-group	WG-group
Testicles	3.65 \pm 0.22	3.21 \pm 0.85	3.23 \pm 0.15
Seminal vesicles	0.94 \pm 0.10	0.85 \pm 0.12	0.98 \pm 0.09

the MPOA in order to induce sexual behavior²¹.

Different explanations have been put forth to explain the mechanisms by which sexual behavior is disrupted after lesions in the MPOA. It has been observed that male rats with lesions in this area showed less preference for a receptive female than that shown by control males. This preference declines even further in lesioned males as testing is extended and is not affected by testosterone treatment, suggesting that mating is decreased in MPOA-lesioned rats by a decrease in sexual motivation¹³. There

is much data suggesting that reduced motivation is not the only consequence of MPOA lesions. Indeed, some studies suggest that the lesions leave sexual motivation unaffected. Since precopulatory behaviors persist in male rats after MPOA lesions (see above) it has been postulated that the performance mechanisms of sexual behavior are impaired. Moreover, incomplete mounts have been observed in MPOA-lesioned rats^{18,19,21}. Similarly, male rhesus monkeys with lesions in this area will not copulate but continued to masturbate and lever-press

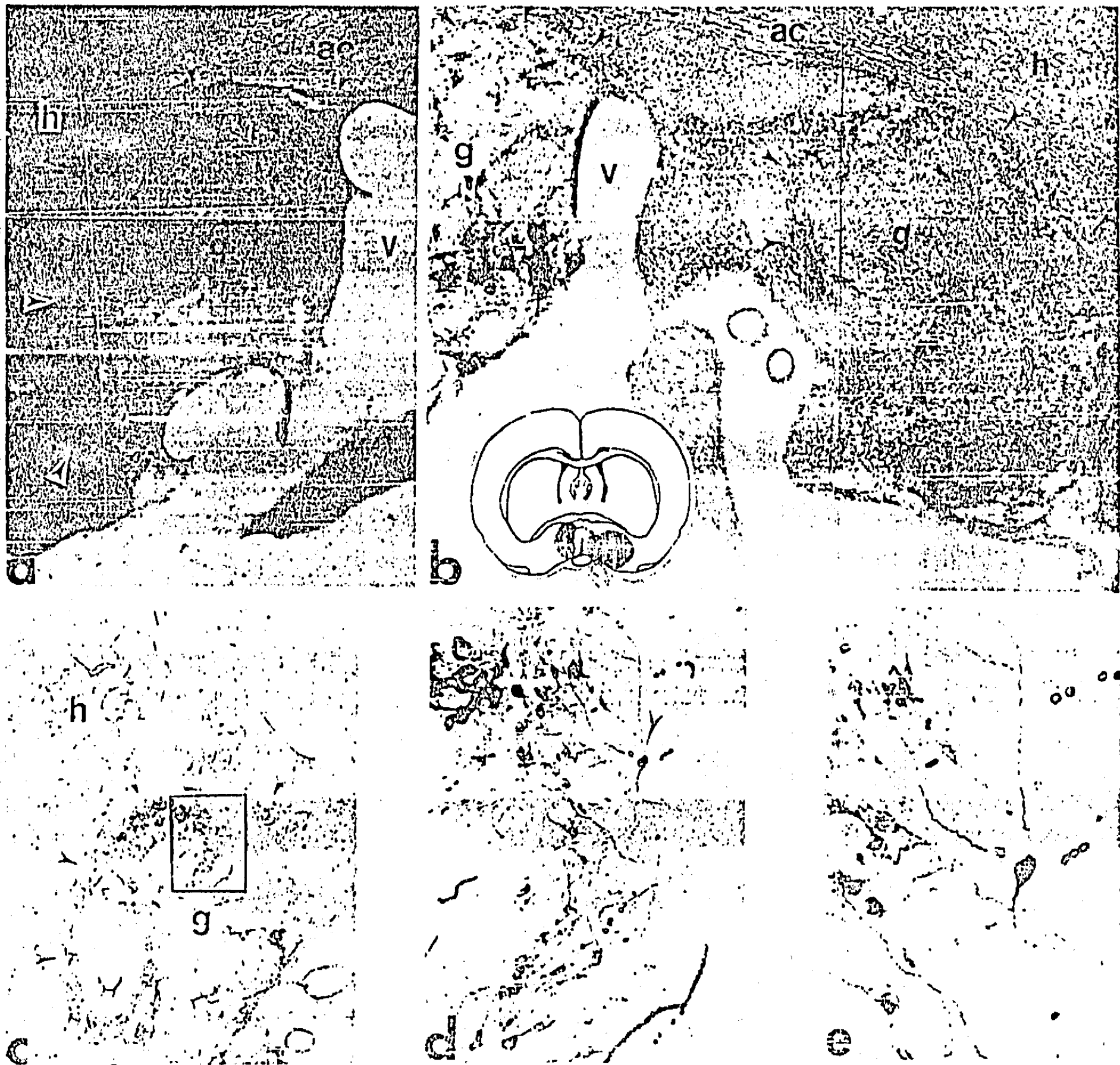


Fig. 2. a: cholinesterase histochemistry in a coronal section of MPOA. Arrows show the border of the graft (g). Observe the strong positive reaction of the host tissue (h). The grafted tissue showed patches and isolated positive cells to the histochemistry ($\times 34$). b: representative hypothalamic graft stained with Cresyl violet. Arrows show the limit between graft (g) and host (h) tissue, in both sides of the ventricle (v). Note the integration of the graft with the host tissue ($\times 34$). There is also a schematic representation of the location of the graft in the MPOA region. c: hypothalamic graft with positive immunoreaction for tyrosine hydroxylase (TH; $\times 34$). d: is a magnification from the square in c (arrow indicates a TH-immunoreactive neuron, $\times 200$). e: is a magnification of the TH-immunoreactive neuron from d ($\times 400$). g, graft; h, host tissue; ac, anterior commissure.

to obtain the company of a female³⁶. It is suggested that after the lesion the animal is unable to perform the normal pelvic thrusting pattern associated with mounting¹⁸. A third hypothesis considers that the MPOA is involved in the mechanisms related to the initiation of copulation and also in those related to the execution of the behavior itself^{17,40}.

Our data agrees with the hypothesis suggesting that MPOA lesions impair both motivational and performance mechanisms of sexual behavior^{17,40}. If the MPOA is involved only in the mechanisms that initiate sexual behavior¹³, a parameter related to the execution of copulation (ejaculation latency) would not have shown a recovery as the time after the transplant increased, as actually occurred (see Fig. 1f). In contrast, if the MPOA is involved only in the mechanisms related to the execution of sexual behavior^{18,19}, no alteration in the parameters related to the initiation of copulation (mount

and intromission latency) would have been expected once the behavior was re-established. Our results indicated that the motivation remained reduced during the 15 weeks following the graft. Therefore, it appears that the transplant is incapable of completely restoring sexual motivation. It is possible then, that the MPOA functions as an interface between the mechanisms that initiate sexual behavior and those that will lead to ejaculation.

Currently we are engaged in the analysis of the functional development of grafted tissue, associated with a detailed behavioral analysis to elucidate both mechanisms of action of the transplants and those underlying the expression and execution of sexual behavior.

This project was partially supported by CONACyT PEXCNA-050290. We thank Mr. Mario Diaz for his excellent technical assistance and Mrs. Maria Teresa Torres for preparing the manuscript.

- 1 Agmo, A. and Fernandez, H., Dopamine and sexual behavior in the male rat: a reevaluation, *J. Neural Transm.*, 77 (1989) 21-37.
- 2 Agmo, A. and Paredes, R., Opioids and sexual behavior in the male rat, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 30 (1988) 1021-1034.
- 3 Arendash, G.W. and Gorski, R.S., Enhancement of sexual behavior in female rats by neonatal transplantation of brain tissue from males, *Science*, 217 (1986) 1276-1278.
- 4 Beach, F.A., Sex reversal in the mating pattern of the rat, *J. Genet. Psychol.*, 53 (1938) 329-334.
- 5 Beach, F.A., Execution of the complete masculine copulatory pattern by sexually receptive female rats, *J. Genet. Psychol.*, 60 (1942) 137-142.
- 6 Bermudez-Rattoni, F., Fernandez, J., Sanchez, M.A., Aguilar-Roblero, R. and Drucker-Colin, R., Fetal brain transplants induce recuperation of taste aversion learning, *Brain Research*, 416 (1987) 147-152. A2.
- 7 Bitran, D., Hull, E.M., Holmes, G.M. and Lookingland, K.J., Regulation of male rat copulatory behavior by preoptic incertohypothalamic dopamine neurons, *Brain Res. Bull.*, 20 (1988) 323-331.
- 8 Caggiula, A.R., Antelman, S.M. and Zigmond, M.S., Ineffectiveness of sexually arousing stimulation after hypothalamic lesions in the rat, *Physiol. Behav.*, 12 (1974) 313-316.
- 9 Collier, T., Gash, D. and Sladek Jr., J., Transplantation of norepinephrine neurons into aged rats improves performance of a learned task, *Brain Research*, 448 (1988) 77-87.
- 10 Cote, T., Munemura, M. and Keabian, J., Lisuride hydrogen maleate: an ergoline with β -adrenergic antagonist activity, *Eur. J. Pharmacol.*, 59 (1979) 303-306.
- 11 Das, G.D., Extraparenchymal neural transplants: their cytology and survivability, *Brain Research*, 241 (1982) 182-186.
- 12 Dunnet, S., Low, W., Iversen, S., Stenevi, U. and Björklund, A., Septal transplants restore maze learning in rats with fornix-fimbria lesions, *Brain Research*, 251 (1982) 335-348.
- 13 Edwards, D.A. and Einhorn, L.C., Preoptic and midbrain control of sexual motivation, *Physiol. Behav.*, 37 (1986) 329-335.
- 14 Escobar, M., Fernandez, J., Guevara-Aguilar, R. and Bermudez-Rattoni, F., Fetal brain grafts induce recovery of learning deficits and connectivity in rats with gustatory neocortex lesion, *Brain Research*, 478 (1989) 368-374.
- 15 Frankfurt, M. and Azmitia, E., Regeneration of serotonergic fibers in the rat hypothalamus following unilateral 5,7-dihydroxytryptamine injection, *Brain Research*, 298 (1984) 273-282.
- 16 Gage, F.H., Dunnett, S.B., Stenevi, U. and Björklund, A., Aged rats: recovery of motor impairments by intrastriatal nigral grafts, *Science*, 221 (1983) 966-969.
- 17 Ginton, A. and Merari, A., Long range effects of MPOA lesion on mating behavior in the male rat, *Brain Research*, 120 (1977) 158-163.
- 18 Hansen, S. and Drakeushagelsrum, L.J., Emergence of displacement activities in the male rat following thwarting of sexual behavior, *Behav. Neurosci.*, 98 (1984) 868-883.
- 19 Hansen, S., Kohler, Ch., Goldstein, M. and Steinbusch, H.V., Effects of ibotenic acid-induced neuronal degeneration in the medial preoptic area and the lateral hypothalamic area on sexual behavior in the male rat, *Brain Research*, 239 (1982) 213-232.
- 20 Hart, B.L. and Leclay, M.G., Neurological basis of male sexual behavior: a comparative analysis. In N. Adler, D. Pfaff and R.W. Goy (Eds.), *Handbook of Behavioral Neurobiology*, Vol. 2, Plenum, New York, 1985, pp. 373-422.
- 21 Heimer, L. and Larsson, K., Impairment of mating behavior in male rats following lesions in the preoptic-anterior hypothalamic continuum, *Brain Research*, (1966/1967) 248-263.
- 22 Huang, H.H., Kissane, J.Q. and Hawleyewicz, E.J., Restoration of sexual function and fertility by fetal hypothalamic transplant in impotent aged male rats, *Neurobiol. Aging*, 8 (1987) 465-472.
- 23 Keabian, J.W. and Keabian, P.R., Lergotril and lisuride: in vivo dopaminergic agonists which do not stimulate the presynaptic dopamine autoreceptor, *Life Sci.*, 23 (1978) 2193-2204.
- 24 Keller, H.H. and DaPrada, M., Central dopamine agonistic activity and microsomal biotransformation of lisuride, lergotril and bromocriptine, *Life Sci.*, 24 (1977) 1211-1222.
- 25 Labbe, R., Firl, A., Mufson, E.J. and Stein, O.G., Fetal brain transplants reduction of cognitive deficit in rats with frontal cortex lesions, *Science*, 221 (1983) 470-472.
- 26 Larsson, K., Features of the neuroendocrine regulation of masculine sexual behavior. In C. Beyer (Ed.), *Endocrine Control of Sexual Behavior*, Raven, New York, 1979, pp. 77-163.
- 27 Lisk, R.D., Copulatory activity of the male rat following placement of preoptic-anterior hypothalamic lesions, *Exp. Brain Res.*, 5 (1968) 306-313.
- 28 Luine, V.N., Renner, K.J., Frankfurt, M. and Azmitia, E., Facilitated sexual behavior reversed and serotonin restored by raphe nuclei transplanted into denervated hypothalamus, *Science*, 226 (1984) 1436-1438.
- 29 Lupo, C., Dessi-Fulgheri, F., Masi, B. and Larsson, K., The effect of medial preoptic-anterior hypothalamic lesions on

