



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto de la administración intracerebral de
apelina-13 sobre la conducta de lordosis, en
ratas ovariectomizadas pretratadas con
benzoato de estradiol

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Ailyn Luna Hernández

Director

Dr. Oscar González Flores

Tlaxcala, Tlax.

Mayo, 2022



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto de la administración intracerebral de
apelina-13 sobre la conducta de lordosis en
ratas ovariectomizadas pretratadas con
benzoato de estradiol

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Ailyn Luna Hernández

Comité Tutorial

Director

Dr. Oscar González Flores

Tutores

Dr. Marcos García Juárez

Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio

Tlaxcala, Tlax.

Mayo, 2022

FINANCIAMIENTO

Esta tesis se realizó en el Centro de Investigación en Reproducción Animal, Panotla-Tlaxcala de la Universidad Autónoma de Tlaxcala.

El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), otorgó la beca número 1006947, por el periodo de 01 de agosto de 2019 a 31 de julio de 2021.

La Maestría en Ciencias Biológicas está registrada en el Programa para el Fortalecimiento del Posgrado Nacional, Padrón Nacional de Posgrado (PNP).

OFICIO DE AUTORIZACIÓN



Universidad Autónoma de Tlaxcala
Centro Tlaxcala Biología de la Conducta (CTBC)
Maestría en Ciencias Biológicas
Proceso: Posgrado CTBC
Registro: Carta Autorización de Impresión de Tesis

Código: 503-RGE-26

Revisión: 03

COORDINACIÓN MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA P R E S E N T E

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que **Ailyn Luna Hernández** realiza para la obtención del grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es **“Efecto de la administración intracerebral de apolina-13 sobre la conducta de lordosis en ratas ovariectomizadas pretratadas con benzoato de estradiol”**.

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
TLAXCALA, TLAX., MAYO 17 DE 2022



DRA. ROSA ANGÉLICA LUCIO LUCIO




DR. OSCAR GONZÁLEZ FLORES



DR. MARCOS GARCÍA JUÁREZ



DR. RAYMUNDO DOMÍNGUEZ ORDOÑEZ



DRA. MIRIAM BETZABÉ TECAMACHALTZI
SILVARÁN



Universidad Autónoma de Tlaxcala

CENTRO DE INVESTIGACION EN REPRODUCCIÓN ANIMAL
(C.I.R.A.)

Apdo. Postal 62. Tlaxcala, Tlax. 90000 México

COMITÉ ACADÉMICO POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Sirva este medio para describir el proceso de revisión de la tesis realizada por la estudiante **Ailyn Luna Hernández** titulada “Efecto de la administración intracerebral de apelina-13 sobre la conducta de lordosis, en ratas ovariectomizadas pretratadas con benzoato de estradiol” para optar por su grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**.

El documento de la tesis de Ailyn Luna Hernández fue revisado por mi como director de tesis antes de presentarse en cada examen tutorial y, posteriormente a los exámenes tutorales, los miembros de su comité tutorial realizaron también sus respectivas observaciones. De manera que el documento, llevó un proceso de revisión por varios profesores expertos en el tema. En el mes de mayo, el documento final de la tesis fue procesado con el programa del Plagiarism Checker marcando el texto con similitudes del 13%. Los textos detectados con similitud fueron corregidos por la estudiante. Se volvió a procesar el documento y volvió a marcar 13%, sin embargo, examinando los detalles de la búsqueda se observó que las similitudes están marcadas por la definición de la conducta de lordosis y en la sección de la metodología que marca las dosis que se emplearon de apelina-13, debido a que nuestros resultados han sido publicados en la revista Neuroscience Letters, por lo que esta similitud no podría ser considerada como plagio.

Por lo anterior, confirmo que **la estudiante no incurrió en ninguna práctica no deseable** en la escritura de la tesis.

Sin más por el momento, reciban atentos saludos.

CORDIALMENTE
Tlaxcala, Tlax., a 16 de mayo del 2022.



Dr. Oscar González Flores
Director de tesis

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, por otorgarme la oportunidad de formarme académicamente.

A CONACYT, por otorgarme la beca número1006947 por un periodo de dos años, a partir del mes de agosto del 2019 a agosto del 2021.

Al Dr. Oscar González Flores, agradezco sus enseñanzas en las clases y seminarios, así como el apoyo ante cualquier asunto personal y académico. Además, agradezco la paciencia que me ha tenido y sobre todo le expreso la admiración que le tengo por ser un excelente investigador.

Al Dr. Marcos García Juárez, por orientarme y enseñarme los procedimientos experimentales realizados durante mi estancia de Maestría. Asimismo, agradezco la motivación y el ejemplo que me ha dado para poder continuar preparándome.

A la Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio, por su apoyo al revisar la tesis y por las sugerencias durante los tutorales que me han ayudado a comprender y aprender temas nuevos.

AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL

Al Dr. Raymundo Domínguez Ordoñez, quien me orientó para realizar las cirugías y diferentes metodologías que se emplearon. Además, agradezco las sugerencias y comentarios para enriquecer el proyecto.

A la Dra. Miriam Betzabé Tecamachaltzi Silvarán por sus consejos y sugerencias en la tesis.

A mis compañeros del CIRA, Sandra, Miriam y Omar por brindarme su amistad y apoyarme en los experimentos.

DEDICATORIA

A mi mamá Jacqueline, la mujer más valiente, alegre y responsable, quien ha sido mi mayor ejemplo al enseñarme a continuar mi preparación académica y sobre todo por los valores que me ha inculcado para ser una persona de bien. Además, a pesar de las dificultades, siempre me demuestra que no hay imposibles para lograr nuestros objetivos.

A mi papá Carlos, quien me enseñó que el esfuerzo y dedicación siempre tendrá buenos resultados.

A mis hermanos Carlos y Maviel, por ser mi apoyo incondicional y mi motivación.

RESUMEN

El patrón conductual más representativo de una hembra en estro es la receptividad sexual, la cual se caracteriza por la presencia de la conducta de lordosis (CL), es decir, la adopción de una postura que involucra la dorsiflexión de la columna vertebral de la hembra, postura que facilita la inserción peneana y la eyaculación. Además, se ha establecido que al menos dos áreas cerebrales como el hipotálamo ventromedial (HVM) y el área preóptica media (APOm), ejercen diferentes efectos sobre la expresión de la CL en ratas ovariectomizadas (OVX) previamente inyectadas con benzoato de estradiol (BE). Por ejemplo, la estimulación eléctrica o la administración de GABA y muscimol en el HVM facilita dicha conducta, mientras que mismos efectos en el APOm la inhibe. En esas áreas cerebrales se expresa y sintetiza una variedad de sustancias químicas como la apelina-13, así como su receptor, APJ. Por ello, se sugiere que participa en la señalización neuronal y en la modulación del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, responsable de los eventos reproductivos en hembras, específicamente en la conducta sexual femenina. Sin embargo, se desconocen los efectos que la apelina-13 pudiera ejercer sobre la regulación del comportamiento sexual femenino en la rata. Por lo tanto, en la presente tesis decidimos explorar si la administración bilateral de apelina-13 en el HVM y el APOm pudiera ejercer un efecto diferente sobre la expresión de la CL en ratas previamente estrogenizadas.

En el presente trabajo se describen los resultados de dos experimentos en donde se evaluaron los efectos de la administración bilateral de la apelina-13 directamente en el HVM como en el APOm sobre la expresión de la CL en ratas OVX previamente estrogenizadas. Se utilizaron 87 hembras adultas de la cepa Sprague-Dawley, las cuales antes del experimento fueron OVX y después de una semana, se les implantó un par de cánulas guía, ya sea en el HVM o en el APOm a través de la utilización de un aparato estereotáxico. Una semana después cada hembra recibió 5 µg de BE por vía subcutánea y 40 horas más tarde se les administró una sola dosis de apelina-13 a diferentes grupos de hembras. El experimento 1 consistió en administrar bilateralmente las diferentes dosis de apelina-13 directamente en el HVM, y el experimento 2 en el APOm también de manera bilateral. Las dosis fueron de: 0.37, 0.75, 1.5 ó 15 µg de apelina-13; ó 1 µl de DMSO al 10 %. A los 30, 120 y 240 min posteriores a la administración de apelina-13, las hembras fueron puestas en arenas circulares en donde previamente se encontraba un

macho sexualmente experto con el propósito de realizar pruebas de conducta sexual. De esta manera se registró tanto el cociente [QL= (No. de lordosis / 10 montas) (100)] como la intensidad de lordosis [IL= (Promedio de la intensidad de la lordosis obtenida en 10 montas) (10)].

Los resultados del experimento 1 indicaron que la apelina-13 administrada en el HVM, facilitó la CL de hembras previamente estrogenizadas. Así, la administración de 0.37, 0.75, 1.5 y 15 μg de apelina-13 incrementó el QL y la IL a los 30, 120 y 240 min, además la dosis de 0.75 μg de apelina-13, es la dosis que incrementó más el QL y la IL. En el experimento 2, la única dosis de apelina-13 que incrementó el QL fue la correspondiente a 0.75 μg , tanto a los 120 como a los 240 min. Esta misma dosis incrementó la IL a los 240 min, mientras que, las dosis de 0.37 y 1.5 μg de apelina-13 no presentaron diferencias estadísticamente significativas.

Con base a los resultados obtenidos, se puede concluir que la apelina-13 facilitó la CL cuando se administró preferentemente en el HVM, así como en el APOM, además, la dosis de apelina-13 que mostró un mayor efecto sobre la CL en ambas áreas cerebrales fue la de 0.75 μg . Considerando que el HVM y el APOM participan en la CL, en donde el primero facilita y la segunda inhibe dicha conducta, podemos especular que en el HVM la apelina-13 facilita la CL probablemente a través de la activación del ON, ya que estudios realizados previamente en nuestro laboratorio y otros, mostramos que la administración de inhibidores de la vía del ON participan en la CL facilitada por la administración intracerebroventricular del Br-GMPc, la GnRH, la leptina, la PGE2, la progesterona y sus metabolitos.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Conducta sexual en la rata	1
1.2 Ciclo estral de la rata	2
1.3 Regulación hormonal de la conducta de lordosis	3
1.4 Regulación nerviosa de la conducta de lordosis	4
1.5 Circuito nervioso de la conducta de lordosis	8
1.6 Participación del receptor de la progesterona en la expresión de la conducta de lordosis ..	10
1.7 Apelina-13	11
2. ANTECEDENTES	15
2.1 Compuestos que facilitan la conducta de lordosis	15
2.2 Participación de péptidos, neurotransmisores y segundos mensajeros en la expresión de la conducta de lordosis	16
2.4 Modelo para la facilitación de la conducta de lordosis	18
2.5 Participación del HVM y el APOM en la facilitación de la conducta de lordosis	19
2.6 Apelina-13	20
3. JUSTIFICACIÓN	25
4. HIPÓTESIS	26
5. OBJETIVOS	27
6. METODOLOGÍA	28
6.1 Diseño experimental	29
Experimento 1. Participación de apelina-13 en el HVM sobre la expresión de la conducta de lordosis	29
Experimento 2. Participación de apelina-13 en APOM, sobre la expresión de la conducta de lordosis	30
7. RESULTADOS	33
Participación de apelina-13 en el HVM sobre la expresión de la conducta de lordosis	33
Participación de apelina-13 en el APOM, sobre la expresión de la conducta de lordosis	35
8. DISCUSIÓN	37

9. CONCLUSIONES	41
10. PERSPECTIVAS	42
11. REFERENCIAS	43
12. GLOSARIO DE TÉRMINOS	65
13. PUBLICACIONES	69

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Conducta sexual en la rata

La conducta sexual femenina se define como el conjunto de patrones motores que realiza la hembra para copular con un macho sexualmente experto (Beach y cols. 1942). La expresión de dicha conducta es producida por la acción secuencial del estradiol (E) y la progesterona (P), así como de otras moléculas con diferente estructura química como: la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), la prostaglandina E2 (PGE2), la noradrenalina (NA), la desoxicorticosterona (DOC), el benzoato de estradiol (BE) y la hormona α -estimulante de melanocitos (α -MSH). Además de ser las responsables de que se presenten aspectos de atractividad y de patrones conductuales característicos de su estado reproductivo, conocidos como proceptividad y receptividad (Beach y cols. 1942; Beach, 1976; Beyer y González-Mariscal, 1986).

Atractividad

La atractividad se refiere a los eventos no conductuales que presenta la hembra, específicamente aquellos aspectos fisiológicos y anatómicos, como el cambio de coloración en la región perigenital y la emisión de feromonas (Beyer y cols. 2007). Estos cambios son característicos del estado reproductivo de la hembra y promueven la interacción sexual con un macho sexualmente experto (Beach, 1976).

Proceptividad

Este aspecto comprende patrones motores que despliega la hembra y que son dirigidos hacia el macho para motivarlo a copular con ella. Dichas conductas se refieren a una serie de pequeños brincos sobre sus cuatro patas (hopping), carreras cortas (darting) en forma de zig-zag y al orejeo (ear-wiggling), el cual es producido por la vibración de alta frecuencia de la cabeza de la hembra (Beach, 1976).

Receptividad

La receptividad es el patrón conductual más representativo de la hembra en estro y es caracterizada por la presencia de la conducta de lordosis (CL). Dicha conducta implica la postura

de dorsiflexión de la columna vertebral, acompañada de la elevación de la cabeza y la grupa, además de la desviación de la cola, dejando expuesto el orificio vaginal (Komisaruk y Diakow, 1973), lo que permite la inserción del pene en la vagina y la eyaculación (Beach, 1976; Morali y Beyer, 1979).

La CL es evaluada a través del cociente de lordosis [$LQ = (\text{número de lordosis}/10 \text{ montas}) \times 100$] y la intensidad de lordosis [$IL = (\text{intensidad de dorsiflexión}/10 \text{ montas}) \times 10$]. La IL es un parámetro que mide el nivel de receptividad de la hembra y para medirlo se utiliza una escala de 0 a 3, así como se ilustra en la Figura 1. El grado 0 representa la ausencia de lordosis. La lordosis grado 1 o marginal, es una leve flexión de la columna vertebral, así como una ligera elevación de la cabeza y la grupa, seguida por la elevación de la base de la cola, es decir su columna presenta un ángulo recto. Lordosis grado 2 o normal, se refiere a la dorsiflexión de la columna vertebral, con la elevación de la cabeza a un ángulo de 30° respecto al suelo, acompañada de una ligera extensión de las patas delanteras, la elevación de la grupa y el movimiento lateral de la cola. Lordosis grado 3 o intensa, implica una pronunciada dorsiflexión de la columna vertebral y la elevación de la cabeza de 45° respecto al suelo.

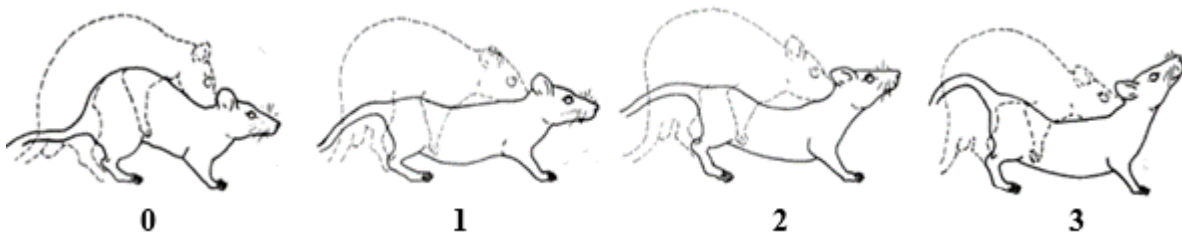


Figura 1. La imagen representa los diferentes grados de la IL basándose en la dorsiflexión de la columna vertebral de la hembra (modificada de Hardy y DeBold, 1971).

1.2 Ciclo estral de la rata

El ciclo estral es un proceso que describe el periodo de receptividad sexual que varía en cada especie dependiendo del tiempo en que ocurre la ovulación. La rata hembra presenta un ciclo de corta duración, 4 ó 5 días, debido a la ausencia de un cuerpo lúteo funcional (Freeman, 2005). Así en la Tabla 1 se describen las diferentes fases que se producen durante un ciclo estral normal en la rata (Heape, 1900). Estas fases se caracterizan por las variaciones en los niveles hormonales de E y P.

Tabla 1. Características del ciclo estral de la rata hembra.

Fase del ciclo estral	Duración	Características conductuales	Niveles hormonales	Tipos de células
Proestro	12-14 h	Manifestación de la conducta sexual.	Durante la tarde-noche se presentan los siguientes niveles hormonales: P (46 ± 7 ng/ml). LH (1347 ± 519 ng/ml). FSH (570 ± 42 ng/ml). Prolactina (254 ± 34 ng/ml). E (88 ± 2 pg/ml).	Predominan células epiteliales nucleadas (+++). Pocas células escamosas (+).
Estro	25-27 h	La hembra muestra el máximo nivel de receptividad sexual.	La P (46 ± 7 ng/ml) proveniente del cuerpo lúteo continúa elevada. Prolactina (241 ± 89 ng/ml). E (17 ± 2 pg/ml).	Presencia de células epiteliales cornificadas (+++) y escamosas (++)
Metaestro	6-8 h	Ausencia de receptividad sexual.	El cuerpo lúteo produce otro incremento de P (24 ± 3 ng/ml). E (21 ± 2 pg/ml).	Abundantes leucocitos (+++) y células epiteliales escamosas (+++).
Diestro	55-57 h	La hembra no cópula.	La P (24 ± 3 ng/ml) se encuentra elevada, mientras que el E (37 ± 5 pg/ml) es bajo.	Prevalen leucocitos (+++) y células epiteliales nucleadas (+).

LH = hormona luteinizante, FSH = hormona folículo estimulante, P = progesterona, E = estradiol, h = horas, + = pocas, ++ = muchas, +++ = abundantes células (modificada de Butcher y cols. 1974; Freeman, 2005).

1.3 Regulación hormonal de la conducta de lordosis

El $17\text{-}\beta$ estradiol y la P son las principales hormonas esteroides involucradas en la regulación de la CL, las cuales presentan fluctuaciones a lo largo del ciclo estral, por ejemplo: en la tarde del proestro, el $17\text{-}\beta$ estradiol alcanza su nivel máximo (88 ± 2 pg/ml; Butcher y cols. 1974), mientras que en la noche del proestro, la P alcanza su nivel más alto (46 ± 7 ng/ml; Butcher y cols. 1974). Sin embargo, solo la administración repetida de los estrógenos (estradiol,

estrona y estriol) durante 10 días, también facilita la CL en ratas OVX (Beyer y cols. 1971). Además, la administración de BE a un rango de dosis de 0.48 a 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso, a ratas OVX, muestra que conforme se incrementa las dosis de BE disminuye la latencia de lordosis, mientras que la intensidad y la duración de la conducta incrementa (Zemlan y Adler, 1977). Experimentos realizados por Beyer y cols. (1971), mostraron que el 17- β estradiol fue el estrógeno más potente, seguido de la estrona y el estriol para inducir receptividad sexual en ratas OVX.

Además, la administración de P incrementa la receptividad y es la responsable de inducir las conductas proceptivas (Beach y cols. 1942; Beyer y cols. 1980). Por lo tanto, para que la P dispare la CL se requiere que la rata reciba una previa administración de estrógeno, al menos 12 ó 18 horas antes, ya que se conoce que esta hormona es la responsable de producir la síntesis del receptor de la P (RP; Parsons y cols. 1980). La eficacia de esta hormona en la facilitación de la conducta sexual femenina dependerá tanto de la vía de administración como de la concentración administrada. Por ejemplo, las dosis de 100 a 400 μg de P por vía intravenosa (IV) facilita CL a los 15 min post administración (Kubli-Garfias y Whalen, 1977), mientras que 200 μg , administrados por vía subcutánea, es suficiente para producir el mismo efecto facilitador de la CL (Whalen y Gorzalka, 1972), de 2 a 6 horas después (Glaser y Barfield, 1984). Cabe mencionar, que la P incrementa su eficacia al ser metabolizada a una serie de metabolitos reducidos en su anillo A como la 5 α -dihidroprogesterona (Whalen y Gorzalka, 1972).

1.4 Regulación nerviosa de la conducta de lordosis

Las áreas cerebrales asociadas con la facilitación de la conducta sexual femenina están localizadas en la región diencefálica, como el hipotálamo ventromedial (HVM), la sustancia gris central periacueductal (PAG; Sakuma y Pfaff, 1979) y la formación reticular mesencefálica (Ross y cols. 1971). Las estructuras relacionadas con la inhibición de esta conducta son las áreas cerebrales que se encuentran más rostrales, como el área preóptica media (APOm), el septum y el bulbo olfatorio (Figura 2, Pfaff, 1994). A continuación, se describirá con mayor detalle las áreas cerebrales que se han relacionado en la regulación de la conducta sexual en roedores.

