

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Participación de Neurotransmisores y Neuromoduladores Inhibitorios
en la Regulación de la Conducta de Estro en la Rata

TESIS

1985
Que para optar por el grado de Doctor en Ciencias (Biología)

P R E S E N T A

M.enC. Yolanda Guadalupe Sandoval Romero

1985



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Resumen..... 4-7

Introducción.....7-33

Objetivos..... 33-34

Materiales y Métodos..... 34-44

Resultados..... 44-58

Discusión..... 59-65

Conclusiones..... 66-67

Bibliografía..... 68-9 I

Les agradezco la revisión de esta Tesis
a los Profesores:

Dr. Carlos Beyer Flores

Dr. Horacio Merchant Larios

Dr. Rafael Villalobos Pietrini

Dr. José Ramírez Pulido

Dr. Fructuoso Ayala Guerrero

Dr. José Miguel Betancourt Rule

Dr. Pedro Rosendo Morales Ramírez

RESUMEN

La conducta sexual en la rata hembra comprende varios comportamientos estereotipados relacionados por una parte con la atracción y la estimulación del macho y por otra con la adopción de la lordosis, en respuesta a la monta del macho (receptividad). Esta postura permite la inserción del pene y la eventual eyaculación del macho en el tracto genital de la hembra. La lordosis es un comportamiento reflejo facilitado por la secreción de los ovarios que durante el ciclo estral secretan inicialmente estrógenos y posteriormente progesterona. La simulación experimental del patrón de secreción de esteroides ováricos por la administración inicial de estradiol seguida uno o dos días después por la progesterona induce conducta sexual en la rata ovariectomizada que es indistinguible en su apariencia e intensidad de la que presenta la rata intacta.

La conducta de lordosis puede ser facilitada o inhibida por varios sistemas neurales que utilizan diversos neurotransmisores. Entre los sistemas facilitatorios el constituido por fibras noradrenérgicas parece ser el principal en los roedores. Por otra parte, neuronas dopaminérgicas y serotoninérgicas constituyen un sistema -- inhibitorio para la conducta de lordosis en la rata y en otras especies de mamíferos. Numerosos datos experimentales indican que el sitio principal de interacción entre neurotransmisores y hormonas esteroides que regula la conducta sexual femenina es el núcleo ventromedial del hipotálamo. Así las neuronas ...

ventromediales captan selectivamente esteroides sexuales e implantes de minúsculas cantidades de estas hormonas en éste núcleo facilitan la conducta de lordosis en animales ovariectomizados. Las neuronas del núcleo ventromedial reciben una rica inervación adrenérgica a través del fascículo noradrenérgico ventral. Datos anatómicos y fisiológicos sugieren que las acciones inhibitorias de los sistemas serotoninérgicos y dopaminérgicos no se ejercen directamente sobre las neuronas ventromediales, sino a través de interneuronas de axones cortos localizados en el borde de dicho núcleo. Se sabe que las interneuronas inhibitorias del sistema nervioso central utilizan a los aminoácidos GABA y glicina como neurotransmisores. Estos neurotransmisores se han detectado en el hipotálamo ventromedial y su administración iontofonética inhibe la actividad de neuronas de este núcleo, resultados que sugieren la participación de estos neurotransmisores inhibitorios en la regulación de la conducta sexual. Por consiguiente, en el presente estudio se exploró el posible papel de éstos neurotransmisores en la regulación de la conducta sexual de la rata por medio de la infusión directa de diversos agonistas y antagonistas de GABA y glicina en el núcleo ventromedial.

Los resultados obtenidos mostraron que la administración de muscimol, un agonista potente del ácido gamma-aminobutírico (GABA), no inhibió la conducta de lordosis estimulada por estrógenos y progesterona.

Así mismo, la administración de picrotoxina, un antagonista del GABA, no facilitó la conducta de lordosis en ratas ovariectomizadas y pretratadas con dosis subumbrales de estrógenos. Estos datos indican que el GABA no participa en la inhibición de la conducta sexual femenina.

Por otra parte, la infusión intrahipotalámica de estricnina, potente antagonista específico de la glicina, consistentemente facilitó la conducta de lordosis en ratas ovariectomizadas u ovariectomizadas adrenalectomizadas que recibieron dosis subumbrales de estrógenos. Estos resultados, en su conjunto sugieren una participación de la glicina en la modulación inhibitoria del comportamiento de lordosis en la rata. Esta idea es apoyada por el hecho de que la administración sistémica de glicina disminuye claramente la respuesta a la progesterona en la rata trtada con estrógenos.

Se sabe que la actividad neuronal de una región puede ser deprimida no solo por la acción de neurotransmisores inhibitorios sino también por agentes neuromoduladores que sin participar directamente en la transmisión sináptica de esa estructura pueden modificarla. Uno de los neuromoduladores más importantes en el sistema nervioso es la adenosina. La infusión intrahipotalámica de adenosina interfirió casi totalmente con la producción de conducta de lordosis que sigue normalmente a la administración secuencial de estrógenos y progesterona. La adenosina actúa en el sistema

tema nervioso central fundamentalmente a través de dos mecanismos:

- a) elevación de adenosinmonofosfato cíclico (AMPC) intraneuronal y
- b) inhibición de la liberación de neurotransmisores a nivel sináptico.

Dado que la elevación de AMPC en las neuronas del núcleo ventromedial no inhibe, si no que por el contrario facilita la expresión de la conducta de lordosis en la rata, es probable que la adenosina inhiba la conducta de lordosis interfiriendo con la actividad del sistema noradrenérgico facilitador.

Los resultados de esta tesis confirman la existencia de mecanismos moduladores de tipo inhibitorio para la conducta de lordosis y sugieren que estas acciones pudieran ser mediadas por la glicina, como neurotransmisor inhibitorio a las neuronas ventromediales, y por la adenosina, como un neuromodulador, que suprime la liberación y por consiguiente la acción facilitatoria de la noradrenalina hipotalámica.

I N T R O D U C C I O N

La conducta sexual de las hembras de los mamíferos consiste en la ejecución de diversos actos motores bien definidos, para una especie determinada. Beach (1) propuso ya desde hace varios años (1976) tres conceptos que definen las características de la hembra en estro ó sexualmente receptiva: el atractivo, la proceptividad y la receptividad.

El atractivo incluye principalmente cambios morfológicos y fisiológicos que aumentan el valor de la hembra como estímulo

para activar la conducta sexual del macho. Algunos de los cambios más característicos relacionados con el atractivo son modificaciones en el área genital, como son la hinchazón y el enrojecimiento de la zona perineal que se presenta en las hembras en estro de varias especies de primates (2,3). La producción de sustancias odoríferas ó feromonas por glándulas especializadas ó por el tracto genital (4,5) es otro de los cambios típicos que ocurren en las hembras durante el estro y que tienen la función de aumentar su atractivo para el macho.

La proceptividad comprende un repertorio de acciones ó de reacciones realizadas por la hembra que dirigidas hacia el macho tienden a estimular a éste para la iniciación de la actividad sexual (1,6,7,8). En las hembras de los roedores se pueden distinguir varias de estas acciones como el llamado "darting" por los autores anglosajones, conducta que se caracteriza por rápidas carreras que bruscamente se interrumpen, para ser reanudadas cuando se acerca el macho, las cabriolas saltos bruscos (hopping) y un rápido vibrar de las orejas y de la cabeza características de la rata en estro (9). Una característica común al comportamiento de proceptividad en los mamíferos es un aumento de la actividad motora que frecuentemente incluye secuencias de aproximación y alejamiento al macho que se ha visto que estimulan a éste a iniciar la persecución y la monta de la hembra (10,11,12,13). En algunas especies la emisión de sonidos ó vocalizaciones son parte

de la proceptividad (14,15,16). Así en el reno las hembras aisladas en el bosque mugen para llamar la atención de los machos. La importancia de la proceptividad para la actividad sexual de la especie, se evidencia cuando ésta conducta es suprimida ó disminuída por la administración de sedantes (17) situación en la que el interés sexual de los machos por estas hembras se reduce considerablemente al grado de suprimirse la actividad sexual.

Por ejemplo, ratas macho sin experiencia sexual previa raras veces llegan a copular con hembras que no presentan la conducta de "darting" (18,19).

La receptividad en las hembras de los mamíferos subprimates involucra la adopción de una postura que facilita la inserción del pene. La mayoría de las especies presentan la llamada lordosis, una postura que consiste en el arqueamiento del dorso y la elevación de la pelvis, usualmente acompañada por una desviación de la cola (20,21,22,23). Esta postura es el resultado en las diversas especies de la activación de grupos musculares diferentes. En condiciones normales la lordosis es estimulada por la monta del macho y la estimulación consecuente en el tren posterior de la hembra, incluyendo la palpación que éste realiza en los flancos de la hembra con sus patas anteriores. En condiciones experimentales la lordosis puede ser inducida en la rata por la estimulación manual de la región perineal (21,24). Kow y su grupo (25) han estudiado las características de los receptores

sensoriales y de las áreas de la piel que participan en la lordosis y han encontrado que el nervio pudendo es el encargado de transmitir la información de esta área al sistema nervioso central para desencadenar el reflejo de lordosis. Una descripción detallada de los diferentes patrones conductuales manifestados por las hembras en estro ha sido realizado recientemente por Dewsbury (26).

En numerosas especies la conducta pseudomasculina o de monta puede ser presentada por la hembra en estro de varias especies y consiste en la realización del patrón copulatorio del macho en forma total ó parcial por la hembra (27). Este tipo de comportamiento ha sido denominado por algunos autores como comportamiento de monta (28) ó como conducta pseudomasculina (29). Un análisis reciente de éste comportamiento por Morali y colaboradores (30) mostró que la conducta de monta en la rata hembra es idéntica a la del macho. La proporción de sujetos que manifiestan la conducta pseudomasculina varía de acuerdo con las especies estudiadas y dentro de una especie con las diferentes variedades genéticas (28,29). En la rata la conducta pseudomasculina consiste generalmente en la realización del patrón de monta, pero el llamado patrón de intromisión también puede observarse -- - (31,32). En ciertas condiciones experimentales, como son la administración de dosis excesivamente elevadas de esteroides sexuales, la rata hembra puede mostrar el patrón copulatorio in-

tegro del macho incluyendo los movimientos característicos de la eyaculación (32).

REGULACION HORMONAL DE LA ACTIVIDAD SEXUAL EN LA RATA HEMBRA

Como en la mayoría de las especies de los mamíferos (33), la rata presenta períodos bien definidos de actividad sexual (estro) que alternan con períodos de inactividad sexual (diestro). Como fue demostrado por Hardy (34) durante los períodos de inactividad sexual los avances de los machos son frecuentemente rechazados por la hembra por medio de acciones agresivas, tales como el patear, el boxear y la adopción de diversas posturas defensivas. A este grupo de conductas se le ha llamado conducta de rechazo y como en el caso de la conducta receptiva son susceptibles de ser cuantificadas con precisión.

Existen numerosos datos que demuestran que las fluctuaciones en el comportamiento sexual en los mamíferos son producidas por variaciones en la secreción de hormonas ováricas (35,36,37,38), que a su vez son reguladas por la secreción de gonadotrofinas hipofisiarias (39,40).

La rata presenta un ciclo estral de breve duración (4-5 días) caracterizado por la presencia de ovulación espontánea (33,41). Sin embargo en contraste con otras especies de ovulación espontánea, en la rata no se forman cuerpos lúteos activos a menos que ocurra el coito y por consiguiente se establezca el embarazo, si este fue fértil ó el pseudoembarazo en el caso de que no lo fuera

(42,43). La duración de la receptividad sexual ó del estro en la rata es variable y probablemente depende de la variedad genética y de las condiciones ambientales en que se encuentran las ratas. Sin embargo, según la mayoría de los autores (41) el estro dura de diez a veinte horas.

A pesar de que indudablemente la conducta de estro, depende de la secreción ovárica (44,45) no existe certidumbre alguna acerca de los factores hormonales que inducen al estro en condiciones normales. Resultados de diversos estudios de administración de hormonas a ratas ovariectomizadas (46,47,48,49,50), para restablecer la conducta sexual señalan que el factor hormonal indispensable para la inducción de ésta conducta son los estrógenos. Así, la administración de dosis repetidas de varios estrógenos (estradiol, estrona ó estriol) restablece consistentemente la conducta de lordosis en ratas ovariectomizadas (50). El primero de estos estrógenos y el estradiol es el estrogeno más potente para inducir conducta sexual, así como el estrógeno principal secretado por el ovario. Si bien es posible inducir lordosis en la rata con la administración exclusiva de estrógenos, se requieren cantidades elevadas de estos esteroides ó tratamientos prolongados para obtener este efecto. Esto sugiere que en condiciones normales otra hormona u hormonas interactúan con los estrógenos para producir la conducta de estro. Desde Boling y Blandau (51) se sabe que la administración de pro-

gesterona a ratas ovariectomizadas que han recibido un día antes una sola inyección de estrógenos resulta en la facilitación de conducta de lordosis similar a la que se observa en las ratas con ciclos estrales normales.

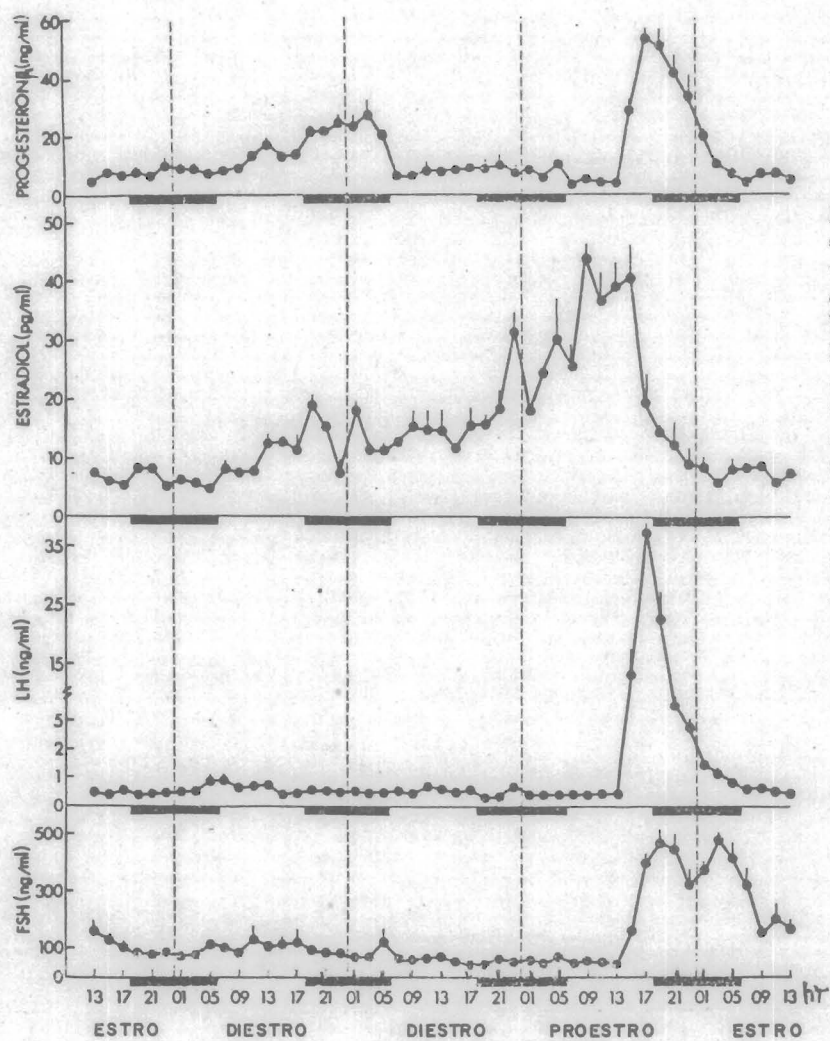
Con base en estas observaciones se ha venido considerando que en los roedores (rata cuyo, hamster, etc,) la conducta de lordosis normalmente resulta de la acción secuencial de los estrógenos y la progesterona. Esta idea ha sido reforzada por datos recientes en los que se han medido las concentraciones plasmáticas de estas hormonas durante el ciclo estral de la rata (FIGURA I) Como puede verse en esta figura la concentración plasmática de éstos esteroides (estradiol y progesterona) presenta perfiles congruentes con esta hipótesis, Es decir, los estrógenos empiezan a elevarse gradualmente desde el segundo día de diestro, etapa durante la cual presumiblemente sensibilizan al sistema nervioso central para la acción posterior de la progesterona. Esta hormona presenta un alza relativamente brusca en el día del proestro alrededor de la ovulación (35,36), período durante el cual también se inicia la conducta de lordosis en condiciones normales.

En el modelo antes mencionado la conducta normal de estro resultaría de la interacción de una hormona sensibilizadora, el estrógeno y de una hormona "disparadora" de la lordosis que sería la progesterona (52). Sin embargo, la administración de va-

FIGURA I

CONCENTRACIONES PLASMATICAS DE ESTROGENOS Y PROGESTERONA

DURANTE EL CICLO ESTRAL DE LA RATA



Tomado de Smith, M.S., Freeman, M.E. y Neill J.D.
(1975) Endocrinology 96:1 p.p. 219-226.

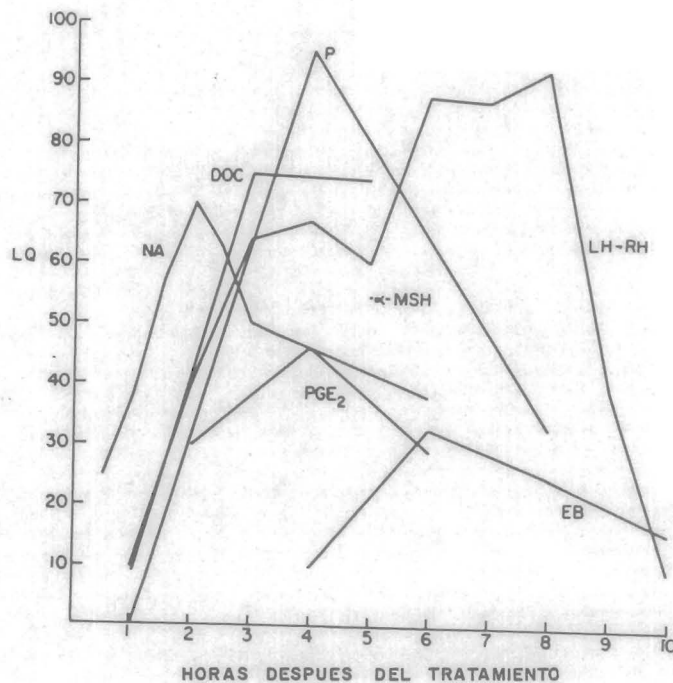
rias otras hormonas ó neuromoduladores a animales ovariectomizados tratados con estrógenos también facilita la conducta de lordosis (53). Estas hormonas son: la hormona hipotalámica liberadora de la hormona luteinizante (LH-RH) (54,55,56,57,58,59), la melanotropina (MSH) (60), la prostaglandina E_2 (PGE_2) (61,62), la noradrenalina (63,64), la corticosterona (65), inclusive el mismo estradiol (50). Es de gran interés, que se han encontrado elevaciones significativas en las concentraciones de algunas de estas hormonas (LH-RH, noradrenalina y estradiol) durante el proestro, poco antes de la aparición de la conducta de lordosis, lo cual sugiere que éstos factores también pudieran contribuir a la regulación de la conducta de lordosis en la rata normal (37,50,63,66). La FIGURA 2 presenta la magnitud y el curso temporal de la conducta de lordosis inducida por las hormonas y neuromoduladores arriba mencionados.

La progesterona, pero no los otros factores arriba mencionados, posee una acción bifásica sobre la conducta sexual de la rata y otros roedores. Es decir que a su efecto facilitador inicial sigue una acción inhibidora sobre la conducta sexual; período durante el cual la rata estrogenizada deja de responder a inyecciones adicionales de progesterona con conducta de lordosis.