- testosterone plasma levels and testosterone conversion in the hypothalamus of male rats, *Neurosci. Lett.*, 39 (1983) 261-265.
- 30 Paredes, R. and Agmo, A., Stereospecific actions of baclofen on sociosexual behavior, locomotor activity and motor execution, *Psychopharmacology*, 97 (1989) 358-364.
- 31 Paredes, R., Haller, A.E., Manero, M.C., Alvarado, R. and Agmo, A., Medial preoptic area kindling induces sexual behavior in sexually inactive male rats, *Brain Research*, in press.
- 32 Paxinos, G. and Watson, Ch., *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Academic Press, New York, 1982.
- 33 Pfaus, J.G., Newton, T.N., Blaha, C.D., Fibiger, H.C. and Phillips, A.G., Electrochemical detection of central dopamine efflux during sexual activity in male rats, *19th Annu. Meeting Soc. Neurosci.*, Phoenix Arizona, 1989.
- 34 Rodriguez-Sierra, J., Naggar, A. and Komisaruk, B., Monoaminergic mediation of masculine and feminine copulatory behavior in female rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 5 (1976) 457-463.
- 35 Silbergeld, E.K., Hruska, R.E., Weir, R. and Kennedy, J.W., Dopaminergic and serotonergic effects of ergot drugs. In K. Fuxe and D.B. Calne (Eds.), *Dopaminergic Ergot Derivates and Motor Function*, Pergamon, New York, 1979, pp. 223-235.
- 36 Slimp, J.C., Hart, B.L. and Goy, R.W., Heterosexual, auto-sexual and social behavior of adult male rhesus monkeys with medial preoptic-anterior hypothalamic lesions, *Brain Research*, 142 (1978) 105-122.
- 37 Sodersten, P., Mounting behavior in the female rat during the estrous cycle, after ovariectomy, and after estrogen or testosterone administration, *Horm. Behav.*, 3 (1972) 307-320.
- 38 Sodersten, P., Increased mounting behavior in the female rat following a single neonatal injection of testosterone propionate, *Horm. Behav.*, 4 (1973) 1-17.
- 39 Stefanick, M. and Davidson, J.M., Genital responses in noncopulators and rats with lesions in the medial preoptic area or midthoracic spinal cord, *Physiol. Behav.*, 41 (1987) 439-444.
- 40 Szechtman, H., Caggiula, A.R. and Wolkan, D., Preoptic knife cuts and sexual behavior in male rats, *Brain Research*, 150 (1978) 569-591.

IV. III Trabajo 2.

Hypothalamic grafts established connectivity with the dorsolateral tegmentum in MPOA lesioned rats that recovered sexual behavior.

HYPOTHALAMIC BUT NO CORTICAL GRAFTS RESTABLISHED SEXUAL
BEHAVIOR AND CONNECTIVITY WITH THE DORSOLATERAL
TEGMENTUM IN MPOA LESIONED RATS

Raúl G. Paredes^{1,2}, Ana Luisa Piña² and Federico
Bermúdez-Rattoni²,

¹Escuela de Psicología, Universidad Anáhuac and

²Instituto de Fisiología Celular, UNAM, México D.F.

Running title: Hypothalamic grafts and sexual behavior

Send Correspondence to:

Federico Bermúdez-Rattoni or Raúl G. Paredes

Instituto de Fisiología Celular

UNAM

México D.F.

Summary. Sexually experienced male rats received bilateral electrolytic lesions within the medial preoptic area (MPOA) that completely abolished sexual behavior. Hypothalamic fetal brain grafts induce a gradual recovery of sexual behavior. In contrast, frontal cortex grafts did not induce sexual behavior despite the fact that healthy and well integrated grafts were observed. It appears that at least some specificity is needed in the grafted tissue to induce sexual behavior in MPOA lesioned male rats. Cells containing fluorogold were found in the hypothalamic, but not the cortical, grafts after this retrograde marker was injected in the dorsal tegmental area. These results suggest that the connectivity between brain grafts and host tissue appears to be necessary for the recovery of male sexual behavior in MPOA lesioned rats.

Several lines of evidence have shown that fetal brain implants into a damage brain area are able to restore deficits in motor and cognitive functions (Bjorklund 1991; Bjorklund & Stenevi, 1985; Bermudez-Rattoni et al. 1987; Escobar et al. 1989; Sagen et al. 1990; Stein et al. 1988). For example, in our laboratory we have demonstrated that rats showing disrupted taste aversion due to gustatory neocortex lesions, recovered the ability to associate taste with its visceral consequences after cortical (homotopic) but not occipital (heterotopic) fetal brain grafts (Bermudez-Rattoni et al. 1992). Moreover, the recovery in taste aversion learning is related to the reestablishment of the neural connections between the graft and the host tissue (Fernandez et al. 1991). However, it has become clear that in many models of fetal brain grafts the observed recovery can be explained in terms of other mechanisms, such as acute trophic influences over host plasticity or diffuse release of deficient neurochemicals (Dunnett et al. 1988; Dunnett and Richards 1990).

Large lesions of the medial preoptic area (MPOA) permanently abolished sexual behavior (Ginton & Merari). We have previously shown that hypothalamic fetal brain grafts can induce the recovery of copulation in male rats bearing MPOA electrolytic lesions that completely had abolished sexual behavior (Paredes et al. 1990). The

grafts produced a gradual recovery of the behavior, i.e. mounting returned first, followed by intromission and ejaculation. However, the implants appear incapable of completely restoring sexual motivation since the mount and intromission latencies had great variability. It was suggested that the MPOA functions as an interface between the mechanisms that initiate sexual behavior and those that will lead to ejaculation (Paredes et al 1990). Moreover, in the same study, an apparently well integrated graft located outside the MPOA did not induce recovery of sexual behavior. It was suggested that functional connectivity between the grafted and host tissue was responsible for the recovery of sexual behavior (Paredes et al. 1990).

In order to further test this hypothesis, we evaluated the ability of fetal hypothalamic and frontal cortex grafts to recover sexual behavior in MPOA lesioned male rats. Moreover, we evaluated the connectivity of the implants (hypothalamic and cortical) with the dorsal tegmental area (DTA). This latter area was chosen since the connections between the MPOA and the DTA appear to be essential for the expression of male sexual behavior (Bracket & Edwards 1984).

Adult male Wistar rats (250-350 g) that ejaculated in three 30 min tests were used in the experiment. Females were brought into estrous by hormone treatment to

assure receptivity. They were injected with estradiol benzoate (25 ug/rat, Sigma) 52-56 h and with progesterone (1 mg/rat Aldrich) 4-6 h before behavioral observation. The following parameters of sexual behavior were recorded: latency to the first mount and intromission, ejaculation latency, number of mounts and intromissions. One week after the third screening test the animals received bilateral electrolytic lesions. Under deep ether anesthesia a stainless steel electrode, insulated except for the tip (0.5 mm) was aimed at the MPOA according to the following coordinates: anterior bregma, 0.7 mm lateral to the midline, and 7.0 mm below the dura level. Anodal current of 0.65 mA for 30 s was applied through a Grass (5A) lesion Maker. Starting one week after the lesion, the animals were retested with receptive females at weekly intervals three times for sexual behavior in 1 h tests. During the last test after the lesion the females were routinely exchanged and in the last 30 min the males tailed pinch every 5 min to further confirm the effect of the lesion. Those males that did not show any sexual behavior in any of the tests, received bilateral hypothalamic or frontal cortex implants. Under barbiturate anesthesia (50 mg/kg) seventeen-day-old fetuses were removed from the abdominal cavity. The brain was extracted and the fetal hypothalamus or frontal cortex dissected. Using a Hamilton microsyringe (100 ul)

blocks of tissue, about 2 mm³ were bilaterally placed where the previous lesion was done. The animals were then tested once weekly for 15 weeks as described above. It has been reported that the administration of lisuride 10 days after the lesion partially restores sexual behavior in MPOA lesioned rats (Hansen y cols. 1982). Some of the animals that did not recovered sexual behavior were injected intraperitoneally with lisuride on 5 consecutive days. The drug was dissolved in physiological saline and injected in a dose of 0.1 mg/kg in a volume of 1 ml/kg. On the last day of the injection the drug was administered 15 min before behavioral observation. The test lasted 1 hr. The treatment of lisuride was preceded and followed by an identical treatment with saline.

At the end of the experiment, 6 grafted animals (3 hypothalamic 3 cortical) were injected in the DTA with the retrograde tracer fluorogold. With a Hamilton microsyringe 0.7 ul were bilaterally injected according to the following coordinates: 5.5 mm behind bregma, 2.0 mm lateral to the midline, and 6.5 mm below the dura. One week after the fluorogold injection the animals were sacrificed and perfused with a solution of paraformaldehyde (4%) and glutaraldehyde (0.1%) in PBS (pH 7.4, 0.15M saline, 0.1M phosphates). Then, with a microtome, 40 um sections were cut and mounted in gelatin covered slides and then observed directly under a

fluorescent microscope. Other serial brain sections were processed with Nissl or acetylcholinesterase histochemistry techniques.

Of the 27 animals that received bilateral hypothalamic fetal brain grafts 9 of them had healthy and apparently well integrated grafts. The transplants were clearly delineated from the host tissue (see Fig 1). In 17 animals no signs of transplanted tissue were found. The other animal had a unilateral transplant located in the dorsal MPOA. Of the 12 animals that received frontal cortex transplants 7 of them had healthy and apparently well integrated grafts (see Fig. 1). Another animal became ill 10 weeks after the transplant and was sacrificed. In 4 animals no signs of frontal cortex graft could be detected.

All the animals in which bilateral hypothalamic grafts were detected showed a steady recover of sexual behavior (see Fig.2). Mounts returned first, followed by intromissions and ejaculation. The only animal in which a unilateral hypothalamic graft was detected did not recovered sexual behavior. The animals in which bilateral frontal cortex grafts were detected did not recovered sexual behavior even 15 weeks following the graft. Only 2 animals mounted and displayed intromissions in one of the tests (see Fig. 2). Of the 15 grafted animals (histological analyses showed no signs of transplanted

tissue) that did not show sexual behavior and were injected with lisuride only one displayed sexual behavior.

In 2 of 3 animals with homotopic grafts fluorogold labelled cells within the graft were identified. However, the label was much reduced in comparison to an intact animal (see Fig. 1). In contrast, in the 3 heterotopic grafted animals no cells labelled with fluorogold were detected within the graft. These results suggest that the homotopic grafts, but not the heterotopic, establish anatomical connections with the host tissue.