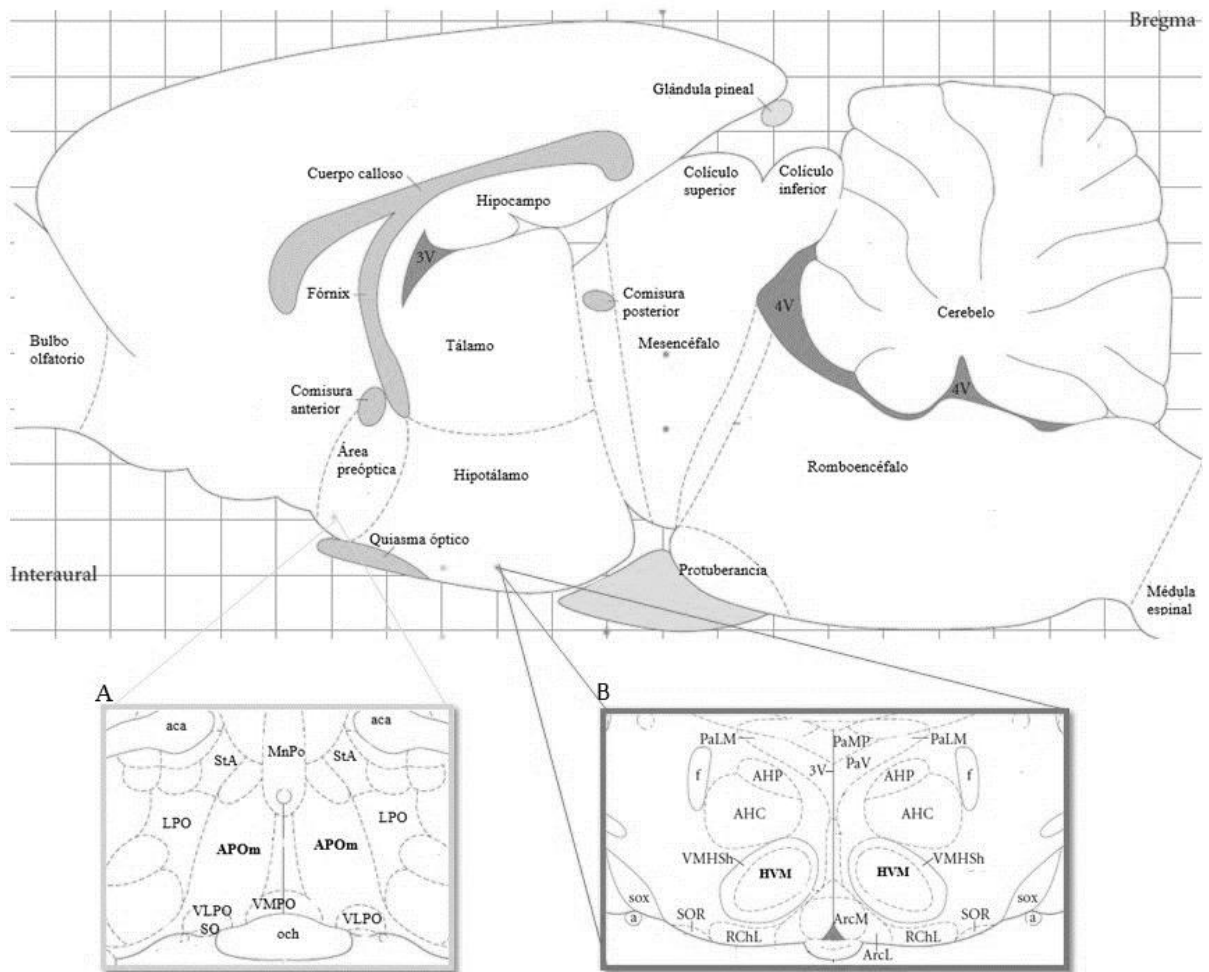


Figura 2. Representación esquemática del encéfalo de rata. A) Sección transversal del área preóptica. Área preóptica media = APOm; núcleo preóptico ventrolateral = VLPO; núcleo preóptico ventromedial = VMPO; núcleo supraóptico = SO; quiasma óptico = och; área preóptica lateral = LPO; núcleo preóptico medio = MnPo; comisura anterior = aca. B) Sección transversal del hipotálamo. Hipotálamo ventromedial = HVM; área hipotalámica anterior, parte central = AHC; área hipotalámica anterior, parte posterior = AHP; núcleo hipotalámico paraventricular, parte lateral magnocelular = PaLM; núcleo hipotalámico paraventricular, parte medial parvicelular = PaMP; área retroquiasmática, parte lateral = RChL; núcleo arcuato, parte medial = ArcM; fórnix = f; núcleo supraóptico, parte retroquiasmática = SOR; decusación supraóptica = sox; tercer ventrículo = 3V; cuarto ventrículo = 4V (modificada de Paxinos y Watson, 2006).

Diencefalo

En la región diencefálica se localizan diversos núcleos cerebrales involucrados en la facilitación de la CL, como el HVM (Pleim y cols. 1993), dorsomedial (Erskine, 1989; Tetel y

cols. 1993) y el núcleo paraventricular (Flanagn y cols. 1996; Yang y Voogt, 2002) del hipotálamo.

Núcleo hipotalámico ventromedial

El HVM es un núcleo importante en la facilitación de la CL, este núcleo junto con la PAG (Figura 3), presentan conexiones con el núcleo premamilar del hipotálamo, el APOm, el núcleo del techo de la estría terminal y la amígdala medial (Luiten y cols. 1985; Simerly y Swanson, 1986; Fahrbach y cols. 1989; Canteras y cols. 1994). Además, el HVM recibe estímulos sensoriales del sistema olfatorio, de los flancos, la vagina y el clítoris (Pfaff y Sakuma, 1979; Luiten y cols. 1985; Fahrbach y cols. 1989; Marson, 1995).

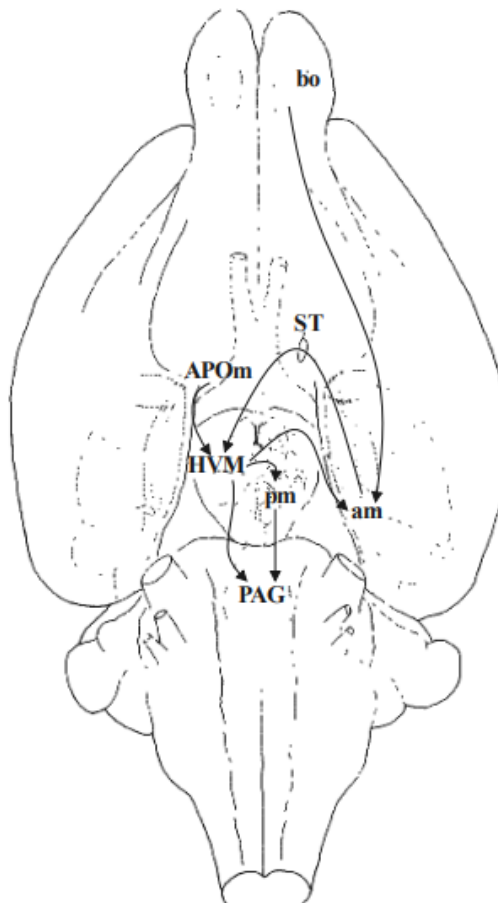


Figura 3. Ilustración de las aferencias y eferencias del HVM. APOm = área preóptica media; am= amígdala; pm= núcleo premamilar; ST = núcleo del techo de la estría terminal; PAG = sustancia gris central periacueductal; bo = bulbo olfatorio; HVM = Hipotálamo ventromedial (modificada de Luiten y cols. 1985).

Estudios inmunocitoquímicos y auto-radiográficos han mostrado que las células del HVM presentan receptores de estrógeno (RE) y RP (Sakuma y Pfaff, 1979), por lo que la administración de pequeñas cantidades de esos esteroides en el HVM facilita la CL en ratas OVX (Blaustein y cols.1987). También, la administración de E directamente en el HVM induce receptividad sexual en hembras OVX (Dorner y cols. 1968). Además, las neuronas del HVM de ratas hembra pretratadas con BE y P, expresan Fos y al RP. Por lo tanto, el HVM mantiene el estímulo tónico y es el lugar en donde convergen las señales hormonales involucradas en la expresión de la CL (Flanagan- Cato y cols. 2006).

Por otra parte, las lesiones bilaterales en el HVM con electrodos de platino-iridio, disminuyen gradualmente la CL después de 12 horas posteriores a la lesión (Singer 1968, Malsbury y cols. 1977, Pfaff y Sakuma, 1979), en hembras pretratadas con E (Mathews y Edwards, 1977a, 1977b) y con P (Kennedy, 1964). Además, la estimulación eléctrica de 12.5 mA, durante más de 15 min de esta estructura cerebral, facilita la CL (Pfaff y Sakuma, 1979) en ratas pretratadas con dosis bajas de BE (Singer, 1968; Malsbury y cols.1977; Pfaff, 1980).

Área preóptica media

El APOm participa en el control de la CL (Veening y cols. 2014), debido a que presenta conexiones nerviosas con el HVM (Pfaff, 1980; Smierly y Sawnsen, 1986; Fahrbach y cols. 1989), y ejerce efectos inhibitorios sobre la CL, ya que la estimulación eléctrica del APOm disminuyen la IL (Napoli y cols. 1972) e incrementan las conductas de rechazo (vueltas, boxeo, patadas o huidas) en ratas OVX pretratadas con BE y P (Sakuma y Pfaff, 1979). Por otra parte, la lesión de esta área en la rata hembra adulta OVX facilita la CL (Malsbury y cols. 1980) y requiere de menor cantidad de E para provocar este efecto (Singer, 1968).

Estudios de autorradiografía e inmunocitoquímica han evidenciado que las neuronas del APOm tienen RE y RP, debido a que la administración de E en forma de cristales, restauran la CL en hembras OVX (Pfaff y Sakuma, 1979; Wilcox y cols. 1984). Este mismo efecto se observa cuando la P se administra directamente en el APOm de ratas OVX pretratadas con dosis bajas de BE (Beyer y cols. 1988).

Tallo cerebral

El tallo cerebral participa en el control de la CL, ya que la estimulación vagino cervical ocasionada durante el apareamiento converge en poblaciones de neuronas noradrenérgicas A1 y A2 del puente y del bulbo raquídeo (Cunningham y Sawchenko, 1988; Luckman, 1995; Yang y Voogt, 2001; Cameron y cols. 2004); en neuronas caudales del núcleo del tracto solitario que responden a la estimulación del cérvix (Hubscher y Berkley, 1994) y el área tegmental ventral (Coria-Avila y Pfau, 2007); así como en el cerebelo (Paredes-Ramos y cols. 2011).

Asimismo, las neuronas de la formación reticular medular y del núcleo vestibular lateral son responsables de integrar las señales provenientes de la periferia y del HVM, que a su vez envían señales descendentes por las neuronas retículo-espinales y vestibulo-espinales (Pfaff, 1980).

Mesencéfalo

En la región mesencefálica se localiza la PAG, involucrada en el control de la CL debido a que presenta proyecciones descendentes del HVM (Pfaff y Sakuma, 1979a, 1979b; Flanagan-Cato y McEwen, 1995; Flanagan-Cato y cols. 2006; Flanagan-Cato, 2011); a su vez envía proyecciones al tallo cerebral y la médula espinal. La vía descendente de la PAG se dirige hacia las neuronas del núcleo reticular gigantocelular (Sakuma y Pfaff, 1979), y se proyectan hacia la médula espinal (Mantyh, 1983). Además, la infusión de GnRH (Riskind y Moss, 1983; Dudley y Moss, 1987), prolactina y sustancia P (Dornan y cols. 1987) en la región dorsolateral y lateral de la PAG facilita la lordosis (Sakuma y Pfaff, 1980, 1983). Por otra parte, la lesión electrolítica de la PAG disminuye la CL en ratas OVX y pretratadas con E (Pfaff y Sakuma, 1979).

1.5 Circuito nervioso de la conducta de lordosis

La CL se produce por la integración de una serie de eventos sensoriales desencadenados cuando el macho monta a la hembra, al palparle sus flancos, estimular la base de la cola, la grupa y el periné, tal y como se muestra en la Figura 4. Los estímulos perineales ingresan a través de los segmentos lumbares 5, 6 y sacro 1, en donde el nervio pudendo lleva la información sensorial; y los estímulos originados en la piel de los flancos entran por los ganglios de la raíz dorsal a los segmentos lumbares 1 y 2. Estos estímulos activan receptores cutáneos de presión

que envían sus señales a la médula espinal para excitar a las interneuronas de la asta dorsal, denominadas unidades de presión de tipo II; que activan fibras ascendentes de la columna anterolateral de la médula espinal propagando su estímulo hasta la formación reticular del tallo cerebral, al núcleo vestibular lateral y a la PAG (Pfaff, 1980). Así, la formación reticular recibe señales sensoriales de la PAG, que a su vez recibe señales descendentes del HVM, responsable de mantener el estímulo tónico sobre la PAG. De esta manera, las neuronas de la formación reticular del tallo cerebral integran las señales provenientes de la vía aferente a través de los nervios retículo-espinales y vestibulo-espinales, lo que provoca la activación de las motoneuronas responsables de generar la contracción de los músculos *lateral longissimus* y transverso-espinal lumbar, encargados de producir la dorsiflexión de la columna vertebral de la hembra (Pfaff y Sakuma, 1980).

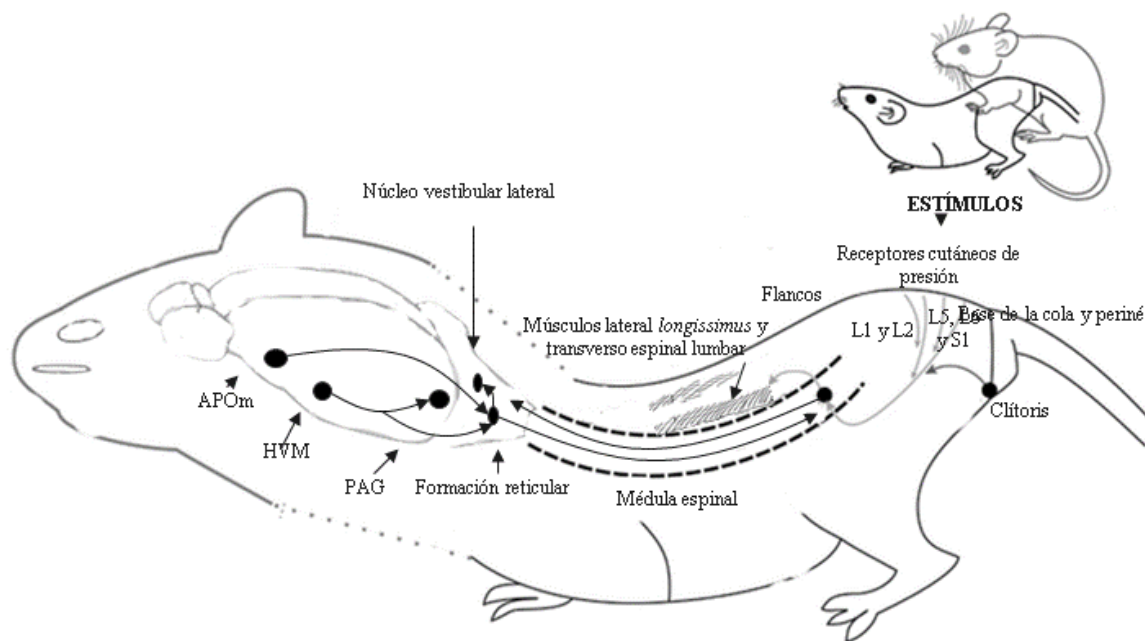


Figura 4. El circuito nervioso de la CL. La imagen indica las señales provenientes de la periferia, a través de los estímulos provocados por la monta del macho, así como la estimulación de la base de la cola, el periné y los flancos (modificada de Wunsch, 2014).

1.6 Participación del receptor de la progesterona en la expresión de la conducta de lordosis

El RP es un factor de transcripción que se expresa en el núcleo periventricular anteroventral, el APOm, el núcleo arqueado y el HVM (Numan y cols.1999), también se ha detectado en oligodendrocitos (Jung-Testas y cols.1996). El RP presenta dos isoformas, denominadas RP-A (86-90 KDa) y RP-B (110-120 KDa), producidos por el gen *PGR* (Progesterone receptor), localizado en el cromosoma 11q22.1. Las isoformas (RP-A y RP-B) son generadas por distintos promotores de ese mismo gen (Conneely y cols. 1989; Kastner y cols.1990). La isoforma B contiene 165 aminoácidos adicionales más que la isoforma A en su extremo amino terminal (Giangrande y McDonnell, 1999). Además, ambas isoformas tienen funciones diferentes, debido a que el RP-B es un activador transcripcional, mientras que el RP-A es un represor de la actividad transcripcional, mediado por el RP-B y por receptores a esteroides como estrógenos, glucocorticoides, mineralocorticoides y andrógenos (McDonnell y Goldman, 1994).

La estructura del RP está conformada por cuatro dominios, en la Tabla 2 se indica sus características.

Tabla 2 Características de los dominios del Receptor de la Progesterona.

Dominio	Características
A/B	Localizado en el extremo amino terminal del receptor. Regula la transcripción de genes blanco. La MAPK participa en la fosforilación del residuo de serina 294, la caseína II en serina 81 y la CDK en residuos de serina 25, 162, 190, 213, 400, 554 y 676 del receptor. Presenta una región rica en prolina que le permite la interacción con el dominio SH3 de la tirosina cinasa Src.
C	Implicado en la unión al ADN. Presenta dedos de zinc, responsables de la interacción con elementos de respuesta a la P ubicados en el ADN.
D	Se ubican las señales de localización nuclear. Participa en los procesos de estabilización del receptor cuando se une a proteínas de choque térmico.
E	Localizado en el extremo carboxilo terminal del receptor. Dominio de unión a la hormona. Contiene una función de transactivación AF-2 dependiente de su ligando.

MAPK = proteína cinasa activada por mitógeno, CDK = cinasa dependiente de ciclinas participa, P = progesterona (modificada de Edwards y cols. 2002).

La administración intracerebroventricular (ICV) de la antiprogestina del RP, el RU486, inhibe la CL facilitada por la P, la progestina sintética R5020 (Brown y Blaustein, 1984), y por la estimulación vagino cervical (Beyer y cols.1995), así como por la GnRH, la PGE2 y el adenosín monofosfato cíclico (AMPc, Beyer y cols. 1997). Además, la administración ICV de PD98059 (antagonista de MAPK) también inhibe la conducta de estro, facilitada por P y sus metabolitos reducidos en el anillo A (González-Flores y cols. 2004), y por el 8-bromo-GMPc, análogo del segundo mensajero guanilato monofosfato cíclico (GMPc, González-Flores y cols. 2004).

Por otra parte, la administración de 17- β estradiol en el HVM o APOm facilita la síntesis del RP y se ha mostrado que el inicio y terminación de la CL facilitada por la P coincide con la aparición y desaparición del RP (Parsons y cols. 1980). Además, la aparición del RP en el HVM y en el APOm precede al inicio de la CL (Blaustein y Feder, 1980).

1.7 Apelina-13

La apelina-13 es una adipocina (Boucher y cols. 2005), que ha sido identificada en la rata (Habata y cols. 1999; Lee y cols. 2000), el humano (Tatemoto y cols. 1998; Habata y cols. 1999; Lee y cols. 2000), peces (Zeng y cols. 2007) y anfibios (Kakizawa, 2016).

En la rata, la expresión de apelina-13 y su receptor es mayor en pulmón, glándula mamaria, ovario, testículo (Kawamata y cols. 2001), médula espinal, corazón, cerebro, músculo esquelético, y tejido adiposo (O'Dowd y cols. 1993; Edinger y cols. 1998; Devic y cols. 1999; Lee y cols. 2000; O'Carroll y cols. 2000 y Medhurst y cols. 2003). En el humano, la apelina-13 se expresa en células endoteliales de arterias y venas, corazón, pulmones, tracto gastrointestinal, bazo, hígado, páncreas (Tatemoto y cols. 2001), cerebro, riñón, pulmón, útero, ovario y testículo (Kleinz y Davenport, 2005; Kakizawa, 2016).

En el cerebro de la rata, la apelina-13 se expresa en neuronas de la protuberancia; los núcleos arcuato, supraóptico, paraventricular (Reaux y cols. 2001; 2002), dorsomedial y ventromedial del hipotálamo; así como en el área preóptica media y preóptica lateral (Reaux y cols. 2001; 2002; Kurowska y cols. 2018), además, de neuronas del hipocampo (O'Donnell y

cols. 2007). Por otra parte, el receptor de apelina-13, el APJ, también ha sido identificado en el cuerpo lúteo, células de la granulosa y de la teca (Shirasuna y cols. 2008; Shimizu y cols. 2009).

Vías de procesamiento de la apelina-13

La apelina-13 se forma a partir de la preproapelina constituida por 77 aminoácidos, mediante la acción de una endoproteasa que divide a esta en una proproteína de 55 residuos, conocida como proapelina (Kurowska y cols. 2018; Kawamata y cols. 2001; Estienne y cols. 2019). La proapelina origina fragmentos específicos que varían de 13 a 36 aminoácidos (apelina-36, apelina-17, pyr-apelina-13 y apelina-13), mediante la acción de la proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 3 (PCSK3, Shin y cols. 2013) origina el fragmento de 13 aminoácidos denominado apelina-13; tal y como se muestra en la Figura 5, conservando 12 residuos carboxilo-terminales en todas las isoformas (Tatemoto y cols. 2001), mientras que, las isoformas apelina-36 y 17 son producidas por otras endoproteasas no identificadas (Figura 6).

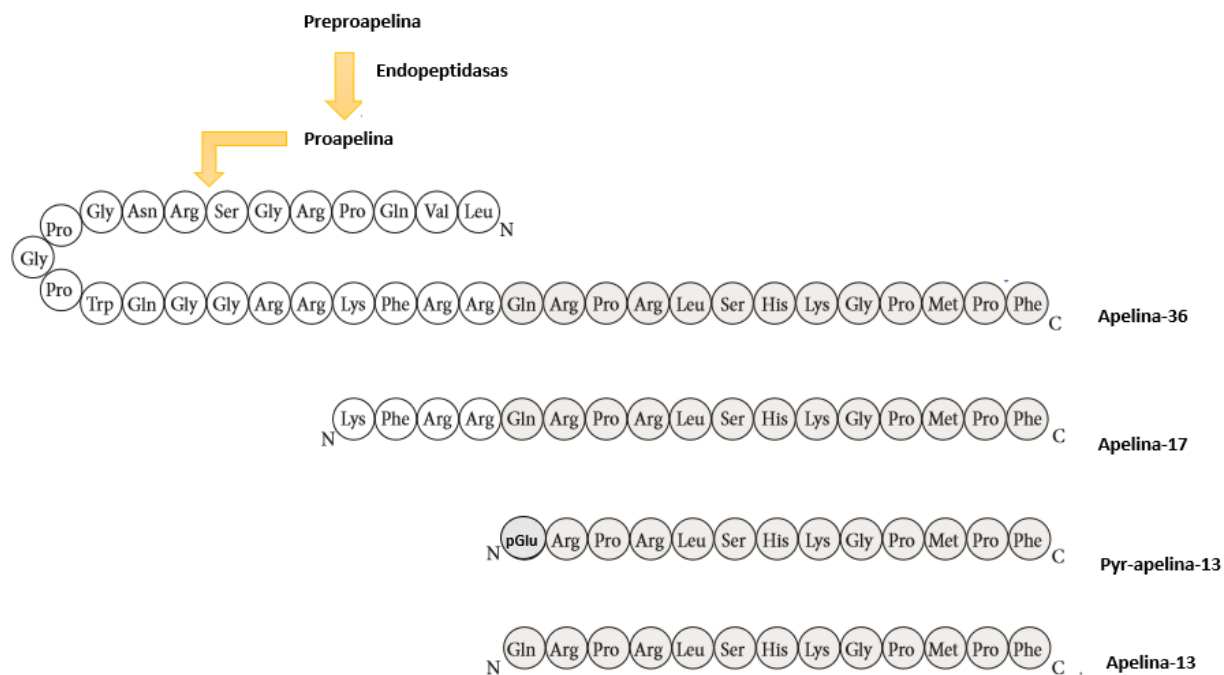


Figura 5. Aminoácidos que conforman las diferentes isoformas de apelina: apelina-36, apelina-17, pyr-apelina-13 y apelina-13 (modificada de Kurowska y cols. 2018).