Esta inhibición llamada secuencial de la progesterona participa en la regulación de la duración del estro en los roedores (67,68,69,70,71,72,73,74,75,76.)

FIGURA 2

MAGNITUD Y CURSO TEMPORAL DE LA CONDUCTA DE LORDOSIS
INDUCIDA POR DIVERSAS HORMONAS Y NEUROMODULADORES



Tomado de Beyer, C. Annals. of N.Y. Acade. Scien. 50:325-335 . (EB-Benzoato de estradiol; NA-Noradrenalina DOC-desoxicorticosterona; P-Progesterona; PGE₂-Prostaglandina E₂; α-MSH-Hormona melanocito estimulante; LH-RH Hormona hipotalámica liberadora de la hormona luteinizante).

SUBSTRATO CEREBRAL DEL COMPORTAMIENTO DE LORDOSIS

Un problema fundamental a resolver en el estudio de la regulación hormonal de la conducta sexual (77,78) y que necesariamente tiene que anteceder a estudios más analíticos es el de la localización de las estructuras cerebrales en las que las hormonas actúan para estimular éste comportamiento. Experimentos de lesión y estimulación en varias especies llevó desde hace varios años a la conclusión de que la conducta de lordosis se integra en los mamíferos a nivel hipotalámico (79,80,81,82,83,84). Estudios más finos en los que se realizaron lesiones restringidas a núcleos o áreas seleccionadas del hipotálamo por medio de técnicas estereotáxicas, mostraron que en los roedores la destrucción del hipotálamo ventromedial interfería con la conducta de estro incluyendo la presentación de lordosis. Dado que el núcleo ventromedial se encuentra muy cerca de la región del hipotálamo que regula la secreción de gonadotrofinas era posible que su efecto fuera debido a una disfunción del eje hipófisis-gónadas. Sin embargo, estudios cuidadosos revelan que estas lesiones no interfieren con el funcionamiento eje cerebro-hipófisis-ovarios. Así se demostró que, lesiones en el hipotálamo ventromedial producían déficit conductuales permanentes que no eran corregidos por la administración exógena de hormonas. Por otra parte, cuando las lesiones incluían a la zona de la eminencia mediana o del núcleo arcuato la supresión de la conducta sexual era debida a alteraciones en la secreción

hipofisiaria y la lordosis podía ser restablecida fácilmente por la administración exógena de esteroides gonadales (85,86).

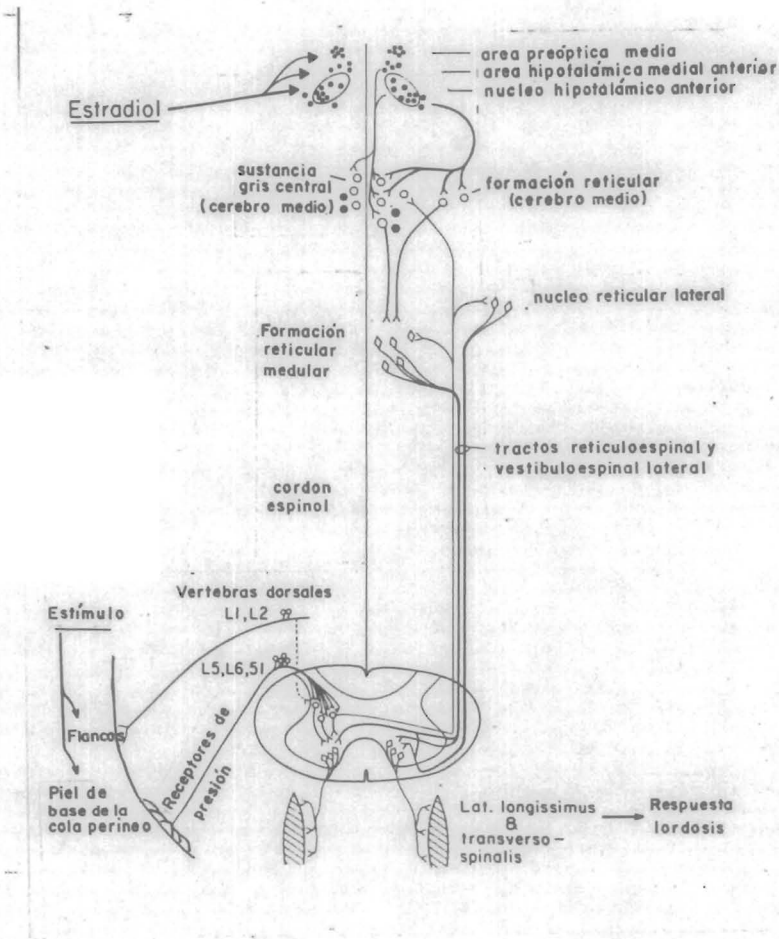
La participación del núcleo ventromedial hipotalámico en la regulación hormonal de la conducta de lordosis es también apoyada por otro tipo de estudios como son los de implantación de esteroides en el hipotálamo. En este caso, cantidades minúsculas de esteroides gonadales, estrógenos ó progesterona, implantados estereotáxicamente en el núcleo hipotalámico ventromedial restablece la conducta de lordosis en ratas ovariectomizadas (87,88,89,90,91,92). Es interesante señalar que en el caso de los estrógenos, la implantación de éstos en otras áreas rostrales del cerebro como el área preóptica pueden también facilitar la conducta de lordosis en animales ovariectomizados (53). Por el contrario, la facilitación de la conducta de lordosis por la implantación de progesterona en ratas pretratadas con estrógenos requiere que ésta se localice o se circunscriba al núcleo ventromedial mismo, ya que implantes de progesterona localizados tan solo 0.5 mm fuera de este núcleo son ineficaces para facilitar la conducta de lordosis (85). La acción de los esteroides, estrógenos y progesterona sobre el núcleo ventromedial para la facilitación de la lordosis es también apoyada por estudios de captación de esteroides radiactivos que demuestran que este núcleo posee receptores tanto a estrógenos como a progesterona capaces de unir específicamente y con gran afinidad a este tipo

de esteroides (94,95,96,97,98,99).

Si bien existen numerosos datos experimentales que apoyan, al menos en la rata, la participación de las neuronas del núcleo ventromedial en la expresión de la lordosis, no es tan claro el mecanismo fisiológico a través del cual actúan. Estudios de Pfaff y Sakuma (36), han mostrado que la destrucción electrolítica del núcleo ventromedial no produce una supresión inmediata, sino gradual, de la conducta de lordosis en la rata tratada con hormonas esteroides. Estos resultados indican que ésta estructura no es un componente del arco reflejo involucrado en la lordosis, ya que en éste caso su destrucción llevaría a la interrupción brusca de ésta conducta. De acuerdo con los autores antes mencionados parece más factible que el núcleo ventromedial tenga una acción facilitatoria sobre aquellas estructuras neurales que son parte del arco reflejo de la lordosis y que se encuentran localizadas en la porción inferior del tallo cerebral (substancia gris central, núcleo gigante celularis, núcleo de Deiters) FIGURA No. 3. Es de interés señalar que la acción facilitatoria del núcleo ventromedial obtenida por la estimulación de sus neuronas con electrodos crónicamente implantados tampoco se expresa de inmediato, si no que se requiere de un período prolongado de estimulación (una hora ó más) para lograr la facilitación máxima. Este último resultado también apoya la idea de que el núcleo ventromedial funciona en la regulación de la lordo

FIGURA 3

ARCO REFLEJO DE LA LORDOSIS



sis como un mecanismo facilitatorio de la actividad del arco reflejo de la lordosis. Interesantemente este aumento en la excitabilidad ó responsividad del reflejo de la lordosis producido por la activación del núcleo ventromedial no debe ser mediado por cambios inmediatos en la excitabilidad de la membrana, sino por cambios bioquímicos más duraderos que requieren más tiempo para desarrollarse. Independientemente del mecanismo atrvés del cual el núcleo ventromedial facilita la lordosis, los experimentos de lesión demuestran que ésta acción facilitatoria no es facultativa sino esencial para la expresión de la lordosis.

Numerosos datos experimentales, aunque un tanto inconexos, sugieren la existencia de mecanismos inhibitorios a la expresión de la conducta de lordosis. La mayor parte de estos estudios han involucrado la realización de lesiones de áreas telencefálicas, incluyendo la corteza cerebral, el séptum y el área preóptica media (100,101,102,103,104,105,106). Así se ha observado que la inactivación de la corteza cerebral por medio de la depresión propgada (spreading depression) que es un proceso equivalente a una decorticación funcional inducida en ésta estructura por la aplicación tópica de cloruro de potasio (107,108) facilita la conducta de lordosis en hembras tratadas con estrógenos.

Por otra parte, se ha demostrado que la destrucción del séptum incrementa considerablemente la respuesta de lordosis a

la administración de dosis bajas de estrógenos. Resultados similares incluyendo la estimulación de la conducta sexual en ratas que recibieron dosis sensibilizadores de estrógenos han sido obtenidos por lesiones en el área preóptica media (109). Por el contrario, la estimulación eléctrica de esta región (área preóptica media) inhibe la conducta de lordosis en la rata hormonalmente tratada (110,111). Estos resultados en conjunto sugieren que en un área relativamente extensa del teléncéfalo (septum, área preóptica, banda diagonal de Broca) existen neuronas inhibitorias a la expresión de la conducta sexual.

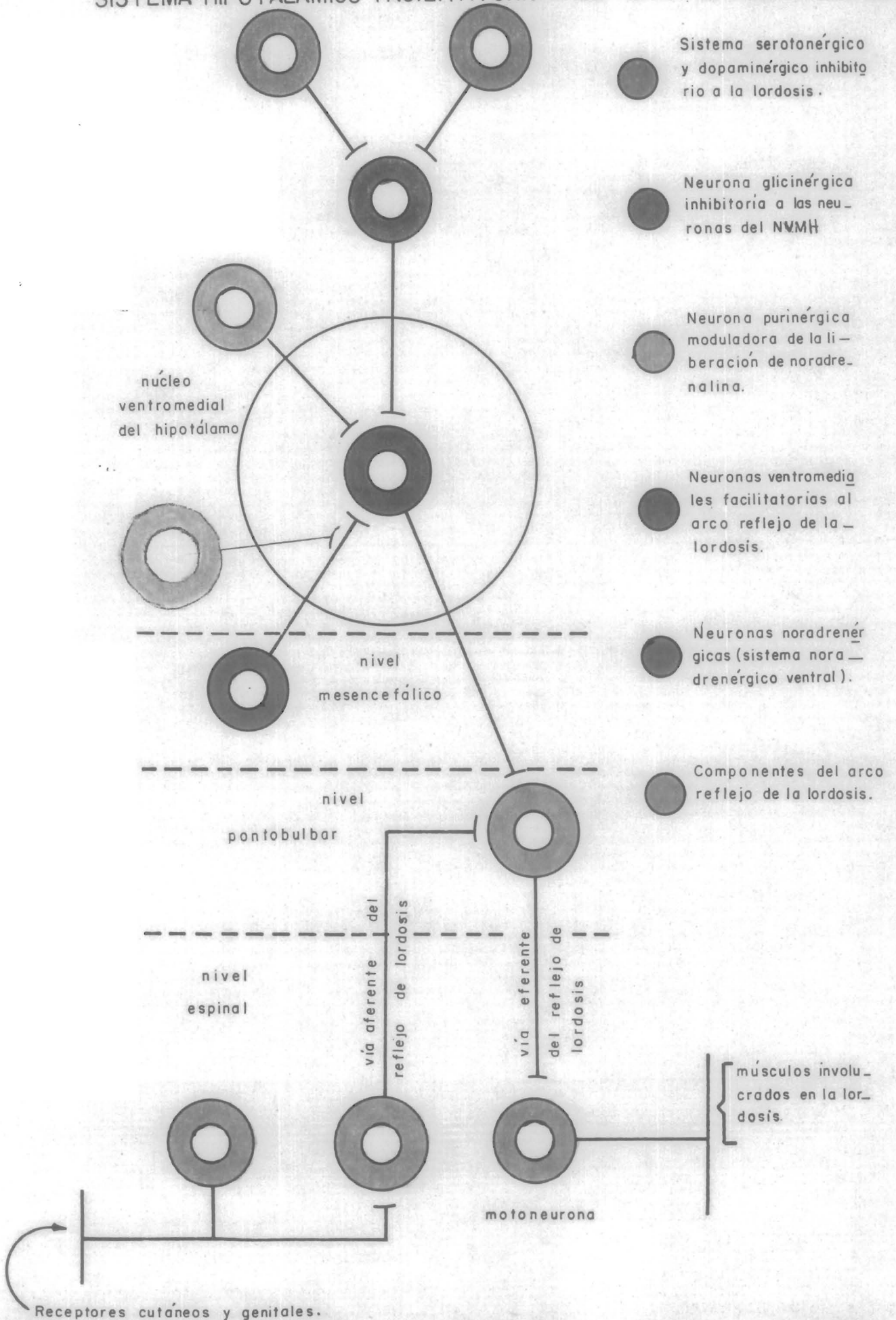
No existe información suficiente para determinar si el sistema inhibitorio actúa directamente sobre las estructuras del arco reflejo de la lordosis, localizadas en la parte inferior del tallo cerebral o médula espinal, o bien si lo hace modulando la actividad del sistema facilitador constituido por las neuronas del núcleo ventromedial del hipotálamo. Numerosos estudios utilizando técnicas electrofisiológicas (112,113), de incorporación de aminoácidos radiactivos (114), así como métodos anatómicos convencionales (115,116,117), demuestran la existencia de conexiones directas entre estas áreas (área preóptica media) y las neuronas del núcleo ventromedial. Por otra parte, lesiones al hipotálamo medio que interrumpen las conexiones del área preóptica media y el núcleo ventromedial hipotalámico facilitan la lordosis en ratas estrogenizadas (109). Este último hallazgo sugiere

que el sistema telencefálico inhibitorio actúa sobre la conducta sexual a través del núcleo hipotalámico ventromedial, en este esquema, se contemplaría que la inhibición de la actividad de neuronas septales y preópticas provocaría un incremento en la actividad de neuronas ventromediales, el cual a su vez resultaría en una facilitación gradual de la conducta de lordosis al facilitar la actividad del arco reflejo de la lordosis. Las posibles interacciones entre el sistema telencefálico inhibitorio y el sistema hipotalámico facilitatorio de la lordosis y el arco reflejo para la lordosis se representan en la FIGURA 4.

PAPEL DE LOS DIVERSOS NEUROTRANSMISORES SOBRE LA FACILITACION DE LA CONDUCTA SEXUAL POR HORMONAS.

La complejidad de los circuitos neuronales que participan en la conducta sexual sugiere que varios neurotransmisores participan en la integración de ésta conducta. La mayoría de los estudios realizados acerca de los posibles neurotransmisores que participan en la regulación de la lordosis se han centrado en el papel de las monoaminas: dopamina, noradrenalina y serotonina en esta conducta. Esta tendencia ha sido debida en gran medida a que existe mayor información sobre la distribución anatómica de las neuronas monoaminérgicas que sobre la de otros neurotransmisores ó neuromoduladores. Así mismo, para el caso de la monoaminas se cuenta con excelentes agonistas y antagonistas para modular la actividad monoaminérgica en el sistema ner-

POSIBLES INTERACCIONES ENTRE EL SISTEMA TELENCEFALICO INHIBITORIO SISTEMA HIPOTALAMICO FACILITATORIO Y EL ARCO REFLEJO DE LORDOSIS



vioso central; así como con drogas que pueden interferir selectivamente con la síntesis de éstos compuestos.

En la actualidad existe una sólida evidencia de que la noradrenalina ó adrenalina ó las dos catecolaminas en conjunto tienen una función facilitatoria importante sobre la conducta de lordosis en los roedores (I18, I19, I20, I21, I22, I23, I24, I25, I26)

Esta acción aparentemente se ejerce a través de neuronas del núcleo ventromedial que reciben principalmente sus dendritas un importante componente de fibras noradrenérgicas que se origina en las neuronas del tegmento lateral (sistema noradrenérgico ventral). La infusión de noradrenalina en el área del núcleo ventromedial produce conducta de lordosis en ratas ovariectomizadas sensibilizadas con estrógenos (I26). Por otra parte, la lesión de este sistema interfiere con la producción de conducta sexual por la progesterona en ratas estrogenizadas. Hansen y colaboradores (I27) interpretaron la depresión o supresión de la conducta sexual producida por la degeneración del sistema noradrenérgico ventral como prueba de que éste sistema era parte del componente aferente del arco reflejo de la conducta de lordosis. Sin embargo, Fernandez y colaboradores (I28) han observado que la degeneración del sistema noradrenérgico ventral producida por la administración de disulfuro de (bis (1-metil-4 homopiperazinil-tiocarbonilo) (FLA) toxina que degenera selectivamente neuronas noradrenérgicas, interfiere con la conducta de lordosis inducida por progesterona pero no con aquella

producida por la administración crónica de estrógenos. Este último hallazgo es incompatible con la idea de que el sistema noradrenérgico ventral es parte del arco reflejo de la lordosis, ya que entonces su destrucción interferiría con la expresión de ésta conducta independientemente del factor hormonal que la produjera. Esta conclusión concuerda con estudios antes mencionados del grupo de Pfaff (I25) que localizan el arco reflejo para la lordosis a un nivel más bajo del tallo cerebral. Por otra parte, la administración de bloqueadores adrenérgicos tanto alfa como beta interfiere con la acción facilitatoria de la progesterona, pero no con la del estrógeno sobre la conducta de lordosis de ratas ovariectomizadas y pretratadas con estrógenos. El hecho aparentemente contradictorio de que tanto antagonistas alfa como beta suprimiera ésta conducta puede explicarse por la observación reciente de Daly y colaboradores (I29) de que la activación noradrenérgica de neuronas hipotalámicas, evidenciada por el alza de AMPc en ésta estructura, requiere de la activación simultánea de receptores alfa y beta. Este hallazgo bioquímico concuerda con la observación de Fernandez y colaboradores (I30) de que mientras la infusión separada de un agonista alfa ó beta no facilita la lordosis, ésta se produce de manera normal cuando se combinan los dos agonistas alfa y beta en la infusión al núcleo ventromedial.

Existen ciertos datos que sugieren que además del hipo-

tálamo ventromedial, algunas estructuras del sistema límbico como la formación reticular mesencefálica y el complejo septum-área preóptica pudiera bajo ciertas condiciones tener también una acción facilitatoria sobre la conducta de lordosis al menos en la rata. Así, Ross y colaboradores (131) reportaron que la implantación de progesterona en el tegmentum mesencefálico y en el área preóptica de ratas ovariectomizadas y estrogenizadas estimulaba la conducta de lordosis con una latencia breve. Las áreas en las que éstos implantes facilitaban la conducta de lordosis son ricas en la enzima colina-acetil-transferasa, responsable de la síntesis de acetilcolina. Esto llevó a pensar a -- Clemens y colaboradores (132) que la progesterona ejerc su acción facilitatoria sobre la lordosis activando sistemas colinérgicos. La implantación de agonistas colinérgicos de tipo muscarínico como el carbacol o el betanecol facilitaron la conducta de lordosis en ratas ovariectomizadas u ovariectomizadas y adrenalectomizadas demostrando así que este efecto no era debido a una liberación de progesterona suprarrenal. Así mismo, el efecto facilitatorio de la estimulación colinérgica no fue debida a efectos químicos inespecíficos dado que su acción fue bloqueada por el sulfato de atropina que es un antagonista muscarínico específico. Más recientemente, Clemens y Dohanich (133) han observado que la infusión bilateral de antagonistas colinérgicos en áreas telencefálicas (hemicolinium 3 y atropina)

interfieren con la presentación de lordosis facilitada por la administración secuencial de estrógenos y progesterona.

Los resultados anteriormente mencionados sugieren la existencia de dos mecanismos químicos facilitatorios a la conducta de lordosis: uno ascendente con neuronas noradrenérgicas localizadas primordialmente en la porción inferior del tallo cerebral (tegmento lateral) y que envían axones ascendentes a terminar con relación con la porción ventral del hipotálamo; y otro descendente, con neuronas colinérgicas en la amígdala, el séptum y el área preóptica.