The results of the present study showed that hypothalamic fetal brain grafts can induce the recover of sexual behavior in MPOA lesioned male rats, confirming previous observations (Paredes et al. 1990). Mounts returned first followed by intromissions and ejaculation. In contrast, frontal cortex grafts did not induce the recover of sexual behavior in MPOA lesioned animals. The histological analyses revealed that the cortical grafts were healthy well integrated and in many cases they appear to grow more than the hypothalamic grafts. These results suggest that at least some specificity is needed in the grafted tissue in order to induce recovery of sexual behavior. Moreover, animals with unilateral hypothalamic transplants or with grafts located outside the MPOA (Paredes et al. 1990) did not recovered sexual

behavior. Testosterone treatment does not restore copulation in MPOA lesioned rats (Heimer and Larsson 1966) and the deficits in sexual behavior in these animals are not associated to pituitary-gonadal dysfunction (Heimer y Larsson 1966; Paredes et al. 1990). Taking together, these observations suggest that neither trophic nor humoral factors are associated with the recovery of sexual behavior in MPOA lesioned rats.

If humoral and trophic influences are discarded the most plausible explanation is that neural connections between the grafted tissue and the host brain are necessary for the recovery of sexual behavior. This hypothesis is supported by the observations that cells labeled with fluorogold were found within the hypothalamic grafts that induce sexual behavior. In contrast, no fluorogold labeled cells were found in the cortex grafts, that were unable to induce the recovery of sexual behavior. Fluorogold was injected in the DTA. The connections between the MPOA and the DTA appear to be crucial for the expression of sexual behavior (Bracket and Edwards 1984). The fluorogold labeled cells found in the hypothalamic grafts were much less than those normally seen in an intact animal, however they appear to be enough to induce behavioral recovery. It appears then, that the neural connections between the grafted tissue and the host brain are necessary to induce behavioral

recovery. More studies are needed to determine if the connections between the MPOA and the DTA are responsible for the recovery of male sexual behavior in MPOA lesioned rats.

As mentioned in the introduction it has been previously reported that intraperitoneal injection of lisuride (semi-synthetic ergoline) induces sexual behavior in MPOA lesioned rats. The full mating pattern was displayed by 50 % of the animals and sexual behavior disappeared when lisuride treatment was discontinued (Hansen et al. 1982). In the present study a similar treatment with lisuride did not induce sexual behavior in animals that did not copulate in any of the tests during the 15 weeks following the graft (the histological analyses show no signs of grafted tissue). One possible explanation for the differences observed between the two studies is that in the Hansen et al. (1982) study the lisuride treatment was begun 10 days after the lesion. In some of our lesion animals, they displayed sexual behavior on the second or third test after the lesion (21 postoperative days). It could be then, that in the study of Hansen et al. (1982) lisuride facilitated the expression of sexual behavior in animals with reduced sexual motivation, the behavior in any event would be expressed after the temporal effects of the lesion had passed. In support of this suggestion is the observation

that in castrated animals lisuride facilitates the expression of sexual behavior (Ahlenius et al. 1980). The animals treated with lisuride in the present study were injected after 15 weeks in which no sexual behavior was displayed. In contrast, once the animals with hypothalamic transplants copulated, they consistently displayed the behavior, suggesting that the effects of the graft are permanent.

Different graft models have been used to study either functional recovery or reproductive mechanisms. The reestablishment of reproductive capacities in hypogonadal mice (Kriger et al. 1985) and aged rats (Huang et al. 1987; Rogers et al. 1985) appears to be associated with an increase in the hypothalamic-hypofisis-gonadal function. The induction of male sexual behavior in females can be obtained not only by hypothalamic grafts (Arendash y Gorski 1986) but also by hormonal (Sodersten 1972; 1973) and pharmacological treatments (Rodriguez-Sierra et al. 1976). It is clear then, that some of the recovery of reproductive functions produce by hypothalamic grafts could be associated to some humoral factors. The recovery observed in other reproductive models appear to be associated with trophic factors. For example, the normalization of lordotic behavior produced by grafts of fetal raphe cells appears only to accelerate a spontaneous process. The MPOA

lesioned animals represents a model in which no spontaneous recovery is observed and in which the connectivity between the graft and host tissue appears necessary to produce functional recovery. It also represents a model to study the neural control of sexual behavior. However, the high mortality produced by the lesion and the relatively low efficiency of the hypothalamic grafts have to be considered.

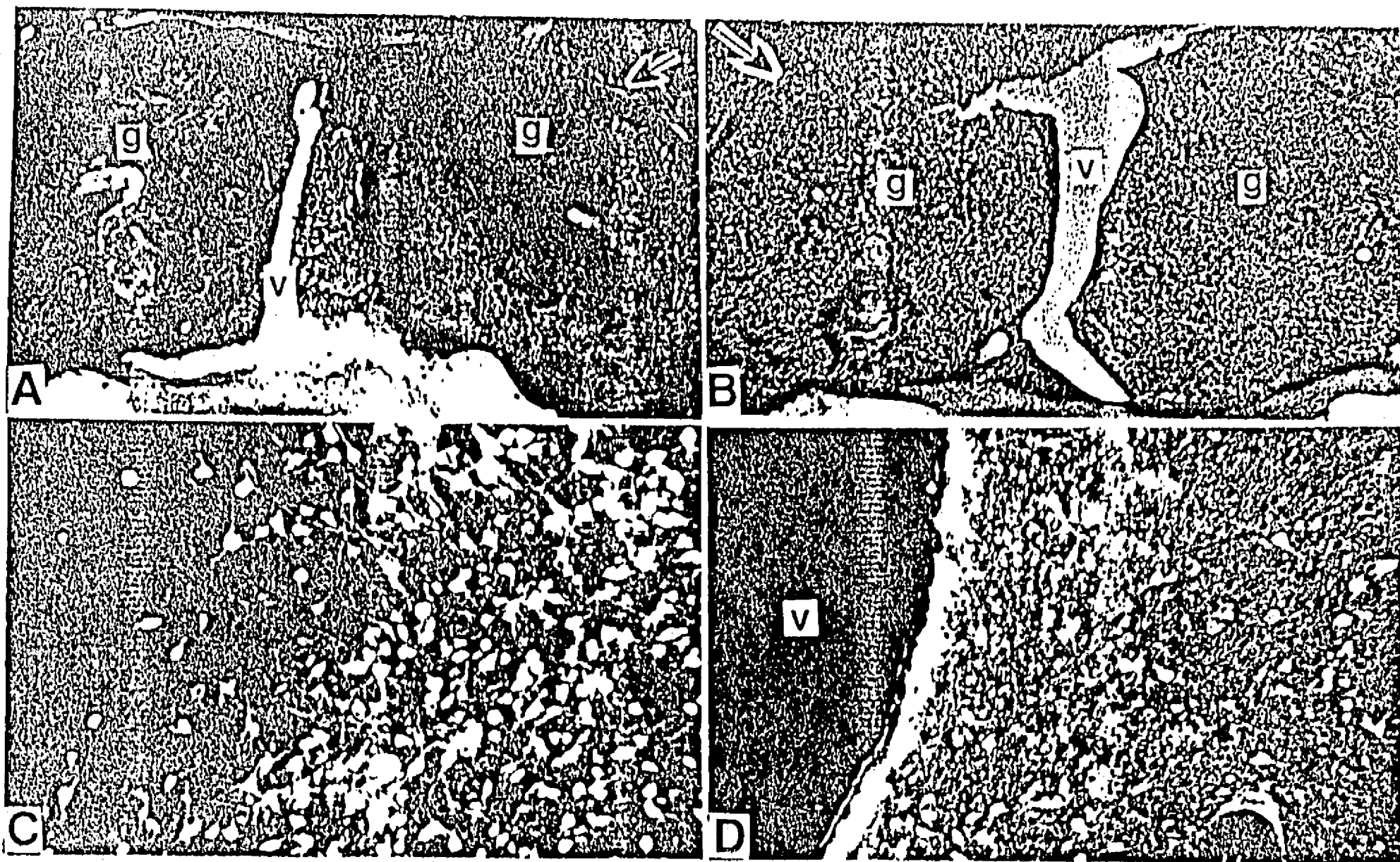


Fig. 1. a: cholinesterase histochemistry in a coronal section of the MPOA. Arrows show the border of the hypothalamic graft (g). The grafted tissue showed patches and isolated positive cells to the histochemistry (x34). b: representation of a bilateral frontal cortex graft (g) in both sides of the ventricle (v). Note the integration of the graft with the host tissue (x34). c: MPOA fluorogold label cells in a intact animal (x200). d: Fluorogold label cells in a hypothalamic graft. Note the differences in the number of label cells between the intact and grafted tissue.

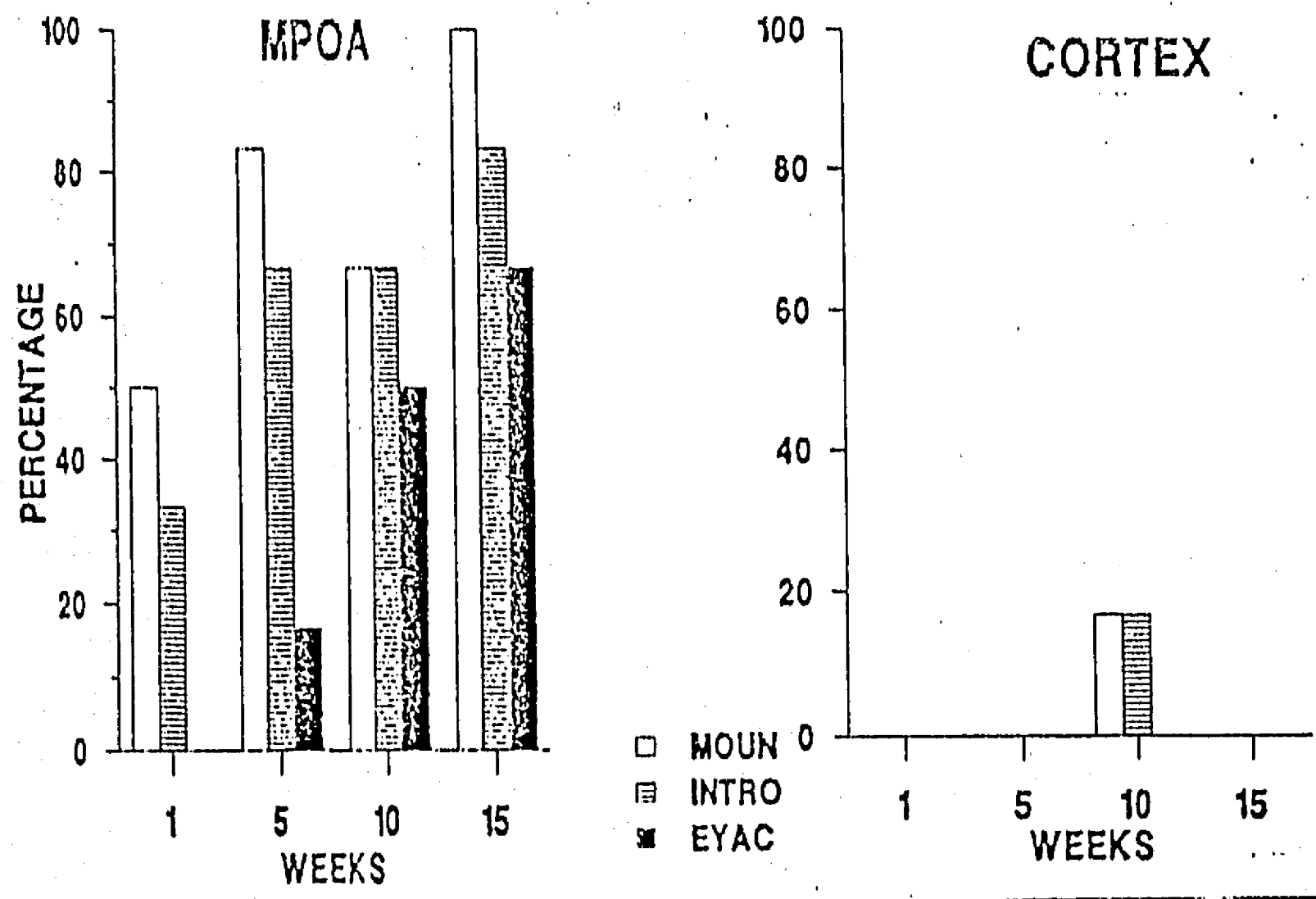


Fig 2. Percentage of grafted animals displaying mounts, intromissions and ejaculation in tests following the graft.