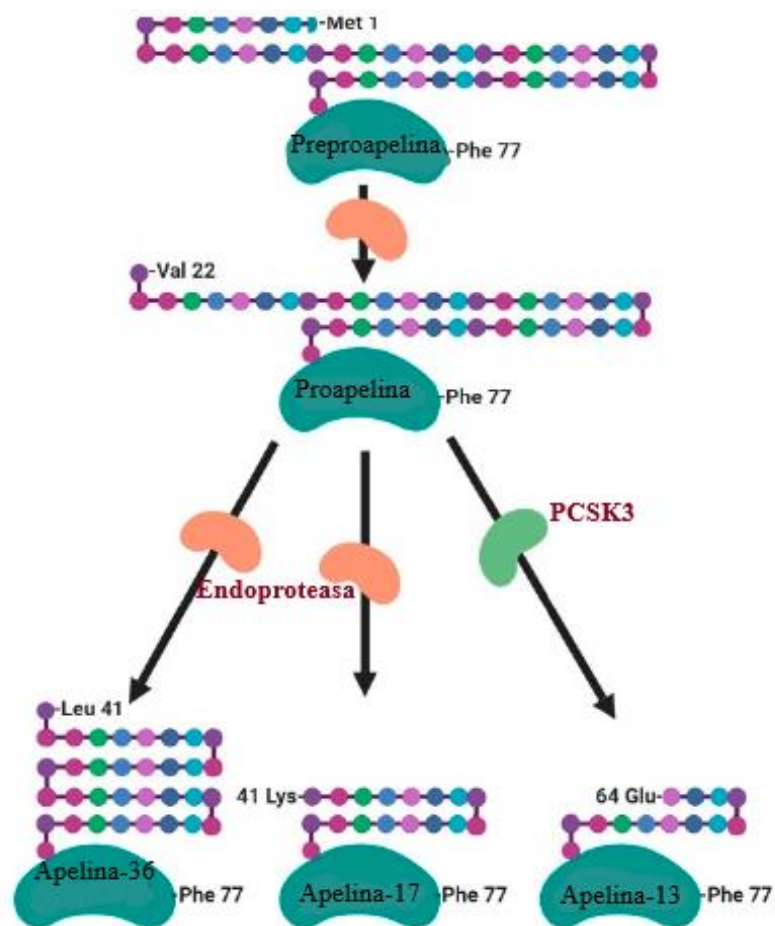


Figura 6. Se ilustra el mecanismo por el cual, a partir de proapelina se originan las isoformas apelina-36, apelina-17 y apelina-13. PCSK3 = proproteína convertasa subtilisina / kexina tipo 3 (modificada de Estienne y cols. 2019).

Por lo tanto, la apelina 13 es una adipocina sintetizada y secretada por el tejido adiposo (Boucher y cols. 2005; Higuchi y cols. 2007), también se encuentra con mayor abundancia en corazón y cerebro (Lee y cols. 2000; O'Carroll y cols. 2000). Además, es el fragmento de mayor actividad biológica (Kawamata y cols. 2001; Masri y cols. 2005; Knauf y cols. 2013) y ejerce un importante papel en el metabolismo (Sunter y cols. 2003).

En los humanos el gen que codifica la síntesis de apelina-13 es *APLN*, ubicado en el cromosoma Xq25 26.1 y está constituido por tres exones (Lee y cols. 2000), mientras que en la rata el gen *Apln*, se localiza en el cromosoma Xq36 y está conformado por 4 exones.

Receptor de apelina-13

El receptor de la apelina-13 (también conocido como APJ, APLNR y AGTRL1) pertenece a la clase A de la familia de receptores acoplados a proteínas G (Figura 7). El APJ (*a putative receptor protein related to the angiotensin-type 1 receptor*; por sus siglas en inglés) es similar al receptor de angiotensina 1, sin embargo, la angiotensina no se une a este receptor. Por tal motivo, se le designó el término de receptor huérfano, ya que hasta ese momento se desconocía cuál era su ligando (O'Dowd y cols. 1993). Posteriormente, la apelina-13 se aisló de extractos de estómago de bovino, a través de un ensayo de acidificación, y se identificó como el ligando del receptor APJ (Tatemoto y cols. 1998). Otro ligando que se une al APJ es el péptido Elabela (Chng y cols. 2013; Pauli y cols. 2014) por lo que ambos compuestos constituyen un sistema de doble ligando para regular la activación del APJ (Jiang y cols. 2021). En el humano, el APJ se localiza en la banda q12 del cromosoma 11 y en la rata se localiza en la banda q24 del cromosoma 3, además, el receptor presenta sitios de consenso para la fosforilación por la proteína cinasa A (PKA), así como un sitio para la palmitoilación y glicosilación (O'Dowd y cols. 1993).

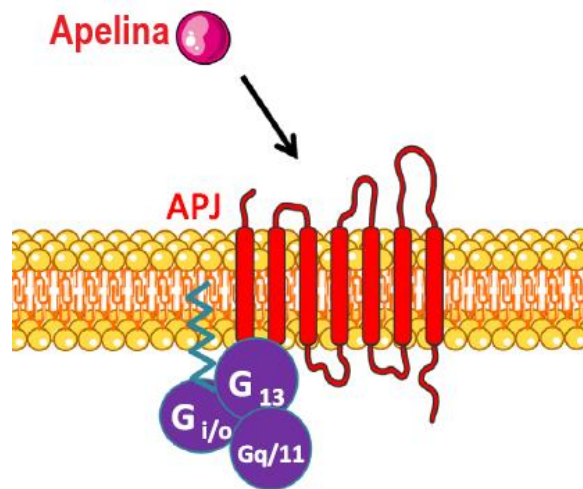


Figura 7. Esquema del receptor APJ acoplado a proteínas G (modificada de Chaves-Almagro y cols. 2015).

2.ANTECEDENTES

2.1 Compuestos que facilitan la conducta de lordosis

El E y la P participan en la facilitación de la CL, sin embargo, la administración de otros compuestos también la facilitan, tal es el caso de algunos péptidos, proteínas, neurotransmisores y segundos mensajeros (Tabla 3).

Tabla 3 Compuestos facilitadores de la lordosis.

	Compuestos que facilitan la lordosis
PÉPTIDOS	Oxitocina (Caldwell y cols. 1986) GnRH (Moss y Foreman, 1976) α -MSH (Thody y cols. 1981) Leptina (García-Juárez y cols. 2011)
PROTEÍNAS	Prolactina (Harlan y cols. 1983)
NEUROTRANSMISORES	NA (Etgen y cols. 1999) DA (Foreman y Moss. 1978) GABA (McCarthy y cols. 1990)
SEGUNDOS MENSAJEROS	AMPc (Beyer y Canchola, 1981) GMPc (Chu y cols. 1999)
PROSTAGLANDINAS	PGE2 (Hall y Luttge, 1977)

La hormona liberadora de gonadotrofinas = GnRH; hormona alfa estimulante de los melanocitos = α -MSH; noradrenalina = NA; dopamina = DA; ácido γ -butírico = GABA; adenosín monofosfato cíclico = AMPc; guanilato monofosfato cíclico = GMPc; prostaglandina E2 = PGE2.

La mayoría de estos agentes actúan sobre receptores de membrana acoplados a proteínas G asociadas con adenilato ciclasa. Por ejemplo, la administración de dibutilil-AMPc

intracerebral o subcutánea facilita la CL en ratas OVX previamente tratadas con estrógeno (Beyer y cols. 1980). La administración de inhibidores de fosfodiesterasas como teofilina y metil isobutil xantina prolongan la acción del AMPc, al inhibir su degradación y aumentar la respuesta a GnRH. Por otra parte, el GMPc facilita también la CL en ratas OVX previamente estrogenizadas (Fernández-Guasti y cols. 1983; Chu y Etgen, 1997). Además, en la tarde del proestro, los niveles de AMPc y GMPc incrementan en el hipotálamo, específicamente, cuando la estimulación de la conducta de estro inicia (Kimura y cols. 1980).

2.2 Participación de péptidos, neurotransmisores y segundos mensajeros en la expresión de la conducta de lordosis

La GnRH participa en el control neuroendocrino de las funciones reproductivas, y es secretada por neuronas hipotalámicas. Además, es liberada en forma de pulsos y puede ser regulada por señales externas al hipotálamo como los estrógenos (Kaiser y cols. 1997). Por otra parte, la estimulación vagino cervical provoca la liberación de GnRH (Bibeau y cols. 1991; Pfau y cols. 1994; Caba y cols. 2000) y está involucrada en la facilitación de la CL (Komisaruk, 1971; Rodríguez-Sierra y cols. 1975; González-Flores y cols. 2007), ya que la administración de antide (antagonista del receptor GnRH-1) disminuye la CL facilitada por P, los metabolitos de la P reducidos en el anillo A (Gómora-Arrati y cols. 2008), leptina (García-Juárez y cols. 2011) y tibolona (García-Juárez y cols. 2020).

Por otra parte, la leptina es un péptido sintetizado por el tejido adiposo (Trayhurn y cols. 1999), y el benzoato de estradiol (BE) induce su síntesis en ratas y humanos (Shimizu y cols. 1997). A este péptido se le ha considerado que tiene un papel anorexígeno y también está involucrado en la expresión de conducta sexual femenina dependiendo del estado nutricional de los animales (Wade y cols. 1997). La administración de leptina en ratas restablece la ovulación inhibida por el ayuno debido a que provoca la liberación de GnRH (Schneider y cols. 1998). Asimismo, la administración ICV de 1 y 3 µg de leptina facilitan la CL a través de la GnRH, que a su vez activa a los receptores GnRH-1 y al RP (García-Juárez y cols. 2011). En ese trabajo se mostró que la CL facilitada por leptina requiere de la participación de la vía de ON-GMPc-PKG, ya que la administración ICV de L-NAME (inhibidor de ONS), ODQ (inhibidor de

guanilato ciclasa) y KT5823 (inhibidor de PKG) disminuyen la CL en ratas pretratadas con E (García-Juárez y cols. 2012).

Etgen y cols. (1999) propusieron que la NA liberada en el hipotálamo favorece el despliegue de la CL al actuar sobre sus receptores α -adrenérgicos y estimular la síntesis de óxido nítrico (ON), en hembras previamente estrogenizadas, mientras que la administración de morfina inhibe la liberación de NA. Además, la liberación de la LH coincide con la liberación de NA en el hipotálamo y el APOM. Por lo tanto, la NA y sus receptores participan en la conducta sexual y en la regulación de la ovulación (Fernández-Guasti y cols. 1987).

Por otro lado, el ON actúa como una molécula señal que es sintetizado a partir de la desaminación del aminoácido L-arginina, a través de la enzima óxido nítrico sintasa (ONS), que, a su vez, es activada por el incremento intracelular de Ca^{2+} (Xie y cols. 1992). En presencia de oxígeno y del dinucleótido de nicotinamida adenina fosfato reducido, el aminoácido L-arginina es transformado a N-hidroxi-L-arginina, para finalmente sintetizar ON y L-citrulina. El ON activa a la enzima guanilato ciclasa soluble, responsable de producir GMPc a partir de GTP (Dawson y cols. 1992). Una vez sintetizado el GMPc se une a las subunidades reguladoras de la proteína cinasa G (PKG), activándola para que sea capaz de fosforilar proteínas. El incremento de GMPc producido por la acción de ON, induce la ovulación, así como la relajación del músculo uterino (McCann y cols. 1999). Además, a lo largo del ciclo estral se presentan fluctuaciones en los niveles de GMPc, presentando un incremento en la tarde-noche del proestro en el hipotálamo de la rata (Kimura y cols. 1980).

Mani y cols. (1994) describen que el ON está involucrado en la neurotransmisión y en la conducta sexual femenina, ya que en el hipotálamo hay una gran cantidad de neuronas que contienen ONS, las cuales participan en la liberación de GnRH y como consecuencia se genera la ovulación. Además, la vía de señalización del ON-GMPc-PKG participa en la CL facilitada por P y sus metabolitos reducidos en el anillo A (González-Flores y Etgen, 2004), así como la inducida por 8-bromo-GMPc en ratas pretratadas con E (González-Flores y cols. 2004). También, la administración ICV del inhibidor de ONS (N^G -monometil-L-arginina) reduce la expresión de la CL en ratas pretratadas con E y P. Asimismo, la administración ICV de GnRH, prostaglandina E2 y el dibutiril-AMPC facilitan la CL a través de la vía del ON-GMPc-MAPK (González-Flores y cols. 2009).

2.4 Modelo para la facilitación de la conducta de lordosis

Los compuestos inductores de la CL como GnRH, α -MSH, PGE₂ y NA presentan similitudes en la latencia de la lordosis. Sin embargo, ninguno tiene afinidad por el RE o el RP. Por lo tanto, Beyer y cols. (1981) propusieron un modelo en donde convergen mecanismos genómicos y membranales. Este modelo inicia cuando el E entra por difusión pasiva a través de la membrana y se une a su receptor citoplasmático para formar un complejo hormona-receptor.

Dicho complejo es translocado al núcleo e induce la transcripción del ARNm. Posteriormente, se sintetizan proteínas inducidas por E en estado inactivo, que se ha propuesto que es el RP (Brown y cols. 1987). La activación del RP depende de la fosforilación por proteínas cinasas las cuales son inducidas por compuestos como la P, NA, PGE₂ o la GnRH (Guevara-Guzmán y cols. 2001; Ramírez-Orduña y cols. 2007) que al unirse sobre sus receptores localizados en la membrana celular, que a su vez, activan a segundos mensajeros intracelulares, que al unirse sobre sus correspondientes proteínas cinasas fosforilando (ej., uniendo grupos fosfatos a la molécula) a la proteína inducida por E, al RP, activándolo y así, facilitando la CL (Figura 8).

Por lo tanto, al RP se le ha atribuido que actúa como un mediador molecular común ya que puede ser fosforilado por diferentes cinasas (MAPK) para ser activado (Beyer y González-Mariscal, 1986; González-Flores y Etgen, 2004; Lange, 2004; Lima-Hernández y cols. 2012; García-Juárez y cols. 2013).

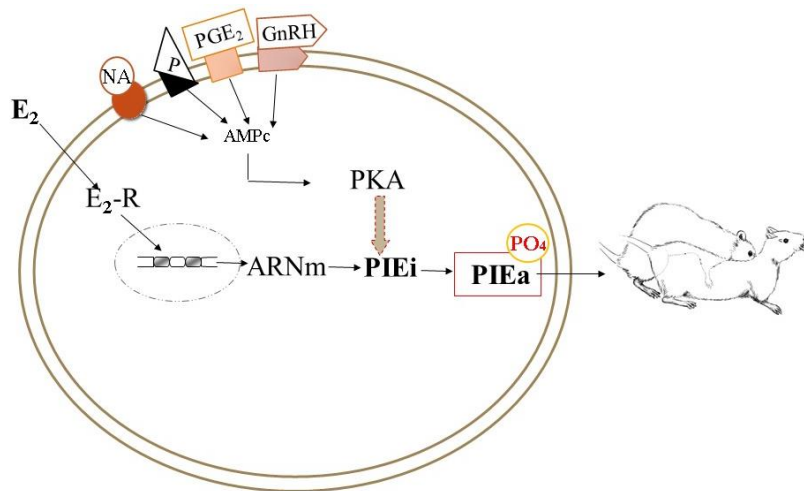


Figura 8. Modelo de comunicación cruzada entre los mecanismos membranal y genómico. La CL es generada a través de la unión de compuestos a la membrana de las células nerviosas para

activar cascadas de señalización que convergen en la activación de proteínas inducidas por estrógeno. Receptor de estrógeno = E2-R; noradrenalina = NA; pregnanos = P; prostaglandina E2 = PGE2; hormona liberadora de gonadotropinas = GnRH; ácido ribonucleico mensajero = ARNm; proteínas inducidas por estrógenos en forma inactiva = PIEi; proteínas inducidas por estrógenos en forma activa = PIEa; grupo fosfato = PO4 (modificada de Beyer y cols. 1981).

2.5 Participación del HVM y el APOm en la facilitación de la conducta de lordosis.

La administración de P y de algunos de sus metabolitos reducidos en el anillo A, serotonina, GABA, GnRH, oxitocina y estriquina, facilitan la expresión de la CL cuando se administran directamente en el HVM (Dornan y cols. 1990; Kow y cols. 1994; McCarthy y cols. 1990; Bale y Dorsa, 1995; Uphouse, 2000). Mientras que sustancias como glutamato, glicina, morfina y algunos otros ejercen un efecto inhibitorio (Sandoval y cols. 1988; Vathy y cols. 1991; Kow y cols. 1994). Sin embargo, la sustancia más importante, que afecta la estructura y función del HVM es el E, ya que numerosas neuronas en este núcleo cerebral expresan RE, RP y progestinas al ser sintetizadas por esta hormona (Blaustein y cols. 1988, 1994; Pfaff, 1980; McCarthy y Konkle, 2005; Simerly y cols. 1990; Flanagan-Cato, 2011).

La administración de sustancias neuromoduladoras directamente en el APOm, como la testosterona, la NA, GABA_A, GABA_B, β -endorfina y la LH ejercen efecto inhibitorio de la CL, mientras que, sustancias como P, naloxona, galanina, GnRH y oxitocina, administradas en el APOm facilitan la CL (Ward y cols. 1975; Bloch y cols. 1998; Moss y Foreman, 1976; foreman y Moss, 1979; Caldwell y cols. 1989; 1994).

Estudios realizados por McCarthy y cols. (1990), indican que el GABA juega un papel dual en la mediación de la CL, además, ejerce efectos diferentes en el HVM y el área preóptica anterior, ya que la administración de muscimol (agonista GABAérgico) directamente en el HVM de ratas pretratadas con BE y P incrementan el QL a los 10 y 30 min después de su administración, mientras que la infusión de bicuculina (antagonista GABAérgico) reduce el QL. Sin embargo, cuando se administra muscimol en el área preóptica anterior disminuye el QL y la administración de bicuculina favorece la expresión de esa conducta al incrementar la respuesta.

Existen sistemas inhibidores tónicos que modulan la CL en el APOm y el HVM, los cuales deben anularse para activar la CL, por ejemplo, la acción local de opioides μ y δ , y el glutamato, restringen la CL hasta que estos sistemas se inhiben por la acción de

neuroquímicos excitatorios como DA, adrenalina y oxitocina que superan la inhibición (Pfaus, 2009).

2.6 Apelina-13

En secciones anteriores señalamos las características estructurales de la apelina-13 y su papel en la actividad celular, mientras que, en esta sección se enfocará principalmente en su función. Así, la apelina-13 juega un papel muy importante en la progresión del ciclo celular de cultivos de células vasculares del músculo liso, al promover el paso de la fase G0/G1 a S, e incrementar los niveles de ciclina D1 y E (Li y cols. 2008). Al mismo tiempo, participa en la activación de la vía de señalización p-ERK 1/2 (subunidades de la MAPK)- ciclina D1, ya que el tratamiento con el inhibidor PD98059, reduce la activación de pERK1/2, así como la expresión de la ciclina D1 inducida por apelina-13 (Li y cols. 2008; Liu y cols. 2010). Además, se ha demostrado que la incubación de células vasculares del músculo liso con 1 μ M de apelina-13, incrementa la expresión de p-PI3K y p-Akt a partir de los 5 min post incubación, con un pico máximo a los 30 min. En presencia de LY294002, inhibidor de p-PI3K, disminuye la expresión de p-PI3K, p-Akt, p-ERK 1/2 y ciclina D1, asimismo el 1701-1, inhibe la expresión de p-Akt, p-ERK 1/2 y ciclina D1 inducida por apelina-13 (Liu y cols. 2010).

Existen neuronas apelinérgicas distribuidas en los diferentes núcleos hipotalámicos, por lo que se ha mostrado que la apelina-13 ejerce efectos sobre la liberación de hormonas hipofisarias al incrementar los niveles plasmáticos de la hormona adrenocorticotropa y al disminuir los niveles de prolactina, de LH y FSH en ratas macho (Taheri y cols. 2002).

La expresión de la apelina-13 y el APJ en diferentes núcleos cerebrales implica que la apelina-13 participa en distintas conductas, como en la mediación del dolor por su efecto antinociceptivo que involucra receptores opioides- μ (Lv y cols. 2012), así como en el aprendizaje y la consolidación de la memoria, en donde participa como un neuromodulador de los compuestos α -adrenérgicos, serotoninérgicos, colinérgicos, dopaminérgicos y GABAérgicos (Telegdy y cols. 2013). Por otra parte, se ha encontrado que ambas moléculas se expresan en ovocitos humanos en diferentes etapas del desarrollo folicular (Roche y cols. 2016).