POSIBLES SISTEMAS NEURALES INHIBITORIOS AL COMPORTAMIENTO SEXU

Estudios fundamentalmente de naturaleza farmacológica apoyan la existencia de sistemas inhibitorios de la conducta de lordosis en la rata y en otras especies de mamíferos. En general se puede considerar que aquellas manipulaciones farmacológicas que resultan en una disminución del tono dopaminérgico o bien que interfieren con las acciones de ésta monoamina en sus receptores tienden a favorecer la facilitación de la conducta sexual por estrógenos y progesterona (I22). Así, claros efectos facilitatorios han sido obtenidos por la administración de pimozide (I34) que es un potente antagonista dopaminérgico que actúa a nivel del receptor.

El efecto facilitatorio que se observa al antagonizar a

la dopamina involucra a todas las características de la lordosis (frecuencia de aparición, intensidad y duración de lordosis), pero es particularmente notable en el caso de la duración de la lordosis, la que se incrementa considerablemente por encima de lo normal en aquellas ratas en las que el tono dopaminérgico ha sido disminuído. Por otra parte, y como era de esperarse por los resultados antes mencionados, la administración de agonistas do paminérgicos del tipo del espiroperidol y del ET495 (I35) tiende a antagonizar el efecto estimulatorio que sobre la conducta de lordosis tienen los estrógenos y la progesterona. Dado que no se han realizado estudios de infusión de agentes dopaminérgicos ya sean agonistas ó antagonistas, en áreas bien definidas del cerebro, no se sabe donde la dopamina actúa, ya que su acción inhibitoria se podría ejercer sobre las neuronas del hipotálamo ventromedial ó sobre neuronas del tallo cerebral relacionadas con los aspectos motores del reflejo de lordosis.

La administración de paraclorofenilalanina (PCPA) un in hibidor específico de la síntesis de serotonina se ha reportado que facilita la conducta sexual tanto femenina como masculina en varias especies (I36, I37, I38). Resultados similares fueron obtenidos con la administración de metisergida y cinacerín, compuestos que bloquean los receptores a serotonina (I39). Por el contrario, la administración de agentes que incrementan la concentración de se rotonina como el de su precursor inmediato el 5-hidroxitriptofa

no, agonistas serotoninérgicos del tipo de LSD(I40,,I4I,I42) o la de drogas que estimulan la liberación de serotonina como la fenfluramina (I43), interfieren con la producción de lordosis por la administración de esteroides gonadales (estrógenos y progesterona). En un estudio reciente, Luine y colaboradores (I44) observaron que la inhibición de las monoaminooxidasas (MAO) tanto del tipo A como del tipo B, por pargilina inhibe la conducta sexual inducida por estrógenos y progesterona. Si bien la pargilina al inhibir los dos tipos de monoaminooxidasas modifica el metabolismo - tanto de catecolaminas como de indolaminas se encontró que la inhibición de la conducta de lordosis correlacionaba particularmente bien con una elevación de los niveles de serotonina en el área preóptica y el hipotálamo ventromedial. Por otra parte, es particularmente interesante que en un estudio posterior los efectos de la pargilina se produjeron sólo cuando la cánula se encontraba en el núcleo ventromedial del hipotálamo o en su inmediata vecindad pero no en otras estructuras hipotalámicas cercanas como el núcleo hipotalámico dorsomedial(I45). Este dato sugiere que la acción de la serotonina pudiera ser debida a la modulación directa de la actividad de neuronas ventromediales ó indirecta a través de interneuronas inhibitorias colocadas cerca del núcleo ventromedial. En relación con ésta idea es interesante señalar que Fuxe (II8) describió terminales serotoninérgicas en el núcleo ventromedial del hipotálamo de la rata.

Los efectos inhibitorios sobre la conducta sexual de los sistemas dopaminérgicos y serotoninérgicos no implican necesariamente la generación directa de potenciales inhibitorios postsinápticos en las neuronas del ventromedial, ya que pudieran ser mediados indirectamente por neuronas productoras de neurotransmisores ó neuromoduladores de tipo inhibitorio como serían el GABA, la glicina y la adenosina.

La posibilidad, de que los efectos de los sistemas inhibitorios a la conducta sexual, sean mediados por interneuronas recibe considerable apoyo morfológico y fisiológico cuando se considera que el área común de acción de hormonas y neurotransmisores es el núcleo ventromedial del hipotálamo. Estudios acerca de la citoarquitectura del núcleo ventromedial y de su área vecina han demostrado la existencia de pequeñas neuronas bipolares en la periferia del núcleo con axones orientados hacia el interior de éste, donde establecen contactos sinápticos con células del núcleo ventromedial (146). Las ramificaciones de éstos axones se distribuyen ampliamente en todo el núcleo y sus terminaciones forman redes pericelulares sobre neuronas relativamente grandes del ventromedial. La estimulación eléctrica de estas neuronas pequeñas provocó invariablemente de acuerdo con Murphy y Renaud (147, 148) la inhibición de la descarga espontánea o inducida de neuronas ventromediales, en asociación con un potencial lento positivo. Las características de los pa

trones de inhibición obtenidos por la estimulación de esta área en el borde del núcleo ventromedial fueron semejantes a las respuestas inhibitorias obtenidas por la estimulación del sistema amigdalino-stría terminalis, sugiriendo así que este último efecto es mediado a través de la actividad de estas interneuronas inhibitorias. Estudios tanto electrofisiológicos como fisiológicos revelan por otra parte, que las diversas funciones que se integran a nivel hipotalámico son moduladas por mecanismos duales excitatorios e inhibitorios, arreglo que también sugiere la existencia de neurotransmisores ó neuromoduladores inhibitorios.

Es bien sabido que los dos principales neurotransmisores inhibitorios en el sistema nervioso central son el GABA y la glicina(149,150,151).El número de sinapsis gabaérgicas y glicenérgicas en el sistema nervioso central excede con mucho a la de todas las sinápsis monoaminérgicas y colinérgicas. Estudios recientes han demostrado la presencia de concentraciones importantes de GABA y glicina en el hipotálamo (152,153) lo cual

sugiere fuertemente la existencia de neuronas hipotalámicas capaces de sintetizar éstos neurotransmisores. Por otra parte, diversos autores han reportado que la administración de agonistas ó antagonistas gabaérgicas, tales como el muscimol, la picrotoxina y la bicuculina, producen cambios en el funcionamiento hipotalámico relacionado con la secreción de hormonas adenohipofisarias tales como el ACTH (154) la prolactina (155) y el

LH (156). Resultados similares han sido también obtenidos con la infusión de glicina o de estriknina que es un antagonista específico de la glicina.

La depresión de la actividad neuronal puede realizarse también por la acción de neuromoduladores, agentes que regulan la liberación o la acción de neurotransmisores, unos de los cuales parece ser la adenosina. Este compuesto se encuentra también en concentraciones importantes en el hipotálamo y existen datos que sugieren una acción reguladora de éste nucleótido sobre las funciones hipotálamicas, particularmente en aquellas relacionadas con sistemas noradrenérgicos. Sin embargo, poco o nada se sabe del posible papel de estos neurotransmisores y neuromoduladores en la regulación de la conducta de lordosis ni de ningún otro comportamiento que se regule a nivel diencefálico.

O B J E T I V O S

- I) El objetivo concreto de la presente tesis es el de estudiar la participación del GABA, de la glicina y de la adenosina, neurotransmisores y neuromodulador inhibitorios, en la expresión de la conducta sexual femenina inducida por hormonas gonadales en la rata hembra.

- II) Con los resultados experimentales obtenidos en este modelo (la conducta de lordosis en la rata) se pretende entender me

por las bases fisiológicas y neuroquímicas de los fenómenos inhibitorios a nivel hipotalámico.

III) Se pretende que los resultados obtenidos en este trabajo sirvan de base para diseñar modelos de tratamientos farmacológicos que permitan modular (facilitar o inhibir) la conducta sexual, no solo en la rata sino en otras especies de mamíferos.

MATERIAL Y METODOS

ANIMALES

Se utilizaron 342 ratas hembras de la cepa Wistar con peso corporal entre 220 y 300 g (pospuberales). Los animales fueron criados y mantenidos en la colonia de roedores del C.I.R.A (Centro de Investigación en Reproducción Animal), Panotla, Tlaxcala. Las ratas se mantuvieron antes del estudio en jaulas colectivas (5 animales por jaula) provistas con Purina (chow y agua ad libitum dentro de un cuarto con temperatura controlada constante (21 grados C) y con el ciclo de luz-obscuridad invertido (14 horas luz, 10 horas obscuridad). La luz se apagaba automáticamente a las 14 horas.

INTERVENCIONES QUIRURGICAS

Las ratas fueron ovariectomizadas u ovariectomizadas y

adrenalectomizadas bilateralmente utilizando anestesia de éter. Para realizar la ovariectomía bilateral se rasuró a la rata en las regiones lumbares donde se realizaron incisiones para acceder a la cavidad peritoneal. Los ovarios fueron extraídos a través de esta incisión, disecados de los tejidos vecinos y ligados antes de su extirpación con hilo No.30. Se saturaron los planos musculares y la piel. La ovariectomía bilateral tomó alrededor de 5 minutos. La adrenalectomía bilateral se realizó utilizando las incisiones previamente realizadas para la ovariectomía(157). Las ratas adrenalectomizadas fueron mantenidas con solución salina (0.9%) como líquido de ingestión.

De 10 a 15 días después de las endocrinotomías (ovariectomía o adrenalectomía) las ratas fueron anestesiados con Ketalar (35 mg/Kg) intraperitonealmente, complementado cuando era necesario con éter. Fueron implantadas intracerebralmente con canulas (No. 23) de acero inoxidable.

La cabeza fue rasurada y montada en un aparato estereotáxico (Koff) provisto con el aditamento especial para la rata. Se realizó una incisión longitudinal (aproximadamente de 25 mm) del cuero cabelludo y se raspó el periostio para dejar expuestas las suturas craneales (Bregma y Lambda). Utilizando el atlas estereotáxico de De Groot (158) se determinaron los sitios de referencia en el cráneo para realizar su trepanación. La trepanación se hizo en forma bilateral con una broca circular aproxima

damente de 5 mm del No.22, con el objeto de obtener un orificio adecuado para introducir sin obstáculo las cánulas guías de 19 mm de longitud al cerebro.

Cortada la duramadre con una aguja hipodérmica especialmente afilada, se procedió a introducir las cánulas a través de los orificios realizados en el cráneo. En todos los casos las cánulas fueron dirigidas hacia la porción ventrolateral del núcleo ventromedial del hipotálamo siguiendo las coordenadas de referencia para este núcleo señaladas en el atlas de De Groot

Las coordenadas de acuerdo a de De Groot fueron las siguientes: 1 mm posterior a Bregma 1 mm lateral a Lambda, con una profundidad de 9.5 mm midiendo desde la superficie del cráneo.

Las cánulas fueron fijadas al cráneo con cemento dental Caulk en los orificios del trépano y en uno ó dos tornillos insertos en el cráneo para mejor fijación de las cánulas. Después de que el cemento se endureció se retiró la torre del instrumento estereotáxico y se procedió a suturar la piel alrededor del implante.

CUIDADOS POSOPERATORIOS

Después de la intervención quirúrgica rutinariamente se les administró a todos los animales penprocilina (50,000 unidades) en un volumen de 0.1 ml por vía intramuscular (bíceps crural).

TRATAMIENTOS HORMONALES

Dos semanas después de la implantación de las cánulas guías, todas las ratas recibieron una inyección subcutánea de $4\mu\text{g}$ de benzoato de estradiol (BE) disuelto en un volumen de 0.2 ml de aceite de sésamo. Esta dosis de BE no produce conducta de lordosis significativa en nuestras ratas ovariectomizadas u ovariectomizadas y adrenalectomizadas (dosis subumbral). Algunos animales recibieron exclusivamente aceite como procedimiento testigo. Cuarenta horas después de la administración del BE o del aceite, se formaron varios grupos de ratas ovariectomizadas para determinar el efecto de la administración intrahipotalámica de los diversos agentes seleccionados para este estudio.

La inyección intrahipotalámica bilateral de los solventes y de los diferentes neurotransmisores y sus agonistas o antagonistas se realizó con una cánula del No. 30 de 19 mm de longitud, la cual había sido calculada para llegar precisamente al borde inferior de la cánula guía. La jeringa utilizada para la inyección intrahipotalámica fue una hamilton de $5\mu\text{l}$ y en todos los casos el volumen inyectado fue de $0.5\mu\text{l}$. Las inyecciones intrahipotalámicas se realizaron bajo ligera anestesia de éter. La inyección para cada lado duró aproximadamente 30 segundos.

Se llevaron a cabo los siguientes experimentos:

EXPERIMENTO I

Se diseñó con el objeto de determinar el posible efecto de la estriocina, antagonista específico

de la glicina, sobre la conducta sexual de ratas ovariectomizadas y pretratadas con BE.

Se utilizaron en este experimento cuatro grupos de ratas ovariectomizadas (grupos del 1 al 4) y dos de ovariectomizadas y adrenalectomizadas (grupo 5 y 6) pretratadas con BE que recibieron los siguientes tratamientos 40 horas después del estrógeno.

GRUPO 1. Inyección bilateral de $0.5 \mu\text{l}$ de solución salina en los núcleos ventromediales del hipotálamo (NVMH). Este grupo testigo se diseñó para determinar el posible efecto de la inyección del vehículo ($0.5 \mu\text{l}$ de solución salina. (12 ratas)

GRUPO 2. Inyección bilateral de $3 \mu\text{g}$ de estriónina en el NVMH. (13 ratas)

GRUPO 3. Inyección bilateral de $9 \mu\text{g}$ de estriónina, en el NVMH. (16 ratas)

GRUPO 4. Inyección bilateral de $27 \mu\text{g}$ de estriónina en el NVMH. (11 ratas)

GRUPO 5. Inyección bilateral de solución salina ($0.5 \mu\text{l}$) a ratas ovariectomizadas y adrenalectomizadas en el NVMH. (15 ratas)

GRUPO 6. Inyección bilateral de $9 \mu\text{g}$ de estriónina en el NVMH a ratas ovariectomizadas y adrenalectomizadas. Este grupo se trabajó para determinar la participación de las glándulas suprarrenales. (27 ratas)

EXPERIMENTO II

Este experimento se diseñó para analizar el posible papel de la glicina sobre la conducta sexual inducida por progesterona en ratas ovariectomizadas y pretratadas con $4 \mu\text{g}$ de BE. utilizaron en este experimento ocho grupos que recibieron los siguientes tratamientos:

GRUPO 1) Veinte ratas ovariectomizadas y pretratadas con $4 \mu\text{g}$ de BE recibieron 2 mg de progesterona por vía subcutánea (0.2 ml aceite de sésamo) 40 horas después de la administración de BE. Los resultados de este grupo control se utilizaron para establecer la intensidad y las características temporales de la conducta de lordosis inducida por la progesterona en ratas ovariectomizadas y pretratadas con BE.

GRUPO 2) Catorce ratas ovariectomizadas y pretratadas con $4 \mu\text{g}$ de BE recibieron 40 horas después del BE 2 mg de progesterona por vía subcutánea (0.2 ml de aceite de sésamo) seguidos inmediatamente después por la inyección bilateral de $0.5 \mu\text{l}$ de solución salina dirigida al NVMH. Este grupo se diseñó para analizar el posible papel mecánico de la infusión del volumen de $0.5 \mu\text{l}$ en el efecto facilitatorio de la progesterona sobre la conducta de lordosis.

GRUPO 3) Diez y seis ratas ovariectomizadas y pretratadas con $4 \mu\text{g}$ de BE, recibieron 40 horas después del estrógeno 2 mg de progesterona por vía subcutánea en 0.2 ml de aceite de sésamo, la inyección de progesterona fue seguida inmediatamente por la inyección bilateral de $5 \mu\text{g}$ de glicina ($0.5 \mu\text{l}$ dirigida al NVMH. GRUPO 4) 17 ratas ovariectomizadas y pretratadas con $4 \mu\text{g}$ de BE recibieron 40 horas después del estrógeno, 2 mg de progesterona por vía subcutánea. Tres horas después de la progesterona se administraron inyecciones bilaterales de $5 \mu\text{g}$ de glicina (0.

5 μ l) dirigidas al NVMH. GRUPO 5) 15 ratas ovariectomizadas y pretratadas con 4 μ g de BE, recibieron 36 horas después del estrógeno, inyección bilateral de 5 μ g de glicina dirigidas al NVMH cuatro horas después de la glicina se les inyectó subcutáneamente 2mg de progesterona en 0.2ml de aceite de sésamo.

GRUPO 6) 16 ratas ovariectomizadas fueron pretratadas con 4 μ g de BE y recibieron 40 horas después del estrógeno 2mg de progesterona por vía subcutánea. Una hora después de la progesterona se administró 1 ml de solución salina por vía intraperitoneal. Este grupo control se constituyó para analizar el posible efecto mecánico de la inyección del vehículo.

GRUPO 7) 14 ratas ovariectomizadas fueron pretratadas con 4 μ g de BE y recibieron 40 horas después del estrógeno 2mg de progesterona por vía subcutánea. Una hora después de la progesterona se administraron 250mg de glicina disueltos en 1 ml de solución salina por vía intraperitoneal.

GRUPO 8) 10 ratas ovariectomizadas fueron pretratadas con 4 μ g de BE y recibieron 40 horas después del estrógeno 2 mg de progesterona por vía subcutánea. Una hora después de la progesterona se administraron 500 mg de glicina disueltos en 1 ml de solución salina por vía intraperitoneal.

EXPERIMENTO III

Este experimento se diseñó para estudiar el efecto de la

microtoxina, antagonista del GABA, sobre la conducta de lordosis en ratas ovariectomizadas y pretratadas con $4 \mu\text{g}$ de BE. Se utilizaron tres grupos de ratas que recibieron los siguientes tratamientos 40 horas después del BE.

GRUPO 1) Inyección bilateral de solución salina ($0.5 \mu\text{l}$). Grupo control para analizar el posible efecto mecánico de la infusión del vehículo ($0.5 \mu\text{l}$ de solución salina) en el NVMH. (12 ratas)

GRUPO 2) Inyección bilateral de $0.2 \mu\text{g}$ de microtoxina en el NVMH, (10 ratas)

GRUPO 3) Inyección bilateral de $1 \mu\text{g}$ de microtoxina, en el NVMH (8 ratas).

EXPERIMENTO IV

Este experimento se realizó para estudiar el posible papel inhibitorio del muscimol, agonista del GABA, sobre la conducta sexual inducida por la administración de progesterona (2 mg) a ratas pretratadas con $4 \mu\text{g}$ de BE.

Se utilizaron dos grupos que recibieron los siguientes tratamientos:

GRUPO 1) Siete ratas ovariectomizadas y pretratadas con $4 \mu\text{g}$ de BE, recibieron 2mg de progesterona (0.2ml de aceite de sésamo) seguido tres horas después por la inyección bilateral de 20 ng de muscimol ($0.5 \mu\text{l}$ solución salina) dirigida al NVMH.

GRUPO 2) Siete ratas ovariectomizadas y pretratadas con $4 \mu\text{g}$ de

BE, recibieron 2mg de progesterona (0.2ml de aceite de sésamo) seguida tres horas después por la inyección bilateral de 50 ng de muscimol dirigida al NHVM.

EXPERIMENTO V

En este experimento se analizó el posible efecto de la adenosina sobre la conducta de lordosis, inducida por la administración de 4 μ g de BE seguida 40 horas después por 2mg de progesterona. Se administraron los siguientes tratamientos:

GRUPO 1) Diez y siete ratas ovariectomizadas fueron pretratadas con 2 μ g de BE, seguidas 40 horas después, por 2mg de progesterona inyectados por vía subcutánea, inmediatamente después de la progesterona se administró inyección bilateral de 0.5 μ g de adenosina dirigida al NVMH.