- Rodriguez-Sierra, J., Naggar, A. and Komisaruk, B., Monoaminergic mediation of masculine and feminine copulatory behavior in female rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 5 (1976) 457-463.
- Rogers, J., Hoffman, G.E., Zorentzer, S.F. Vale, W.W., Hypothalamic grafts and neuroendocrine cascade theories of aging. In J.R. Sladek Jr. and D.M. Gash (Eds.), *Neural transplants: development and function*, Plenum, New York, 1984, pp. 205-222.
- Sagen, J., Sortwell, C. E. and Pappas, G. D., Monoaminergic neural transplants prevent learned helplessness in a rat depression model, *Biol. Psychiatry*, 28 (1990) 1037-1048.
- Sodersten, P., Mounting behavior in the female rat during the estrous cycle, after ovariectomy, and after estrogen or testosterone administration, *Horm. Behav.*, 3 (1972) 307-320.
- Sodersten, P., Increased mounting behavior in the female rat following a single neonatal injection of testosterone propionate, *Horm. Behav.*, 4 (1973) 1-17.
- Stefanick, M. and Davidson, J.M. Genital responses in noncopulators and rats with lesions in the medial preoptic area or midthoracic spinal cord, *Physiol. Behav.*, 41 (1987) 439-444.
- Stein. D. G., Palatucci, Ch. Kahn, D. and Labbe, R., Temporal factors influence recovery of function after

embryonic brain tissue transplants in adult rats with frontal cortex lesions, *Behav. Neurosci.*, 102 (1988) 260-267.

IV.IV Trabajo 3.

Sociosexual behavior in male rats with lesions in the medial preoptic area.

SOCIOSEXUAL BEHAVIOR IN MALE RATS WITH LESIONS IN THE MEDIAL
PREOPTIC AREA

Raúl G. Paredes^{1,2}, Lorena Highland¹ and Patricia Karam¹

¹Escuela de Psicología, Universidad Anáhuac, México D.F.

²Instituto de Fisiología Celular, UNAM, México D.F.

Running title: Sociosexual behavior in MPOA lesioned rats

Send Correspondence to: Raúl G. Paredes

Escuela de Psicología

Universidad Anáhuac

Apdo. Postal 10-844

11000 México D.F.

Fax (525) 589 97 96

ABSTRACT

Different hypotheses have been put forth in trying to explain the mechanisms associated with the disruption of male sexual behavior after lesions in the medial preoptic area (MPOA). It has been suggested that sexual motivation, motor execution or both are affected by MPOA lesions. In the present experiment the socio-sexual behavior of male rats bearing extensive MPOA lesions was compared to that of sham lesioned animals. Socio-sexual interactions were recorded for ten minutes in the first and third test after the lesion and compared to prelesion levels. The frequency and duration of the following behaviors were recorded: rearing, sniffing, self grooming, grooming partner, genital exploration, pursuit and resting. The lesions completely abolished sexual behavior. The analysis of the socio-sexual interactions showed that the frequency and duration of pursuit was reduced in the first and second test after the lesion. A similar reduction of pursuit was observed in the lesioned animals in comparison to the sham lesioned group after the lesion. There is strong evidence that pursuit is the only precopulatory behavior that can consistently predict the appearance of sexual behavior. When pursuit is reduced the transition from the precopulatory to the copulatory phase is made more difficult. Therefore, it appears that the MPOA lesions reduce the subject's motivation to engage in sexual behavior.

Key words: Medial preoptic area, Bilateral lesions, Socio-sexual behavior, Pursuit

INTRODUCTION

It is well established that the medial preoptic area (MPOA) plays a crucial role in the control of male sexual behavior in several species. Lesions of the MPOA disrupt sexual behavior and when sufficiently large, copulation is completely abolished (for a discussion see Larsson y Sachs). Different hypotheses have been put forth in trying to explain the mechanisms by which the MPOA lesions alter sexual behavior.

Male rats trained pre-operatively to respond instrumentally for access to a sexually receptive female continue their instrumental response after MPOA lesions but fail to copulate when the female is presented (Everitt & Stacey 1987). Using the partner preference as well as the place preference paradigm it was shown that MPOA lesioned males preferred a receptive female (rather than an unreceptive one) or in an environment where a receptive female had previously been presented (Hughes et al. 1990). The authors interpreted these results suggesting that the MPOA is involved in the motor copulatory responses (mount and intromission) rather than in the motivational or reward aspects of sexual behavior (Hughes et al. 1990). Another series of experiments supporting this hypothesis have shown that males with MPOA lesion display precopulatory behaviors such as anogenital sniffing and incomplete mounts (Hansen et al. 1982). The authors reported that the apparent inability to perform pelvic thrusts produced a variety of displacement

activities due to the thwarting of sexual motivation (Hansen & Hagelsrum 1984). Another important observation is that male rhesus monkeys with lesions in the MPOA did not copulate but continued to masturbate and lever-press to obtain the company of a female (Sлимп et al. 1978). The above-mentioned observations clearly suggest that the absence of sexual behavior in MPOA lesioned males is due to an inability to perform the pelvic thrusting pattern associated with mounting behavior.

There is also data suggesting that reduced motivation is a consequence of MPOA lesions. Studies in which unilateral MPOA lesions were performed suggest reduced sexual arousal as a consequence of the lesion (Chen & Bliss 1974). Similarly, male rats with bilateral lesions in the MPOA showed less preference for a receptive female than that shown by control males. The preference declines further in lesioned males as testing is extended and is not affected by testosterone treatment, suggesting that mating is abolished in MPOA lesioned rats by a decrease in sexual motivation (Edwards & Einhorn 1986). Studies in which electrical stimulation of the MPOA has been used to facilitate sexual behavior suggest that the observed effects are a consequence of activated sexual motivation (Madlafousek et al. 1970). Similarly, the development of kindling (a model of neural plasticity) in the MPOA induces sexual behavior in previously non-opulating male rats. It was suggested that the kindling procedure modifies

the motivational aspects that will allow a non-copulating male rat to display the behavior (Paredes et. al. 1990).

Finally there is also data suggesting that the MPOA is involved in the mechanisms related to the initiation of sexual behavior as well as those related to the execution of this behavior. For example, some male rats bearing MPOA lesions although they initiate copulation do not reach ejaculation suggesting that MPOA lesions interfere both with initiation and execution of copulation (Ginton & Merari 1977). MPOA knife cut studies have shown that dorsal and sagittal cuts produced markedly different patterns of sexual impairment related to execution and initiation of copulation, respectively (Szechtman et al. 1978). The electrical stimulation of the MPOA, as well as the intra-MPOA infusion of the GABA_A antagonist bicuculline reduced the number of intromissions preceding ejaculation, the ejaculation latency, the postejaculatory interval and increase the number of ejaculations (Merari & Ginton 1975; Fernandez-Guasti et al. 1985). Small MPOA electrolytic lesions induce a similar facilitation of sexual behavior when animals are tested shortly after the lesion (Paredes & Agmo in press). The recovery of sexual behavior in MPOA lesioned male rats produced by hypothalamic fetal brain transplants also support this hypothesis. The sexual motivation remained reduced during the 15 weeks following the graft and the ejaculation latency showed a steady recovery as time after grafting increased. It was suggested that the MPOA functions as an

interface between the mechanisms that initiate sexual behavior and those related to its execution (Paredes et al. 1990).

Despite the many behavioral paradigms employed in trying to elucidate the mechanisms by which MPOA lesions disrupt sexual behavior, no study has yet consistently addressed the exploratory and socio-sexual interactions between a MPOA lesioned male and a receptive female. In the present experiment an attempt was made to study these interactions in order to further understand the mechanisms involved in the disruption of sexual behavior produced by MPOA lesions.

MATERIALS AND METHODS

Male Wistar rats from a local colony weighing 250-350 were used. They had free access to tap water and commercial rat pellets. The animals were maintained under a reverse light/dark cycle (12/12 h). Females were brought into estrous by hormone treatment (Agmo & Paredes).

The males were screened in 3 tests of sexual behavior with receptive females. Only those males that ejaculated in each of the 30 min tests were used. In the third test for sexual behavior, a test for socio-sexual interactions was also performed. Besides recording the usual parameters related to sexual behavior, the frequency and duration of seven different behaviors were registered as previously described (Paredes & Agmo). These behaviors are: rearing (standing on the hindlegs); sniffing (rapid movements of the

head or whiskers while the animal explores); selfgrooming (licking or gently biting different areas of the fur, of the limbs or of the genital area); grooming partner (licking or gently biting different areas of the partner's fur or limbs); genital exploration (sniffing or licking the partner's ano-genital region); pursuit (the male follows the female keeping close contact); resting (lying or standing still, without any particular overt behavior). These behaviors were recorded using a keyboard connected to an electronic equipment located in an adjacent room. The socio-sexual interactions were recorded during the initial 10 min of the test.

One week after the last screening test, the males received a bilateral electrolytic lesion under deep ether anesthesia. A stainless steel electrode, insulated except for the tip (0.5 mm), was aimed at the MPOA using the following coordinates: 0.75 mm lateral to the midline and 7.5 mm below the dura at bregma (Paxinos). Anodal current of 0.65 mA for 30 s was applied through a Grass 5A lesion maker. Another group of animals was treated in exactly the same way except that no current was delivered (sham group). Starting one week after the lesion, the animals were retested with receptive females at weekly intervals in 1 h tests for 8 weeks. Tests for socio-sexual interactions were performed on the first and third week after the lesion as described above.

At the end of the experiment, the animals were given an overdose of pentobarbital and perfused with 10% formalin

solution. Frozen 50 um serial brain sections were cut, mounted and stained with cresyl violet to verify the lesion.

Statistical analysis

The socio-sexual behaviors were analyzed by a two-factor MANOVA for repeated measures on one factor (tests of socio-sexual behavior). The between-groups factor was lesion or sham group. In case of significant omnibus test, univariate ANOVA was performed for each variable. The Bonferroni correction was then applied in order to determine significant differences. Pairwise multivariate contrasts were performed using Hotelling's T^2 . When a significant result was obtained, pairwise univariate comparisons were made with the Tukey LSD procedure.

Results

In the present study an attempt was made to completely eliminate sexual behavior by MPOA lesions. Therefore, a relatively high electrical current was administered during the lesion. Of all lesioned males about one third died after the lesion, in another third copulation was severely disrupted and only in one third copulation was completely abolished. The sham lesion did not modify sexual behavior (data not shown). Only those animals that did not show any sexual behavior in any of the tests after the lesion and in which the histological examination revealed a well defined

MPOA lesion were included in the analysis of the lesion group.

When the frequency of socio-sexual interactions was analyzed with the MANOVA, significant main effects of tests and group as well as a significant interaction tests x group were found. The duration of socio-sexual interactions was also different between tests and the interaction between tests and groups was also significant. However, no significant effect of group was found with regard to the duration of socio-sexual behaviors. MANOVA statistics are summarized in table I, and are therefore not mentioned in the text.

When analyzing simple main effects of groups, no significant differences were observed neither in frequency nor in duration of socio-sexual interactions between the sham lesioned and the lesioned group in the test prior to the lesion (Table II and III). When the socio-sexual interactions were compared in the first test after the lesion the multivariate test showed significant differences in frequency and duration between the sham and lesion group. Univariate ANOVAs showed that the frequency of self grooming as well as the frequency and duration of pursuit were reduce in the lesioned group (Table II and III).

In the second postlesion test of socio-sexual interactions (3 weeks after the lesion) the omnibus test, again showed a significant effect of group with regard to both in frequency and duration. ANOVAs showed that the

are shown in table I,

are shown

are shown in the

frequency and duration of pursuit was significantly reduced in the lesion group (Table II and III).