En cultivos de células de la granulosa de bovinos, la FSH y la P estimulan la expresión del ARNm del APJ y en cultivos de células de la teca de porcinos, la LH induce la expresión de

apelina-13 y APJ, lo que sugiere que este compuesto desempeña un papel importante en la fisiología del folículo ovárico (Shimizu y cols. 2009). Asimismo, en cultivos de células de la granulosa de humanos, el factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF1) incrementa la expresión de apelina-13, apelina-17 y el gen que codifica para el APJ. También, la apelina-13 aumenta la esteroidogénesis inducida por IGF1 y por el incremento de la expresión de 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (Roche y cols. 2016).

Síntesis de apelina-13

La apelina-13 ha sido detectada en la periferia de adipocitos humanos y de ratón, lo que indica que estas células son responsables de la síntesis y secreción de la apelina-13 (Boucher y cols. 2005). También las células endoteliales vasculares y endocárdicas sintetizan apelina-13 (Kleinz y Davenport, 2005). La regulación de la producción de la apelina-13 por insulina involucra la participación de la fosfoinositol 3-cinasa (PI3K) y la PKC (Grønning y cols. 2002), así el estado nutricional influye en los niveles de la apelina-13. El ayuno inhibe la secreción de esta última, mientras que la ingesta de alimento restaura los niveles de esta adipocina (Boucher y cols. 2005).

Reaux y cols. (2002) identificaron la presencia de neuronas apelinérgicas distribuidas en el área preóptica, los núcleos supraópticos y paraventriculares hipotalámicos; el núcleo arqueado, así como en la protuberancia y el bulbo raquídeo. También se detectó la presencia de estas neuronas en la amígdala y en el núcleo talámico paraventricular, la PAG y el núcleo dorsal del rafe (De Mota y cols. 200; Reaux y cols. 2002). Sin embargo, el principal sitio en donde se localizan fibras nerviosas apelinérgicas es el hipotálamo (Reaux y cols. 2001; 2002; O'Carroll y cols. 2000; Brailoiu y cols. 2002), principalmente en los núcleos supraquiasmático, periventricular, dorsomedial, ventromedial y el área retroquiasmática: el tálamo y la eminencia media. Además, se han encontrado fibras innervando otros órganos circunventriculares como el órgano vascular de la lámina terminal, los órganos subfornical y subcomisural, así como el área postrema (Reaux y cols. 2001; 2002). La distribución topográfica de las neuronas apelinérgicas en el cerebro de la rata sugiere la participación de apelina-13 en el control de la ingesta de alimento (Sunter y cols. 2003; Tekin y cols. 2017), metabolismo de la glucosa (Drougard y cols. 2014), y en la disminución de LH, FSH y testosterona (Sandal y cols. 2015; Tekin y cols. 2017).

Por otra parte, se ha identificado el ARNm de la apelina-13 en la glándula mamaria de ratas gestantes y lactantes. Los niveles de expresión de la apelina-13 y de su ARNm incrementan gradualmente conforme se desarrolla la glándula mamaria durante la gestación. Asimismo, el calostro bovino presenta un rango de concentración de apelina-13, de 14-93 pmol/ml y es secretada en el calostro y la leche de bovinos, rata y en humanos (Habata y cols. 1999).

Vías de señalización de apelina-13

La apelina-13 se une al receptor APJ ubicado en las células vasculares del músculo liso, el cual se encuentra acoplado a la proteína Gq, activando fosfolipasa C, que provoca el rompimiento del lípido de membrana fosfatidil inositol bifosfato, generando diacil glicerol (DAG) y trifosfato de inositol (IP3). El DAG debido a su lipofobicidad, se desplaza en la membrana celular para activar a la PKC (Neves y cols. 2002), mientras que IP3, al ser una molécula hidrosoluble, se difunde al citosol y llega al retículo endoplásmico liso, uniéndose a los receptores de reanodina que abren los canales de Ca^{2+} sensibles a IP3, provocando el incremento de ese ion y también activando a la PKC, que fosforila a la cadena ligera de miosina e induce vasoconstricción (Modgil y cols. 2013).

Por otra parte, la unión de apelina-13 al receptor APJ (localizado en células endoteliales), acoplado a la proteína Gi, inhibe la producción del AMPc, pero induce la activación de la proteína cinasa B o Akt, provocando la fosforilación de ONSe, enzima encargada de la producción del ON a partir de L-arginina. El ON difunde a las células vasculares del músculo liso y activa a la guanilato ciclasa soluble, generando un aumento en los niveles de GMPc e induciendo vasodilatación, este proceso se ejemplifica en la Figura 9 (Ladeiras-Lopes y cols. 2007; Yang y cols. 2015).

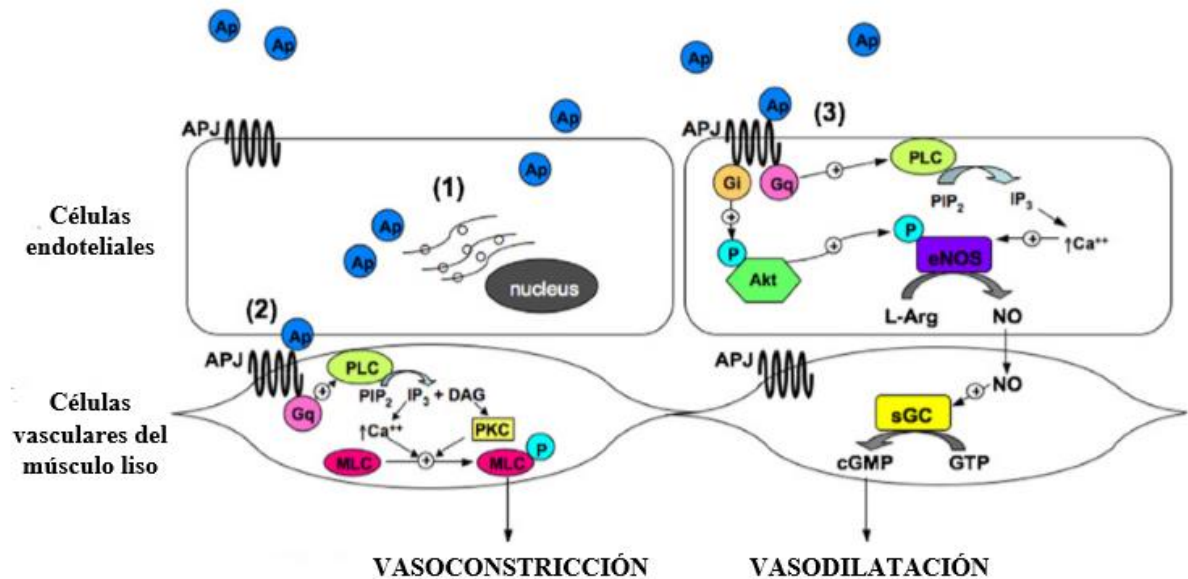


Figura 9. Modelo de vías de señalización implicadas en los efectos vasculares, por acción del sistema apelina-APJ. El modelo indica que las isoformas de apelina se unen al receptor APJ localizado en las células vasculares del músculo liso, provocando vasoconstricción. Mientras que las moléculas de apelina circulantes y de liberación local activan los receptores APJ endoteliales generando vasodilatación. Apelina = Ap; fosfato = P; proteína G inhibidora = Gi; fosfolipasa C = PLC; proteína cinasa C = PKC; inositol-3,4,5-trisfosfato = IP3; diacilglicerol = DAG; guanilato ciclasa soluble = sGC; óxido nítrico sintetasa endotelial = eNOS; fosfatidilinositol bisfosfato = PIP2; cadena ligera de miosina = MLC; L-Arginina = L-Arg; monofosfato de guanosina cíclico = cGMP; guanosa trifosfato = GTP (modificada de Japp y Newby, 2008).

En los núcleos hipotalámicos, el receptor APJ se acopla a la proteína Gi, por consiguiente, la apelina-13, también es capaz de inhibir a la adenilato ciclasa, y consecuentemente la producción del AMPc. Además, activa a la cinasa ERK, mediante la fosforilación de p42 y p44 por una vía dependiente de PKC (Knauf y cols. 2013).

Efecto de la apelina-13 sobre el sistema nerviosos central

La administración ICV de apelina-13 a dosis de 1 y 3 nmol disminuye la ingesta de alimento en ratas macho Wistar (Sunter y cols. 2003). Sin embargo, la administración intraperitoneal (IP) de apelina-13, a dosis de 100 y 300 µg/ kg, por un periodo de 10 días, incrementó la ingesta de alimento en ratas macho (Tekin y cols. 2017; Saral y cols. 2018).

Además, los niveles séricos de leptina y grelina (Saral y cols. 2018) también incrementan la concentración de apelina-13 en el hipotálamo (Higuchi y cols. 2007). Estos datos señalan que la apelina-13 tiene la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica y actuar a nivel hipotalámico para ejercer sus efectos y promover la ingesta de alimento (Tekin y cols. 2017).

Por otra parte, la administración ICV de 10 nmol de apelina-13 durante 7 días, disminuye los niveles de LH y testosterona en el plasma de ratas macho Wistar, así como una disminución del tamaño de las células de Leydig en comparación con los machos que recibieron la dosis de 1 nmol de ese compuesto (Tekin y cols. 2017). Es por ello por lo que considerar las variaciones de dosis y las diferentes vías de administración es importante para comenzar a estudiar los efectos que la apelina-13 puede ejercer sobre alguna conducta, específicamente en la CL, debido a que no hay estudios de que esta adipocina pueda participar en la facilitación, sin embargo, con base en las investigaciones de Knauf y cols. (2013), la apelina-13 participa en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, responsable de los eventos reproductivos en las hembras y machos.

3. JUSTIFICACIÓN

Se ha establecido que tanto el HVM como el APOm ejercen efectos diferentes sobre la expresión de la CL en ratas OVX pretratadas con BE; es decir, la activación del HVM facilita mientras que la del APOm inhibe dicha conducta. Además, en esas áreas cerebrales se expresa tanto la apelina-13 como su receptor y participa en la liberación de hormonas hipofisiarias. Por esa razón y debido a que no se conocen los efectos que la apelina-13 pudiera ejercer sobre la regulación del comportamiento sexual femenino en la rata, es que decidimos explorar qué ocurre con la expresión de la CL por la administración de apelina-13 en esas áreas cerebrales en ratas ovariectomizadas previamente estrogenizadas.

4.HIPÓTESIS

La administración de apelina-13 directamente en el HVM facilita la expresión de la conducta de lordosis, mientras que la administración de ese compuesto en el APOm la inhibe en ratas OVX pretratadas con benzoato de estradiol.

5. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar los efectos de la administración de la apelina-13 directamente en el HVM como en el APOm sobre la expresión de la conducta de lordosis en ratas OVX previamente estrogenizadas.

Objetivos específicos

- a) Evaluar la conducta de lordosis después de la administración de la apelina-13 en el HVM a ratas previamente estrogenizadas.
- b) Evaluar la conducta de lordosis después de la administración de la apelina-13 en el APOm a ratas previamente estrogenizadas.

6. METODOLOGÍA

Animales

Ochenta y siete ratas hembra de la cepa Sprague-Dawley fueron utilizadas en este estudio, con un peso que variaba entre 200 a 250 g. Estos animales fueron obtenidos del bioterio ubicado en el Centro de Investigación en Reproducción Animal, Universidad Autónoma de Tlaxcala-CINVESTAV. Los animales tuvieron acceso a agua y alimento *ad libitum*, y fueron mantenidos bajo un ciclo invertido de luz/oscuridad (14 /10); la luz se encendía a las 24 h y se apagaba a las 10 h.

Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 para el uso y cuidado de los animales de laboratorio.

Ovariectomía ventral

Las hembras fueron anestesiadas con una solución de ketamina (80 mg/kg) y xilacina (4 mg/kg) administradas por vía IP y rasuradas en la región abdominal. Posteriormente, se desinfectó el área con cloruro de benzalconio y se realizó una incisión en la línea media del abdomen. Se localizaron los cuernos uterinos, para ser ligados con un hilo de seda, aproximadamente medio centímetro por debajo del ovario. Por medio de la utilización de tijeras esterilizadas, se realizó un corte por encima del cuerno uterino ligado y se extrajeron los ovarios. Posteriormente, los cuernos uterinos se acomodaron dentro del abdomen y se realizó la sutura del músculo y la piel. Finalmente, se administró violeta de genciana sobre la herida para evitar infecciones.

Implantes en hipotálamo ventromedial

Una semana después de la OVX, las hembras fueron anestesiadas con ketamina (80 mg/kg) y xilacina (4 mg/kg) por vía IP y fueron colocadas sobre un instrumento estereotáxico Kopf (Tujunga, CA, USA) con el propósito de implantar dos cánulas de acero inoxidable (calibre 22, de 23 mm de longitud) en el HVM derecho e izquierdo (coordinadas anteroposterior -2.8 mm y profundidad -9.2 mm con respecto a bregma (Paxinos y Watson, 2006)). Al finalizar la cirugía se administró bencipenicilina procaínica (800 UI, intramuscular), con la finalidad de

evitar alguna infección bacteriana. Después de cada cirugía las hembras fueron alojadas en jaulas individuales hasta finalizar los experimentos.

Implantes en área preóptica

Se siguió el mismo procedimiento usado para el HVM sólo que el implante fue en los dos núcleos, derecho e izquierdo del APOm (coordenadas anteroposterior - 0.6 mm y profundidad - 8 mm con respecto a bregma (Paxinos y Watson, 2006)). Al finalizar la cirugía se administró bencipenicilina procaínica (800 UI, intramuscular). Después de cada cirugía las hembras fueron alojadas en jaulas individuales hasta el final de los experimentos.

Evaluación de la conducta de lordosis

Las hembras fueron sometidas a pruebas de conducta sexual con machos sexualmente expertos sobre una arena circular de plexiglás de 60 cm de diámetro y 60 cm de altura. La duración de las pruebas finalizó hasta que la hembra recibió 10 montas por el macho. Se evaluó el QL con la siguiente fórmula: $QL = \text{No. de lordosis} / 10 \text{ montas} \times 100$ y la IL con la siguiente fórmula: $IL = \text{IL} / 10 \text{ montas} \times 10$. Se consideraron los parámetros propuestos por Hardy y Debold (1971) para la IL, cuya escala es de 0 a 3.

6.1 Diseño experimental

Experimento 1. Participación de apelina-13 en el HVM sobre la expresión de la conducta de lordosis

Una semana después del implante, cada hembra recibió 5 µg/0.1 ml de BE por vía SC y 40 horas después, las hembras recibieron diferentes dosis de apelina-13: 0.37, 0.75, 1.5 ó 15 µg administradas directamente en el HVM izquierdo y derecho (Tabla 4). Al grupo control se administró 1 µl de DMSO al 10% en el HVM izquierdo y derecho. Posteriormente a la administración de apelina-13 o el vehículo, se evaluó el QL y la IL, a los 30, 120 y 240 min, tal y como se estandarizó previamente en el laboratorio.

Experimento 2. Participación de apelina-13 en APOM, sobre la expresión de la conducta de lordosis.

Una semana después del implante, cada hembra recibió 5 µg/0.1 ml de BE por vía SC, después de 40 horas de la administración, las hembras recibieron 0.37, 0.75 ó 1.5 µg de apelina-13 directamente en el APOM izquierda y derecha (Tabla 4). Al grupo control se administró 1 µl de DMSO al 10% en el APOM izquierda y derecha. Posteriormente, se evaluó el QL y la IL, a los 30, 120 y 240 min, tal y como se estandarizó previamente en el laboratorio.

Tabla 4 Tratamiento (apelina-13 o vehículo) administrado bilateralmente en HVM o APOM.

Implante	Tratamiento
HVM	DMSO 10 % (n = 9)
	0.37 µg apelina-13 (n = 9)
	0.75 µg apelina-13 (n = 10)
	1.5 µg apelina-13 (n = 10)
	15 µg apelina-13 (n = 10)
APOM	DMSO 10 % (n = 10)
	0.37 µg apelina-13 (n = 9)
	0.75 µg apelina-13 (n = 10)
	1.5 µg apelina-13 (n = 10)

Hipotálamo ventromedial = HVM, área preóptica media =APOM, microgramos = µg

Comprobación del área de implante

Al finalizar la evaluación de la CL, las hembras fueron perfundidas con buffer de fosfatos salino (PBS: Na₂HPO₄ 80mM; NaH₂PO₄ 20mM; NaCl 100mM y H₂O; pH 7.5), transcurridos 20 minutos se perfundió con formalina al 10%, con la finalidad de preservar los tejidos. Enseguida, los animales fueron decapitados y se extrajo cuidadosamente el cerebro. Los cerebros se colocaron en una solución de sacarosa al 30 %, 72 horas después fueron cortados en un criostato de la marca Leica CM1520 a 20 µm de espesor. Los cortes se colocaron en laminillas cargadas con grenetina al 0.5% y fueron teñidas con el colorante violeta de cresil (Etanol al 70%; etanol al 50%; H₂O; violeta de cresil; etanol al 50%; etanol al 70%; etanol al

100%; Xilol). Finalmente, las laminillas teñidas fueron observadas en un microscopio de campo claro, con el objetivo de 10X, para comprobar el área de implante. Finalmente se realizó un esquema para indicar el lugar en donde las cánulas fueron implantadas las cánulas, tanto en el HVM como en el APOM, tal y como se muestra en las Figuras 10 y 11.

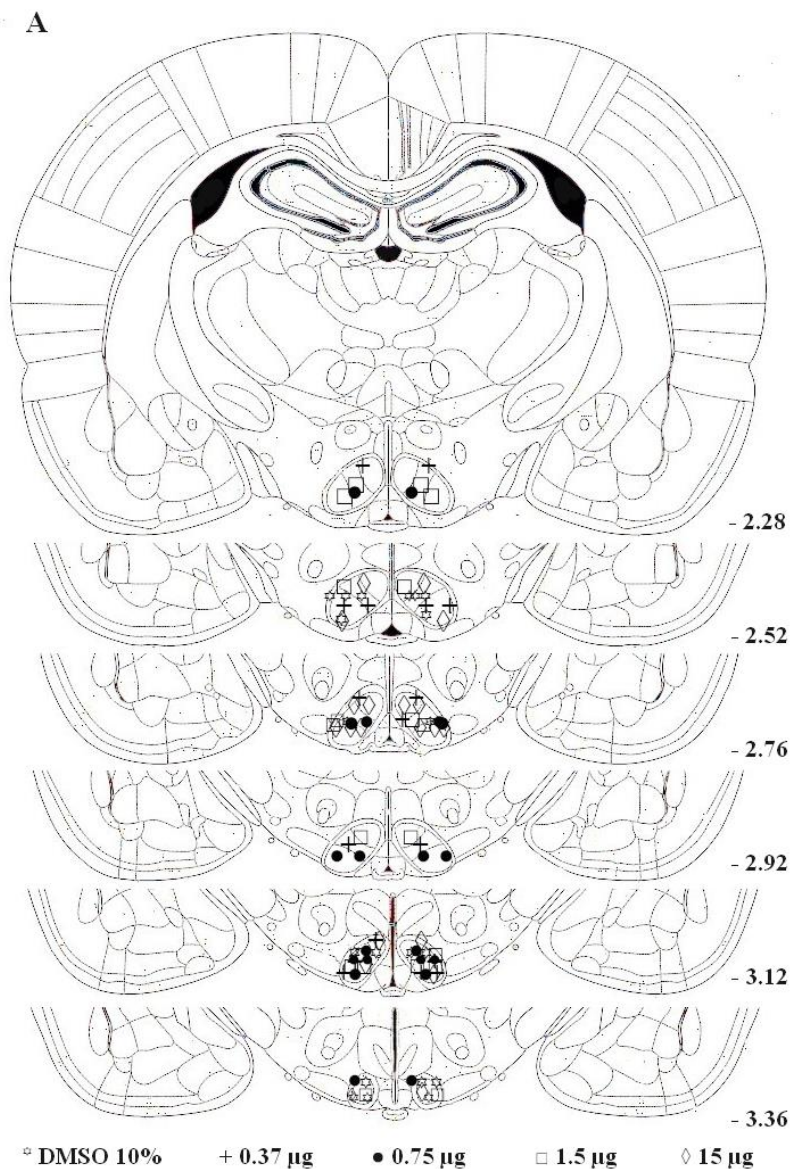


Figura 10. Comprobación del área de implante. A) Localización bilateral de las cánulas implantadas en el HVM (coordenadas: anteroposterior - 2.28 a - 3.36 mm, respecto a bregma). (☆) DMSO 10%; (+) 0.37; (●) 0.75; (□) 1.5; y (◇) 15 μ g de apelina-13.