GRUPO 2) Veinticinco ratas ovariectomizadas fueron pretratadas con 2 μ g de BE, seguidas 40 horas después por 2mg de progesterona por vía subcutánea en 0.2ml de aceite de sésamo. La inyección de progesterona fue seguida inmediatamente por la inyección bilateral de 2.5 μ g de adenosina dirigida al NVMH.

GRUPO 3) Diez ratas ovariectomizadas fueron pretratadas con 2 μ g de BE seguidas 40 horas después por la inyección subcutánea de 2mg de progesterona. Cuatro horas después de la progesterona se administraron 2.5 μ g de adenosina (0.5 μ l) en el NVMH.

PRUEBAS CONDUCTUALES

Las pruebas de conducta sexual se llevaron a cabo en cajas cilíndricas de observación (plexiglas) de 53 cm de diámetro, durante la fase oscura del ciclo luz-obscuridad. La prueba continuó por 15 minutos o hasta que el macho hubiera montado a la hembra experimental diez veces. La receptividad de las hembras fue cuantificada por el coeficiente de lordosis ($L.Q. = \frac{\text{número de lordosis}}{\text{número de montes}} \times 100$) para cada animal. Los machos fueron seleccionados por su vigor y experiencia sexual. Se hicieron observaciones a los 15, 30, 60, 120, 150, 240, 480 minutos y 24 horas después de la inyección intracerebral e intraperitoneal de los distintos fármacos.

Al terminar las observaciones los animales fueron anes-tesiados profundamente con éter y perfundidos a través de corazón con 50ml de solución salina, seguidos por 50 ml de formol al 40%. La vena cava era seccionada antes de la perfusión car-díaca. Los cráneos fueron mantenidos en solución de formol al 10% por unos días, y cuando los cerebros mostraron consistencia adecuada, se les extrajo las cánulas cuidadosamente para no destruir el tejido cerebral para proceder a su estudio histológico

Se cortaron los cerebros de las ratas en las superficies anterior y posterior en una forma paralela a la trayectoria de las cánulas en el plano estereotáxico vertical, de tal manera de tener aproximadamente 2 mm del tejido entre el punto del corte y la trayectoria más anterior de las cánulas y de igual ma-

nera para la parte posterior. El trozo de cerebro fue incluido en parafina y cortado en microtomo manual. Los cortes fueron teñidos con la técnica de la hematoxilina y eosina para verificar la localización de las cánulas (I59, I60, I61, I62, I63)

A los datos de cada experimento incorporando su respectivo control de administración de solución salina o del efecto de la administración secuencial de estrógeno y progesterona se les aplicó inicialmente un análisis de varianza (I64) seguida en caso de encontrarse diferencias significativas por una comparación entre los diversos grupos y el control utilizando la prueba de la U de Mann-Whitney. El nivel de significancia seleccionado fue de una $P < .05$.

RESULTADOS

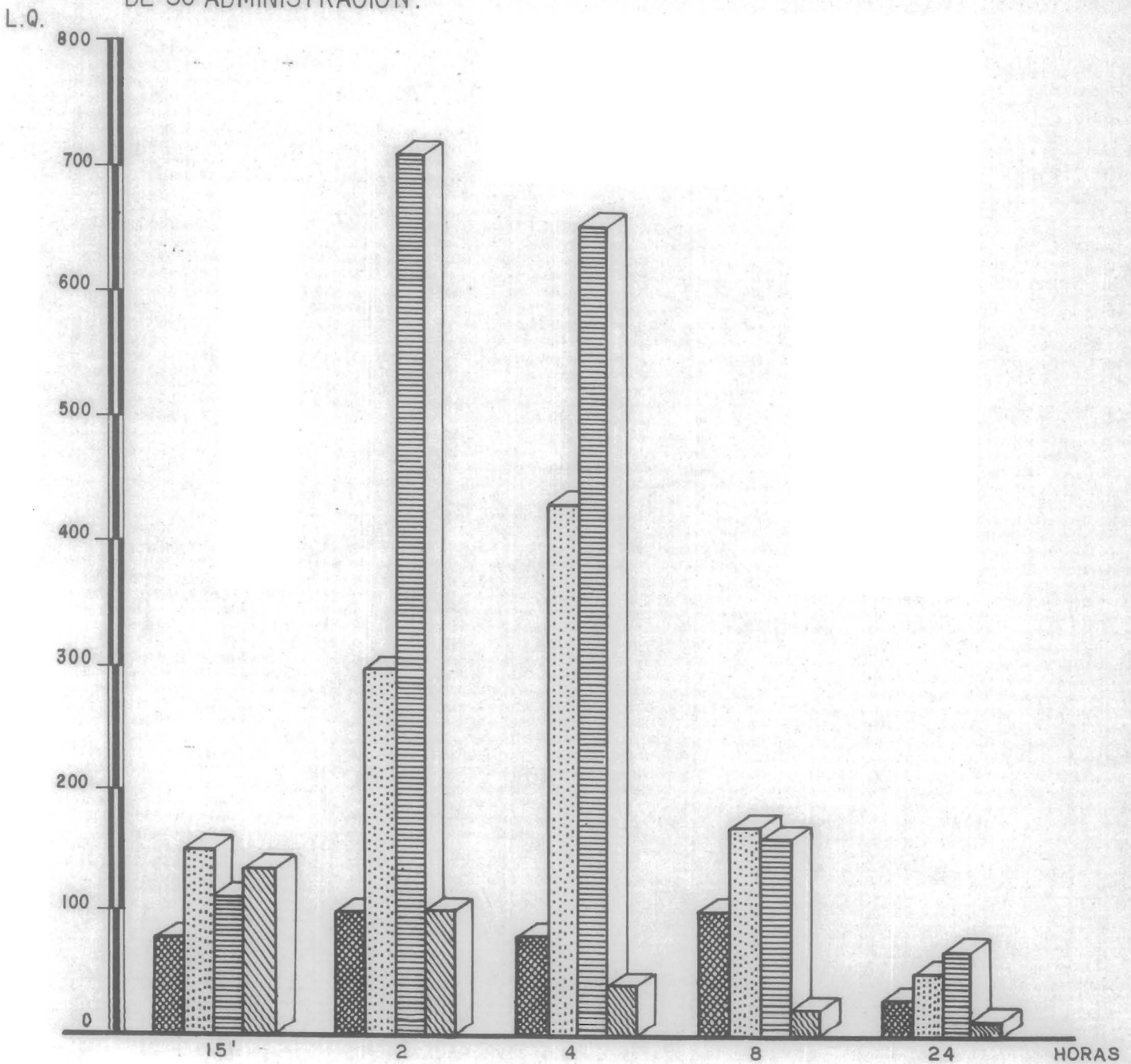
EXPERIMENTO I

La administración de diversas dosis de estriocnina en ó alrededor de los núcleos ventromediales del hipotálamo provocó la facilitación de la conducta sexual en ratas ovariectomizadas y tratadas con estrógenos. La administración de solución salina ($0.5 \mu\text{l}$) no produjo ningún efecto en las ratas estroge-nizadas.



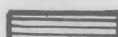

Como puede verse en la gráfica I la estriocnina intra hipotalámica incrementó gradualmente la respuesta de lordosis observándose la máxima respuesta entre las dos y las cuatro ho

GRAFICA No. I

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION INTRAHIPOTALAMICA (NUCLEO VENTROMEDIAL) DE TRES DOSIS DE ESTRICNINA (3, 9, 27 μ g) SOBRE LA CONDUCTA DE LORDOSIS INDUCIDA EN RATAS OVARIECTOMIZADAS POR 4 μ g. DE BENZOATO DE ESTRADIOL EL ESTROGENO FUE ADMINISTRADO 44 HORAS ANTES DE LA ESTRICNINA. NOTESE QUE LAS DOSIS BAJAS DE ESTRICNINA (3 y 9 μ g.) PRODUJERON UNA CLARA FACILITACION, DE LA CONDUCTA DE LORDOSIS A LAS 2 Y A LAS 4 HORAS DE SU ADMINISTRACION.

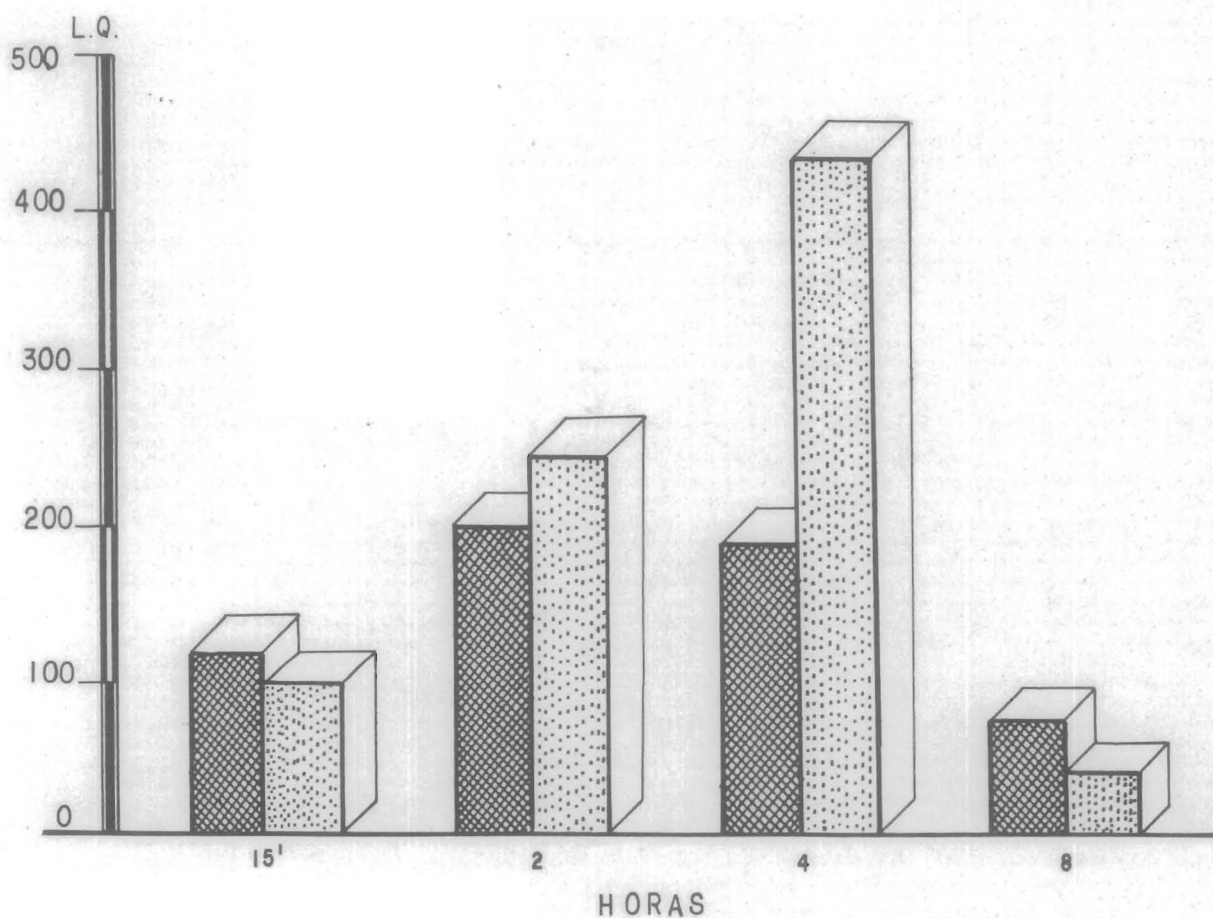


C L A V E

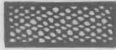
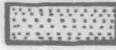
-  n. = 12 0.5 μ l. Sol. Salina (control)
-  n = 13 3 μ g. Estriena
-  n = 16 9 μ g. "
-  n = 11 27 μ g. "

GRAFICA No. 2

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION INTRAHIPOTALAMICA (NUCLEO VENTROMEDIAL) DE ESTRICNINA (9 μ g.) SOBRE LA CONDUCTA DE LORDOSIS DE RATAS OVARIECTOMIZADAS Y ADRENALECTOMIZADAS. PREESTROGENIZADAS CON 4 μ g. DE BENZOATO DE ESTRADIOL 44 HORAS DE LA ESTRICNINA. OBSERVESE QUE LA ESTRICNINA SIGNIFICATIVAMENTE ESTIMULA LA CONDUCTA DE LORDOSIS EN ESTOS ANIMALES, EXCLUYENDO ASI LA PARTICIPACION DE LA CORTEZA SUPRARRENAL EN EL EFECTO.



C L A V E :

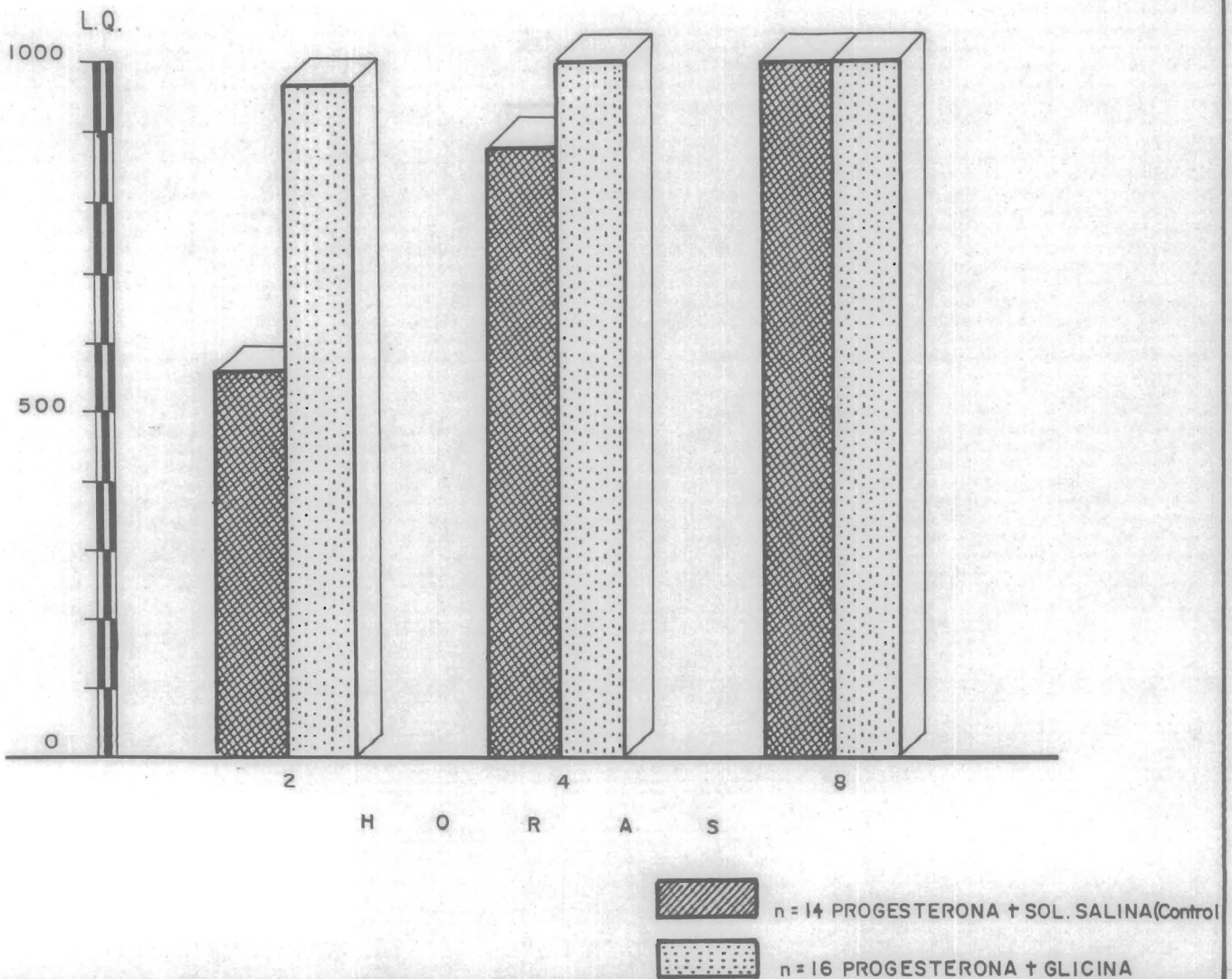
 n= 15 0.5 ml Sol. Salina
 n= 27 9 μ g. Estrignina

ras después de la infusión. Así mismo, se puede observar que la respuesta máxima se obtuvo con la dosis intermedia (9 μ g estricnina) mientras que la mayor (27 μ g), no produjo efecto alguno. La administración intrahipotalámica de estricnina no provocó signos claros de proceptividad en las ratas tratadas. Tampoco se observaron alteraciones conductuales claras, tales como cambios en la actividad locomotora de la rata o en su conducta emocional.

Considerando la posibilidad de que la estricnina hubiera facilitado la conducta sexual en las ratas ovariectomizadas y tratadas con estrógenos liberando progesterona de origen suprarrenal como resultado de un aumento en la secreción de ACTH hipofisiario, se decidió también estudiar el efecto de la estricnina en ratas ovariectomizadas y adrenalectomizadas con estrógenos. Como se -- muestra en la gráfica 2 la estricnina intrahipotalámica también facilitó significativamente la conducta de lordosis a las cuatro horas después de su infusión. Por otra parte, no se observaron diferencias significativas en la conducta de lordosis con la sola aplicación del solvente (solución salina 0.5 μ l) en ninguno de -- los períodos seleccionados para la observación. Sin embargo, la respuesta obtenida en animales ovariectomizados adrenalectomizados por la infusión intrahipotálamica de estricnina fue significativa mente más baja a las dos horas que aquella obtenida con la misma dosis en animales exclusivamente

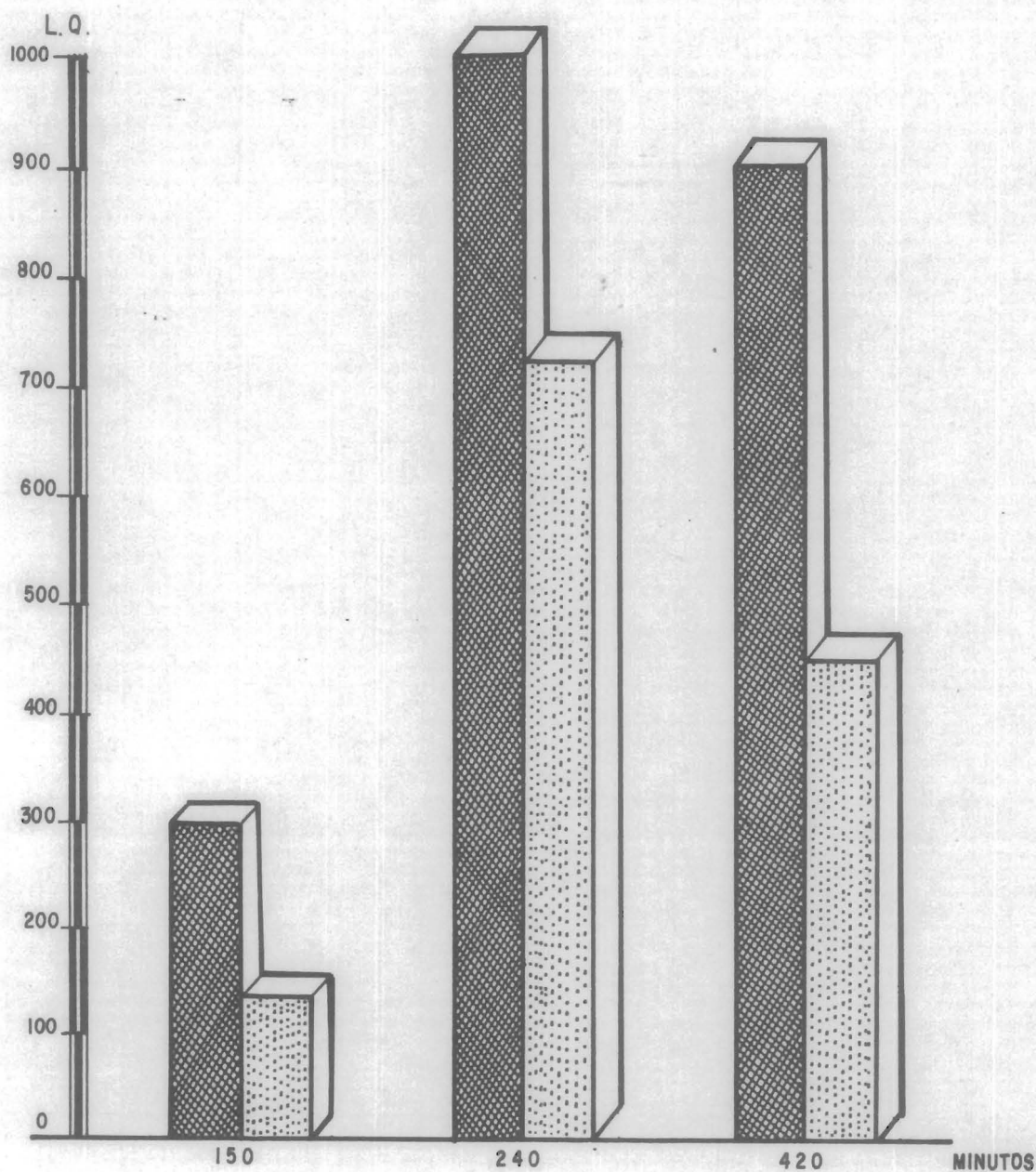
GRAFICA No. 3

EFECTO DE LA ADMINISTRACION INTRAHIPOTALAMICA DE 5 μ g. DE GLICINA SOBRE LA CONDUCTA DE LORDOSIS INDUCIDA POR ESTROGENOS (4 μ g. BE) Y PROGESTERONA (2mg.) OBSERSE QUE LA GLICINA NO PRODUCE DEPRESION DE LA CONDUCTA DE LORDOSIS.