When analyzing for simple main effects of test within groups, a significant effect was observed in the duration of socio-sexual interactions in the second test after the sham lesion in comparison to the presham-lesion [$T^2=4.35, F(7,13)=8.08, P=0.001$]. Univariate pairwise comparisons showed that the duration of sniffing was increased and the duration of self grooming reduced in the second postsham-lesion in comparison to the pre sham lesion. No effect was found in the frequency of socio-sexual interactions in the sham lesioned group. Multivariate pairwise comparisons in the lesioned group showed that the first and second test after the lesion were significantly different from the prelesion test [frequencies $T^2=9.46, F(7,13)=17.57, P<0.000$; durations $T^2=3.63, F(7,13)=6.74, P=0.002$ for the first test after the lesion; frequencies $T^2=3.46, F(7,13)=6.42, P=0.002$; durations $T^2=1.61, F(7,13)=3.00, P=0.04$ for the second test after the lesion]. Univariate pairwise comparisons showed that the frequency and duration of rearing and the duration of sniffing were increased in the first test after the lesion. In contrast, the frequency of self grooming and the frequency and duration of pursuit were reduced in comparison to the prelesion test. In the second test after the lesion the frequency of self grooming and the frequency and duration of pursuit were reduced (Table II and III).

Discussion

The results of the present experiment show that MPOA lesions significantly reduced behaviors related to sexual but not to social interactions. The sexual interactions consistently affected are self grooming and pursuit. The frequency of these behaviors was significantly reduced in the first and second tests after the lesion. The duration of pursuit was also reduced in both tests after the lesion. The increase in sniffing and self grooming duration observed in the sham lesioned group appear to be a spurious effect since they were not observed in the frequency of these interactions. Moreover, the differences are presented only in the second test after the lesion. In contrast, the effects observed in the precopulatory behaviors in the lesioned group were present in both frequency and duration and in both tests after the lesion

Heterosexual interactions have been divided in precopulatory, copulatory and postcopulatory phases (Hlinak 1986). The precopulatory phase includes crawling over the female, grooming partner and pursuit of the female. The copulatory phase is the performance of sexual intercourse with the female. The postcopulatory phase, which coincides with the postejaculatory interval, is characterized by grooming and resting. As soon as the male begins to copulate, the occurrence of precopulatory behaviors is reduced, but they may reappear between copulatory series (Hlinak 1986).

The precopulatory behavior in males is modified with the age of the animal (Hlinak 1990). Young animals (30 days old) performed some precopulatory behaviors, and at about 45 days of age the repertoire of these animals is similar to that seen in adults. However, it is only until the connection between the precopulatory and the copulatory phase is completed (around 90 days old) that the animal is able to display the complete copulatory pattern. These observations have been interpreted suggesting that the ability of a male to pass from the precopulatory to the copulatory phase is the crucial event for a successful sexual intercourse (Hlinak 1990).

One of the most important elements of the precopulatory phase is pursuit. It has been shown that sexually inactive male rats showed reduced pursuit of the female (Agmo et al. 1980). Moreover, the stimulation of GABA_B receptors inhibits sexual behavior. This inhibition is specifically related to the reduction of precopulatory behaviors, primarily pursuit without affecting social-interactions with a castrated male. This suggests that pursuit of the female is a reliable index of sexual motivation (Paredes and Agmo 1989). In contrast, the stimulation of GABA_A receptors also inhibited sexual behavior. However, this inhibition is related to impairment of motor execution and not only precopulatory behaviors are affected but also social interactions are reduced (Paredes et al. 1992).

Small lesions in the MPOA that partially disrupt sexual behavior do not produce loss of precopulatory behavior but the transition from the precopulatory phase to the copulatory phase is made more difficult (Hlinak et al. 1987). In the present study, socio-sexual interactions were recorded in animals that did not show any sexual behavior in the postlesion tests. Pursuit was much reduced making more difficult the transition from the precopulatory to the copulatory phase. Grooming was also reduced, but this behavior is typically observed after intromissions and during the postejaculatory interval. Since MPOA lesioned males did not display sexual behavior it is obvious that self grooming was reduced. It appears then that MPOA lesions inhibits precopulatory behaviors, i.e. pursuit was almost eliminated, and hence the initiation of sexual behavior. This observations are in agreement with the hypothesis suggesting that MPOA lesions reduced sexual motivation.

REFERENCES

- Agmo, A., Berenfeld, R., Fernandez, H., Irazabal, Y., Paredes, R., Picker, Z. and Ruiz, T., Independent neurochemical control of sexual motivation and ejaculatory mechanisms: the role of dopamine and enkephalin, Conf. Repro. Behav., Omaha Nebraska, 1988.
- Agmo, A. and Paredes, R., GABAergic drugs and sexual behaviour in the male rat, Eur. J. Pharmacol., 112 (1985) 371-378.
- Chen, J. J. and Bliss, D. K., Effects of sequential preoptic and mammillary lesions on male rat sexual behavior, J. Comp. Physiol. Psychol., 87 (1974) 841-847.
- Edwards, D. A. and Einhorn, L. C., Preoptic and midbrain control of sexual motivation, Physiol. Behav. 37 (1986) 329-335.
- Everitt, B. J. and Stacey, P., Studies of instrumental behaviour with sexual reinforcement in male rats (*Rattus norvegicus*): II. Effects of preoptic area lesions, castration and testosterone, J. Comp. Psychol., 101 (1987) 407-419.
- Fernandez-Guasti, A., Larsson, K., and Beyer, C., Comparaison of the effects of different isomers of bicuculline infused in the preoptic area on male rat sexual behavior, *Experientia*, 41 (1985) 1414-1416.
- Ginton, A. and Merari, A., Long range effects of MPOA lesion on mating behavior in the male rat, *Brain Res.*, 120 (1977) 158-163.

Hansen, S. and Drakeafhagelsrum, L. J., Emergence of displacement activities in the male rat following thwarting of sexual behavior, *Behav. Neurosci.*, 98 (1984) 868-883.

Hansen, S., Kohler, Ch., Goldstein, M., Steinbusch, H. V. M., Effects of ibotenic acid-induced neuronal degeneration in the medial preoptic area and the lateral hypothalamic area on sexual behavior in the male rat, *Brain Res.*, 239 (1982) 213-232.

Hlinak, Z., Precopulatory behaviour of laboratory rat: an ethological approach, *Activ. Nerv. Sup.*, 28 (1986) 108-116.

Hlinak, Z., Precopulatory behaviour of male rats: developmental aspects and dependence on female's solicitation, *Activ. Nerv. Sup.*, 32 (1990) 264-282.

Hlinak, Z., Madlafousek, J. and Spinka, M., Transition from precopulatory to copulatory behaviour in male rats with lesions in medial preoptic area: dependence of precopulatory pattern of female, *Activ. Nerv. Sup.*, 29 (1987) 257-262.

Hughes, A. M., Everitt, B. J. and Herbert, J., Comparative effects of preoptic area infusions of opioid peptides, lesions and castration on sexual behaviour in male rats: studies of instrumental behaviour, conditioned place preference and partner preference. *Psychopharmacology* 102: 243-256; 1990.

Larsson, K., Features of the neuroendocrine regulation of

- masculine sexual behavior. In C. Beyer (Ed.), *Endocrine Control of Sexual Behavior*, Raven, New York, 1979, pp. 77-163
- Madlafousek, J., Freund, K. and Grofova, I., Variables determining the effect of electrostimulation in the lateral preoptic area on the sexual behavior of male rats, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 72 (1970) 28-44.
- Merari, A. and Ginton, A., Characteristics of exaggerated sexual behavior induced by electrical stimulation of the medial preoptic area in male rats, *Brain Res.*, 86 (1975) 97-108.
- Paredes, R. G. and Agmo, A., Stereospecific actions of baclofen on sociosexual behavior, locomotor activity and motor execution, *Psychopharmacology*, 97 (1989) 358-364.
- Paredes, R. G. and Agmo, A., Facilitation of sexual behavior shortly after electrolytic lesion of the medial preoptic area: what does it mean ?, *Behav. Brain Res.*, In press.
- Paredes, R., Haller, A. E., Manero, M. C., Alvarado, R. and Agmo, A., Medial preoptic area kindling induces sexual behavior in sexually inactive male rats, *Brain Res.*, 515 (1990) 20-26.
- Paredes, R., Karam, P., Highland, L. and Agmo, A., GABAergic drugs and socio-sexual behavior, submitted.
- Paredes, R. G., Piña, A. L., Fernandez-Ruiz, J. and Bermudez-Rattoni, F., Fetal brain transplants induce recovery of male sexual behavior in medial preoptic

- area-lesioned rats. Brain Res. 523: 331-336; 1990.
- Paxinos, G. and Watson, C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd ed. Australia: Academic Press; 1986.
- Sachs, B. D. and Meisel, R., The physiology of male sexual behavior. In E. Knobil and J. Neill (Ed.), The physiology of reproduction, Raven, New York, 1988, pp. 1393-1485.
- Slimp, J. C., Hart, B. L. and Goy, R.W., Heterosexual, autosexual and social behavior of adult male rhesus monkeys with medial preoptic-anterior hypothalamic lesions, Brain Research, 142 (1978) 105-122.
- Szechtman, H., Caggiula, A. R. and Wulkan, D., Preoptic knife cuts and sexual behavior in male rats. Brain Res. 150: 569-591; 1978.

Table III. Duration of socio-sexual interactions in MPOA and sham lesioned animals.

	Before lesion		1 st after lesion		2 nd after lesion	
	Control	Lesion	Control	Lesion	Control	Lesion
Sniffing 9	114.8±16.5	151.4±17.8	203.5±24.8	284.5±30.9	268.6±17.9**	224.5±24.
Self 3 grooming	290.3±17.1	202.5±25.6	221.1±25.5	134.1±25.4	169.4±24.1**	176.2±29.
Rearing 8	38.6±8.5	43.9±9.8	37.2±13.0	74.8±14.8	28.8±5.1	45.3±8.
Resting 1	73.3±19.7	50.0±17.4	21.9±11.8	12.9±5.4	54.7±18.6	48.4±20.
Grooming 8 partner	2.4±2.0	15.8±8.2	10.5±5.5	27.9±8.2	13.8±6.8	42.1±14.
Genital exploration	46.0±44.9	14.7±10.2	6.0±6.0	3.7±2.8	3.2±2.0	3.6±1.5
Pursuit	23.1±5.9	25.0±10.4	34.6±6.5	1.7±1.4	18.8±6.5	--- ++

++ Different from the control group in the same test, P<0.01

** Different from the before lesion in the same group, P<0.01

Table II. Frequency of socio-sexual interactions in MPQA and sham lesioned animals.

	Before lesion		1 st after lesion		2 nd after lesion	
	Control	Lesion	Control	Lesion	Control	Lesion
Sniffing	20.3+-3.4	29.1+-4.2	27.7+-2.6	32.1+-2.3	33.6+-3.7	24.8+-1.8
Self grooming	26.8+-2.3	25.3+-2.3	25.1+-2.0	14.0+-1.9++, ***	19.2+-2.1	12.9+-0.9
Rearing	10.9+-1.8	10.9+-2.6	11.8+-2.6	18.4+-2.6**	10.9+-1.4	12.5+-1.3
Resting	6.9+-1.5	5.4+-1.4	5.7+-3.0	2.4+-0.6	7.8+-3.4	1.9+-1.1
Grooming partner	1.1+-0.8	3.7+-1.8	3.6+-1.2	7.3+-1.8	3.4+-1.2	10.1+-2.5
Genital exploration	0.2+-0.1	2.8+-1.3	0.2+-0.1	0.9+-0.6	0.9+-0.5	1.3+-0.6
Pursuit	11.4+-2.4	8.6+-2.1	10.4+-1.8	0.8+-0.5+++, ***	5.5+-1.4	-----+++,***

++ Different from the control group in the same test, $P < 0.01$; +++ $P < 0.001$

** Different from before lesion in the same group, $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

CAPITULO V CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en la presente investigación demuestran que los trasplantes de tejido hipotálamico fetal pueden restablecer una conducta innata que requiere de patrones conductuales complejos. La recuperación de la conducta en los animales trasplantados es similar a la observada en machos castrados (Larsson 1979). Esto es, primero aparecen las montas, seguidas de intromisiones y después la eyaculación. Animales que fueron trasplantados pero que el análisis histológico no mostró evidencias de tejido trasplantado no recuperaron la conducta, confirmando observaciones previas (Ginton y Merari 1977) en el sentido de que los efectos de lesiones en el APM parecen ser permanentes.