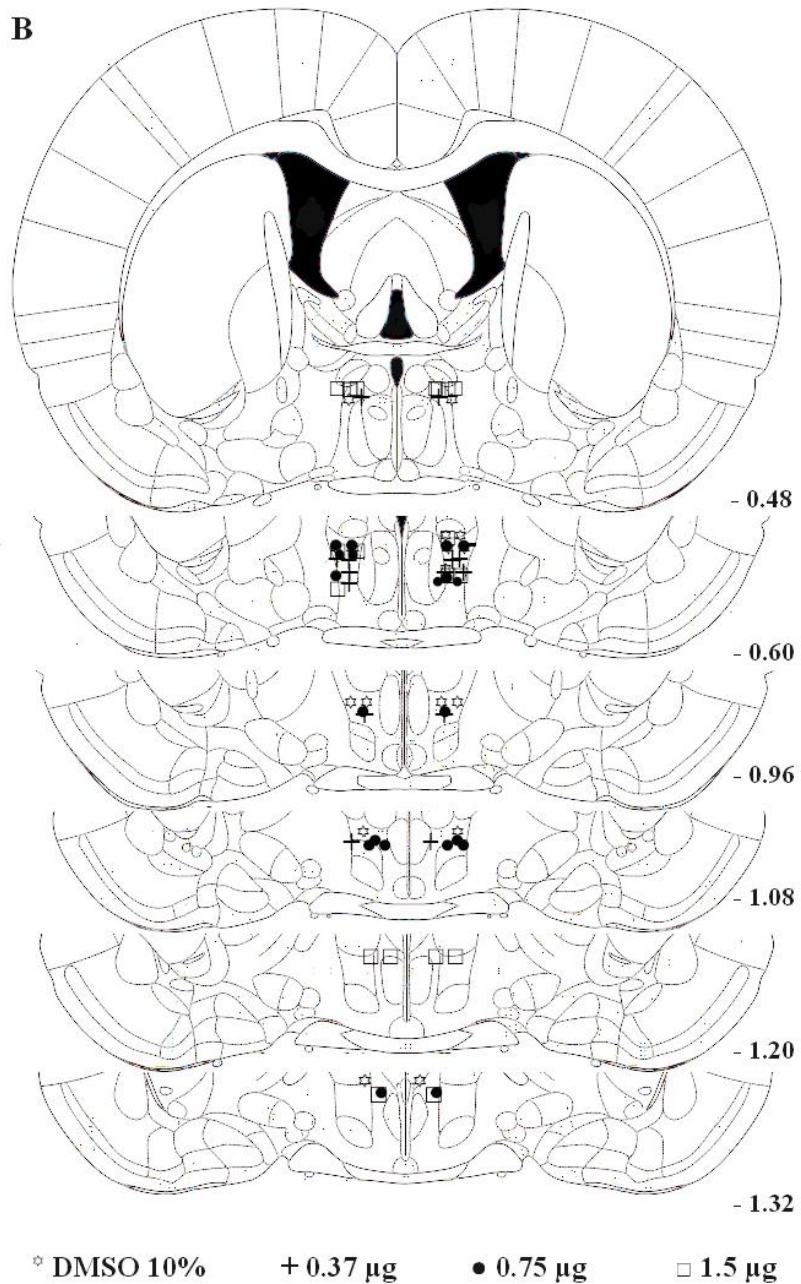


Figura 11. Comprobación del área de implante. B) Localización bilateral de las cánulas implantadas en el APOm (coordenadas: anteroposterior - 0.48 a - 1.32 mm, respecto a bregma). (☆) DMSO 10%; (+) 0.37; (●) 0.75; (□) 1.5 μ g apelina-13.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el programa SYSTAT versión 5.04. Inicialmente se realizó un análisis de varianza y enseguida se realizó la prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes (Siegel y cols. 1995). Los grupos tratados con diferentes dosis de apelina-13 (0.37, 0.75, 1.5 ó 15 µg), se compararon contra el vehículo (DMSO 10%), considerando los tiempos en que se evaluó la CL (30, 120 y 240 min). Los resultados fueron considerados significativos cuando $p \leq 0.05$ y se expresaron como la media más el error estándar.

7. RESULTADOS

Participación de apelina-13 en el HVM sobre la expresión de la conducta de lordosis

La figura 12 muestra el efecto de la administración bilateral de DMSO 10%; 0.37, 0.75, 1.5 ó 15 µg de apelina-13 en HVM, sobre el QL e IL a los 30, 120 y 240 min después de su administración, en hembras OVX previamente estrogenizadas. Las hembras que recibieron DMSO 10%, mostraron disminución del QL y la IL a los 3 tiempos en que se evaluó la CL. Así en la figura 12 A se observa que las hembras que recibieron 0.37, 0.75, 1.5 ó 15 µg de apelina-13 incrementaron la respuesta del QL a los diferentes tiempos en que fue evaluada. A los 30 min, las hembras que recibieron 0.75 ($p \leq 0.01$), 1.5 ($p \leq 0.01$) ó 15 ($p \leq 0.01$) µg de apelina-13 presentaron diferencias estadísticamente significativas cuando se hizo la comparación contra las hembras que recibieron el vehículo. A los 120 min, todas las dosis administradas presentaron diferencias estadísticamente significativas cuando se compara contra el grupo control y a los 240 min, únicamente las dosis de 0.37 ($p \leq 0.01$), 0.75 ($p \leq 0.001$) y 1.5 ($p \leq 0.05$) µg de apelina-13 presentó diferencias estadísticamente significativas, a pesar de que la dosis de 15 µg de apelina-13 también incrementó el QL. Es importante destacar que las hembras que recibieron 0.75 µg de apelina-13 facilitaron una mejor respuesta de la CL, comparado con las hembras que recibieron DMSO 10%, a los 30 ($p \leq 0.01$), 120 ($p \leq 0.001$) y 240 ($p \leq 0.001$) min posteriores a la administración. Estos mismos efectos se muestran en la figura 12 B, ya que, a los 30 min, las hembras que recibieron las dosis 0.75 ($p \leq 0.01$), 1.5 ($p \leq 0.01$) ó 15 ($p \leq 0.001$) µg de apelina-13 presentaron diferencias estadísticamente significativas cuando se compara contra el grupo que recibió DMSO al 10 %. A los 120 min, todos los grupos presentaron diferencias

estadísticamente significativas y a los 240 min, al igual que en el QL, las dosis de 0.37 ($p \leq 0.05$), 0.75 ($p \leq 0.001$) ó 1.5 ($p \leq 0.01$) μg de apelina-13 presentaron diferencias estadísticamente significativas al ser comparado contra el grupo control.

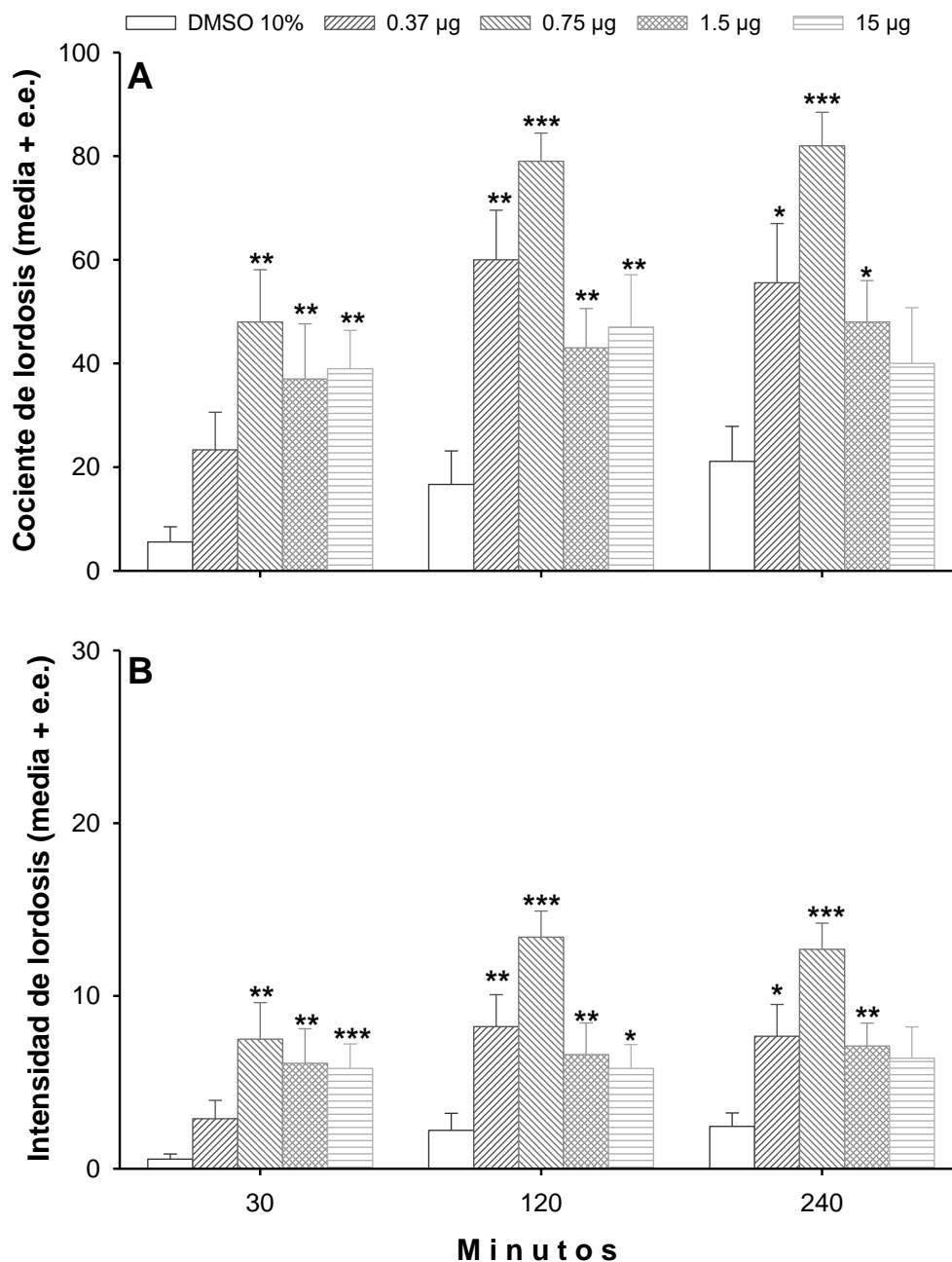


Figura 12. Efecto de la administración bilateral de DMSO 10%; 0.37, 0.75, 1.5 ó 15 μg de apelina-13 en el HVM, a los 30 minutos, 120 y 240 min sobre el QL y la IL en ratas OVX pretratadas con estradiol. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

Participación de apelina-13 en el APOm, sobre la expresión de la conducta de lordosis

La figura 13 muestra el efecto de la administración bilateral de DMSO 10%; 0.37, 0.75 ó 1.5 µg de apelina-13 en el APOm, sobre el QL y la IL a los 30, 120 y 240 min después de su administración, en hembras OVX previamente estrogenizadas.

En la figura 13 A se observa que las hembras que recibieron DMSO al 10%, presentaron un QL menor al 40 para los 3 tiempos en que se evaluó la CL, mientras que la administración de 0.75 µg de apelina-13 incrementó el QL a los diferentes tiempos en que fue evaluada, presentando diferencias significativas con respecto al control, a los 120 ($p \leq 0.05$) y 240 ($p \leq 0.05$) min. Las dosis de 0.37 y 1.5 µg de apelina-13 no mostraron diferencias estadísticamente significativas comparado contra el grupo control a los 30, 120 y 240 min.

En la figura 13 B se muestra el efecto de la administración de DMSO al 10%; con 0.37, 0.75 ó 1.5 µg de apelina-13 sobre la IL, en donde a los 30 y 120 min las dosis de 0.37 y 0.75 µg de apelina-13 incrementaron la IL comparado contra el grupo control y no hubo diferencias estadísticamente significativas, mientras que, a los 240 min, la dosis de 0.75 ($p \leq 0.05$) µg de apelina-13 presento diferencias estadísticamente significativas en la IL versus el grupo control con DMSO al 10%.

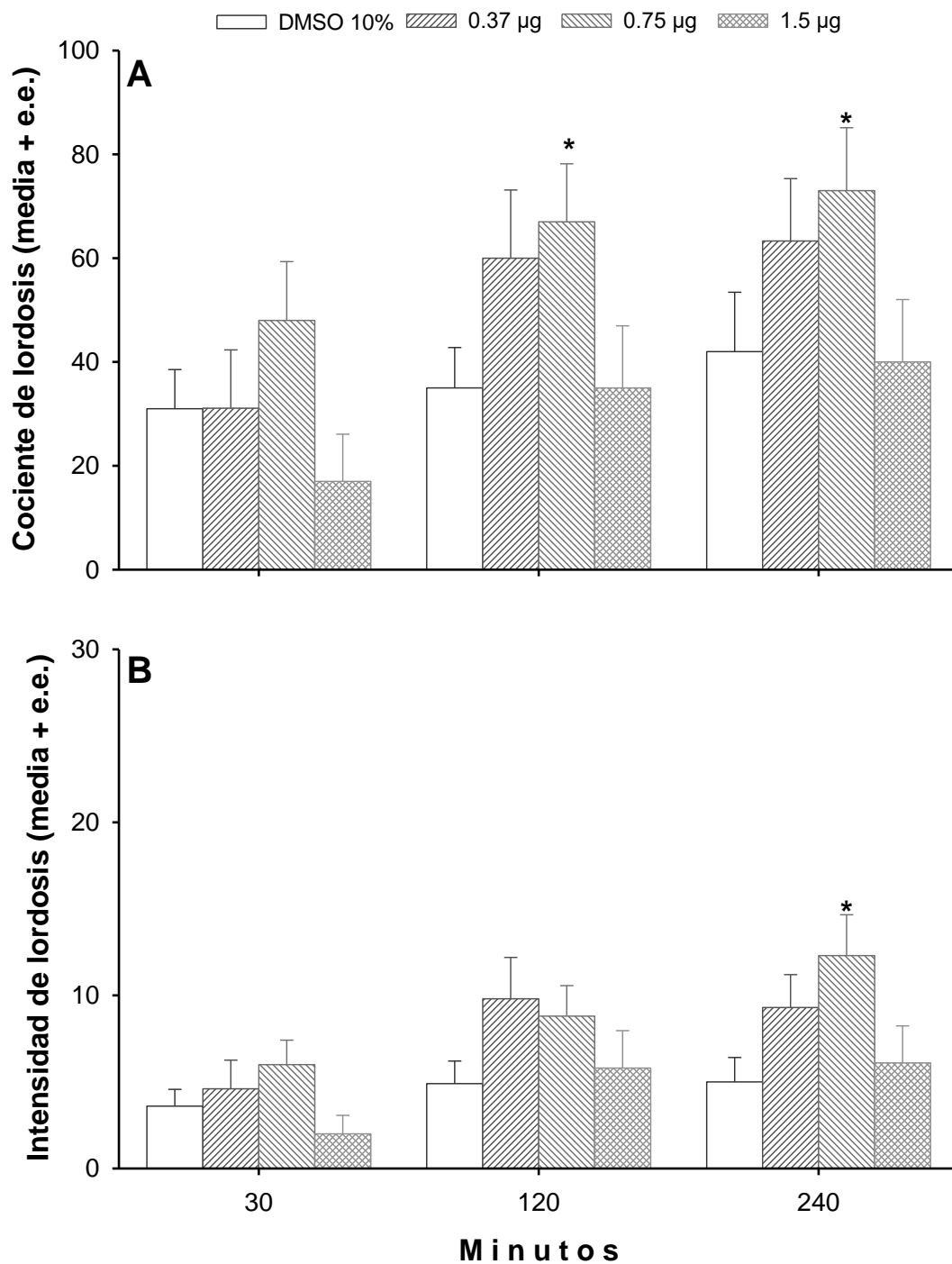


Figura 13. Efecto de la administración bilateral de DMSO 10%; 0.37, 0.75, 1.5 ó 15 µg de apelin-13 en el APOM, a los 30 minutos, 120 y 240 min sobre el QL y la IL en ratas OVX pretratadas con estradiol. * $p \leq 0.05$.

8. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que la administración de apelina-13 directamente en el HVM facilitó la CL en ratas OVX previamente estrogenizadas, ya que la administración de las dosis de 0.37, 0.75, 1.5 ó 15 μg de apelina-13 incrementó la respuesta de la CL a partir de los 30 min, comparado con el grupo que recibió DMSO 10%. Asimismo, la dosis de 0.75 μg de apelina-13 en el APOm fue la única capaz de facilitar la expresión de la CL a los 120 y 240 minutos.

La dosis empleada de 0.75 μg de apelina-13 en el HVM y APOm favorece la mejor respuesta de la CL a los diferentes tiempos en que fue evaluada, mientras que las dosis más altas presentan una menor respuesta. El mecanismo de acción por el cual la apelina-13 facilita la CL no ha sido esclarecido. Sin embargo, Chen y cols. (2020) describen que el sistema apelina-13/APJ regula la activación tanto de proteínas G estimulantes como las inhibitoras, las cuales pueden activar diferentes cascadas de señalización intracelular. El APJ es un receptor acoplado a proteínas G y actúa como un receptor bifuncional debido a que incrementa la contractilidad cardíaca a través de la proteína $G_{\alpha s}$ y la vasodilatación por la G_q (Scimia y cols. 2012). Se pudiera pensar que la facilitación de la CL fue dependiente de la dosis, por lo que, al incrementarla, provocó respuestas submáximas, actividad que describe a un agonista parcial.

Por otra parte, el APJ al ser un receptor acoplado a proteínas G puede actuar como un receptor estimulador o inhibitorio (Rovati y Nicosia, 1994). En este trabajo, la apelina-13 puede ejercer una respuesta dual al actuar sobre su receptor, en apoyo a esta aseveración la administración de la dosis de 0.75 μg de apelina-13 fue la que facilitó la CL más intensa, probablemente al ocupar solo los receptores acoplados a la proteína G de tipo activador. Por otro lado, el hecho que las dosis mayores de 1.5 y 15 μg de apelina hayan sido menos efectivas que la de 0.75 μg implica la existencia de respuestas dualísticas. Así, Rovati y Nicosia (1994) han sugerido que las curvas dosis respuesta dualísticas son generadas por un ligando (agonista) que interactúa con diferentes afinidades con dos receptores diferentes que median efectos opuestos, uno estimulante y otro inhibitorio. En concordancia con este modelo, nuestros datos sugieren que un mecanismo inhibitorio de la CL se produce gradualmente con las dosis de 1.5 y 15 μg de apelina-13.

Varios estudios indican que el HVM es un núcleo cerebral involucrado en la activación de la CL, mientras que el APOm participa en la inhibición de la lordosis (Sakuma y Pfaff, 1979; Malsbury y cols. 1980). Por ejemplo, la lesión del APOm facilita la CL, mientras que la estimulación eléctrica inhibe la lordosis (Powers y Valenstein, 1972). Por tal motivo, el hecho de que la administración del vehículo en las hembras OVX y estrogenizadas hayan incrementado la CL, probablemente sea debido a la lesión del APOm provocada por el implante de las cánulas, mismo efecto que pudo haber sucedido con las hembras que recibieron 0.75 μg de apelina-13, dosis que facilitó la CL a los 120 y 240 min respecto al grupo control. Quizá esa dosis fue suficiente para inhibir la inhibición que provoca el APOm y que las dosis más altas de 1.5 y 15 μg tanto en el APOm como en el HVM no provocaran la CL ya que pudieran estar estimulando mecanismos inhibitorios como previamente se había descrito.

Por otra parte, la administración de diferentes compuestos, en el APOm ha permitido interpretar sus efectos sobre la CL. Por ejemplo, las progestinas como: la P, 5 α ,3 β -pregnanolona, 5 β ,3 β -pregnanolona (Beyer y cols. 1988) y otros al ser administrados directamente el APOm facilitan la CL; sin embargo, la testosterona (Hoepfner y Ward, 1988), la NA (Caldwell y cols. 1989), GABA_A (McCarthy y cols. 1990), GABA_B (Luine y cols. 1991), β -endorfina y la LH (Foreman y Moss, 1979) la inhiben.

Una motivación para llevar a cabo este proyecto es que la apelina-13 y su receptor APJ se encuentran ampliamente distribuidos en diferentes regiones cerebrales, entre ellas el HVM y el APOm (Reaux y cols. 2001; 2002), las cuales, como ya se había señalado se encuentran involucradas en la regulación del comportamiento sexual femenino. Además, también se han identificado en oligodendrocitos y astrocitos (Choe y cols. 2000).

Estudios recientes han mostrado que las células gliales, como los astrocitos, juegan un papel funcional. Por ejemplo, se sabe que en la membrana de los astrocitos contiene una serie de receptores de oxitocina que, al ser activados por su ligando, activan a las enzimas ciclooxigenasas: responsables de la síntesis de las prostaglandinas (como la PGE₂), la cual al ser liberada del astrocito actúa sobre sus receptores ubicados en neuronas GnRHérgicas provocando la liberación del GnRH (Sharif y cols. 2013). Nuestro laboratorio ha propuesto que este sistema pudiera ser por el cual, compuestos, como leptina, oxitocina, E, P y los metabolitos de la P, estarían regulando la CL ya que, la GnRH no solo facilita dicho comportamiento, sino

que es la hormona responsable de provocar la ovulación (Karsch y cols. 1997). El hecho de que la apelina-13 y su receptor se localicen en los astrocitos (Medhurst y cols. 2003), plantea la posibilidad de que este compuesto también ejerza su efecto a través de esta vía celular. Sin embargo, se requiere la realización de una serie de experimentos para poder comprobar esta hipótesis.

Además, dicha distribución, sugiere que la apelina-13 también participa en la regulación de diferentes procesos fisiológicos, como la ingesta alimenticia (Sunter y cols. 2003; Taheri y cols. 2002; Saral y cols. 2018), procesos antinociceptivos (Lv y cols. 2012; Xu y cols. 2009); así como en el aprendizaje y la consolidación de la memoria, en donde participan sistemas α -adrenérgicos, serotoninérgicos, colinérgicos, dopaminérgicos, GABAérgicos y el ON (Telegdy y cols. 2013), estos últimos participan en la facilitación de la CL en hembras OVX y estrogenizadas (González-Flores y Etgen, 2004; González-Flores y cols. 2004; García-Juárez y cols. 2012; Etgen y cols. 1999; Fernández-Guasti y cols. 1987; Hansen y cols. 1980; Foreman y Moss, 1978; McCarthy y cols. 1990). Por otra parte, las neuronas liberadoras de GnRH localizadas en el hipotálamo reciben proyecciones de los núcleos preópticos, paraventricular, supraóptico y medial del hipotálamo (Wang y cols. 2020). Por ello, nuestro laboratorio ha realizado una serie de experimentos con el propósito de comprobar que la GnRH es la hormona responsable de la facilitación de la CL, ya que la administración de su antagonista, antide, disminuye el QL facilitado por tibolona (García-Juárez y cols. 2020). Sin embargo, actualmente se presenta un problema conceptual sobre la participación del GnRH y su modulación por apelina-13 ya que, a pesar de que se conoce que este compuesto y su receptor APJ han sido identificados en estos núcleos cerebrales (Pope y cols. 2012) la administración ICV e IP disminuyen los niveles séricos de la LH y FSH, por lo que se pudiera pensar que no tiene ningún efecto sobre la liberación de GnRH (Taheri y cols. 2002; Tekin y cols. 2017). Sin embargo, estudios realizados por Şişli y cols. (2020) indican que la expresión y activación del receptor APJ en líneas celulares de neuronas GT1-7 liberadoras de GnRH ejerce un mecanismo de protección contra la muerte celular inducida por estrés oxidativo, además, la inhibición del receptor disminuye la liberación de GnRH y la exposición de estas células a la apelina-13 incrementa los niveles de GnRH en condiciones de normoxia e hipoxia.