GRAFICA No. 4

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION INTRAHIPOTALAMICA DE 5 μ g. DE GLICINA SOBRE LA CONDUCTA DE LORDOSIS INDUCIDA POR ESTROGENOS (4 μ g. BE) Y PROGESTERONA (2 mg.) OBSERVESE QUE LA GLICINA SOLO PRODUCE UNA LIGERA DEPRESION NO SIGNIFICATIVA DE LA CONDUCTA DE LORDOSIS EN LAS PRIMERAS 4 Horas PERO SU EFECTO PARECE INCREMENTARSE CON EL TIEMPO ALCANZANDO SU MAXIMO NIVEL DE INHIBICION A LAS 7 Horas.



C L A V E :

-  n = 14 PROGESTERONA + Sol. Salina (control)
-  n = 17 PROGESTERONA + GLICINA

ovariectomizados (gráfica No.1). Esto sugiere una participación de corticoides o progestinas suprarrenales en la respuesta inicial o la infusión intrahipotalámica de estriquina.

El examen histológico reveló que la implantación de las cánulas en la mayoría de los casos se encontraron en el hipotálamo ventral. Algunas de estas cánulas no se encontraron en los núcleos ventromediales mismos sino a una distancia de aproximadamente 0.5mm de esta estructura. Sin embargo no fué posible correlacionar los sitios de implantación con la magnitud o la latencia de la respuesta. Es decir, en algunas ocasiones cánulas colocadas ligeramente rostrales al núcleo ventromedial provocaron respuestas comparables o mayores que aquellas producidas por inyecciones en el núcleo ventromedial mismo.

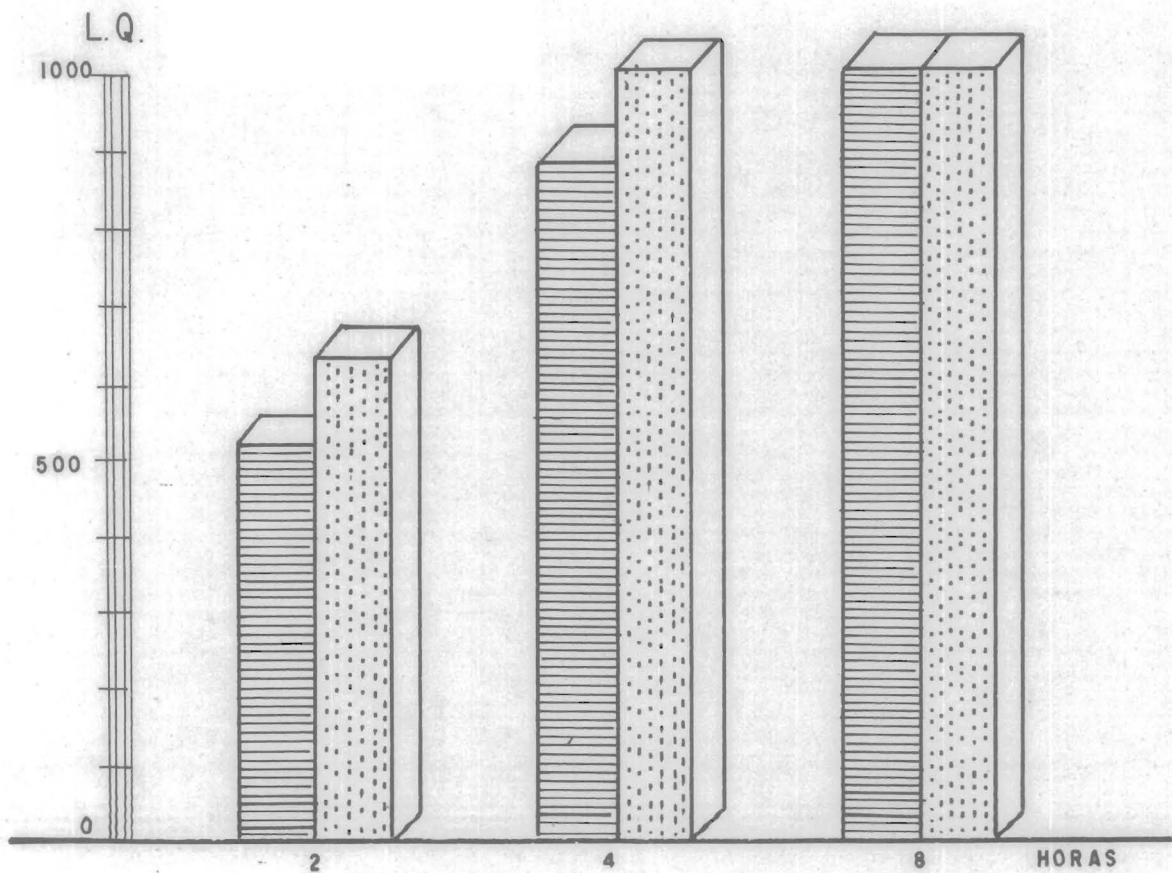
EXPERIMENTO II

La infusión de 5µg de glicina a ratas ovariectomizadas y tratadas con BE que presentaban clara conducta de lordosis (L.Q. 1000) como resultado de la administración simultánea de 2mg de progesterona no provocó efecto alguno sobre la conducta de lordosis que se mantuvo a un mismo nivel durante las seis horas siguientes a la administración de glicina (veáse figura 3).

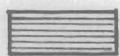

La infusión intrahipotalámica de 5µg de glicina tres horas después a la inyección subcutánea de 2mg de progesterona a ratas ovariectomizadas y pretratadas con 4µg de BE tampoco interfirió significativamente con la respuesta conductual a la progesterona. Sin embargo, como puede verse en la figura 4, la duración de la conducta de lordosis inducida por la progesterona fue significativamente menor en aquellas ratas tratadas con glicina después de tres horas de la progesterona a las 7 horas que los animales con 2mg de P inyectados simultáneamente con 5µg de glicina.

GRAFICA No 5

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION INTRAHIPOTALAMICA DE 5 μ g DE GLICINA SOBRE LA CONDUCTA DE LORDOSIS INDUCIDA POR ESTROGENOS (4 μ g. BE) Y PROGESTERONA (2 mg.) OBSERVESE QUE LA GLICINA NO PRODUCE DEPRESION DE LA CONDUCTA DE LORDOSIS

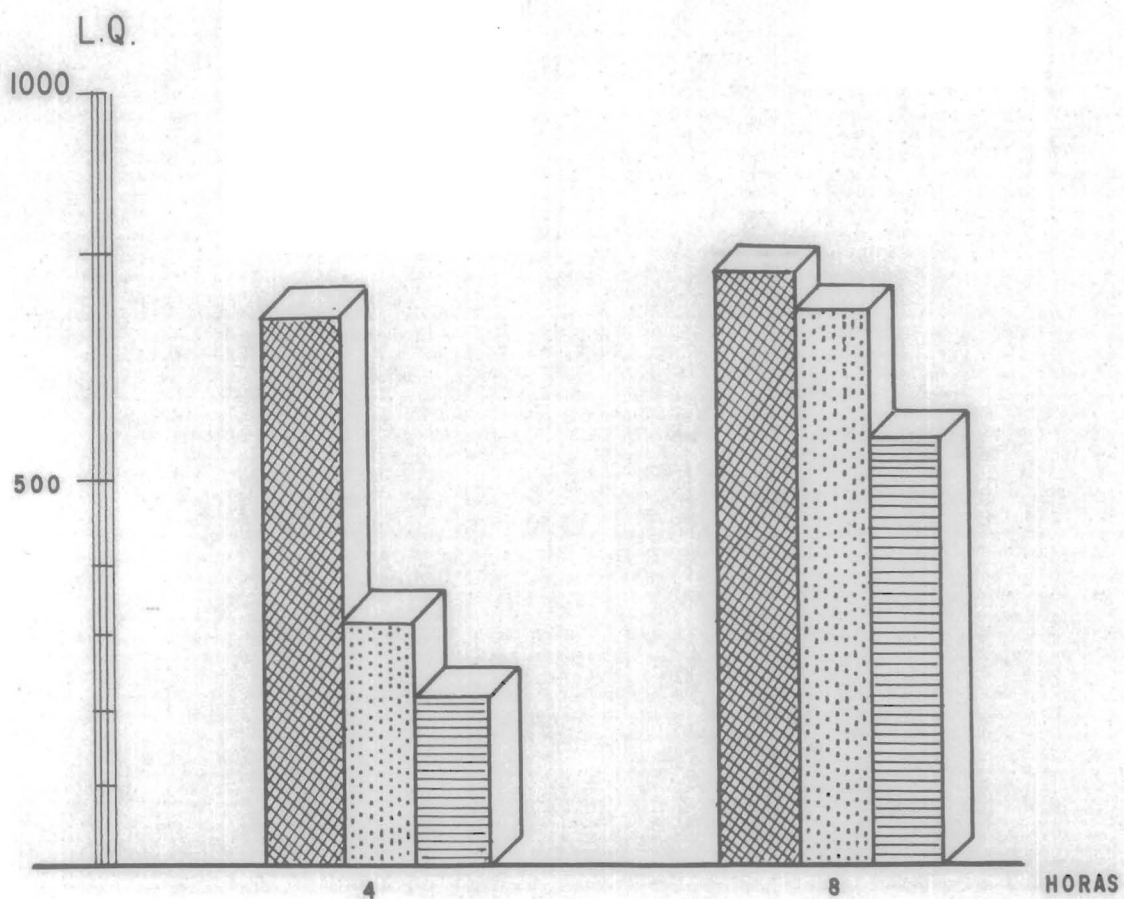


C L A V E :




-  n = 15 BE + Glicina + P
-  n = 12 BE + Sol. Safina + P

GRAFICA No 6

EFEECTO DE LA ADMINISTRACION INTRAPERITONEAL DE DOS DOSIS DE GLICINA SOBRE LA CONDUCTA DE LORDOSIS INDUCIDA EN RATAS OVARIECTOMIZADAS POR 4 μ g DE BENZOATO DE ESTRADIOL (EB) EL ESTROGENO FUE ADMINISTRADO 44 HORAS ANTES DE LA GLICINA.



C L A V E :

-  n = 16 Sol. Salina (Control)
-  n = 14 EB + 250 mg. Glicina
-  n = 10 EB + 500 mg. Glicina

Por otra parte, la infusión de 5 μ g de glicina 36 horas después de la administración del BE y 4^h horas después se administró la P (2mg) no interfirió con la acción facilitatoria de la progesterona. Véase gráfica No. 5.

Por otra parte, la administración intraperitoneal de 200 y 500mg de glicina interfirieron transitoriamente con el efecto estimulador de la progesterona sobre la conducta de lordosis. Así como puede verse en la figura 6 la respuesta observada 4 horas después de la inyección de progesterona fue significativamente menor en aquellos grupos que habían recibido glicina una hora después de la progesterona. Los resultados también sugieren una relación dosis respuesta pues la inyección de la dosis mayor de glicina provocó un efecto significativamente mayor que la obtenida a la dosis menor. Por otra parte, el efecto de la glicina fue transitorio ya que a las 8 horas de su administración las respuestas a la progesterona no fueron significativamente diferentes entre los grupos, control y tratados con glicina.

EXPERIMENTO III

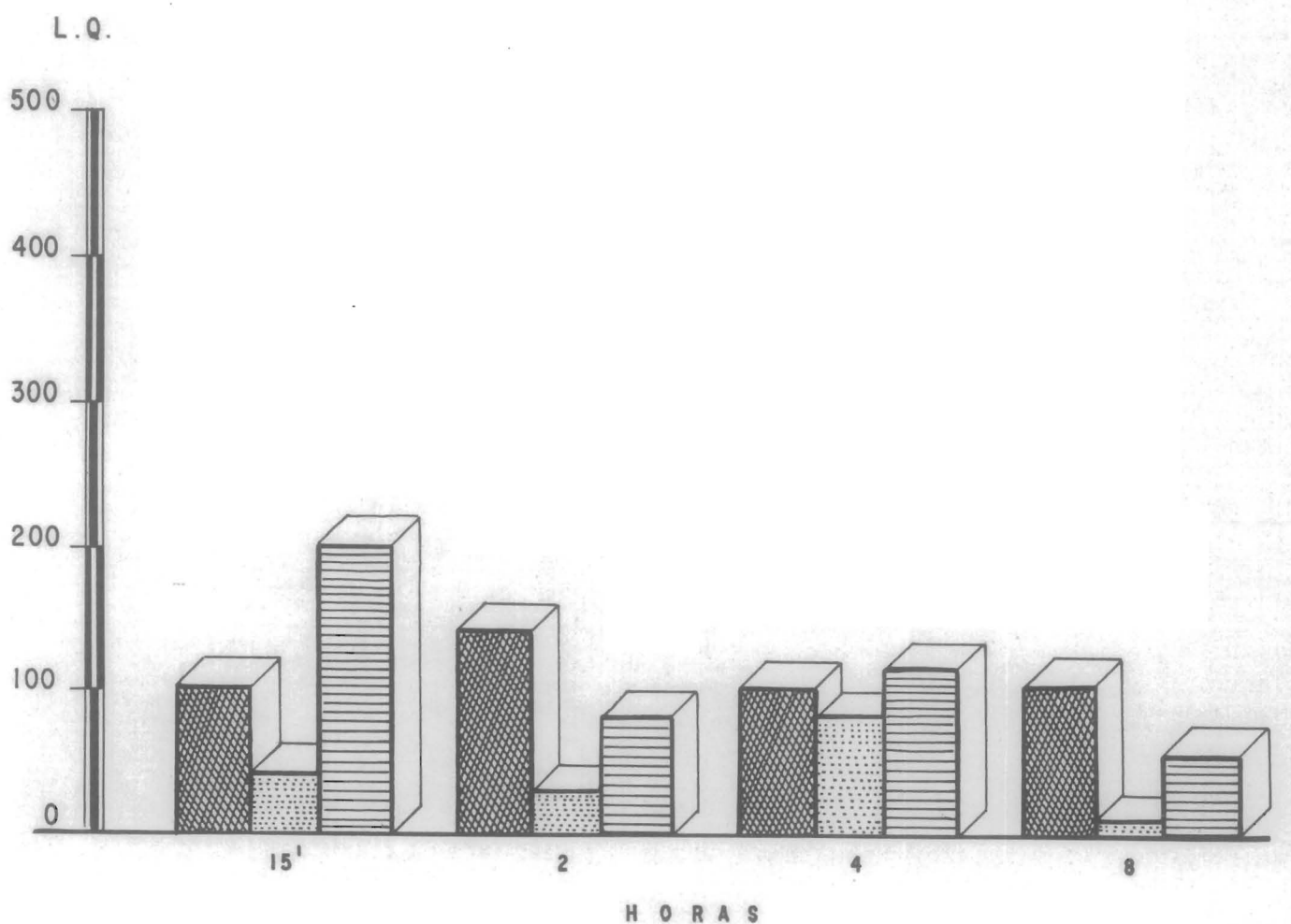
La infusión intrahipotalámica de picrotoxina, un antagonista de GABA, en dosis de 0.2 y 1.0 μ g a ratas ovariectomizadas y pretratadas con estrógenos no provocó conducta de lordosis, ya que los coeficientes de lordosis resultantes fueron similares a los obtenidos en un grupo control en el que se realizó la infusión intrahipotalámica solamente con el solvente (gráfica 7).

EXPERIMENTO IV

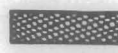
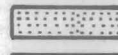

Así mismo, la infusión intrahipotalámica de muscimol, un potente agonista de GABA, 3 horas después de la administración de 2mg de progesterona a ratas ovariectomizadas y estrogenizadas no afectó significativamente el curso de la respuesta facilitatoria al esteroide. Como puede verse en la figura 8.

GRAFICA No. 7

FALLA DE LA PICROTOXINA, ANTAGONISTA DEL "GABA" PARA FACILITAR CONDUCTA DE LORDOSIS EN RATAS OVARIECTOMIZADAS Y PRETRATADAS CON ESTROGENOS (4 μ g.)