Resultados descritos previamente por Huang y cols. (1987) demostraron que trasplantes de tejido hipotalámico fetal al tercer ventrículo de ratas viejas con déficits reproductores recuperan la capacidad reproductiva. Esta recuperación esta asociada con aumentos en la concentración hipofisiaria de la hormona luteinizante y de testosterona. Esto produjo además un mayor peso de las vesículas seminales en las ratas viejas que recibieron el trasplante, demostrando claramente un efecto del trasplante sobre la función neuroendocrina. En el presente trabajo, ni el trasplante ni la lesión afectaron el peso testicular ni el de las vesículas seminales, sugiriendo que las funciones endocrinas no fueron alteradas. Esto permite descartar la

posibilidad de que los trasplantes induzcan recuperación de la conducta en animales con lesiones en el APM por estimulación del eje pituitario gonadal.

En nuestro conocimiento el único estudio que describe una recuperación parcial de la conducta sexual fué el realizado por Hansen y cols. (1982). En ese trabajo, animales con lesiones en el APM fueron inyectados intraperitonealmente con lisuride (ergoline semi-sintético) en 4 días consecutivos. Solamente el 50% de las ratas tratadas con lisuride desplegaron el patrón reproductor completo y la conducta sexual desapareció cuando el tratamiento con lisuride fue discontinuado. En el presente trabajo animales que recibieron trasplante de hipotálamo y no desplegaron la conducta (en el análisis histológico no se encontraron evidencias de tejido transplantado) fueron tratados de manera idéntica a la descrita en el estudio de Hansen y cols (1982). Sin embargo, este tratamiento no fué efectivo para inducir conducta sexual. Una posible explicación de estas discrepancias puede encontrarse en el hecho de que Hansen y cols. (1982) comenzaron el tratamiento con lisuride 10 días después de la lesión. En algunos de los animales lesionados en nuestro estudio, estos mostraban conducta sexual en la segunda o hasta en la tercera prueba después de la lesión (21 días postoperatorios). Pudiera ser entonces que en el estudio de Hansen y cols. (1982) el tratamiento con lisuride este facilitando únicamente la expresión de la conducta en animales con baja motivación sexual, conducta que de todas

formas se hubiera expresado al pasar los efectos temporales de la lesión. En apoyo de esta hipótesis puede mencionarse el hecho de que en animales castrados lisuride facilita la expresión de la conducta sexual (Ahlenius y cols. 1980). Los animales inyectados con lisuride en el presente estudio, recibieron el tratamiento después de 15 semanas en las que no mostraron ningún parámetro de conducta sexual. En contraste, los animales con transplante de hipotálamo fetal que recuperaron la conducta la desplegaron consistentemente hasta el final del experimento, sugiriendo que el efecto de los transplantes es permanente.

Los transplantes de hipotálamo parecen estar sanos y bien integrados. Se detectó reactividad para Ache e inmunoreactividad para TH dentro del transplante. Además grupos celulares de TH se detectaron en los bordes del transplante y el tejido huésped. Varias evidencias sugieren claramente que la DA ejerce un papel facilitatorio sobre la conducta sexual (inciso I.II). Infusiones de agonistas dopaminérgicos en el APM facilitan la conducta sexual. Se ha sugerido que receptores dopaminérgicos en el APM están involucrados en los factores motivacionales que regulan la conducta sexual (Warner y cols. 1991). En el futuro es necesario determinar si la presencia de estas células de TH se relacionan con la recuperación conductual producida por el transplante.

Tanto transplantes bilaterales como transplantes localizados en medio del APM fueron capaces de inducir

conducta sexual. Ninguno de los animales que recibieron transplantes heterotópicos (corteza frontal) recuperaron la conducta sexual. El análisis histológico de estos animales mostró transplantes sanos y bien integrados que en algunos casos parecen crecer más que los de hipotálamo. Estos resultados sugieren que es necesaria cierta especificidad del tejido a transplantar para que se de la recuperación funcional en animales con lesiones en el APM. Más aún, el hecho de que animales con transplantes hipotalámicos unilaterales o fuera del APM no mostraron recuperación de la conducta sexual indican que no son suficientes los factores humorales o tróficos para inducir la recuperación conductual. Otra posible explicación es que se requiera conectividad entre el huésped y el transplante para la recuperación de funciones en este modelo. Las inyecciones de fluorogold en el TDL parecen confirmar esta hipótesis. Como ya se describió, las conexiones entre el APM y el TDL parecen ser determinantes para la expresión de la conducta sexual. Los animales que recuperaron la conducta por transplante de hipotálamo establecen conexiones con el TDL, así lo demuestran las células marcadas con fluorogol en el APM después de inyectar este marcador retrograda en el TDL. Aunque las conexiones parecen ser menos que las observadas en animales intactos, estas parecen ser suficientes para inducir recuperación de la conducta. En contraste, en los animales con transplante de corteza no se detectaron células marcadas con fluorogold después de administrarlo en el TDL. Parece

entonces que las conexiones entre el tejido transplantado y el huésped son necesarias para que se de la recuperación funcional.

Como se describió en el primer capítulo son tres las hipótesis que tratan de explicar los mecanismos que producen los déficits conductuales después de la lesión del APM. Por un lado se ha postulado que las lesiones reducen la motivación sexual (Edwards y Einhorn 1986). Por ejemplo el análisis de las conductas socio-sexuales en animales lesionados en el APM ha demostrado que la persecución de la hembra, componente importante de las conductas precopulatorias, disminuye significativamente después de la lesión. Esta reducción en la persecución de la hembra disminuye la probabilidad de que el animal pase de conductas precopulatorias a desplegar el patrón motor (Paredes y cols. 1992). Otros autores sugieren que lo que se afecta es la capacidad de los animales para desplegar el patrón reproductor (Hansen y cols. 1982). Se ha demostrado que la preferencia por una hembra receptiva y el condicionamiento de preferencia de lugar se mantiene después de la lesión del APM (Hughes y cols. 1990). Una tercera hipótesis sugiere que las lesiones del APM afectan tanto mecanismos motivacionales como de ejecución (Ginton y Merari 1977; Schetman y cols. 1978). Cuando se prueban animales poco tiempo después de lesiones pequeñas del APM se observa una gran facilitación de la conducta sexual. Tanto el número de intromisiones, así como las latencias de monta, intromisión y eyaculación y el

intervalo posteyaculatorio se reducen significativamente. Inclusive algunos animales eyaculan hasta 15 veces en los 30 min de prueba (Paredes y Agmo 1992).

Los resultados obtenidos en la presente investigación apoyan la hipótesis que sugiere que las lesiones del APM interfiere con los mecanismos tanto motivacionales como de ejecución. Si el APM esta involucrada en los mecanismos de inicio de la conducta sexual, un parámetro relacionado con la ejecución (latencia de eyaculación) no debió de mostrar recuperación conforme transcurria el tiempo después del transplante. Por el contrario, si el APM estuviera involucrada únicamente en los mecanismos relacionados con la ejecución, entonces los parámetros relacionados con el inicio (latencia de monta e intromisión) no debieron verse afectados. Sin embargo, nuestros resultados demuestran que la motivación se mantuvo reducida durante las 15 semanas post-transplante. Pareciera entonces que los transplantes no restablecen por completo la conducta sexual. Estos resultados sugieren que el APM funciona como una interface entre los mecanismos de inicio y ejecución de la conducta sexual.

Varios modelos de transplantes se han desarrollado para estudiar tanto la recuperación de funciones como los mecanismos involucrados en el control de diferentes aspectos reproductivos. El restablecimiento de la capacidad reproductiva en ratones hipogonadales (Kriger y cols. 1985) así como en ratas viejas (Huang y cols. 1987; Rogers y cols. 1985) parecen estar asociados con incrementos en la función

del eje hipotálamo-hipófisi-gonadas. La inducción de conducta sexual masculina en hembras, puede inducirse además de por trasplantes hipotalámicos (Arendash y Gorski 1986) por tratamientos hormonales (Sodersten 1972, 1973) y farmacológicos (Rodríguez-Sierra y cols. 1976). Puede suponerse entonces que la recuperación de funciones reproductivas en algunos modelos se asocia con factores humorales. En contraste, la recuperación observada en otros modelos de trasplantes y reproducción parece estar asociada con factores tróficos. Por ejemplo, la normalización de la conducta de lordosis producida por trasplantes de células del rafe en hembras con lesiones hipotalámicas acelera únicamente un proceso espontáneo (Luine y cols. 1984). Las lesiones del APM representan un modelo donde no existe recuperación espontánea y en el que la conectividad entre el tejido transplantado y el huésped parece ser necesaria para la recuperación funcional. Además, representa una posibilidad de estudiar los mecanismos neuronales relacionados con el control de la conducta sexual. Sin embargo, la alta mortalidad observada por las lesiones del APM y la relativamente baja eficacia de los trasplantes tienen que considerarse.

REFERENCIAS

- 1 Agmo, A. and Fernandez, H., Dopamine and sexual behavior in the male rat: a revaluation, *J. Neural. Transm.*, 77 (1989) 21-37.
- 2 Agmo, A. and Gomez, M., Conditioned place preference produced by infusion of met-enkephalin into the medial preoptic area, *Brain Research*, 550 (1991) 343-346.
- 3 Agmo, A. and Paredes, R., Opioids and sexual behavior in the male rat, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 30 (1988) 1021-1034.
- 4 Agmo, a., Paredes, R. and Fernandez, H., Differential effects of GABA transaminase inhibitors on sexual behavior, locomotor activity, and motor execution in the male rat, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 28 (1987) 47-52.
- 5 Ahlenius, S., Larsson, R. and Svensson, L., Further evidence for an inhibitory role of central 5-HT in male rat sexual behavior, *Psychopharmacol.*, 68 (1980) 217-220.
- 6 Ahlenius, S. and K. Larsson, Lisuride, LY-141865 and 8-OHDPAT facilitate male rats sexual behavior via non-dopaminergic mechanisms, *Psychopharmacol.*, 83 (1984) 330-334.
- 7 Almli, R.C. and Finger, S., Toward a definition of recovery of function. In T. E LeVre, C.R. Almli, D.G. Stein (Eds.) *Brain injury and recovery*, Plenum, New

- York, 1988, pp. 1-14.
- 8 Arendash, G.W. and Gorski, R.S., Enhancement of sexual behavior in female rats by neonatal transplantation of brain tissue from males, *Science*, 217 (1986) 1276-1278.
 - 9 Arendt, T., Allen, Y., Sinden, J., Schugens, M.M., Marchbanks, R. M., Lantos, P. L. and Gray, J. A., Cholinergic-rich brain transplants reverse alcohol-induced memory deficits, *Nature*, 332 (1988) 448-450.
 - 10 Bach-Y-Rita, P., Brain plasticity as a basis for recovery of function in humans, *Neuropsychol.*, 28 (1990) 547-554.
 - 11 Barfield, R. J. and Sachs, B. D., Sexual behavior: stimulation by painful electrical shock to skin in male rats, *Science*, 161 (1968) 392-395.
 - 12 Barry, D. I., Kirkvadz, I., Brundin, P., Bolwing, T. G., Bjorklund, A. and Lindvall, O., Grafted noradrenergic neurons suppress seizure development in kindling-induced epilepsy, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 84 (1987) 8712-8715.
 - 13 Barry, D. I., Wanscher, B., Kragh, J., Bowling, T.G., Kokaia, M., Brundin, P., Bjorklund, A. and Lindvall, O., Grafts of fetal locus coeruleus neurons in rat amygdala-piriform cortex suppress seizure development in hippocampal kindling, *Exper. Neurol.*, 106 (1989) 125-132.
 - 14 Bassant, M.H., Jolt, M., Nilsson, O.G., Bjorklund, A. and Lamour, Y., Electrophysiological and

- pharmacological properties of neurons within solid basal forebrain transplants in the rat brain, *Brain Research*, 460 (1988) 8-16.
- 15 Beach, F. A., Sex reversal in the mating pattern of the rat, *J. Genet. Psychol.*, 53 (1938) 329-334.
 - 16 Beach, F. A., Execution of the complete masculine copulatory pattern by sexually receptive female rats, *J. Genet. Psychol.*, 60 (1942) 137-142.
 - 17 Beach, F. A., Analysis of the stimuli adequate to elicit mating behavior in the sexually inexperienced male rat, *J. Comp. Psychol.*, 33 (1942) 163-207.
 - 18 Bermant, G., Glickman, S. E. and Davidson, J. M., Effects of limbic lesions on copulatory behavior of male rats, *J. Comp. Psychol.*, 65 (1968) 118-125.
 - 19 Bermúdez-Rattoni, F., Fernández, J., Sánchez, M.A., Aguilar-Roblero, R. and Drucker-Colín, R., Fetal brain transplants induce recuperation of taste aversion learning, *Brain Research*, 416 (1987) 147-152.
 - 20 Bitran, D. and Hull, E.M., Pharmacological analysis of male rat sexual behavior, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 11 (1987) 365-389.
 - 21 Bitran, D., Miller, S.A., McQuade, D.B., Lepheimer, R.E. and Sachs, B. D., Inhibition of sexual reflexes by lumbosacral injection of a GABA-B agonist in the male rat, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 31 (1989) 657-666.