Nuestros resultados en la presente tesis señalan que la apelina-13 facilita la CL cuando se administró directamente en el HVM, sugiriendo que este efecto involucraría de manera indirecta la liberación de GnRH, participando en diferentes mecanismos responsables de la facilitación de la CL. Uno de ellos es a través del ON, ya que estudios realizados por Jaszberenyi y cols. (2004), indican que el pretratamiento con L-NAME, inhibidor de la ON sintasa, inhibe la locomoción espontánea facilitada por la administración ICV de apelina-13, además, participa en la regulación de la presión arterial (Tatemoto y cols. 2001). Asimismo, la vía del ON está involucrada en la CL facilitada por progesterona, 8-bromo-GMPc, GnRH, PGE2, db-AMPC y leptina (Etgen y cols. 1999; González-Flores y Etgen, 2004; González-Flores y cols. 2004; 2009; García-Juárez y cols. 2012). La participación de esta vía de señalización se ha estudiado por la administración de L-NAME, ODQ y KT-5823 (González-Flores y etgen 2004; García-Juárez y cols. 2012).

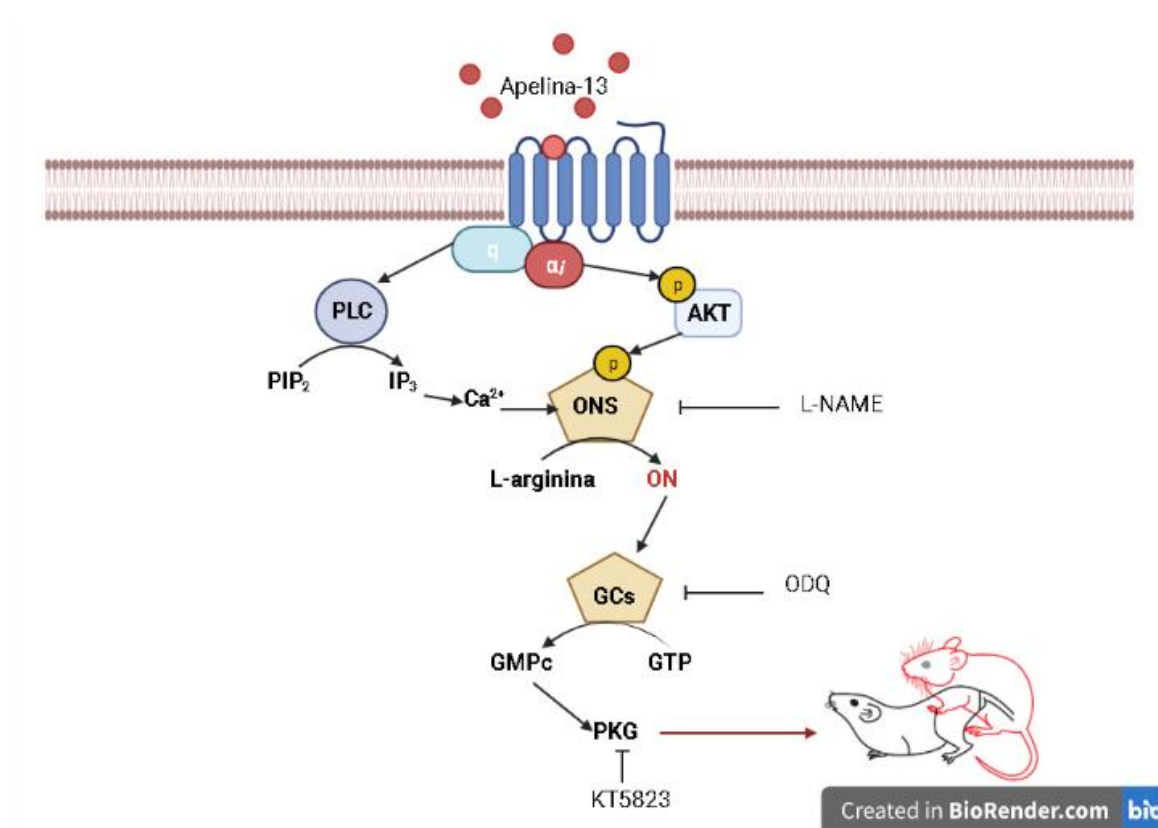


Figura 14. Representación del efecto de la apelina-13 en la CL de hembras ovariectomizadas y estrogenizadas. La figura muestra la activación del ON por la apelina-13 y el posible efecto antagonista de los inhibidores L-NAME, ODQ y KT5823 sobre la CL.

9. CONCLUSIONES

La apelina-13 facilita la CL cuando fue administrada directamente en el HVM y el APOM de ratas ovariectomizadas previamente estrogenizadas.

En el HVM, el efecto de la apelina-13 sobre la CL se presenta a partir de los 30 min. A pesar de que todas las dosis administradas (0.37, 0.75, 1.5 y 15 μg de apelina-13) incrementan el LQ y la IL, es la dosis de 0.75 μg de apelina-13 la que presenta un mejor efecto sobre la CL.

Algunos estudios indican que el APOM participa en la inhibición de la CL, sin embargo, nuestros resultados revelan que la administración de 0.75 μg de apelina-13 directamente en el APOM facilita la CL a los 20 y 240 min en hembras ovariectomizadas y estrogenizadas. Por lo tanto, la apelina-13 inhibe la inhibición de la CL cuando se administra en el APOM.

Se conoce que una de las vías por las cuales la apelina-13 ejerce sus efectos celulares a través de la producción de ON, provoca periféricamente vasodilatación, y centralmente participa en los procesos de aprendizaje, memoria y locomoción, por tal motivo en la presente tesis podemos sugerir que la CL facilitada por la apelina-13 pudiera ejercer su efecto a través de esa vía de señalización intracelular. Esta conclusión es apoyada por el hecho de que la administración intracerebral de L-NAME, ODQ o KT5823 (inhibidores de la vía del ON), redujeron la CL facilitada por la estimulación vagino cervical, el Br-GMPc, la GnRH, la leptina y la PGE2, así como por la progesterona y sus metabolitos. Actualmente, estamos explorando si ese mecanismo intracelular podría estar involucrado en la CL cuando se administra apelina-13 directamente en el HVM.

10. PERSPECTIVAS

La administración de apelina-13 directamente en el HVM facilita la CL a los 30, 120 y 240 min. Estos resultados nos permiten proponer los posibles mecanismos involucrados en la facilitación de la CL facilitada por apelina-13; uno de ellos es explorar la vía del ON-GC-PKG, debido a que está involucrada en la CL, para ello se pretende administrar directamente en el HVM los antagonistas: L-NAME, ODQ y KT-5823. Un segundo mecanismo que podría participar en la facilitación de la CL es explorar la vía de señalización en donde participa la MAPK, para ello se puede administrar el inhibidor PD98059, ya que este se ha utilizado para estudiar el papel de la apelina-13 en las etapas del ciclo celular, así como en la CL.

11. REFERENCIAS

- Bale, T. L., y Dorsa, D. M. (1995). Sex differences in and effects of estrogen on oxytocin receptor messenger ribonucleic acid expression in the ventromedial hypothalamus. *Endocrinology*, 136(1), 27-32. <https://doi.org/10.1210/en.136.1.27>
- Beach, F. A. (1976). Sexual attractivity, proceptivity, and receptivity in female mammals. *Hormones and Behavior*, 7(1), 105-138. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(76\)90008-8](https://doi.org/10.1016/0018-506X(76)90008-8)
- Beach, F. A., Etkin, W., y Rasquin, P. (1942). Importance of progesterone to induction of sexual receptivity in spayed female rats. En *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 51 (3), pp. 369-371).
- Beyer, C., Canchola, E., Cruz, M. L., y Larsson, K. (1980). A model for explaining estrogen progesterone interactions in induction of lordosis behavior. En *Endocrinology* (Cumming I.A., Funder J.W. Mendelsohn FAD, pp. 615-618). Australian Academic of Sciences, Canberra.
- Beyer, C., y Canchola, E. (1981). Facilitation of progesterone induced lordosis behavior by phosphodiesterase inhibitors in estrogen primed rats. *Physiology and Behavior*, 27(4), 731-733. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(81\)90248-1](https://doi.org/10.1016/0031-9384(81)90248-1)
- Beyer, C., Canchola, E., y Larsson, K. (1981). Facilitation of lordosis behavior in the ovariectomized estrogen primed rat by dibutyryl cAMP. *Physiology and Behavior*, 26(2), 249-251. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(81\)90019-6](https://doi.org/10.1016/0031-9384(81)90019-6)
- Beyer, C, Morali, G., y Vargas, R. (1971). Effect of diverse estrogens on estrous behavior and genital tract development in ovariectomized rats. *Hormones and Behavior*, 2(4), 273-277. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(71\)90001-8](https://doi.org/10.1016/0018-506X(71)90001-8)
- Beyer, C, y González-Mariscal, G. (1986). Elevation in hypothalamic cyclic AMP as a common factor in the facilitation of lordosis in rodents: A working hypothesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 474(1), 270-281. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1986.tb28018.x>
- Beyer, C, González-Mariscal, G., Eguíbar, R.J., y Gómora, P. (1988). Lordosis facilitation in estrogen primed rats by intrabrain injection of pregnanes. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 31(4), 919-926. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(88\)90405-4](https://doi.org/10.1016/0091-3057(88)90405-4)

- Beyer, C., González-Flores, O., y González-Mariscal, G. (1995). Ring A reduced progestins potently stimulate estrous behavior in rats: Paradoxical effect through the progesterone receptor. *Physiology and Behavior*, 58(5), 985-993.
- Beyer, C., González-Flores, O., y González-Mariscal, G. (1997). Progesterone receptor participates in the stimulatory effect of LHRH, prostaglandin E2, and cyclic AMP on lordosis and proceptive behaviours in rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 9(8), 609-614.
- Beyer, C, Hoffman, K. L., y González-Flores, O. (2007). Neuroendocrine regulation of estrous behavior in the rabbit: Similarities and differences with the rat. *Reproductive Behavior in Farm and Laboratory Animals*, 52(1), 2-11. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2007.03.027>
- Bibeau, C. E., Tobet, S. A., Anthony, E. L., Carroll, R. S., Baum, M. J., y King, J. C. (1991). Vaginal stimulation of ferrets induces release of luteinizing hormone-releasing hormone. *Journal of Neuroendocrinology*, 3(1), 29-36.
- Blaustein, J. D., y Feder, H. H. (1980). Nuclear progestin receptors in guinea pig brain measured by an in vitro exchange assay after hormonal treatments that affect lordosis. *Endocrinology*, 106(4), 1061-1069. <https://doi.org/10.1210/endo-106-4-1061>
- Blaustein, J.D., Finkbohner, R., y Delville, Y. (1987). Estrogen-induced and estrogen-facilitated female rat sexual behavior is not mediated by progestin receptors. *Neuroendocrinology*, 45(2), 152-159. <https://doi.org/10.1159/000124717>
- Blaustein, J.D., Tetel, M. J., Nielsen Ricciardi, K. H., Delville, Y., y Turcotte, J. C. (1994). Hypothalamic ovarian steroid hormone-sensitive neurons involved in female sexual behavior. *Psychoneuroendocrinology*, 19(5), 505-516. [https://doi.org/10.1016/0306-4530\(94\)90036-1](https://doi.org/10.1016/0306-4530(94)90036-1)
- Blaustein, J. D., King, J. C., Toft, D. O., y Turcotte, J. (1988). Immunocytochemical localization of estrogen-induced progestin receptors in guinea pig brain. *Brain Research*, 474(1), 1-15. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(88\)90664-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(88)90664-6)
- Bloch, G. J., Butler, P. C., Eckersell, C. B., y Mills, R. H. (1998). Gonadal steroid-dependent GAL-IR cells within the medial preoptic nucleus (MPN) and the stimulatory effects of

- GAL within the MPN on sexual behaviors a. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 863(1), 188-205. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb10695.x>
- Boucher, J., Masri, B., Daviaud, D., Gesta, S., Guigné, C., Mazzucotelli, A., Castan-Laurell, I., Tack, I., Knibiehler, B., Carpéné, C., Audigier, Y., Saulnier-Blache, J.-S., y Valet, P. (2005). Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology*, 146(4), 1764-1771. <https://doi.org/10.1210/en.2004-1427>
- Brailoiu, G. C., Dun, S. L., Yang, J., Ohsawa, M., Chang, J. K., y Dun, N. J. (2002). Apelin-immunoreactivity in the rat hypothalamus and pituitary. *Neuroscience Letters*, 327(3), 193-197. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(02\)00411-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(02)00411-1)
- Brown, T. J., y Blaustein, J. D. (1984). Inhibition of sexual behavior in female guinea pigs by a progestin receptor antagonist. *Brain Research*, 301(2), 343-349. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(84\)91103-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(84)91103-X)
- Brown, T. J., Moore, M. J., y Blaustein, J. D. (1987). Maintenance of progesterone-facilitated sexual behavior in female rats requires continued hypothalamic protein synthesis and nuclear progestin receptor occupation. *Endocrinology*, 121(1), 298-304. <https://doi.org/10.1210/endo-121-1-298>
- Butcher, R. L., Collins, W. E., y Fugo, N. W. (1974). Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17 β throughout the 4-day estrous cycle of the rat. *Endocrinology*, 94(6), 1704-1708.
- Caba, M., Pau, K.-Y. F., Beyer, C., González, A., Silver, R., y Spies, H. G. (2000). Coitus-induced activation of c-fos and gonadotropin-releasing hormone in hypothalamic neurons in female rabbits. *Molecular Brain Research*, 78(1-2), 69-79.
- Caldwell, J. D., Jirikowski, G. F., Greer, E. R., y Pedersen, C. A. (1989). Medial preoptic area oxytocin and female sexual receptivity. *Behavioral Neuroscience*, 103(3), 655-662.
- Caldwell, J. D., Johns, J. M., Faggin, B. M., Senger, M. A., y Pendersen, C. A. (1994). Infusion of an oxytocin antagonist into the medial preoptic area prior to progesterone inhibits sexual receptivity and increases rejection in female rats. *Hormones and Behavior*, 28(3), 288-302. <https://doi.org/10.1006/hbeh.1994.1024>

- Caldwell, J. D., Prange, A. J., y Pedersen, C. A. (1986). Oxytocin facilitates the sexual receptivity of estrogen-treated female rats. *Neuropeptides*, 7(2), 175-189. [https://doi.org/10.1016/0143-4179\(86\)90093-4](https://doi.org/10.1016/0143-4179(86)90093-4)
- Cameron, N. M., Ha, G. K., y Erskine, M. S. (2004). Fos expression after mating in noradrenergic cells of the A1 and A2 areas of the medulla is altered by adrenalectomy. *Journal of Neuroendocrinology*, 16(9), 750-757. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2004.01231.x>
- Canteras, N., Simerly, R., y Swanson, L. (1994). Organization of projections from the ventromedial nucleus of the hypothalamus: A phaseolus vulgaris-leucoagglutinin study in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 348(1), 41-79.
- Chaves-Almagro, C., Castan-Laurell, I., Dray, C., Knauf, C., Valet, P., y Masri, B. (2015). Apelin receptors: From signaling to antidiabetic strategy. *European Journal of Pharmacology*, 763, 149-159.
- Chen, J., Chen, X., Li, S., Jiang, Y., Mao, H., Zhang, R., Ji, B., Yan, M., Cai, X., y Wang, C. (2020). Individual phosphorylation sites at the C-terminus of the apelin receptor play different roles in signal transduction. *Redox Biology*, 36, 101629. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101629>
- Chng, S. C., Ho, L., Tian, J., y Reversade, B. (2013). Elabela: A hormone essential for heart development signals via the apelin receptor. *Developmental Cell*, 27(6), 672-680. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.11.002>
- Choe, W., Albright, A., Sulcove, J., Jaffer, S., Hesselgesser, J., Lavi, E., Crino, P., y Kolson, D. L. (2000). Functional expression of the seven transmembrane. *Journal of Neurovirology*, 6(1), 61-69.
- Chu, H.-P., y Etgen, A.M. (1997). A potential role of cyclic GMP in the regulation of lordosis behavior of female rats. *Hormones and Behavior*, 32(2), 125-132. <https://doi.org/10.1006/hbeh.1997.1413>
- Chu, H., Morales, J., y Etgen, A. (1999). Cyclic GMP may potentiate lordosis behaviour by progesterone receptor activation. *Journal of Neuroendocrinology*, 11(2), 107-113. PubMed. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2826.1999.00298.x>

- Conneely, O. M., Kettelberger, D. M., Tsai, M. J., Schrader, W. T., y O'Malley, B. W. (1989). The chicken progesterone receptor A and B isoforms are products of an alternate translation initiation event. *The Journal of Biological Chemistry*, 264.
- Cunningham Jr, E., y Sawchenko, P. (1988). Anatomical specificity of noradrenergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus. *Journal of Comparative Neurology*, 274(1), 60-76.
- Dawson, T. M., Dawson, V. L., y Snyder, S. H. (1992). A novel neuronal messenger molecule in brain: The free radical, nitric oxide. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 32(3), 297-311.
- De Mota, N., Lenkei, Z., y Llorens-Cortès, C. (2000). Cloning, pharmacological characterization and brain distribution of the rat apelin receptor. *Neuroendocrinology*, 72(6), 400-407.
- Devic, E., Rizzoti, K., Bodin, S., Knibiehler, B., y Audigier, Y. (1999). Amino acid sequence and embryonic expression of msr/apj, the mouse homolog of *Xenopus* X-msr and human APJ. *Mechanisms of Development*, 84(1), 199-203. [https://doi.org/10.1016/S0925-4773\(99\)00081-7](https://doi.org/10.1016/S0925-4773(99)00081-7)
- Dornan, W. A., Akesson, T. R., y Micevych, P. E. (1990). A substance P projection from the VMH to the dorsal midbrain central gray: Implication for lordosis. *Brain Research Bulletin*, 25(5), 791-796. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(90\)90061-4](https://doi.org/10.1016/0361-9230(90)90061-4)
- Dornan, W. A., Malsbury, C. W., y Penney, R. B. (1987). Facilitation of Lordosis by Injection of Substance P into the Midbrain Central Gray. *Neuroendocrinology*, 45(6), 498-506. <https://doi.org/10.1159/000124781>
- Dorner, G., Docke, F., y Moustafa, S. (1968). Differential localization of a male and female hypothalamic mating centre. *Reproduction*, 17(3), 583-586. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0170583>
- Drougard, A., Duparc, T., Brenachot, X., Carneiro, L., Gouazé, A., Fournel, A., Geurts, L., Cadoudal, T., Prats, A.-C., y Pénicaud, L. (2014). Hypothalamic apelin/reactive oxygen species signaling controls hepatic glucose metabolism in the onset of diabetes. *Antioxidants and Redox Signaling*, 20(4), 557-573.