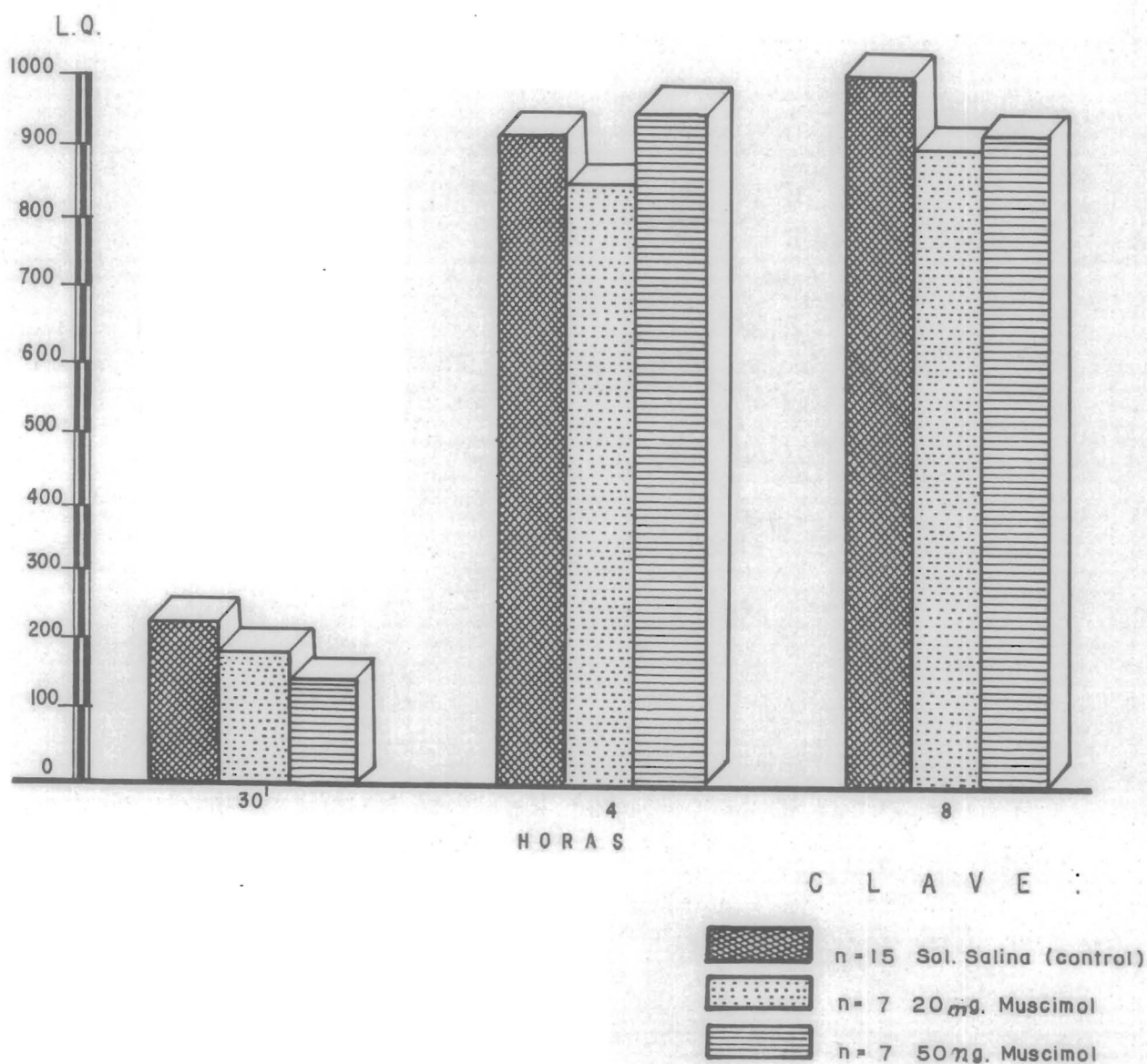


C L A V E :

-  n = 12 Sol. Salina (CONTROL)
-  n = 10 0.2 μ g. Picrotoxina
-  n = 8 1 μ g. Picrotoxina

GRAFICA No. 8

FALLA DEL MUSCIMOL, AGONISTA DEL GABA, DE BLOQUEAR LA CONDUCTA DE LORDOSIS INDUCIDA EN RATAS OVARIECTOMIZADAS POR LA ADMINISTRACION SECUENCIAL DE ESTROGENOS (BENZOATO DE ESTRADIOL, $2 \mu\text{g.}$) SEGUIDO 40 HORAS DESPUES POR PROGESTERONA, EL MUSCIMOL EN DOS DOSIS (20 Y 50 NANOGRAMOS) FUE INYECTADO EN EL NUCLEO VENTROMEDIAL 3 HORAS 30 MINUTOS DESPUES DE LA ADMINISTRACION DE PROGESTERONA. NOTESE QUE ESTE PROCEDIMIENTO NO INTERFIRIO CON LA MANIFESTACION DE LA CONDUCTA DE LORDOSIS.

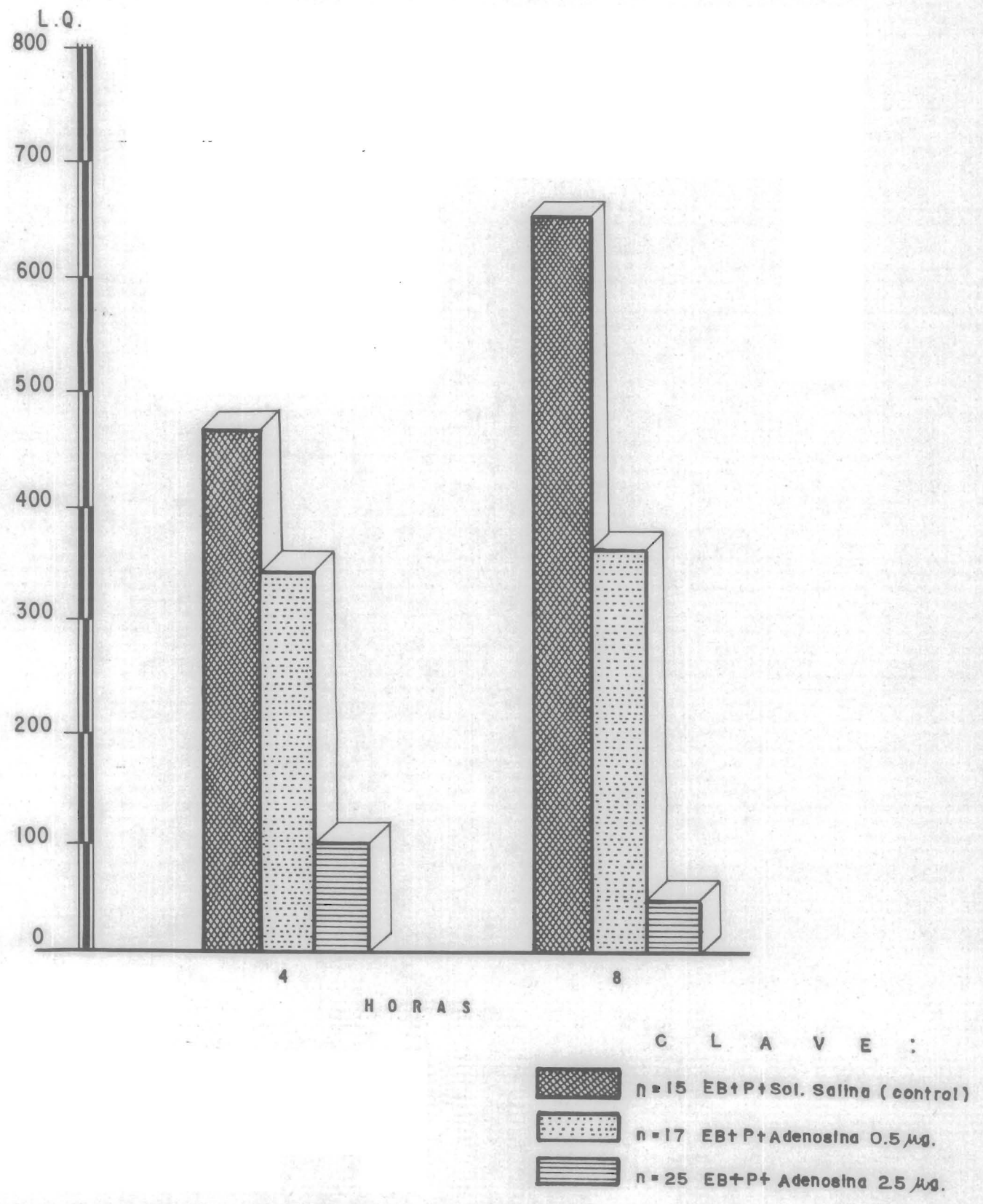


EXPERIMENTO V

La figura 9 presenta los resultados obtenidos sobre la conducta de lordosis inducida en ratas ovariectomizadas por la acción secuencial de 4 μ g de BE y 2mg de P por la infusión intrahipotalámica de dos dosis de adenosina (0.5 μ g y 2.5 μ g). Como puede verse la administración simultánea de la adenosina con la progesterona deprimió significativamente (0.5 μ g) y prácticamente suprimió (2.5 μ g) el efecto facilitatorio normalmente inducido por la progesterona. Por otra parte, la infusión de 2.5 μ g de adenosina a ratas estrogenizadas que ya presentaban conducta de lordosis intensa por la administración de progesterona 4 horas antes, no tuvo efecto inhibitorio alguno (gráfica 10).

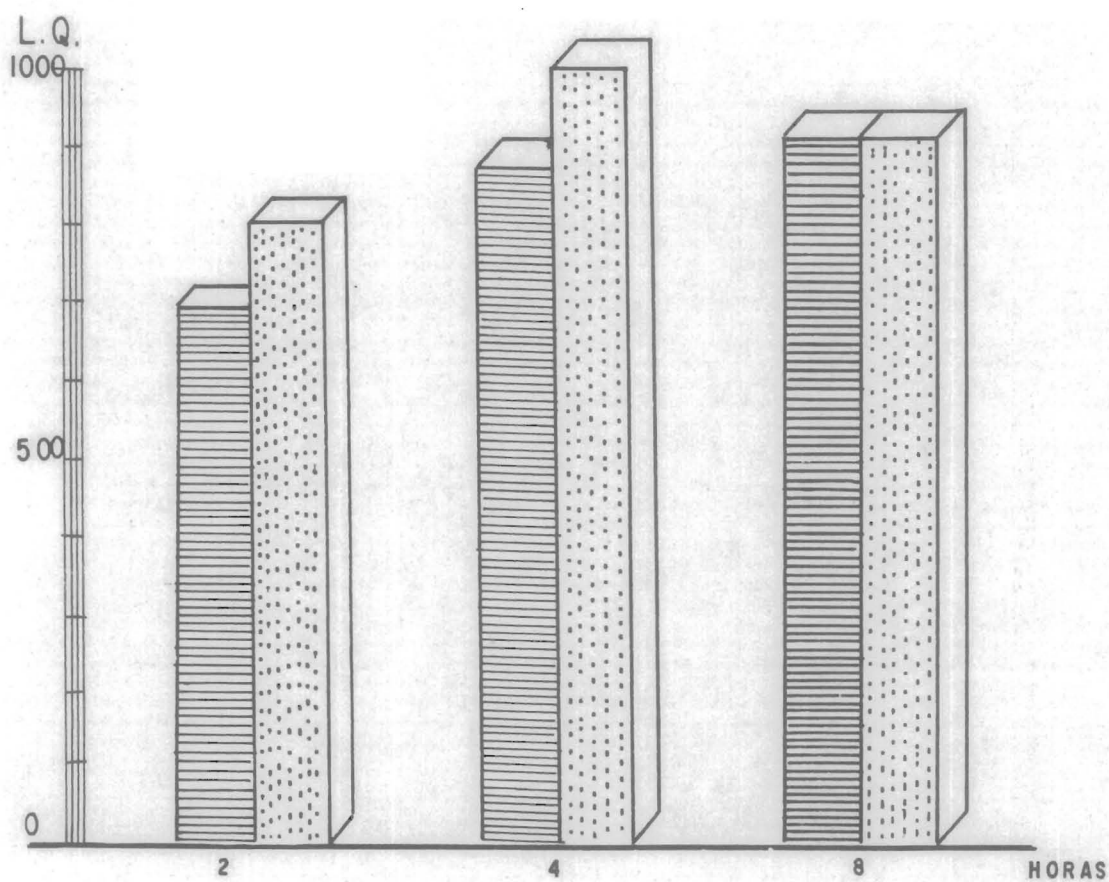
GRAFICA No. 9

INHIBICION DE LA CONDUCTA DE LORDOSIS INDUCIDA POR ESTROGENOS Y PROGESTERONA EN RATAS OVARIECTOMIZADAS POR LA ADMINISTRACION INTRAHIPOTALAMICA DE ADENOSINA, NOTESE LA RELACION DOSIS RESPUESTA PARA LA INFUSION DE LA ADENOSINA. LA ADEI OSINA SE ADMINISTRO SIMULTANEAMENTE A LA PROGESTERONA.





GRAFICA No 10

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION INTRAHIPOTALAMICA DE $2.5\mu\text{g}$ DE ADENOSINA SOBRE LA CONDUCTA DE LORDOSIS INDUCIDA POR ESTROGENOS ($2\mu\text{g}$ BE) Y PROGESTERONA (2 mg) OBSERSE QUE LA ADENOSINA NO TUVO NINGUN EFECTO INHIBITORIO.



CLAVE:

-  n = 10 BE+P+ SOL. SALINA (CONTROL)
-  n = 10 BE+P+ ADENOSINA

DISCUSION

Los resultados obtenidos en esta serie de experimentos apoyan la idea de la existencia de mecanismos --inhibidores que modulan la expresión de la conducta de lordosis en los roedores y posiblemente en otros mamíferos. El núcleo ventromedial del hipotálamo parece ser --la estructura donde se realiza la interacción entre --neuronas sensibles a los esteroides sexuales y neuronas de diversas regiones del sistema límbico que envían sus axones a este núcleo.

El núcleo ventromedial, a pesar de su relativa sencillez anatómica, es una estructura funcionalmente muy compleja en la que se integran diversas funciones como el control del apetito, la agresividad, la regulación de gonadotropinas y el comportamiento sexual (I65). Estudios cuidadosos de implantación de esteroides gonadales (estrógenos y progesterona) en este núcleo sugieren que su porción ventrolateral parece ser aquella directamente relacionada con el control de la lordosis (91,92,I65). Esta misma zona capta preferentemente estrógenos y progesterona radiactivas (94). Estudios electrofisiológicos han demostrado que la estimulación de sistemas aferentes al núcleo ventromedial(amígdala, área preóptica, etc.) --puede inhibir la actividad de las neuronas del núcleo --ventromedial (I66). Es interesante que el análisis electrofisiológico de estas respuestas sugiere que estas regiones inhibitorias no tienen conexiones directas con --las neuronas ventromediales sino que ejercen su efecto --a través de neuronas pequeñas localizadas en el borde --lateral del núcleo ventromedial (I67). Estas neuronas --han sido estudiadas con la técnica de Golgi y tienen características morfológicas muy similares a interneuronas inhibitorias localizadas en otras regiones del sistema --nervioso central (II6).

Por otra parte, en apoyo de la idea de que estas -- interneuronas median las acciones inhibitorias sobre el núcleo ventromedial, su estimulación eléctrica directa - suprime claramente la descarga espontánea de las neuronas ventromediales (I67).

Se desconoce la naturaleza de el o los neurotransmisores que sintetizan estas interneuronas y que por consiguiente modulan la actividad ventromedial. Estudios con - la técnica del registro unitario y la inyección microelectroforética de diversos neurotransmisores y neuromoduladores han mostrado que la aplicación iontoforética tanto de GABA como de glicina, los dos principales neurotransmisores inhibitorios en el sistema nervioso central producen clara inhibición de la actividad de las neuronas ventromediales (I68). La posibilidad de que este efecto sintetice acciones fisiológicas sobre este núcleo, está sólidamente apoyada por la demostración de la presencia de estos aminoácidos en esta región del hipotálamo, así como por la - demostración de la existencia de receptores a glicina en este núcleo(I69,I70). Por ello era de gran interés explicar la posible participación de estos aminoácidos en la - modulación de la lordosis respuesta conductual que se sabe se integra a este nivel hipotalámico.

La posible participación de un neurotransmisor en -- una conducta determinada, ha sido clásicamente estudiada utilizando la inyección o infusión de neurotransmisores o de sus agonistas o antagonistas, en aquellas áreas del -- sistema nerviosos central que se presume están relacionadas con la conducta estudiada. En el caso de que se sospeche que el neurotransmisore a probar está relacionado con la facilitación de la conducta estudiada, la administra--ción de este o de sus agonistas deberá facilitar o estimular la aparición de la conducta; mientras que, la administración de sus anatagonistas inhibirá o deprimirá la - expresión de dicha conducta. Por el contrario, en el caso

en el que se sospecha que un neurotransmisor tiene una -- función inhibitoria, su administración o la de sus agonistas debería suprimir o deprimir la conducta, mientras que la aplicación de sus antagonistas debería estimularla.

En el presente estudio, la administración de la picrotoxina, un antagonista del GABA (I71), al núcleo ventromedial del hipotálamo no facilitó la conducta de lordosis. Congruentemente con este resultado la infusión de muscimol, un potente agonista del GABA (I70), fue ineficaz para interferir con el efecto facilitador que tiene normalmente la progesterona sobre la conducta sexual de ratas pretratadas con estrógenos. Estos resultados sugieren que el GABA, no participa en la regulación de la conducta de lordosis, al menos en la de aquellos procesos que se realizan a nivel del núcleo ventromedial. Sin embargo es claro que cualquier conclusión basada en el uso de un solo antagonista y agonista es solo provisional, ya que datos recientes indican que existen varios tipos de receptores gabaérgicos algunos de los cuales son necesariamente activados por el muscimol o inactivados por la picrotoxina (I71).

La administración de estriquina, el único antagonista específico potente que se conoce de la glicina, claramente facilitó la conducta de lordosis en ratas ovariectomizadas estrogenizadas. La respuesta a la estriquina fue dependiente de la dosis al menos dentro de cierto rango, ya que dosis muy elevadas (27 ug) sorprendentemente no provocaron espuesta.

Se ha reportado que la aplicación de estriquina intrahipotalámica puede liberar ACTH de la hipófisis al estimular la liberación de CRF hipotalámico y por consiguiente de ACTH (I72). A su vez el ACTH estimula no solo la secreción de corticoides suprarrenales, sino también la de progesterona. Esta secreción de progesterona pudiera explicar la facilitación obtenida con la estriquina, -

que en ese caso no sería debida a un fenómeno de desinhibición de neuronas ventromediales sino mediado a través de la secreción hipofisiaria.

Sin embargo, el hecho de que la estri^cnicina también -- indujo conducta de lordosis en ratas ovariectomizadas-adreⁿalectomizadas sugiere que el efecto es debido a la unión de la estri^cnicina a receptores glicinérgicos de neuronas --- ventromediales relacionadas con la conducta de lordosis. Es ta unión impide la acción de las moléculas de glicina sobre estas neuronas produciéndose así una desinhibición de su -- actividad. Esta interpretación está apoyada por la observa^cción de la existencia de sinapsis glicinérgicas y de una -- gran densidad de receptores específicos a glicina y a estri^cnicina en el núcleo ventromedial del hipotálamo (173).

El hecho de que la infusión de estri^cnicina en el núcleo ventromedial facilitara la lordosis dos a cuatro horas des^pues de su administración, parece un tanto sorprendente. Si las fibras glicinérgicas ejercen un tono inhibitorio sobre - la actividad de neuronas ventromediales, pudiera esperarse - que la estri^cnicina al suprimir este tono inhibitorio incremen^tara de inmediato la actividad neuronal en el núcleo ventro^medial. Sin embargo, parece ser que la latencia relativamen^te grande para facilitar la lordosis se debe a las caracte^rísticas de la interacción entre el núcleo ventromedial y -- las estructuras de la parte inferior del tallo cerebral re^lacionada con la expresión de la lordosis. Así se ha visto - que esta facilitación por la estimulación eléctrica directa del núcleo ventromedial sobre la lordosis es gradual tomando en ocasiones varias horas para manifestarse por completo (86, 99). Esto sugiere que las fibras aferentes del núcleo ventro^medial inducen cambios metabólicos, que afectan lentamente - la excitabilidad de las neuronas que forman parte del arco re^flejo de la lordosis (substancia gris central, neuronas del núcleo gigantocellularis, núcleo de Deiters). Por consiguien^te, a pesar de que la estri^cnicina incrementara rápidamente la

descarga del núcleo ventromedial su efecto sobre la lordosis se manifestaría con una latencia considerable, lo cual sería congruente con el período de dos a cuatro horas en el que se observó la facilitación.

El hecho de que la estricnina facilite la conducta de lordosis sugiere fuertemente que un aumento en el tono glicinérgico deba inhibir este comportamiento. Esta idea parece ser apoyada por el hecho de que la administración intraperitoneal de dosis de glicina que elevan el contenido de este aminoácido en el hipotálamo inhibió la conducta normalmente facilitada por la progesterona en ratas pretratadas con estrógenos. Este efecto inhibitorio no se manifestó de inmediato y también tuvo una duración limitada ya que a las ocho horas el efecto de la progesterona volvía a hacerse aparente.

Los resultados obtenidos con el uso de la glicina y de su antagonista la estricnina en estos experimentos sugieren fuertemente que interneuronas glicinérgicas colocadas en la periferia del núcleo ventromedial medial los efectos inhibitorios de los sistemas serotoninérgicos y dopaminérgicos descritos por varios investigadores como depresores de la conducta sexual (I22, I34, I35, I36, I37, I38, I39).