- 22 Bjorklund, A. and Stenevi, U., Reconstruction of the dopaminergic nigrostriatal pathway by nigral transplants, *Brain Research*, 177 (1979) 555-560.
- 23 Bouchon, R. and Ropartz, R., Recovery of exploratory capacity after ectopic pituitary homografts in snell dwarf mice (dw/dw), *Physiol. Behav.*, 36 (1986) 597-602.
- 24 Buzsaki, G., Czopf, J., Kondakor, I., Bjorklund, A. and Gage, F.H., Cellular activity of intracerebrally transplanted fetal hippocampus during behavior, *Neuroscience*, 22 (1987) 871-883.
- 25 Caggiula, A. R., Antelman, S. M. and Zigmond, M.S., Ineffectiveness of sexually arousing stimulation after hypothalamic lesions in the rat, *Physiol. Behav.*, 12 (1974) 313-316.
- 26 Caggiula, A. R., Shaw, D. H., Antelman, S. M. and Edwards, D. J., Interactive effects of brain catecholamines and variations in sexual and non-sexual arousal on copulatory behavior of male rats, *Brain Research*, 111 (1976) 321-336.
- 27 Collier, T. J., Gash, D. M. and Sladek, Jr., J.R., Transplantation of norepinephrine neurons into aged rats improves performance of a learned task, *Brain Research*, 448 (1988) 77-87.
- 28 Cotman, C. W. and Kesslak, P., The role of trophic factors in behavioral recovery and integration of transplants. In: D. M. Gash and J. R. Sladek (Eds.),

- Elsevier, Amsterdam, pp. 311-319.
- 29 Cotman, C. W. and Nieto-Sampedro, M., Cell biology of synaptic plasticity, *Science*, 225 (1984) 1287-1294.
- 30 Das, G. D., Neural transplantation: an historical perspective, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 14 (1990) 389-401.
- 31 Daszuta, A., Strecker, R.E., Brundin, P. and Bjorklund, A., Serotonin neurons grafted to the adult rat hippocampus. I. time course of growth as studied by immunohistochemistry and biochemistry, *Brain Research*, 458 (1988) 1-19.
- 32 Dawson, T.M., Dawson, V.L., Gage, F.H., Fisher, L.J., Hunt, M.A. and Wamsley, J.K., Functional recovery of supersensitive dopamine receptors after intrastriatal grafts of fetal substantia nigra, *Exp. Neurol.*, 111 (1991) 282-292.
- 33 Deckel, A. W., Moran, T.H., Robinson, R.G., Receptor characteristics and recovery of function following kainic acid lesions and fetal transplants of the striatum. I. Cholinergic systems, *Brain Research*, 474 (1988 a) 27-38.
- 34 Deckel, A. W., Moran, T.H., Robinson, R.G., Receptor characteristics and recovery of function following kainic acid lesions and fetal transplants of the striatum. II. Dopaminergic systems, *Brain Research*, 474 (1988 b) 39-47.
- 35 Dewsbury, D. A., Goodman, E. D., Salis, P.J. and

- Bunnell, B.N., Effects of hippocampal lesions on the copulatory behavior of male rats, *Physiol. Behav.*, 3 (1968) 651-656.
- 36 Dunn-Meynell, A.A. and Levin, B.E., Fetal neocortical transplants into the medial forebrain bundle attract ingrowth of catecholaminergic fibers in adult rat brain, *Exp. Neurol.*, 111 (1991) 217-227.
- 37 Dunnett, S. B., Neural transplantation in animal models of dementia, *Eur. J. Neurosci.*, 2 (1990) 567-587.
- 38 Dunnet, S. B., Bjorklund, A., Schmidt, R.H., Stenevi, U. and Iversen, S. D., Intracerebral grafting of neuronal cell suspensions: Behavioral recovery in rats with bilateral 6-OHDA lesions following implantation of nigral cell suspension, *Acta Physiol. Scand. (Suppl.)* 522 (1983) 39-47.
- 39 Dunnett, S. B., Ryan, C. N., Levin, P.D. Reynolds, M. and Bunch, S.T., Functional consequences of embryonic neocortex transplanted to rats with prefrontal cortex lesions, *Behav. Neurosci.*, 101 (1987) 489-503.
- 40 Edwards, D. A. and Einhorn, L. C., Preoptic and midbrain control of sexual motivation, *Physiol. Behav.*, 37 (1986) 329-335.
- 41 Emery, D. E. and Sachs, B. D., Copulatory behavior in male rats with lesions in the bed nucleus of the stria terminalis. *Physiol. Behav.*, 17 (1976) 803-806.
- 42 Everitt, B.J. and Stacey, P., Studies of instrumental

- behaviour with sexual reinforcement in male rats (Rattus norvegicus): II. effects of preoptic area lesions, castration and testosterone, J. Comp. Psychol., 101 (1987) 407-419.
- 43 Escobar, M., Fernández, J., Guevara-Aguilar, R. and Bermúdez-Rattoni, F., Fetal brain grafts induce recovery of learning deficits and connectivity in rats with gustatory neocortex lesion, Brain Research, 478 (1989) 368-374.
- 44 Fernandez-Guasti, A., Escalante, A. and Agmo, A., Inhibitory action of various 5-HT_{1B} receptor agonist on rat masculine sexual behavior, Pharmacol. Biochem. Behav., 34 (1989) 811-816.
- 45 Fernandez-Guasti, A., Larsson, K. and Vega-Sanabria, J., Depression of postejaculatory ultrasonic vocalization by (+) bicuculline, Behav. Brain Res. 19 (1986) 35-39.
- 46 Forsberg, G., Wiesenfeld-Hallin, Z., Eneroth, P. and Sodersten, P., Sexual behavior induces naloxone-reversible hypoalgesia in male rats, Neurosci. Lett., 81 (1987) 151-154.
- 47 Frankfurt, M. and Azmitia, E., Regeneration of serotonergic fibers in the rat hypothalamus following unilateral 5,7-dihydroxytryptamine injection, Brain Research, 298 (1984) 273-282.
- 48 Freed, C. R., Breese, R.E., Rosenber, N.L., Schneck, S. A., Wells, T. H., Barret, J. N., Grafton, S. T.,

- Huang, S. C., Rottenberg, D. A., Transplantation of human fetal dopamine Cells for Parkinson's disease, Arch. Neurol., 47 (1990) 505-512.
- 49 Freed, W.J., Morihisa, J.M., Spoor, E., Hoffer, B.J., Olson, L., Seiger, A. and Wyatt, R.J., Transplanted adrenal chromaffin cells in rat brain reduce lesion-induced rotational behavior, Nature, 292 (1981) 351-352.
- 50 Gage, F. H., Kawaja, M. D. and Fisher, L. J., Genetically modified cells: applications for intracerebral grafting, TINS 14 (1991) 328-33.
- 51 Gash, D. M., Neural transplants in mammals, a historical overview. In J.R. Sladek Jr. and D.M. Gash (Eds.), Neural transplantation development and function, Plenum, New York, 1984, pp. 1-12.
- 52 Gessa, G. L. and Tagliamonte, A., Role of brain serotonin and dopamine in male sexual behavior, In: M. Sandler and G. L. Gessa (Eds.), Sexual behavior: pharmacology and biochemistry, Raven, New York, 1975, pp. 117-128.
- 53 Giantonio, G.W., Lund, N. L. and Gerall, A.A., Effect of diencephalic and rhinencephalic lesions on the male rat's sexual behavior, J. Comp. Physiol. Psychol., 73 (1970) 38-46.
- 54 Gibson, M. J. and Krieger, D.T., Neuroendocrine brain grafts in mutant mice. TINS, 40 (1985) 331-334.
- 55 Ginton, A. and Merari, A., Long range effects of MPOA

- lesion on mating behavior in the male rat, *Brain Research*, 120 (1977) 158-163.
- 56 Hansen, S. and Drakeafhagelsrum, L.J., Emergence of displacement activities in the male rat following thwarting of sexual behavior, *Behav. Neurosci.*, 98 (1984) 868-883.
- 57 Hansen, S., Kohler, Ch., Goldstein, M. and Steinbusch, H. V., Effects of ibotenic acid-induced neuronal degeneration in the medial preoptic area and the lateral hypothalamic area on sexual behavior in the male rat, *Brain Research*, 239 (1982) 213-232.
- 58 Hansen, S., Kohler, C. and Ross, S.B., On the role of the dorsal mesencephalic tegmentum in the control of masculine sexual behavior in the rat: effects of electrolytic lesions, ibotenic acid and DSP4, *Brain Research*, 240 (1982) 311-320.
- 59 Harris, V. S. and Sachs, B.D., Copulatory behavior in male rats following amygdaloid lesions, *Brain Research*, 86 (1975) 514-518.
- 60 Hart, B. L. and Leedy, M. G., Neurological bases of male sexual behavior. In: N. Adler, D. Pfaff and R.W. Goy (Eds.), *Handbook of behavioral neurobiology*, vol 2, reproduction, Plenum, New York, 1985, pp. 373-422.
- 61 Heimer, L. and Larsson, K., Impairment of mating behavior in male rats following lesions in the preoptic anterior hypothalamic continuum, *Brain Research*, (1966/1967) 248-263.

- 62 Herman, J. P., Abrous, N., Vigny, A., Dulluc, J. and LeMoal, M., Distorted development of intracerebral grafts: long-term maintenance of tyrosine hydroxylase-containing neurons in grafts of cortical tissue, *Dev. Brain Res.*, 40 (1988) 81-88.
- 63 Huang, H. H., Kissane, J. Q. and Hawlylewics, E.J., Restoration of sexual function and fertility by fetal hypothalamic transplants in impotent aged male rats, *Neurobiol. Aging*, 8 (1987) 465-472.
- 64 Kawaja, M. D., Fagan, A.M., Firestein, B.L. and Gage, F. H., Intracerebral grafting of cultured autologous skin fibroblasts into the rat striatum: an assessment of graft size and ultrastructure, *J. Comp. Neurol.*, 307 (1991) 695-706.
- 65 Kesslak, J. P., Brown, L., Steichen, C. and Cotman, C.W., Adult and embryonic frontal cortex transplants after frontal cortex ablation enhance recovery on a reinforced alternation task, *Exp. Neurol.*, 94 (1986) 615-626.
- 66 Kimble, D. P., Functional aspects of neuronal transplantation in the mammalian CNS, *Neurobiol. Aging*, 9 (1988) 317-319.
- 67 Kolarik, J., Nadvornik, P., Tabarka, K. and Dvorak, M., Successful therapeutic transplantation of human embryonic nerve tissue into a schizophrenic's brain: preliminary communication, *Activ. Nerv. Sup.*, 30 (1988) 155-156.