- Dudley, C. A., y Moss, R. L. (1987). Effects of a behaviorally active LHRH fragment and septal area stimulation on the activity of mediobasal hypothalamic neurons. *Synapse*, 1(3), 240-247. <https://doi.org/10.1002/syn.890010304>
- Edinger, A. L., Hoffman, T. L., Sharron, M., Lee, B., Yi, Y., Choe, W., Kolson, D. L., Mitrovic, B., Zhou, Y., Faulds, D., Collman, R. G., Hesselgesser, J., Horuk, R., y Doms, R. W. (1998). An orphan seven-transmembrane domain receptor expressed widely in the brain functions as a coreceptor for human immunodeficiency virus type 1 and simian immunodeficiency virus. *Journal of Virology*, 72(10), 7934. <https://doi.org/10.1128/JVI.72.10.7934-7940.1998>
- Edwards, D. P., Wardell, S. E., y Boonyaratanakornkit, V. (2002). Progesterone receptor interacting coregulatory proteins and cross talk with cell signaling pathways. *Proceedings of the 15th International Symposium of the Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology «Recent Advances in Steroid Biochemistry and Molecular Biology»*, 83(1), 173-186. [https://doi.org/10.1016/S0960-0760\(02\)00265-0](https://doi.org/10.1016/S0960-0760(02)00265-0)
- Erskine, M. S. (1989). Solicitation behavior in the estrous female rat: A review. *Hormones and Behavior*, 23(4), 473-502.
- Estienne, A., Bongrani, A., Reverchon, M., Ramé, C., Ducluzeau, P.-H., Froment, P., y Dupont, J. (2019). Involvement of novel adipokines, chemerin, visfatin, resistin and apelin in reproductive functions in normal and pathological conditions in humans and animal models. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18). <https://doi.org/10.3390/ijms20184431>
- Etgen, A. M., Chu, H.-P., Fiber, J. M., Karkanias, G. B., y Morales, J. M. (1999). Hormonal integration of neurochemical and sensory signals governing female reproductive behavior. *Behavioural Brain Research*, 105(1), 93-103. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(99\)00085-6](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(99)00085-6)
- Fahrbach, S. E., Morrell, J. I., y Pfaff, D. W. (1989). Studies of ventromedial hypothalamic afferents in the rat using three methods of HRP application. *Experimental Brain Research*, 77(2), 221-233. <https://doi.org/10.1007/BF00274980>
- Fernández-Guasti, A., Ahlenius, S., Hjorth, S., y Larsson, K. (1987). Separation of dopaminergic and serotonergic inhibitory mechanisms in the mediation of estrogen-

- induced lordosis behaviour in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 27(1), 93-98. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(87\)90482-5](https://doi.org/10.1016/0091-3057(87)90482-5)
- Fernández-Guasti, A., Rodríguez-Manzo, G., y Beyer, C. (1983). Effect of guanine derivatives on lordosis behavior in estrogen primed rats. *Physiology and Behavior*, 31(5), 589-592.
- Flanagan-Cato, L. M., y McEwen, B. S. (1995). Pattern of Fos and Jun expression in the female rat forebrain after sexual behavior. *Brain Research*, 673(1), 53-60. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)01395-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)01395-X)
- Flanagan-Cato, L. M., Lee, B. J., y Calizo, L. H. (2006). Co-localization of midbrain projections, progesterin receptors, and mating-induced fos in the hypothalamic ventromedial nucleus of the female rat. *Hormones and Behavior*, 50(1), 52-60. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2006.01.012>
- Flanagan-Cato, L. M. (2011). Sex differences in the neural circuit that mediates female sexual receptivity. *Sexual Differentiation of Sexual Behavior and Its Orientation*, 32(2), 124-136. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2011.02.008>
- Foreman, M. M., y Moss, R. L. (1978). Role of hypothalamic alpha and beta adrenergic receptors in the control of lordotic behavior in the ovariectomized-estrogen primed rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 9(2), 235-241. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(78\)90170-3](https://doi.org/10.1016/0091-3057(78)90170-3)
- Foreman, M. M., y Moss, R. L. (1979). Roles of gonadotropins and releasing hormones in hypothalamic control of lordotic behavior in ovariectomized, estrogen-primed rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 93(3), 556-565. <https://doi.org/10.1037/h0077584>
- Freeman, E. (2005). Neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En *Knobil and Neil's Physiology of Reproduction* (3.^a ed., Vol. 1, pp. 2327–2388). Elsevier.
- García-Juárez, M., Beyer, C., Gómora-Arrati, P., Domínguez-Ordoñez, R., Lima-Hernández, F. J., Eguibar, J. R., Galicia-Aguas, Y. L., Etgen, A. M., y González-Flores, O. (2013). Lordosis facilitation by leptin in ovariectomized, estrogen-primed rats requires simultaneous or sequential activation of several protein kinase pathways. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 110, 13-18. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.05.014>

- García-Juárez, M., Beyer, C., Gómora-Arrati, P., Lima-Hernández, F. J., Domínguez-Ordoñez, R., Eguibar, J. R., Etgen, A. M., y González-Flores, O. (2012). The nitric oxide pathway participates in lordosis behavior induced by central administration of leptin. *Neuropeptides*, 46(1), 49-53. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2011.09.003>
- García-Juárez, M., Beyer, C., Soto-Sánchez, A., Domínguez-Ordoñez, R., Gómora-Arrati, P., Lima-Hernández, F. J., Eguibar, J. R., Etgen, A. M., y González-Flores, O. (2011). Leptin facilitates lordosis behavior through GnRH-1 and progestin receptors in estrogen-primed rats. *Neuropeptides*, 45(1), 63-67.
- García-Juárez, M., Montes-Narváez, O., Lima-Hernández, F. J., Domínguez-Ordoñez, R., Pfaus, J. G., y González-Flores, O. (2020). Tibolone facilitates lordosis behavior through estrogen, progestin, and GnRH-1 receptors in estrogen-primed rats. *Neuroscience Letters*, 736, 135299. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135299>
- Giangrande, P. H., y McDonnell, D. P. (1999). The A and B isoforms of the human progesterone receptor: Two functionally different transcription factors encoded by a single gene. *Recent Progress in Hormone Research*, 54, 291-313.
- Glaser, J. H., y Barfield, R. J. (1984). Blockade of progesterone-activated estrous behavior in rats by intracerebral anisomycin is site specific. *Neuroendocrinology*, 38(5), 337-343. <https://doi.org/10.1159/000123914>
- Gómora-Arrati, P., Beyer, C., Lima-Hernández, F. J., Gracia, M. E., Etgen, A. M., y González-Flores, O. (2008). GnRH mediates estrous behavior induced by ring A reduced progestins and vaginocervical stimulation. *Behavioural Brain Research*, 187(1), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.08.017>
- González-Flores, O., Beyer, C., Lima-Hernández, F. J., Gómora-Arrati, P., Gómez-Camarillo, M. A., Hoffman, K., y Etgen, A. M. (2007). Facilitation of estrous behavior by vaginal cervical stimulation in female rats involves α 1-adrenergic receptor activation of the nitric oxide pathway. *Behavioural Brain Research*, 176(2), 237-243.
- González-Flores, O., y Etgen, A. M. (2004). The nitric oxide pathway participates in estrous behavior induced by progesterone and some of its ring A-reduced metabolites. *Hormones and Behavior*, 45(1), 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2003.08.003>

- González-Flores, O., Shu, J., Camacho-Arroyo, I., y Etgen, A. M. (2004). Regulation of lordosis by cyclic 3',5'-guanosine monophosphate, progesterone, and Its 5 α -reduced metabolites involves mitogen-activated protein kinase. *Endocrinology*, *145*(12), 5560-5567. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0823>
- González-Flores, O., Gómora-Arrati, P., García-Juárez, M., Gómez-Camarillo, M. A., Lima-Hernández, F. J., Beyer, C., y Etgen, A. M. (2009). Nitric oxide and ERK/MAPK mediation of estrous behavior induced by GnRH, PGE2 and db-cAMP in rats. *Physiology and behavior*, *96*(4-5), 606-612.
- Grønning, L. M., Cederberg, A., Miura, N., Enerbäck, S., y Taskén, K. (2002). Insulin and TNF α induce expression of the forkhead transcription factor gene Foxc2 in 3T3-L1 adipocytes via PI3K and ERK 1/2-dependent pathways. *Molecular Endocrinology*, *16*(4), 873-883. <https://doi.org/10.1210/mend.16.4.0803>
- Guevara-Guzmán, R., Buzo, E., Larrazolo, A., de la Riva, C., Da Costa, A. P., y Kendrick, K. M. (2001). Vagino-cervical stimulation-induced release of classical neurotransmitters and nitric oxide in the nucleus of the solitary tract varies as a function of the oestrus cycle. *Brain Research*, *898*(2), 303-313. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)02207-7](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(01)02207-7)
- Habata, Y., Fujii, R., Hosoya, M., Fukusumi, S., Kawamata, Y., Hinuma, S., Kitada, C., Nishizawa, N., Murosaki, S., Kurokawa, T., Onda, H., Tatemoto, K., y Fujino, M. (1999). Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, *1452*(1), 25-35. [https://doi.org/10.1016/S0167-4889\(99\)00114-7](https://doi.org/10.1016/S0167-4889(99)00114-7)
- Hall, N. R., y Luttge, W. G. (1977). Diencephalic sites responsive to prostaglandin E2 facilitation of sexual receptivity in estrogen-primed ovariectomized rats. *Brain Research Bulletin*, *2*(3), 203-207. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(77\)90039-9](https://doi.org/10.1016/0361-9230(77)90039-9)
- Hansen, S., Stanfield, E. J., y Everitt, B. J. (1980). The role of ventral bundle noradrenergic neurones in sensory components of sexual behaviour and coitus-induced pseudopregnancy. *Nature*, *286*(5769), 152-154.

- Hardy, D. F., y DeBold, J. F. (1971). The relationship between levels of exogenous hormones and the display of lordosis by the female rat. *Hormones and Behavior*, 2(4), 287-297. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(71\)90003-1](https://doi.org/10.1016/0018-506X(71)90003-1)
- Harlan, R., Shivers, B., y Pfaff, D. (1983). Midbrain microinfusions of prolactin increase the estrogen-dependent behavior, lordosis. *Science*, 219(4591), 1451. <https://doi.org/10.1126/science.6828874>
- Heape, W. (1900). The sexual season of mammals and relation of the proestrous to menstruation. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, 44, 1-70.
- Higuchi, K., Masaki, T., Gotoh, K., Chiba, S., Katsuragi, I., Tanaka, K., Kakuma, T., y Yoshimatsu, H. (2007). Apelin, an APJ receptor ligand, regulates body adiposity and favors the messenger ribonucleic acid expression of uncoupling proteins in mice. *Endocrinology*, 148(6), 2690-2697. <https://doi.org/10.1210/en.2006-1270>
- Hoepfner, B. A., y Ward, I. L. (1988). Prenatal and neonatal androgen exposure interact to affect sexual differentiation in female rats. *Behavioral Neuroscience*, 102(1), 61.
- Hubscher, C. H., y Berkley, K. J. (1994). Responses of neurons in caudal solitary nucleus of female rats to stimulation of vagina, cervix, uterine horn and colon. *Brain Research*, 664(1), 1-8. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91946-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91946-1)
- Japp, A. G., y Newby, D. E. (2008). The apelin–APJ system in heart failure: Pathophysiologic relevance and therapeutic potential. *Biochemical Pharmacology*, 75(10), 1882-1892. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.12.015>
- Jaszberenyi, M., Bujdoso, E., y Telegdy, G. (2004). Behavioral, neuroendocrine and thermoregulatory actions of apelin-13. *Neuroscience*, 129(3), 811-816.
- Jiang, Y., Yan, M., Wang, C., Wang, Q., Chen, X., Zhang, R., Wan, L., Ji, B., Dong, B., Wang, H., y Chen, J. (2021). The effects of apelin and elabela ligands on apelin receptor distinct signaling profiles. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 240. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.630548>
- Jung-Testas, I., Schumacher, M., Robel, P., y Baulieu, E. (1996). The neurosteroid progesterone increases the expression of myelin proteins (MBP and CNPase) in rat oligodendrocytes in primary culture. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 16(3), 439-443.

- Kaiser, U. B., Conn, P. M., & Chin, W. W. (1997). Studies of Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Action Using nRH Receptor-Expressing Pituitary Cell Lines. *Endocrine Reviews*, 18(1), 46-71.
- Kakizawa, S. (2016). Chapter 31—Apelin. En Y. Takei, H. Ando, y K. Tsutsui (Eds.), *Handbook of Hormones* (pp. 277-e31-3). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801028-0.00031-3>
- Karsch, F. J., Bowen, J. M., Caraty, A., Evans, N. P., y Moenter, S. M. (1997). Gonadotropin-releasing hormone requirements for ovulation1. *Biology of Reproduction*, 56(2), 303-309. <https://doi.org/10.1095/biolreprod56.2.303>
- Kastner, P., Krust, A., Turcotte, B., Stropp, U., Tora, L., Gronemeyer, H., y Chambon, P. (1990). Two distinct estrogen-regulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptor forms A and B. *The EMBO Journal*, 9(5), 1603-1614. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1990.tb08280.x>
- Kawamata, Y., Habata, Y., Fukusumi, S., Hosoya, M., Fujii, R., Hinuma, S., Nishizawa, N., Kitada, C., Onda, H., Nishimura, O., y Fujino, M. (2001). Molecular properties of apelin: Tissue distribution and receptor binding. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1538(2), 162-171. [https://doi.org/10.1016/S0167-4889\(00\)00143-9](https://doi.org/10.1016/S0167-4889(00)00143-9)
- Kennedy, G. C. (1964). Hypothalamic control of the endocrine and behavioural changes associated with oestrus in the rat. *The Journal of Physiology*, 172(3), 383-392. PubMed. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1964.sp007426>
- Kimura, F., Kawakami, M. H. N., y McCann, S. M. (1980). Changes in adenosine 3',5'-monophosphate and guanosine 3',5'-monophosphate concentrations in the anterior pituitary and hypothalamus during the rat estrous cycle and effects of administration of sodium pentobarbital in proestrus. *Endocrinology*, 106, 631-635.
- Kleinz, M. J., y Davenport, A. P. (2005). Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacology and Therapeutics*, 107(2), 198-211. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2005.04.001>
- Knauf, C., Drougard, A., Fournel, A., Duparc, T., y Valet, P. (2013). Hypothalamic actions of apelin on energy metabolism: New insight on glucose homeostasis and metabolic disorders. *Hormone and Metabolic Research*, 45, 928-934.

- Komisaruk, B. R. (1971). Induction of lordosis in ovariectomized rats by stimulation of the vaginal cervix: *Hormonal and Neural Interrelationships*.
- 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(3), 548-557. <https://doi.org/10.1210/endo-93-3-548>
- Kow, L.-M., Mobbs, C. V., y Pfaff, D. W. (1994). Roles of second-messenger systems and neuronal activity in the regulation of lordosis by neurotransmitters, neuropeptides, and estrogen: A review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 18(2), 251-268. [https://doi.org/10.1016/0149-7634\(94\)90028-0](https://doi.org/10.1016/0149-7634(94)90028-0)
- Kubli-Garfias, C., y Whalen, R. E. (1977). Induction of lordosis behavior in female rats by intravenous administration of progestins. *Hormones and Behavior*, 9(3), 380-386. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(77\)90073-3](https://doi.org/10.1016/0018-506X(77)90073-3)
- Kurowska, P., Barbe, A., Różycka, M., Chmielińska, J., Dupont, J., y Rak, A. (2018). Apelin in reproductive physiology and pathology of different species: A critical review. *International Journal of Endocrinology*, 2018, 9170480. <https://doi.org/10.1155/2018/9170480>
- Ladeiras-Lopes, R., Ferreira-Martins, J., y Leite-Moreira, A. F. (2007). The apelinergic system: The role played in human physiology and pathology and potential therapeutic applications. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 90.
- Lange, C. A. (2004). Making sense of cross-talk between steroid hormone receptors and intracellular signaling pathways: who will have the last word? *Molecular Endocrinology*, 18(2), 269-278. <https://doi.org/10.1210/me.2003-0331>
- Lee, D. K., Cheng, R., Nguyen, T., Fan, T., Kariyawasam, A. P., Liu, Y., Osmond, D. H., George, S. R., y O'Dowd, B. F. (2000). Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *Journal of Neurochemistry*, 74(1), 34-41. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2000.0740034.x>
- Li, F., Li, L., Qin, X., Pan, W., Feng, F., Chen, F., Zhu, B., Liao, D., Tanowitz, H., Albanese, C., y Chen, L. (2008). Apelin-induced vascular smooth muscle cell proliferation: The regulation of cyclin D1. *Frontiers in Bioscience*, 13, 3786-3792.

- Lima-Hernández, F. J., Beyer, C., Gómora-Arrati, P., García-Juárez, M., Encarnación-Sánchez, J. L., Etgen, A. M., y González-Flores, O. (2012). Src kinase signaling mediates estrous behavior induced by 5 β -reduced progestins, GnRH, prostaglandin E2 and vaginocervical stimulation in estrogen-primed rats. *Hormones and Behavior*, 62(5), 579-584. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2012.09.004>
- Liu, C., Su, T., Li, F., Li, L., Qin, X., Pan, W., Feng, F., Chen, F., Liao, D., y Chen, L. (2010). PI3K/Akt signaling transduction pathway is involved in rat vascular smooth muscle cell proliferation induced by apelin-13. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 42(6), 396-402. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmq035>
- Luckman, S. M. (1995). Fos expression within regions of the preoptic area, hypothalamus and brainstem during pregnancy and parturition. *Brain Research*, 669(1), 115-124. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)01271-I](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)01271-I)
- Luine, V., Cowell, J., & Frankfurt, M. (1991). GABAergic-serotonergic interactions in regulating lordosis. *Brain Research*, 556(1), 171-174.
- Luiten, P. G. M., Koolhaas, J. M., de Boer, S., y Koopmans, S. J. (1985). The cortico-medial amygdala in the central nervous system organization of agonistic behavior. *Brain Research*, 332(2), 283-297. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)90597-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)90597-9)
- Lv, S.-Y., Qin, Y.-J., Wang, N.-B., Yang, Y.-J., y Chen, Q. (2012). Supraspinal antinociceptive effect of apelin-13 in a mouse visceral pain model. *Peptides*, 37(1), 165-170. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2012.06.007>
- Malsbury, C. W., Kow, L.-M., y Pfaff, D. W. (1977). Effects of medial hypothalamic lesions on the lordosis response and other behaviors in female golden hamsters. *Physiology and Behavior*, 19(2), 223-237. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(77\)90331-6](https://doi.org/10.1016/0031-9384(77)90331-6)
- Malsbury, C. W., Pfaff, D. W., y Malsbury, A. M. (1980). Suppression of sexual receptivity in the female hamster: Neuroanatomical projections from preoptic and anterior hypothalamic electrode sites. *Brain Research*, 181(2), 267-284. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(80\)90612-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(80)90612-5)
- Mani, S. K., Allen, J., Rettori, V., McCann, S. M., O'Malley, B. W., y Clark, J. H. (1994). Nitric oxide mediates sexual behavior in female rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(14), 6468-6472.

- Mantyh, P. W. (1983). Connections of midbrain periaqueductal gray in the monkey. II. Descending efferent projections. *Journal of Neurophysiology*, 49(3), 582-594. <https://doi.org/10.1152/jn.1983.49.3.582>
- Marson, L. (1995). Central nervous system neurons identified after injection of pseudorabies virus into the rat clitoris. *Neuroscience Letters*, 190(1), 41-44. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(95\)11495-I](https://doi.org/10.1016/0304-3940(95)11495-I)
- Masri, B., Knibiehler, B., y Audigier, Y. (2005). Apelin signalling: A promising pathway from cloning to pharmacology. *Cellular Signalling*, 17(4), 415-426. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2004.09.018>
- Mathews, D., y Edwards, D. A. (1977a). The ventromedial nucleus of the hypothalamus and the hormonal arousal of sexual behaviors in the female rat. *Hormones and Behavior*, 8(1), 40-51. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(77\)90019-8](https://doi.org/10.1016/0018-506X(77)90019-8)
- Mathews, D., y Edwards, D. A. (1977b). Involvement of the ventromedial and anterior hypothalamic nuclei in the hormonal induction of receptivity in the female rat. *Physiology and Behavior*, 19(2), 319-326. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(77\)90345-6](https://doi.org/10.1016/0031-9384(77)90345-6)
- McCann, S., Mastronardi, C., Walczewska, A., Karanth, S., Rettori, V., y Yu, W. (1999). The role of nitric oxide in reproduction. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 32(11), 1367-1379.
- McCarthy, M. M., y Konkle, A. T. M. (2005). When is a sex difference not a sex difference? *Frontiers in Neuroendocrinology*, 26(2), 85-102. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2005.06.001>
- McCarthy, M. M., Malik, K. F., y Feder, H. H. (1990). Increased GABAergic transmission in medial hypothalamus facilitates lordosis but has the opposite effect in preoptic area. *Brain Research*, 507(1), 40-44. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)90519-H](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)90519-H)
- McDonnell, D. P., y Goldman, M. E. (1994). RU486 exerts antiestrogenic activities through a novel progesterone receptor A form-mediated mechanism. *Journal of Biological Chemistry*, 269(16), 11945-11949.
- Medhurst, A. D., Jennings, C. A., Robbins, M. J., Davis, R. P., Ellis, C., Winborn, K. Y., Lawrie, K. W. M., Hervieu, G., Riley, G., Bolaky, J. E., Herrity, N. C., Murdock, P., y Darker,

- J. G. (2003). Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *Journal of Neurochemistry*, 84(5), 1162-1172. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01587.x>
- Modgil, A., Guo, L., O'Rourke, S. T., y Sun, C. (2013). Apelin-13 inhibits large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels in cerebral artery smooth muscle cells via a PI3-kinase dependent mechanism. *PloS one*, 8(12), e83051.
- Moralí, G., y Beyer, C. (1979). Neuroendocrine control of mammalian estrus behavior. *Raven Press*.
- Moss, R. L., y Foreman, M. M. (1976). Potentiation of lordosis behavior by intrahypothalamic infusion of synthetic luteinizing hormone-releasing hormone. *Neuroendocrinology*, 20(2), 176-181. <https://doi.org/10.1159/000122481>
- Napoli, A., Powers, J. B., y Valenstein, E. S. (1972). Hormonal induction of behavioral estrus modified by electrical stimulation of hypothalamus. *Physiology and Behavior*, 9(1), 115-117. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(72\)90278-8](https://doi.org/10.1016/0031-9384(72)90278-8)
- Neves, S. R., Ram, P. T., y Iyengar, R. (2002). G protein pathways. *Science*, 296(5573), 1636-1639.
- Numan, M., Roach, J. K., del Cerro, M. C. R., Guillamón, A., Segovia, S., Sheehan, T. P., y Numan, M. J. (1999). Expression of intracellular progesterone receptors in rat brain during different reproductive states, and involvement in maternal behavior. *Brain Research*, 830(2), 358-371.
- O'Carroll, A.-M., Selby, T. L., Palkovits, M., y Lolait, S. J. (2000). Distribution of mRNA encoding B78/apj, the rat homologue of the human APJ receptor, and its endogenous ligand apelin in brain and peripheral tissues. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression*, 1492(1), 72-80. [https://doi.org/10.1016/S0167-4781\(00\)00072-5](https://doi.org/10.1016/S0167-4781(00)00072-5)
- O'Donnell, L. A., Agrawal, A., Sabnekar, P., Dichter, M. A., Lynch, D. R., y Kolson, D. L. (2007). Apelin, an endogenous neuronal peptide, protects hippocampal neurons against excitotoxic injury. *Journal of Neurochemistry*, 102(6), 1905-1917. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.04645.x>

- O'Dowd, B. F., Heiber, M., Chan, A., Heng, H. H. Q., Tsui, L.-C., Kennedy, J. L., Shi, X., Petronis, A., George, S. R., y Nguyen, T. (1993). A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene*, *136*(1), 355-360. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(93\)90495-O](https://doi.org/10.1016/0378-1119(93)90495-O)
- Paredes-Ramos, P., Pfaus, J. G., Miquel, M., Manzo, J., y Coria-Avila, G. A. (2011). Sexual reward induces Fos in the cerebellum of female rats. *Physiology and Behavior*, *102*(2), 143-148. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.11.004>
- Parsons, B., Maclusky, N. J., Krey, L., Pfaff, D. W., y McEwen, B. S. (1980). The temporal relationship between estrogen-inducible progesterin receptors in the female rat brain and the time course of estrogen activation of mating behavior. *Endocrinology*, *107*(3), 774-779. <https://doi.org/10.1210/endo-107-3-774>
- Pauli, A., Norris, M. L., Valen, E., Chew, G.-L., Gagnon, J. A., Zimmerman, S., Mitchell, A., Ma, J., Dubrulle, J., Reyon, D., Tsai, S. Q., Joung, J. K., Saghatelian, A., y Schier, A. F. (2014). Toddler: an embryonic signal that promotes cell movement via apelin receptors. *Science*, *343*(6172), 1248636. <https://doi.org/10.1126/science.1248636>
- Paxinos, G., y Watson, C. (2006). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates: Hard Cover Edition*. Elsevier Science. <https://books.google.es/books?id=0prYfdDbh58C>
- Pfaff, D. (1994). Cellular and molecular mechanisms of female reproductive behaviors. *The Physiology of Reproduction.*, *2*, 107-220.
- 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. *The Journal of Physiology*, *288*(1), 203-210. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1979.sp012691>
- Pfaff, D. W., y Sakuma, Y. (1979b). Facilitation of the lordosis reflex of female rats from the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *The Journal of Physiology*, *288*(1), 189-202. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1979.sp012690>
- Pfaff, D. W. (1980). *Estrogens and brain function. Neural analysis of a hormone-controlled mammalian reproductive behavior* (1.^a ed.). Springer-Verlag.
- Pfaus, J. G. (2009). Reviews: Pathways of sexual desire. *The Journal of Sexual Medicine*, *6*(6), 1506-1533.