En la actualidad se sabe que la actividad neuronal en una región cerebral dada, como sería el caso del núcleo hipotalámico ventromedial, no es sólo el resultado de abrir o cerrar determinados circuitos, sino que puede ser modulada a nivel de la sinapsis por agentes denominados neuromoduladores. Por ejemplo, los neuromoduladores pueden alterar el proceso de liberación de neurotransmisores al actuar sobre los elementos presinápticos ó bien pueden cambiar las propiedades de receptores postsinápticos modificando así el efecto de los neurotransmisores sobre sus neuronas efectoras. La modulación de la función sináptica puede realizarse como un efecto más o menos directo del agente modulador o como el resultado de cambios inducidos en el metabolismo neuronal. En general, en este último caso los efectos del neuromodulador son persistentes y duraderos.

Resultados obtenidos, sobre todo con técnicas electrofisiológicas, han mostrado que la adenosina influye en la actividad neuronal y la transmisión sináptica (I74, I75, I76). Aparentemente, la adenosina presente en el tejido cerebral ejerce una acción tónica inhibitoria sobre la actividad neuronal ya que la aplicación de adenosina-deaminasa, una enzima que convierte a la adenosina en la inactiva inosina tiende a incrementar la actividad neuronal en algunas estructuras (I75).

La capacidad de la adenosina para modular la actividad sináptica ha sido probada en varios sistemas y es interesante señalar que no solo inhibe la actividad de sinapsis excitatorias, sino también la de sinapsis inhibitorias (I76).

Así mismo, es evidente que la adenosina modula la acción de sistemas que utilizan diferentes neurotransmisores (adrenérgicos, serotoninérgicos, colinérgicos, etc) (I75).

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que la adenosina tiene la capacidad de deprimir la actividad de las neuronas ventromediales, interfiriendo así con la expresión de la conducta de lordosis normalmente inducida por la administración secuencial de estrógenos y progesterona a ratas ovariectomizadas.

La adenosina puede modificar varios mecanismos celulares alguno de los cuales pudiera ser responsable de la inhibición en la actividad del núcleo ventromedial que presumiblemente está relacionada con la depresión de la conducta sexual por adenosina. Se sabe que la adenosina es uno de los más potentes estimuladores de la síntesis de AMPc en tejido cerebral (I74, I75, I76). Es pues, teóricamente posible que una elevación en la concentración de AMPc inducida por la adenosina resultara en una inhibición de la actividad del núcleo ventromedial y subsecuentemente de la conducta sexual. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que la infusión de dibutilil AMPc en el hipotálamo ventromedial favorece, en lugar de inhibir, la expresión de la lordosis en ratas ovariectomizadas y estrogenizadas (I77). Este resultado

no apoya el mecanismo arriba mencionado. Se sabe que, la actividad en las fibras noradrenérgicas que inervan al núcleo ventromedial es esencial para la expresión de lordosis.

Factores que tienden a suprimir ó antagonizar la actividad adrenérgica a este nivel impiden la manifestación de la conducta sexual en la rata, (I21, I28). Por otra parte, se sabe que la adenosina actuando a nivel presináptico (receptores A) puede inhibir dramáticamente la liberación de noradrenalina de diversas regiones cerebrales (I75, I76). Por consiguiente, es probable que la adenosina suprimiera la conducta de lordosis al inhibir la liberación de noradrenalina o su acción sobre receptores postsinápticos en neuronas del núcleo ventromedial. Estudios "in vitro" en nuestro laboratorio apoyan esta posibilidad. Sin embargo, será necesario realizar mas estudios para determinar si la inhibición de la conducta sexual producida por la adenosina es debida a la modulación por este nucleótido de la liberación de noradrenalina o está involucrada a otro de los múltiples mecanismos que pueden ser regulados por la adenosina.

C O N C L U S I O N E S

Los resultados de la presente tesis muestran que la -- conducta de lordosis en la rata está sometida a acciones -- inhibitorias que ejercen su acción a nivel del núcleo -- ventromedial hipotalámico. El GABA, el principal neurotransmisor inhibitorio a nivel cerebral no parece tener acción -- alguna sobre la regulación de la conducta de lordosis, ya -- que tanto la administración de un potente agonista gabaérgico, el muscimol, como la de un antagonista gabaérgico, la -- picrotoxina, en el núcleo ventromedial no tuvieron efecto -- alguno sobre la conducta sexual. Por el contrario, la infusión intrahipotalámica de glicina, el otro neurotransmisor inhibitorio importante, provocó una disminución gradual a -- la conducta de lordosis inducida por la progesterona en ratas ovariectomizadas tratadas con estrógenos. Congruente -- con esta acción inhibitoria de la glicina, la administración de estriquina, su antagonista específico, facilitó la con-- ducta de lordosis en ratas ovariectomizadas y tratadas con dosis subumbrales de estrógenos. con base en lo que se conoce sobre la acción de la glicina en neuronas ventromediales es probable que la inhibición ejercida por este aminoácido -- sobre la conducta de lordosis sea debida a una inhibición -- directa de la descarga de éstas neuronas por hiperpolariza-- ción.

La administración intrahipotalámica de adenosina, un -- neuromodulador interfirió claramente con la acción facilita-- toria sobre la conducta de lordosis de la progesterona en -- ratas pretratadas con estrógenos. Dado que la adenosina pa-- rece actuar a través de regular la liberación de neurotransmisores, es posible que su acción inhibitoria fuera debida a su interferencia con la liberación de noradrenalina en el -- núcleo ventromedial, fenómeno que se sabe esencial para la -- producción de lordosis por progesterona.

Los resultados de esta tesis sugieren un papel funcional de la glicina y de la adenosina en la regulación de -- una función, la conducta sexual, que se integra a nivel hi potalámico. La posibilidad de que estos compuestos regu.-- len otras funciones a este nivel debe ser investigada en -- el futuro.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Beach, F. A. (1976): Sexual attractivity, proceptivity and receptivity in female mammals. *Horm. Behav.*, 7:105-138.
- 2) Vandenberg, J. G. (1969): Endocrine coordination in monkeys: Male sexual responses to the female. *Physiol. Behav.*, 4:261-264.
- 3) Michael, R. P., y Zumpe, D. (1970): Sexual initiating behaviour by female rhesus monkeys. *Behaviour*, 36:169-185.
- 4) Keverne, E. B. (1977): Pheromones and sexual behavior. In: Handbook of Sexology, Ed. J. Money y H. Musaph, pp. 414-428. Elsevier North Holland, Amsterdam.
- 5) Keverne, E. B. (1978): Olfactory cues in mammalian sexual behaviour. In: Biological Determinants of Sexual Behaviour. Ed. J. B. Hutchison y J. Wiley, Nueva York.
- 6) Calhoun, J. B. (1962): The Ecology and Sociology of the Norway Rat. U. S. Government Printing Office, Washington, D. C.
- 7) Reynolds, E. (1971): Urination as a social response in mice. *Nature (Lond)*, 234:481-483.
- 8) Waring, G. H., Wierzbowski, S., y Hafez, E.S.E. (1975): The behaviour of horses. In: The Behaviour of Domestic Animals, 3rd ed., Ed. E.S.E. Hafez, pp. 330-369. Bailliere Tindall, Londres.
- 9) Kuehn, R. E., y Beach, F. A. (1963): Quantitative measurement of sexual receptivity in female rats. *Behaviour*, 21:282-299.
- 10) Signoret, J. P., Baldwin, B. A., Fraser, D., y Hafez, E.S.E.

- (1975): The behaviour of swine, In: The Behaviour of Domestic Animals, 3rd ed., Ed. E.S.E. Hafez, pp.295-329. Bailliere Tindall, Londres.
- II) Hulet, C.V., Alexander, G., y Hafez, E.S.E. (1975): The behaviour of sheep. In: The Behaviour of Domestic Animals, 3rd ed. Ed. E.S.E. Hafez, pp.246-294. Bailliere Tindall, Londres
- 12) Hafez, E.S.E. y Bouissou, M. F. (1975): The behaviour of cattle. In: The Behaviour of Domestic Animals, 3rd.ed., Ed. E.S.E. Hafez, pp.203-245. Bailliere Tindall, Londres
- 13) Tyler, S.J. (1972): The behaviour and social organization of the New Forest ponies. Anim.Behav.Monogr., 5:85-196.
- 14) Michael, R.P. (1961): Observations upon the sexual behaviour the domestic cat (*Felis catus* L) under laboratory conditions Behaviour, 18:I-24.
- 15) Floody, O.R., Pfaff, D.W., y Lewis, C.D. (1977): Communication among hamsters by high-frequency acoustic signals. II. Determinants of calling by females and males. J.Comp.Physiol 9:807-819.
- 16) Fraser, A.F., Ed. (1968): Reproductive Behaviour in Ungulates. Academic Press, Nueva York
- 17) Larsson, K. (1973): Sexual behaviour: The result of an interaction. In: Comtemporary Sexual Behavior: Critical Issues in the 1970's, Ed. J. Money and J.Zubin, pp.33-51.

Johns Hopkins University Press, Baltimore.

- 18) Hlinak, y Madlafousek, J. (1972): The dependence of -- sexual behavior of inexperienced males on the precopulatory behaviour of females in albino rat. *Physiol. Bohemoslov.*, 21 :83-84.
- 19) Madlafousek, J., Hlinak, Z., y Beran, J. (1976): Decline of sexual behavior in castrated male rats: Effects of female -- precopulatory behavior. *Horm. Behav.*, 7:245-252.
- 20) Diakow, C. (1975): Motion picture analysis of rat mating behavior. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 88:704-712.
- 21) Komisaruk, B.R. (1971): Induction of lordosis in ovariectomized rats by stimulation of the vaginal cervix: Hormonal and neural interrelationships. In: Steroid Hormones and Brain Function, Ed. C. H. Sawyer y R. A. Gorski. UCLA Forum, Med. Sci. No. 15. University of California Press, Los Angeles
- 22) Komisaruk, B.R., y Diakow, C. (1973): Lordosis reflex intensity in rats in relation to the estrous cycle, ovariectomy, estrogen administration and mating behavior. *Endocrinology*, 93:548-557.
- 23) Whalen, R.E. (1963): Sexual behavior of cats. *Behaviour*, 20 :321-342.
- 24) Rodriguez-Sierra, J.F., Crowley, W.R., y Komisaruk, B.R. (1975): Vaginal stimulation in rats induces prolonged lordosis responsiveness and sexual receptivity. *J. Comp. Physiol.*

- Psychol., 89:79-85.
- 25) Kow, L.M. and Pfaff, D.W. (1975b) Dorsal root recording relevant for mating reflexes in female rats: identification of receptive fields and effects of peripheral denervation. Neurobiol., 6:23-37.
- 26) Dewsbury, D.A. (1978): The description of sexual behavior - in research on hormone-behavior interactions. In: Endocrine Control of Sexual Behavior, Ed. C. Beyer, pp3-32 Raven Press, Nueva York.
- 27) Beach, F.A., y Rasquin, P. (1942): Masculine copulatory - behaviour in intact and castrated female rats. Endocrinology, 31:393-409.
- 28) Beach, F.A. (1968): Factors involved in the control of mounting behavior by female mammals. In: Reproduction and Sexual Behavior Ed. M. Diamond, pp. 83-131. Indiana University Press.
- 29) Morris, D. (1955): The causation of pseudomale and pseudomale and pseudofemale behaviour: A further comment. Behaviour, 8:46-56.
- 30) Morali, G., Carrillo, L., y Beyer C. (1985): neonatal androgen influences sexual motivation but not the masculine copulatory motor pattern in the rat. Physiol. Behav., en prensa.
- 31) Beach, F.A. (1942): Execution of the complete masculine copulatory pattern by sexually receptive female rats. J. Genet. Psychol., 60:137-142.

- 32) Södersten, P. (1972): Mounting behavior in the female rat - during the estrous cycle, after ovariectomy, and after estrogen or testosterone administration. *Horm. Behav.*, 3:307-320.
- 33) Marshall, F.H.A. (1956): The oestrous cycle in the mammalia. In: Marshall's Physiology of Reproduction, Ed. A.S. - Parkes, 3rd.ed., pp. 288-305 Longmans Green, Nueva York
- 34) Hardy, D.F. (1972): Sexual behavior in continuously cycling rats *Behaviour*, 41:288-297
- 35) Butcher, R.L., Collins, W.E., y Fugo, N.W. (1974): Plasma concentration of LH, FSH, prolactin progesterone and estradiol-17 throughout the 4-day estrous cycle of the rat. *Endocrinology*, 94:1704-1708.
- 36) Feder, H.H., Resko, J.A., y Goy, R.W. (1968): Progesterone levels in the arterial plasma of pre-ovulatory and ovariectomized rats. *J. Endocrinol.*, 41:563-569.
- 37) Naftolin, F., Brown-Grant, K., y Corker, C. S. (1972): -- Plasma and pituitary luteinizing hormone and peripheral plasma oestradiol concentration in the normal oestrous cycle of the rat and after experimental manipulation of the cycle. *J. Endocrinol.*, 53:17-30.
- 38) Pfaff, D.W., Diakow, C., Zigmond, R. E., y Kow, L. M. (1974) :Neural and hormonal determinants of female mating behavior in rats. In: The Neurosciences, Third Study Program, Ed.

- by F. O. Schmitt y F. G. Worden, pp. 621-646. MIT Press, Cambridge, Mass.
- 39) Bard, P. (1940): The hypothalamus and sexual behavior. The hypothalamus and central levels of autonomic function Res. Pabb. Assoc. Res. Nerv. Ment. Dis., 20:551-594.
- 40) Martini, L., L. Mira. A. Pecile, y S. Saito. (1959): Neurohypophysial hormones and release of gonadotrophins. J. Endocrinol. 18:245-50.
- 41) Beyer, C., Morali, G., Larsson, K., y Södersten, P. (1976) :Steroid regulation of sexual behavior. J. Steroid Biochem., 7:1171-1176.
- 42) Schoot, P. van der, y de Greef, W.J. (1976): Dioestrous - progesterone and pro-oestrous luteinizing hormone in 4-and 5-day cycles of female rats. J. Endocrinol., 70:61-88.
- 43) Ogle, T. F., y Kitay, J. I. (1977): Ovarian and adrenal -- steroids during pregnancy and the oestrous cycle in the rat. J. Endocrinol., 74:89-98.
- 44) Shaikh, A. A. (1971): Estrone and estradiol levels in the -- ovarian venous blood from rats during the estrous cycle and pregnancy. Biol. Reprod., 5:297-307.
- 45) Hart, B. L. (1969): Gonadal hormones and sexual reflexes in the female rat. Horm. Behav., 1:65-71.
- 46) Young, W. C. (1961): The hormones and mating behavior. In: Sex and Internal Secretions, Vol. II, Ed. W. C. Young, Horm. Behav., 8:94-99.

- 47) Hardy, D.F., y DeBold, J. F. (1971): The relationship between levels of exogenous hormones and the display of lordosis by the female rat. *Horm. Behav.*, 2:287-297.
- 48) Zemlan, F. P., y Adler, N. T. (1977): Hormonal control of female sexual behavior in the rat. *Horm. Behav.*, 9:345-357.
- 49) Beyer, C., y Komisaruk, B. (1971): Effects of diverse androgens on estrous behavior, lordosis reflex and genital tract morphology in the rat. *Horm. Behav.*, 2:217-225.
- 50) Beyer, C., Morali, G., y Vargas, R. (1971): Effect of diverse estrogens on estrous behavior and genital tract development in ovariectomized rats. *Horm. Behav.*, 2:273-277.
- 51) Boling, J. L., y Blandau, R.J. (1939): The estrogen-progesterone induction of mating responses in the spayed female rat. *Endocrinology*, 25:359-364.
- 52) Hlinak, Z., y Madlafousek, J. (1969): A quantitative study of the synergistic action of estradiol and progesterone in inducing the oestrus behaviour of the ovariectomized rat. - *Physiol. Bohemoslov.*, 18:485-486.
- 53) Gorzalka, B. B., y Whalen, R. E. (1977): The effects of progestins, mineralocorticoids, glucocorticoids, and steroid solubility on the induction of sexual receptivity in rats. *Horm. Behav.*, 8:94-99.
- 54) Foreman, M. M., y Moss, R. L. (1977): Effects of subcuta-

- neous injection and intrahypothalamic infusion of releasing hormones upon lordotic response to repetitive coital stimulation. *Horm. Behav.*, 8:219-234.
- 55) Moss, R. L., y McCann, S. M. (1973): Induction of mating behavior in rats by luteinizing hormone-releasing factor. *Science*, 181:177-179.
- 56) Moss, R. L., y McCann, S. M. (1975): Action of luteinizing hormone-releasing factor (LRF) in the initiation of lordosis behavior in the estrone-primed ovariectomized female rat. *Neuroendocrinology*, 17:309-318.
- 57) Moss, R. L., McCann, S. M., y Dudley, C. A. (1975): Releasing hormones and sexual behavior. *Prog. Brain Res.*, 42:37-46.
- 58) Moss, R. L., y Foreman, M. M. (1976): Potentiation of lordosis behavior by intrahypothalamic infusion of synthetic luteinizing hormone-releasing hormone. *Neuroendocrinology*, 20:176-181.
- 59) Moss, R. L. (1978): Effects of hypothalamic peptides on sex behavior in animal and man. In: Psychopharmacology: A Generation of Progress, Ed. M. A. Lipton, A. Di Mascio y K. F. Killam, pp. 431-440. Raven Press, Nueva York
- 60) Everard, D., Wilson, C.A., y Thody, A. J. (1977): Effect of melanocyte-stimulating hormone on sexual behaviour in the female rat. *J. Endocrinol.*, 73:32P.

- 61) Dudley, C. A., y Moss, R. L. (1976): Facilitation of lordosis in the rat by prostaglandin E_2 . *J. Endocrinol.*, 71:457-458.
- 62) Rodriguez-Sierra, J. F., y Komisaruk, B. R. (1977): Effects of prostaglandin E_2 and indomethacin on sexual behavior in the female rat. *Horm. Behav.*, 9:281-289.
- 63) Ward, I. L., Crowley, W. R., Zemlan, F. P., y Margules, D. L. (1975): Monoaminergic mediation of female sexual behavior. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 88:53-61.
- 64) Crowley, W. R., Feder, H. H., y Morin, L. P. (1976): Role of monoamines in sexual behavior of the female guinea pig. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 4:67-71.
- 65) Feder, H.H., y Ruf, K.B. (1969): Stimulation of progesterone release and estrous behavior by ACTH in ovariectomized rodents. *Endocrinology*, 84:171-174.
- 66) Kalra, P. S., y Kalra, S. A. (1977): Temporal changes in the hypothalamic and serum luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) levels and the circulating ovarian steroids during the rat oestrous cycle. *Acta Endocrinol.(KBH)*, 85:449-455.
- 67) Hlinak, Z., y Madlafousek, J. (1972): Positive and negative effects of progesterone on the precopulatory behavior of -- ovariectomized rats. *Acta Nerv. (Praha)*, 14:170-171.
- 68) Debold, J. F., Martin, J. V., y Whalen, R. E. (1976): The

- excitation and inhibition of sexual receptivity in female -- hamsters by progesterone: Time and dose relationships neural localization and mechanisms of action. *Endocrinology*, 99:1519-1527.
- 69) Lisk, R. D. (1969): Progesterone, biphasic effects on the -- lordosis response in adult or neonatally gonadectomized rats *Neuroendocrinology*, 5:149-160.
- 70) Nadler, R. D. (1970): Biphasic influence of progesterone on sexual receptivity of spayed female rats. *Physiol. Behav.*, 5:95-97.
- 71) Morin L.P., y Feder, H. H. (1974): Independence of progesterone-induced facilitation and inhibition of lordosis behavior in ovariectomized guinea pigs. *Horm. Behav.*, 5:7-12.
- 72) Wallen, K., Goy, R. W., y Phoenix, C. H. (1975): Inhibitory actions of progesterone on hormonal induction of estrus in female guinea pigs. *Horm. Behav.*, 6:127-138.
- 73) Powers, J. B., y Moreines, J. (1976): Progesterone examination of its postulated inhibitory actions on lordosis during the rat estrous cycle. *Physiol. Behav.*, 17:493-498.
- 74) Marrone, B. L., Rodríguez-Sierra, J. F., y Feder, H. H. -- (1977): Lordosis: Inhibiting effects of progesterone in the female rat. *Horm. Behav.*, 8:391-402.
- 75) Morin, L. P. (1977): Theoretical review: Progesterone: inhibition of rodent sexual behavior. *Physiol. Behav.*, 18:701- -

-715.