- 68 Kordower, J.H., Dean, R.L., White, H.C. and Marciano, F. F., Transplantation into the mammalian CNS: a meeting report on the sixth schmitt neurological sciences symposium, *Neurobiol Aging*, 9 (1988) 127-137.
- 69 Krettek, J. E. and Preece, J. L., Amygdaloid projections to subcortical structures within the basal forebrain and brainstem in the rat and cat, *J. Comp. Neurol.*, 178 (1978) 225-254.
- 70 Kriger, D.T., Gibson, M.J., Zimmerman, E.A. Ferin, M., Charlton, H.M. Silverman, A. J. and Perlow, M. J., Correction of genetic gonadotropin-releasing hormone deficiency by grafts of fetal preoptic area tissue. In A. Bjorklund and U. Stenevi (Eds.) *Neural grafting in the mammalian CNS*, Elsevier, New York, 1985, pp. 645-653.
- 71 Larsson, K., Failure of gonadal and gonadotrophic hormones to compensate for an impaired sexual function in anosmic male rats, *Physiol. Behav.*, 4 (1969) 733-737.
- 72 Larsson, K., Sexual impairment of inexperienced male rats following pre-and postpubertal olfactory bulbectomy, *Physiol. Behav.*, 14 (1975) 195-199.
- 73 Larsson, K., Features of the neuroendocrine regulation of masculine sexual behavior. In C. Beyer (Ed.), *Endocrine control of sexual behavior*, Raven, New York, 1979, pp. 77-163.

- 74 Leavitt, F. F., Drug induce modifications in sexual behavior and open field locomotion of male rats, *Physiol. Behav.*, 4 (1969) 677-683.
- 75 Lisk, R. D. Copulatory activity of the male rat following placement of preoptic-anterior hypothalamic lesions, *Exp. Brain Res.*, 5 (1986) 306-313.
- 76 Louilot, A., Gonzles-Mora, J. L., Guadalupe, T and Mas, M., Sex-related olfactory stimuli induce a selective increase in dopamine release in the nucleus accumbens of male rats. A voltammetric study, *Brain Research*, 533 (1991) 313-317.
- 77 Low, W.C., Triarhou, L.C., Kaseda, Y., Norton, J. and Ghetti, B., Functional innervation of the striatum by ventral mesencephalic grafts in mice with inherited nigrostriatal dopamine deficiency, *Brain Research*, 435 (1987) 315-321.
- 78 Lu, S. Y., Giordano, M., Norman, A.B., Shipley, M. T. and Sanberg, P. R., Behavioral effects of neural transplants into the intact striatum, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 37 (1990) 135-148.
- 79 Luine, V.N., Renner, K.J., Frankfurt, M. and Azmitia, E. Facilitated sexual behavior reversed and serotonin restored by raphe nuclei transplanted into denervated hypothalamus, *Science*, 226 (1984) 1436-1438.
- 80 Lupo, C., Dessi-Fulgheri, F., Musi, B. and Larsson, K., The effect of medial preoptic-anterior hypothalamic lesions on testosterone plasma levels and testosterone

- conversion in the hypopythalamus of male rats, *Neurosci. Lett.*, 39 (1983) 261-265.
- 81 Madrazo, I., Durcker-Coli, R., Diaz, V., Martinez-Mata, J., Torres, C. and Becerril, J. J., Open microsurgical autograft of adrenal medulla to the right caudate nucleus in two patients with intractable Parkinson's disease, *N. Eng. J. Med.*, 316 (1987) 831-834.
- 82 McAllister, J. P., Cober, S.R., Schaible, E.R. and Walker, P.D., Minimal connectivity between six month neostriatal transplants and the host substantia nigra, *Brain Research*, 476 (1989) 345-350.
- 83 Malmnas, C. O., Monoaminergic influence on testosterone-activated copulatory behavior in the castrated male rat, *Acta Physiol. Scand., Suppl.*, 395 (1973) 1-128.
- 84 Malmnas, C. O., The significance of dopamine, versus other catecholamines, for l-DOPA induced facilitation of sexual behavior in the castrated male rat, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 4 (1976) 521-526.
- 85 Malmnas, C. O. and Meyerson, B. J., Monoamines and copulatory activation in the castrated male rat, *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 31 (1972) Suppl 1.
- 86 Malsbury, C. W., Facilitation of male rat copulatory behavior by electrical stimulation of the medial preoptic area, *Physiol. Behav.*, 7 (1971) 797-805.
- 87 Mas, M., Gonzales-Mora, J. L., Louilot, A., Sole, C.

- and Guadalupe, T., Increased dopamine release in the nucleus accumbens of copulating male rats as evidence by in vivo voltammetry, *Neurosci. Lett.*, 110 (1990) 303-308.
- 88 Meisel, R.L., Lumia, A.R. and Sachs, B.D., Effects of olfactory bulb removal and flank shocks on copulation in male rats, *Physiol. Behav.*, 25 (1980) 383-387.
- 89 Needels, D. L., Nieto-Sampedro, M., Whittmore, S.R. and Cotman, C.W., Neuronotrophic activity for ciliary ganglion neurons. Induction following injury to the brain of neonatal adult and aged rats, *Devel. Brain Res.*, 18 (1985) 275-284.
- 90 Nieto-Sampedro, M. and Cotman, C.W., Growth factor induction and temporal order in CNS repair. In: C.W. Cotman (Ed.), *Gilford, New York, 1986*, pp. 407-456.
- 91 Nothias, F., Onteniente, B., Geffard, M. and Peschanski, M., Rapid growth of host afferents into fetal thalamic transplants, *Brain Research*, 463 (1988) 341-345.
- 92 Paredes, R. and Agmo, A., Stereospecific actions of baclofen on sociosexual behavior, locomotor activity and motor execution, *Psychopharmacol.*, 97 (1989) 358-364.
- 93 Paredes, R. G. and Agmo, A. Facilitation of sexual behavior shortly after electrolytic lesion of the medial preoptic area: what does it mean?, *Behav. Brain Res.* In press.

- 94 Paredes, R. G. and Agmo, A., GABA and behavior: the role of receptor subtypes, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 16 (1992) in press.
- 95 Paredes, R., Haller, A.E., Manero, M.C., Alvarado, R. and Agmo, A., Medial preoptic area kindling induces sexual behavior in sexually inactive male rats, *Brain Research*, 515 (1990) 20-26.
- 96 Paredes, R., Manero, M.C., Haller, A.E., Alvarado, R. and Agmo, A., Ejaculation enhances postictal behavioral depression in kindled rats: opioid involvement, *Behav. Brain. Res.*, In press.
- 97 Perlow, M.J., Freed, W.J., Hoffer, B.J., Seiger, A., Olson, L. and Wyatt, R.J., Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction on nigrostriatal dopamine system, *Science*, 204 (1979) 643-647.
- 98 Pfaus, J. G., Damsma, G., Nomikos, G.G., Wenkstern, D.G., Blaha, C.D., Phillips, A.G. and Fibiger, H.C., Sexual behavior enhances central dopamine transmission in the male rat, *Brain Research*, 530 (1990) 345-348.
- 99 Pfaus, J. G. and Gorzalka, B. B., Opioids and sexual behavior, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 11 (1987) 1-34.
- 100 Plumet, J., Cadusseau, J. and Roger, M., Fetal cortical transplants reduce motor deficits resulting from neonatal damage to the rat's frontal cortex, *Neurosci. Lett.* 109 (1990) 102-106.

- 101 Qureshi, G. A. and Sodersten, P., Sexual activity alters the concentration of amino acids in the cerebrospinal fluid of male rats, *Neurosci. Lett.*, 70 (1986) 374-378.
- 102 Rodriguez-Sierra, J., Naggar, A. and Komisaruk, B., Monoaminergic mediation of masculine and feminine copulatory behavior in female rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 5 (1976) 457-463.
- 103 Rogers, J., Hoffman, G.E., Zorentzer, S.F. and Vale, W.W., Hypothalamic grafts and neuroendocrine cascade theories of aging. In J. R. Sladek and D. M. Gash (Eds.), *Neural transplants: development and function*, Plenum, New York, 1984, pp. 205-222.
- 104 Rogers, D. C., Martel, F.L. and Dunnet, S.B., Nigral grafts in neonatal rats protect from aphagia induced by subsequent adult 6-OHDA lesions: the importance of striatal location, *Exp. Brain Res.*, 80 (1990) 172-176.
- 105 Russell, M. J. Vijayan, V. K., Gibbs, R.B., Geddes, J.W., Jacobson, C. H. and Cotman, C. W., Long-term survival of neural transplants to senescence in rats, *Exp. Neurol.*, 108 (1990) 105-108.
- 106 Sachs, B. D. and Meisel, R.L., The physiology of male sexual behavior. In E. Knobil and J. Neill (Eds.) *The physiology of reproduction*, Raven, New York, 1988, pp. 1393-1485.
- 107 Scott, D. E. and Kelsick, N., The neurovascular organization and integration of fetal hypothalamic

- transplants in the third cerebral ventricle of the bratetelboro rat. In A. Bjorklund and U. Stenevi (Eds.), Neural grafting in the mammalian CNS, Elsevier, New York, 1985, pp. 629-636.
- 108 Slimp, J. C., Hart, B.L. and Goy, R.W., Heterosexual, autosexual and social behavior of adult male rhesus monkeys with medial preoptic-anterior hypothalamic lesions, Brain Research, 142 (1978) 105-122.
- 109 Sodersten, P., Mounting behavior in the female rat during the estrous cycle, after ovariectomy and after estrogen or testosterone administration, Horm. Behav., 3 (1972) 307-320.
- 110 Sodersten P., Increased mounting behavior in the female rat following a single neonatal injection of testosterone propionate, Horm. Behav., 4 (1973) 1-17.
- 111 Soulairac, A. and Soulariac, M. L., Action de l amphetamine, de l adrenaline et de l atropine sur le comportement sexuel du rat male, J. Physiol 49 (1957) 381-385.
- 112 Stefanick, M and Davidson, J.M., Genital responses in noncopulators and rats with lesions in the medial preoptic are or midthoracic spinal cord, Physiol. Behav., 41 (1987) 439-444.
- 113 Stein, D.G., Palatucci, Ch., Kahan, D. and Labbe, R., Temporal factors influence recovery of function after embryonic brain tissue transplants in adult rats with frontal cortex lesions, Behav. Neurosci., 102 (1988)

260-267.

- 114 Szechtman, H., Caggiula, A.R. and Wolkan, D., Preoptic knife cuts and sexual behavior in male rats, *Brain Research*, 150 (1978) 569-591.
- 115 Szechtman, H., Herskowits, M. and Simantov, R. Sexual behavior decreases pain sensitivity and stimulates endogenous opioids in male rats, *Eur. J. Pharmacol.*, 70 (1981) 279-285.
- 116 Valcourt, R. J. and Sachs, B.D., Penile reflexes and copulatory behavior in male rats following lesions in the bed nucleus of the stria terminalis, *Brain Res. Bull.*, 4 (1979) 131-133.
- 117 Warner, R. K., Thompson, J. T., Markowski, Loucks, J. A., Bazzet, T. J. Eaton, R. C. and Hull, E. M., Microinjection of the dopamine antagonist cis-flupenthixol into the MPOA impairs copulation, penile reflexes and sexual motivation in male rats, *Brain Research*, 540 (1990) 177-182.
- 118 Zhou, F.C. and Azmitia, E.C., Neurtrophic factor for serotonergic neurons prevents degeneration of grafted raphe neurons in the cerebellum, *Brain Research*, 507 (1990) 301-308.