- 76) Blaustein, J. D., y Wade, G. N. (1977): Sequential inhibition of sexual behavior by progesterone in female rats: Comparison with a synthetic antiestrogen. *J. Comp. Physiol. -- Psychol.*, 91:752-760.
- 77) Beach, F. A. (1948): Hormones and Behavior. Harper y Brothers, Nueva York.
- 78) Young, W. C. (1961): The hormones and mating behavior. In: Sex and Internal Secretions Vol II, Ed. W. C. Young -- pp. 1173-1239. Williams & Wilkins, Baltimore.
- 79) Beyer, C. (1976): Neuroendocrine mechanisms in sexual behavior. In: Subcellular Mechanisms in Reproductive Neuroendocrinology, Ed. F. Naftolin, K. J. Ryan, y I. J. Davies. Elsevier Amsterdam.
- 80) Morali, G., Larsson, K., y Beyer, C. (1978): Neuroendocrine regulation of female sexual behavior in mammals. In: Endocrine Control of Sexual Behavior, Ed. C. Beyer, Raven Press, N.Y.
- 81) Beyer, C., Larsson, K., y Cruz, M. L. (1978): Neuronal mechanisms probably related to the effect of sex steroids in sexual behavior. (In: Endocrine Control of Sexual Behavior, Ed. C. Beyer, Raven Press, Nueva York.
- 82) Singer, J. J. (1968): Hypothalamic control of male and female sexual behavior in female rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 66:738-742

- 83) Powers, J. B. (1970) Hormonal control of sexual receptivity during the estrous cycle of the rat. *Physiol. Behav.*, 5:831-835.
- 84) Dörner, G., Döcke, F., y Hinz, G. (1969): Homo and hyper--sexuality in rats with hypothalamic lesions. *Neuroendocrinology*, 4:20-24.
- 85) Mathews, D., y Edwards, D. E. (1977): The ventromedial nucleus of the hypothalamus and the hormonal arousal of sexual behaviors in the female rat. *Horm. Behav.*, 8:40-51.
- 86) Pfaff, D. W. y Sakuma, Y. (1979a): Deficit in the lordosis reflex of female rats caused by lesions in the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *J. Physiol.*, 288:203-210.
- 87) Lisk, R. D. (1966): Hormonal implants in the cerebral nervous system and behavioral receptivity in the female rat. In: The Brain and Gonadal Functions, Ed. R. A. Gorski y R. E. Whalen, pp. 98-117. University California Press, Berkeley.
- 88) Powers, J. B. (1971): Facilitation of lordosis in ovariectomized rats by intracerebral progesterone implants. *Brain -- Res.*, 48:311-325.
- 89) Ross, F., Claybaugh, C., Clemens, L. G., y Gorski, R. A. (1971): Short latency induction of estrous behavior with intracerebral gonadal hormones in ovariectomized rats. *Endocrinology*, 89:32-38.

- 90) Barfield, K. J. (1976): Activation of estrous behavior by intracerebral implants of estradiol benzoate (EB) in ovariectomized rats (abstract) Fed. Proc., 35:429.
- 91) Rubin B. S. y Barfield, R. J. (1980) Preming of estrous responsiveness by implants of 17β estradiol in the ventromedial hypothalamic nucleus of female rats. Endocrinology 106:504-509.
- 92) Rubin B. S. y Barfield R. J. (1983). Progesterone in the Ventromedial hypothalamus facilitates estrous behavior in ovariectomized estrogen primed rats. Endocrinology 13,797-804.
- 93) Lisk, R.D. (1962): Diencephalic placement of estradiol and sexual receptivity in the female rat. Am. J. Physiol., 203: 493-496.
- 94) Stumpf, W. E. (1968): Estradiol-concentrating neurons: Topography in the hypothalamus by dry-mount autoradiography. Science, 162:1001-1003.
- 95) Clark, J. H., Campbell, P. S., y Peck, E. J., Jr. (1972): Receptor estrogen complex in the nuclear fraction of the pituitary and hypothalamus of male and female immature rats. Neuroendocrinology, 77:218-228.
- 96) Pfaff, D. W., y Keimer, M. (1973): Atlas of estradiol -concentrating cells in the central nervous system of the female rat. J. Comp. Neurol., 151:121.

- 97) McEwen, B. S. (1976): Steroid receptors in neuroendocrine tissues: topography, subcellular distribution, and functional implications. In: Subcellular Mechanisms in Reproductive Neuroendocrinology, Ed. F. Naftolin, K. J. Ryan, y I. J. Davies, pp. 277-304. Elsevier, Amsterdam.
- 98) Kato, J. (1977): Steroid hormone receptors in brain hypothalamus and hypophysis. In: Receptors and Mechanism of Action of Steroid Hormone. Part II, Ed. J. R. Pasqualini, pp. 603-671. Marcel Dekker, Nueva York.
- 99) Pfaff D. W. (1980) Estrogen and Brain Function Springer Verlag New York Heidelberg, Berlin.
- 100) Beach, F. A. (1944): Effects of injury to the cerebral cortex upon sexually-receptive behavior in the female rat. *Psychosom. Med.*, 6:40-55.
- 101) Sawyer, C. H. (1958). Activation and blockade of the release of pituitary gonadotropin as influenced by the reticular formation. In: The Reticular Formation of the Brain (Henry Ford Hospital Symposium). Boston: little, Brown & Company.
- 102) De Groot, J., y Critchlow, V. (1960): Effects of "limbic system" on reproductive functions of female rats. *Physiologist*, 3:49.
- 103) Powers, J. B., and Valenstein, E. S. (1972): Sexual receptivity facilitation by medial preotic lesions in female rats. *Science*, 175:1003-1005.

- 104) Komisaruk, B. R., Larsson, K., y Cooper, R. (1972): Intense lordosis in the absence of ovarian hormones after septal ablations in rat. Abstr. 2nd Annual Meet, Soc. Neurosci., p. 230.
- 105) Nance, D. M. Shryne, J., and Gorski, R. A. (1974): Septal lesions: Effects on lordosis behavior and pattern of gonadotropin release. Horm. Behav., 5:73-81.
- 106) Nance, D. M. (1977): Effects of small hypothalamic and preoptic lesions on gonadotropin control and reproductive behavior in the rat. Anat. Rec., 187:664.
- 107) Clemens, L. G., Wallen, K., y Gorski, R. A. (1967): Mating behavior: Facilitation in the female rat after cortical application of potassium chloride. Science. 157:1208-1209.
- 108) Ross, J. W., y Gorski, R. A. (1973): Effects of potassium chloride on sexual behavior and the cortical EEG, in the ovariectomized rat. Physiol. Behav., 10:643-646.
- 109) Yamenouchi, K., y Arai, Y. (1977): Possible inhibitory role of the dorsal inputs to the preoptic area and hypothalamus in regulating female sexual behavior in the female rat. Brain Res., 127:296-301.
- 110) Napoli, A., Powers, J. B., y Valenstein, E. S. (1972): Hormonal induction of behavioral estrus modified by electrical stimulation of hypothalamus. Physiol. Behav., 9:115-117.

- 111) Moss, R. L., Paloutzian, R. F., y Law, O. T. (1974): Electrical stimulation of forebrain structures and its effect on copulatory as well as stimulus-bound behavior in ovariectomized hormone-primed rats. *Physiol. Behav.*, 12:997-1004.
- 112) Beyer, C. y Sawyer, C. H. (1969): Hypothalamic unit activity related to control of the pituitary gland. In: Frontiers in Neuroendocrinology, Ed. W. F. Ganong y L. Martini, pp. 255-287, Oxford University Press, Nueva York.
- 113) Kawakami, M., y Sawyer, C. H. (1959): Induction of behavioral and electroencephalographic changes in the rabbit by hormone administration or brain stimulation. *Endocrinology*, 65: 631-643.
- 114) Conrad L.C.A. y Pfaff D.W. (1976) Autoradiographic study of effects from medial, basal forebrain, and hypothalamics in the rat. I medial preoptic area. *J. comp. Neurol.* 169:185-220.
- 115) Palkovits, M. y L. Zaborzky., (1979): Neural connections of the hypothalamus In: Anatomy of the hypothalamus, Ed. by P.V. Morgane y J. Panksepp, Marcel Dekker, Nueva York y Basilea p.p. 379-509
- 116) Millhouse D.E., (1973): The organization of the ventromedial Hypothalamic nucleus. *Brain Research*, 55:71-87.
- 117) Stumpf, W.E. y Grant, L. D., Eds. (1975): Anatomical Neuroendocrinology, Karger, Basilea

- 118) Fuxe, K., (1965): Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system IV the distribution of monoamine nerves terminals in the central nervous system. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 64,247.
- 119) Everitt, B. J. Fuxe, K., Hökfelt y G. Jonsson, (1975): Role of monoamines in the control by hormones of sexual receptivity in the female rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychol* 89:556-572
- 120) Meyerson, B. J. y Malmnäs, C. O., (1977): Brain monoamines and sexual behavior In: Biological Determinants in Sexual Behaviour, Ed. J. Hutchinson, p.p. 521-554. Wiley, Nueva York
- 121) Foreman, M. M. y R. L. Moss (1978): Role of hypothalamic alpha and beta adrenergic receptors on the control of Lordosis behavior in the ovariectomized estrogen primed rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 9:235-241.
- 122) Meyerson, B. J. Palis, A., y Sietnieka, A., (1978): Hormone -Monoamine Interactions and Sexual Behavior. In: Endocrine Control of Sexual Behavior Ed. C. Beyer. Raven Press, p.p. 399-404. Nueva York 1979.
- 123) Meyerson, B. J., B. J., Malmnäs, C. O., y Everitt, B. J. (1978): Neuropharmacology, neurotransmitters and sexual behavior in mammals. In: Handbook of Behavioral Neurobiology, Plenum Press. Nueva York

- 124) Nock, B., y Feder, H.H., (1979): Noradrenergic transmission and female sexual behavior of guinea pigs. *Brain, Research*, 166 p.p. 369-380.
- 125) Pfaff W. D. (1980): Estrogen and Brain Function. Spanesger Verlag N. Y. Heidelberg, Berlin.
- 126) Nock, B., y H. H. Feder, (1981): Neurotransmitter modulation of steroid action in target cells that mediate reproduction and reproductive behavior *Neurosc. Biobehavi. Rev.* 5: 437-447.
- 127) Hansen, S.E.J. Stanfield y B. J. Everitt. The role of ventral bundle noradrenergic neurones in sensory components of sexual behavior and coitus induced pseudopregnancy.
- 128) Fernández-Guasti, A., Larsson K. y Beyer, C. (1985): Blockade of P action in lordosis behavior by and adrenergic -- antagonists. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. En prensa
- 129) Daly, J. (1979): Cyclic Nucleotides in the nervous system. Plenum Press, Nueva York.
- 130) Fernández-Guasti, A. Larsson K., y Beyer, C., Induction of lordosis behavior in estrogen primed rats by the combined intrabrain administration of and agonists. *Pharmacology* (1985). En prensa
- 132) Clemens, L. G. Humphrys, R. R., y Dohanich, G. P., (1980): Cholinergic brain mechanism and the hormonal regulation of female sexual behavior in the rat. *Pharmac. Biochem. Behav.* 13 (1) 81-88.

- 133) Clemens, L. G., y G. P. Dohanich, (1980): Inhibition of lordotic behavior in female rats following intracerebral infusion of anticholinergic agents. *Pharmac. Biochem. Behav.* 13 (1):89-95.
- 134) Everitt, B. J., Fuxe, K., y Hökfelt, T., (1974): Inhibitory role of dopamine and 5-hydroxytryptamine in the sexual behavior of female rats. *European J. Pharmacol.* 29:187-191.
- 135) Corradi, H., Farnebo, L. O., Fuxe, K., Hamberger, B., y Ungerstedt, U. (1972): ET 495 and brain catecholamine mechanisms evidence for stimulation of dopamine receptors *European J. Pharmacol.* 20:195.
- 136) Koe, B. K. y A. Weissman, (1966), p Chlorophenylalanine , a specific depletor of brain serotonin, *J. Pharmacol, Exptl. Therap.* 154, 499.
- 137) Meyerson, B. J., y Lewander, T. (1970): Serotonin synthesis inhibition and estrous behavior in female rats. *Life, Sci.*, 9:661-671.
- 138) Zemlan F. P., Ward, I. L., Crowley, W. B. y Mangules, D. L. (1973): Activation of lordotic responding in female rats by suppression of serotonergic activity. *Science*, 179:1010-1011.
- 139) Henrik, E., y Gerall, A. A. (1976): Facilitation of receptivity in estrogen-primed rats during successive mating tests with progestins and methysergide. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 90:590-600.

- 140) Meyerson, B. J., Carrer, H, y Eliasson, M. (1974): 5-Hydroxytryptamine and sexual behavior in the female rat. *Adv. Biochem.*
- 141) Eliasson, M., y Meyerson, B. J., (1977): The effects of lysergic acid diethylamide on copulatory behavior in the female rat. *Neuropharmacology*, 16:37-44.
- 142) Sietnieks, A., y Meyerson, B. J. (1977): The influence of progesterone on the inhibitory effect of lysergic acid diethylamide (LSD) and copulatory behavior in the female rat. *Acta. Pharmacol. Toxicol. (KBH)*; 41:75
- 143) Duhault, J. y C. Verdavainne., (1967): Modification du Taux de sérotonine cérébrale chez le rat par les trifluorométhylphényl-2-éthyl aminopropane (fenfluramine 7685), *Arch. Intern. Pharmacodyn. Therap.* 170, 276.
- 144) Luine, V. N. y Paden, Ch. M. (1982): Effects of monoamine Oxidase inhibition on female sexual behavior serotonin levels and type A and B monoamine Oxidase activity. *Neuroendocrinology*. 34: 245-251.
- 145) Luine, V. N. y Fischette C. T. (1982): Inhibition of lordosis behavior by intrahypothalamic implants of pargyline. *Neuroendocrinology*, 34:237-244.
- 146) Morgane, P. J., y Panksepp, J. Eds. (1979): Anatomy of the Hypothalamus. Handbook of the Hypothalamus. Marcel Dekker, Nueva York y Basilea.

- 147) Murphy J. T. y Renaud L. P., (1968): Mechanisms of inhibition in the ventromedial nucleus of the hypothalamus. Brain Res 9:85-102.
- 148) Murphy J. T. y Renaud, L. P. (1968): Inhibitory interneurons in the ventromedial nucleus of the hypothalamus Brain Res. 9:385-389.
- 149) Snyder, S. M. (1975): The glycine synaptic receptor in the mammalian central nervous system. Br. J. of Pharmacol, 53:473-484.
- 150) De Feudis, F. V. (1978): Vertebrate GABA receptors. Neurochem. Res. 3:263-280.
- 151) Krosggaard-Larsen, P. y J. Amt. GABA receptor agonists: relationship between structure and biological activity in vivo and in vitro in GABA. Biochemistry and central Nervous Function, ed Paul Mandel and F. V. de Feudis. (1979) p.p. 303-321. Plenum Press.
- 152) Morishita, H., T. Hashimoto, K. Kishi, K. Nakago, H. Mitami., M. Tomioka., S. Kuroira., Y. Miyanchi., (1981): Effects of glycine and serum gonadotropins and estradiol and on concentrations of free aminoacids in the middle hypothalamus in female rats. gynecol. abstrac. Invest. 12:187-196.
- 153) Mcgeer, P. L. y Mcgeer E. G. (1982): Amino acid neurotransmitters in "Basic Neurochemistry" Ed. G. Siegel. Little Brown, ciudad p. p. 245.

- 154) Makara, G. B. y E. Stark., (1974): Effect of gamma aminobutyric acid (GABA) and GABA antagonists drugs on ACTH release. *Neuroendocrinology* 16:178-190.
- 155) Banzan, A. M. y Donoso, A. O. (1983): Enhanced prolactin release by injection of glycine in the medial preoptic area (m POA) of the rat. *Brain Res. Bull.* 10:9-13.
- 156) Morishita, H., Nakago, K., Miyauchi, Y., Mitani H., Hashinota T. y Adami H. (1978): The effect of glycine on serum luteinizing hormone in adult female rats. *Experientia* 34:1231-1232.
- 157) Zarrow, N. X., (1964): *Experimental Endocrinology Assourcebook of Basic Tehniques.* Academic Press, ciudad
- 158) De Groot (1960): *The rat forebrain in stereotaxic coordinates.* Tweede Reeks, Deel LII No 4. N. Y. Noord-Hollandsche uitgeverij maatschappij. Amsterdam.
- 159) Skinner, J. E. (1971): Neurociencia. Manual de Laboratorio. Editorial Trillas. México pag. 157
- 160) Rodriguez Martinez H.E. (1971): Formalina. *Patología* 9:223-231.
- 161) Mc Manus, J.F.A. y Moury, R. W. (1964): *Staining methods histologic and histochemical* Harper and Row Publishers, Nueva York
- 162) Chayen, J., Bitensky L., and Butcher. R., (1973): Practical Histochemistry. John Wiley, Londres Nueva York, Sydney Toronto.

- I63) Armed Forces Institute of Pathology. Manual of Histologic Staining Methods 3a. edición Mc. Graw-Hill, Nueva York.
- I64) Sidney Siegel, (1970): Estadística No Paramétrica. Editorial, Trillas.
- I65) Barfield, R., Rubin, B.S., Glaser, J.M., y Davis, P.G. (1983): Sites of actin of ovarian hormones in the regulation of estrous responsiveness in rats. en "Hormones and Behaviour in Higher Vertebrates" editado por Batthagart J., Springer Verlag, Berlin.
- I66) Haynard, J.N., Reaves, T.A. (1980): The Endocrine Brain electrophysiological aspects; en "The Endocrine Functions of the Brain" editado por Motta, M. Raven Press, Nueva York.
- I67) Murphy, J.T. y Renaud, L.P. (1968): Inhibitory interneurons in the ventromedial nucleus of the hypothalamus. Brain Res. 9:385-389.
- I68) Renaud, L.P. (1976): Microiontophoresis on identified -- hypothalamic neurons: 3 patterns of response in the -- ventromedial nucleus of the rat. Brain, Res. II5:339-344.
- I69) Edwardson, J.A. (1972): Release of aminoacids and neurosecretory substances after stimulation of nerve endings -- (synaptosomes) isolated from the hypothalamus. Nature 240:554-556.
- I70) Okada, Y., Hassler, R. (1971): Regional distribution of -- GABA in rabbit, rat, guinea pig and baboon CNS. Exp. Brain. Res. I3:514-518.
- I71) Mitchell, R. (1982): Interactions of agonists and antagonists with a novel type of GABA receptor. Biochemical Pharmacol. 3I:2684-2686.
- I72) Makara, G.B., y Stark, E. (1975): Effect of GABA and GABA antagonist drugs on ACTH release. Neuroendocrinology I6: I78-I90.
- I73) Apresin, H., y Nadi, N.S., (1977): Amino Acids as chemical transmitters, F. Fonnum (ed) p.p. 531-570. Plenum Press, Nueva York.

- I74) Fredholm, B., y Hedquist, P. (1980): Modulation of neurotransmission by purine nucleotides and nucleosides.
Biochemical Pharmacology 29:1635-1643.
- I75) Snyder, S. (1985): Adenosine as a neuromodulator.
Ann. Rev. Neurosc. 8:103-124.
- I76) Phillis, J.W., y Wu, P.M. (1981): The role of adenosine and adenine nucleotides in central synaptic transmission.
Progr. Neurobiol. 16:187-239.
- I77) Beyer, C., Canchola, E., y Larsson, K., (1981):
Facilitation of lordosis behavior in the ovariectomized estrogen primed rat by dibutyryl cAMP.
Physiology & Behavior 26:249-251.