- Pfaus, J. G., Jakob, A., Kleopoulos, S. P., Gibbs, R. B., y Pfaff, D. W. (1994). Sexual stimulation induces Fos immunoreactivity within GnRH neurons of the female rat preoptic area: Interaction with steroid hormones. *Neuroendocrinology*, *60*(3), 283-290. <https://doi.org/10.1159/000126760>
- Pleim, E. T., Lipetz, J., Steele, T. L., y Barfield, R. J. (1993). Facilitation of sexual receptivity by ventromedial hypothalamic implants of the antiprogesterin RU 486. *Hormones and Behavior*, *27*(4), 488-498.
- Pope, G. R., Roberts, E. M., Lolait, S. J., y O'Carroll, A.-M. (2012). Central and peripheral apelin receptor distribution in the mouse: Species differences with rat. *Peptides*, *33*(1), 139-148. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2011.12.005>
- Powers, B., y Valenstein, E. S. (1972). Sexual receptivity: Facilitation by medial preoptic lesions in female rats. *Science*, *175*(4025), 1003-1005.
- Ramírez-Orduña, J. M., Lima-Hernández, F. J., García-Juárez, M., González-Flores, O., y Beyer, C. (2007). Lordosis facilitation by LHRH, PGE2 or db-cAMP requires activation of the kinase A signaling pathway in estrogen primed rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *86*(1), 169-175. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.12.022>
- Reaux, A., Gallatz, K., Palkovits, M., y Llorens-Cortes, C. (2002). Distribution of apelin-synthesizing neurons in the adult rat brain. *Neuroscience*, *113*(3), 653-662. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(02\)00192-6](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(02)00192-6)
- Reaux, A., De Mota, N., Skultetyova, I., Lenkei, Z., El Messari, S., Gallatz, K., Corvol, P., Palkovits, M., y Llorens-Cortès, C. (2001). Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. *Journal of Neurochemistry*, *77*(4), 1085-1096. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00320.x>
- Riskind, P., y Moss, R. L. (1983). Midbrain LHRH infusions enhance lordotic behavior in ovariectomized estrogen-primed rats independently of a hypothalamic responsiveness to LHRH. *Brain Research Bulletin*, *11*(5), 481-485. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(83\)90118-1](https://doi.org/10.1016/0361-9230(83)90118-1)
- Roche, J., Ramé, C., Reverchon, M., Mellouk, N., Cornuau, M., Guerif, F., Froment, P., y Dupont, J. (2016). Apelin (APLN) and apelin receptor (APLNR) in human ovary: Expression, signaling, and regulation of steroidogenesis in primary human luteinized

- granulosa cells. *Biology of Reproduction*, 95(104, 1-12), 1-12.
<https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.141754>
- Rodríguez-Sierra, J. F., Crowley, W. R., y Komisaruk, B. R. (1975). Vaginal stimulation in rats induces prolonged lordosis responsiveness and sexual receptivity. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 89(1), 79.
- Ross, J., 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(1), 32-38. <https://doi.org/10.1210/endo-89-1-32>
- Rovati, G. E., y Nicosia, S. (1994). Lower efficacy: Interaction with an inhibitory receptor or partial agonism? *Trends in Pharmacological Sciences*, 15(5), 140-144.
[https://doi.org/10.1016/0165-6147\(94\)90073-6](https://doi.org/10.1016/0165-6147(94)90073-6)
- Sakuma, Y., y Pfaff, D. W. (1979). Facilitation of female reproductive behavior from mesencephalic central gray in the rat. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 237(5), R278-R284.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.1979.237.5.R278>
- Sakuma, Y., y Pfaff, D. W. (1979). Mesencephalic mechanisms for integration of female reproductive behavior in the rat. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 237(5), R285-R290.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.1979.237.5.R285>
- Sakuma, Y., y Pfaff, D. W. (1980). LH-RH in the mesencephalic central grey can potentiate lordosis reflex of female rats. *Nature*, 283(5747), 566-567.
<https://doi.org/10.1038/283566a0>
- Sakuma, Y., y Pfaff, D. W. (1983). Modulation of the lordosis reflex of female rats by LHRH, its antiserum and analogs in the mesencephalic central gray. *Neuroendocrinology*, 36(3), 218-224. <https://doi.org/10.1159/000123459>
- Sandal, S., Tekin, S., Seker, F. B., Beytur, A., Vardi, N., Colak, C., Tapan, T., Yildiz, S., y Yilmaz, B. (2015). The effects of intracerebroventricular infusion of apelin-13 on reproductive function in male rats. *Neuroscience Letters*, 602, 133-138.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.06.059>

- Sandoval, Y., Komisaruk, B., y Beyer, C. (1988). Possible role of inhibitory glycinergic neurons in the regulation of lordosis behavior in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 29(2), 303-307. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(88\)90160-8](https://doi.org/10.1016/0091-3057(88)90160-8)
- Saral, S., Alkanat, M., Sumer, A., y Canpolat, S. (2018). Apelin-13 increased food intake with serum ghrelin and leptin levels in male rats. *Bratislavske lekarske listy*, 119(1), 47-53.
- Schneider, J. E., Goldman, M. D., Tang, S., Bean, B., Ji, H., & Friedman, M. I. (1998). Leptin indirectly affects estrous cycles by increasing metabolic fuel oxidation. *Hormones and Behavior*, 33(3), 217-228.
- Scimia, M. C., Hurtado, C., Ray, S., Metzler, S., Wei, K., Wang, J., Woods, C. E., Purcell, N. H., Catalucci, D., y Akasaka, T. (2012). APJ acts as a dual receptor in cardiac hypertrophy. *Nature*, 488(7411), 394-398.
- Sharif, A., Baroncini, M., y Prevot, V. (2013). Role of glia in the regulation of gonadotropin-releasing hormone neuronal activity and secretion. *Neuroendocrinology*, 98(1), 1-15.
- Shimizu, H., Shimomura, Y., Nakanishi, Y., Futawatari, T., Ohtani, K., Sato, N., y Mori, M. (1997). Estrogen increases in vivo leptin production in rats and human subjects. *Journal of Endocrinology*, 154(2), 285-292.
- Shimizu, T., Kosaka, N., Murayama, C., Tetsuka, M., y Miyamoto, A. (2009). Apelin and APJ receptor expression in granulosa and theca cells during different stages of follicular development in the bovine ovary: Involvement of apoptosis and hormonal regulation. *Animal Reproduction Science*, 116(1), 28-37. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.01.009>
- Shin, K., Pandey, A., Liu, X.-Q., Anini, Y., y Rainey, J. K. (2013). Preferential apelin-13 production by the proprotein convertase PCSK3 is implicated in obesity. *FEBS Open Bio*, 3, 328-333. <https://doi.org/10.1016/j.fob.2013.08.001>
- Shirasuna, K., Shimizu, T., Sayama, K., Asahi, T., Sasaki, M., Berisha, B., Schams, D., y Miyamoto, A. (2008). Expression and localization of apelin and its receptor APJ in the bovine corpus luteum during the estrous cycle and prostaglandin F₂α-induced luteolysis. *Reproduction*, 519-525.
- Siegel, S., Castellan, J. N., Aragón Borja, L. E., y Fierros Dávila, L. E. (1995). *Estadística no paramétrica: Aplicada a las ciencias de la conducta*.

- Simerly, R., y Swanson, L. (1986). The organization of neural inputs to the medial preoptic nucleus of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 246(3), 312-342.
- Simerly, R. B., Swanson, L. W., Chang, C., y Muramatsu, M. (1990). Distribution of androgen and estrogen receptor mRNA-containing cells in the rat brain: An *in situ* hybridization study. *Journal of Comparative Neurology*, 294(1), 76-95. <https://doi.org/10.1002/cne.902940107>
- Singer, J. J. (1968). Hypothalamic control of male and female sexual behavior in female rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 66(3, Pt.1), 738-742. <https://doi.org/10.1037/h0026519>
- Şişli, H. B., Hayal, T. B., Şenkal, S., Kıratlı, B., Sağraç, D., Seçkin, S., Özpolat, M., Şahin, F., Yılmaz, B., y Doğan, A. (2020). Apelin receptor signaling protects GT1-7 GnRH neurons against oxidative stress *in vitro*. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 1-23.
- Sunter, D., Hewson, A. K., y Dickson, S. L. (2003). Intracerebroventricular injection of apelin-13 reduces food intake in the rat. *Neuroscience Letters*, 353(1), 1-4. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(03\)00351-3](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(03)00351-3)
- Taheri, S., Murphy, K., Cohen, M., Sujkovic, E., Kennedy, A., Dhillon, W., Dakin, C., Sajedi, A., Ghatei, M., y Bloom, S. (2002). The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 291(5), 1208-1212. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2002.6575>
- Tatemoto, K., Hosoya, M., Habata, Y., Fujii, R., Kakegawa, T., Zou, M.-X., Kawamata, Y., Fukusumi, S., Hinuma, S., Kitada, C., Kurokawa, T., Onda, H., y Fujino, M. (1998). Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 251(2), 471-476. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1998.9489>
- Tatemoto, K., Takayama, K., Zou, M.-X., Kumaki, I., Zhang, W., Kumano, K., y Fujimiya, M. (2001). The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regulatory Peptides*, 99(2), 87-92. [https://doi.org/10.1016/S0167-0115\(01\)00236-1](https://doi.org/10.1016/S0167-0115(01)00236-1)

- Tekin, S., Erden, Y., Sandal, S., Etem Onalan, E., Ozyalin, F., Ozen, H., y Yilmaz, B. (2017). Effects of apelin on reproductive functions: Relationship with feeding behavior and energy metabolism. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 123(1), 9-15. <https://doi.org/10.1080/13813455.2016.1211709>
- Telegdy, G., Adamik, A., y Jászberényi, M. (2013). Involvement of neurotransmitters in the action of apelin-13 on passive avoidance learning in mice. *Peptides*, 39, 171-174. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2012.10.011>
- Tetel, M. J., Getzinger, M. J., y Blaustein, J. D. (1993). Fos expression in the rat brain following vaginal-cervical stimulation by mating and manual probing. *Journal of Neuroendocrinology*, 5(4), 397-404.
- Thody, A. J., Wilson, C. A., y Everard, D. (1981). α -Melanocyte stimulating hormone stimulates sexual behaviour in the female rat. *Psychopharmacology*, 74(2), 153-156. <https://doi.org/10.1007/BF00432683>
- Trayhurn, P., Hoggard, N., Mercer, J., y Rayner, D. (1999). Leptin: Fundamental aspects. *International Journal of Obesity*, 23(1), S22-S28.
- Uphouse, L. (2000). Female gonadal hormones, serotonin, and sexual receptivity. *Brain Research Reviews*, 33(2), 242-257. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(00\)00032-1](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(00)00032-1)
- Vathy, I., van der Plas, J., Vincent, P. A., y Etgen, A. M. (1991). Intracranial dialysis and microinfusion studies suggest that morphine may act in the ventromedial hypothalamus to inhibit female rat sexual behavior. *Hormones and Behavior*, 25(3), 354-366. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(91\)90007-5](https://doi.org/10.1016/0018-506X(91)90007-5)
- Veening, J. G., Coolen, L. M., y Gerrits, P. O. (2014). Neural mechanisms of female sexual behavior in the rat; comparison with male ejaculatory control. *Psychopharmacology of Male and Female Sexual Behavior*, 121, 16-30. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.11.025>
- Wade, G. N., Lempicki, R. L., Panicker, A. K., Frisbee, R. M., y Blaustein, J. D. (1997). Leptin facilitates and inhibits sexual behavior in female hamsters. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 272(4), R1354-R1358.

- Wang, X., Liu, X., Song, Z., Shen, X., Lu, S., Ling, Y., y Kuang, H. (2020). Emerging roles of APLN and APELA in the physiology and pathology of the female reproductive system. *PeerJ*, 8, e10245. <https://doi.org/10.7717/peerj.10245>
- Ward, I. L., Crowley, W. R., Zemlan, F. P., y Margules, D. L. (1975). Monoaminergic mediation of female sexual behavior. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 88(1), 53-61. <https://doi.org/10.1037/h0076202>
- Wilcox, J. N., Barclay, S. R., y Feder, H. H. (1984). Administration of estradiol-17 β in pulses to female guinea pigs: Self-priming effects of estrogen on brain tissues mediating lordosis. *Physiology and Behavior*, 32(3), 483-488. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(84\)90268-3](https://doi.org/10.1016/0031-9384(84)90268-3)
- Whalen, R. E., y Gorzalka, B. B. (1972). The effects of progesterone and its metabolites on the induction of sexual receptivity in rats. *Hormones and behavior*, 3(3), 221-226.
- Wunsch, S. (2014). *Comprendre les origines de la sexualité humaine: Neurosciences, éthologie, anthropologie*.
- Xie, Q., Cho, H. J., Calaycay, J., Mumford, R. A., Swiderek, K. M., Lee, T. D., Ding, A., Troso, T., y Nathan, C. (1992). Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse macrophages. *Science*, 256(5054), 225-228.
- Xu, N., Wang, H., Fan, L., y Chen, Q. (2009). Supraspinal administration of apelin-13 induces antinociception via the opioid receptor in mice. *Peptides*, 30(6), 1153-1157.
- Yang, P., Maguire, J. J., y Davenport, A. P. (2015). Apelin, Elabela/Toddler, and biased agonists as novel therapeutic agents in the cardiovascular system. *Trends in Pharmacological Sciences*, 36(9), 560-567. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.06.002>
- Yang, S.-P., y Voogt, J. L. (2001). Mating-activated brainstem catecholaminergic neurons in the female rat. *Brain Research*, 894(2), 159-166. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)01990-4](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(01)01990-4)
- Yang, S.-P., y Voogt, J. L. (2002). Mating-activated nitric oxide-producing neurons in specific brain regions in the female rat. *Brain Research*, 950(1-2), 79-87.
- Zemlan, F. P., y Adler, N. T. (1977). Hormonal control of female sexual behavior in the rat. *Hormones and Behavior*, 9(3), 345-357. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(77\)90069-1](https://doi.org/10.1016/0018-506X(77)90069-1)

Zeng, X.-X. I., Wilm, T. P., Sepich, D. S., y Solnica-Krezel, L. (2007). Apelin and its receptor control heart field formation during zebrafish gastrulation. *Developmental Cell*, 12(3), 391-402. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2007.01.011>

12. GLOSARIO DE TÉRMINOS

Abreviatura	Significado
a-MSH	Hormona estimulante de los melanocitos a
3V	Tercer ventrículo
4v	Cuarto ventrículo
aca	Comisura anterior
ACH	Área hipotalámica anterior, parte central
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AF1	Función de activación dependiente del ligando 1
AF2	Función de activación dependiente del ligando 2
AG490	2-ciano -3- (3,4-dihidroxifenil) -N- (benzil) -2- propenamida, 2-ciano -3-(3,4 dihidroxifenil) -N-(fenilmetil) -2-propenamida; Inhibidor de la JAK
AHP	Área hipotalámica anterior, parte posterior
am	Amígdala
AMPc	Adenosín mofosfato cíclico
APOm	Área preóptica media
APJ	Receptor de apelina
APLN	Gen que codifica para apelina-13
APLNR	Receptor de apellina de humano
ArcM	Núcleo arcuato, parte medial
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
AT1	Receptor de angiotensina tipo 1
BE	Benzoato de estradiol
BIS	Bisindolilmaleimida. inhibidor de PKC
bo	Bulbo olfatorio

Ca²⁺	Ion calcio
CL	Conducta de lordosis
DA	Dopamina
DAG	Diacilglicerol
DMSO	Dimetil sulfóxido
DOC	Desoxicorticosterona
eNOS	Óxido nítrico sintetasa endotelial
E	Estradiol
f	Fórnix
FSH	Hormona folículo estimulante
GABA	Ácido γ -butírico
GMPc	Guanilato monofosfato cíclico
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropinas
GTP	Guanosina trifosfato
HVM	Núcleo hipotalámico ventromedial
ICV	Vía de administración intracerebroventricular
IGF1	Factor de crecimiento similar a la insulina 1
IL	Intensidad de lordosis
IP	Vía de administración intraperitoneal
IP3	Inositol-3,4,5-trifosfato
JAK	Proteína cinasa janus
KT5823	(9S,10R,12R)-2,3,9,10,11,12- hexahidro- 10-metoxi- 2,9-dimetil- 1- oxo- 9,12- epoxi- 1H-di indolo [1,2,3-fg:3',2',1'-kl] pirrol [3,4-i] [1,6] benzodiazocina-10- ácido carboxílico, metil éster; Inhibidor de PKG
LH	Hormona luteinizante
L-NAME	NG-nitro-L-arginina metil éster clorhidrato; Inhibidor de ONS
LPO	Área preóptica lateral
LY294002	Inhibidor de p-PI3K
MAPK	Proteína cinasa activada por mitógeno
MLC	Cadena ligera de miosina

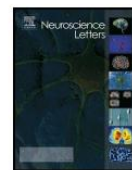
MnPo	Núcleo preóptico medio
NA	Noradrenalina
NADPH	Dinucleótido de nicotinamida adenina fosfato reducido
och	Quiasma óptico
ODQ	Inhibidor de guanilato ciclase
ON	Óxido nítrico
ONS	Enzima óxido nítrico sintasa
OVX	Ovariectomía
P	Progesterona
PAG	Sustancia gris periacueductual
PaLM	Parte lateral magnocelular
PaMP	Parte medial parvicelular
PCSK3	Proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 3
PD98059	2- (2-amino-3-metoxifenil) -4H-1- benzopirano -4-ona; Antagonista de MAPK
P-Akt	Proteína cinasa B fosforilada
p-ERK 1/ 2	Isoformas de la proteína cinasa activada por mitógeno fosforilada
PIP2	Fosfatidilinositol bifosfato
p-PI3K	Fosfoinositol 3-cinasa fosforilado
PGE2	Prostaglandina E2
PGR	Gen del receptor de la progesterona
PI3K	Fosfoinositol 3-cinasa
PKA	Proteína cinasa A
PKC	Proteína cinasa C
PKG	Proteína cinasa G
PLC	Fosfolipasa C
pm	Núcleo premamilar
PP2	4-amino-5-(4-clorofenil) -7- (t-butil) pirazolo [3,4-d] pirimidina; inhibidor de la proteína cinasa Src
QL	Cociente de lordosis
R5020	Progestina sintética

RChL	Área retroquiasmática, parte lateral
RE	Receptor de estrógeno
RP	Receptor de la progesterona
RP-A	Isoforma A del receptor de la progesterona
RP-B	Isoforma B del receptor de la progesterona
RpcAMPS	(R)-adenosina, cíclico 3',5'- (hidrógeno fosforotioato) trietilamonio; Inhibidor de la PKA
RP-PO4	Receptor de la progesterona fosforilado
RU486	Mifepristona, inhibidor del receptor de la progesterona
SC	Vía de administración subcutánea
sGC	Guanilato ciclasa soluble
SO	Núcleo supraóptico
SOR	Núcleo supraóptico, parte retroquiasmática
sox	Decusación supraóptica
Src	Proteína cinasa Src
ST	Núcleo del techo de la estría terminal
VLPO	Núcleo preóptico ventrolateral
VMPO	Núcleo preóptico ventromedial



Contents lists available at ScienceDirect

Neuroscience Letters

journal homepage: www.elsevier.com/locate/neulet

Research article

Apelin-13 facilitates lordosis behavior following infusions to the ventromedial hypothalamus or preoptic area in ovariectomized, estrogen-primed rats

Marcos García-Juárez^a, Ailyn Luna-Hernández^{a,b}, Sandra Tapia-Hernández^{a,b}, Omar Montes-Narvaez^{a,c}, Raymundo Domínguez-Ordoñez^a, Miriam B. Tecamachaltzi-Silvarán^d, James G. Pfaus^e, Oscar González-Flores^{a,*}

^a Centro de Investigación en Reproducción Animal, Universidad Autónoma de Tlaxcala-CINVESTAV, Tlaxcala, Mexico

^b Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico

^c Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico

^d Facultad de Ciencias para el Desarrollo Humano, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico

^e Department of Psychology and Life Sciences, Charles University, Prague, and Czech National Institute of Mental Health, Klecany, Czech Republic



ARTICLE INFO

Keywords:

Apelin-13

Lordosis

Preoptic area

Ventromedial hypothalamus

ABSTRACT

In normal hormonal conditions, increased neuronal activity in the ventromedial hypothalamus (VMH) induces lordosis whereas activation of the preoptic area (POA) exerts an opposite effect. In the present work, we explored the effect of bilateral infusion of different doses of the apelin-13 (0.37, 0.75, 1.5, and 15 μg) in both brain areas on the expression of lordosis behavior. Lordosis quotient and lordosis reflex score were performed at 30, 120, and 240 min. Weak lordosis was observed following the 0.37 μg dose of apelin-13 at 30 min in the VMH of EB-primed rats; however, the rest of the doses induced significant lordosis relative to the control group. At 120 min, all doses induced lordosis behavior, while at 240 min, the highest dose of 15 μg did not induce significant differences. Interestingly, only the 0.75 μg infusion of apelin in the POA induced significant lordosis at 120 and 240 min. These results indicate that apelin-13 acts preferably in HVM and slightly in POA to initiate lordosis behavior in estrogen-primed rats.

1. Introduction

Estradiol (E_2) and progesterone (P) secretion occur during the estrous cycles of mammal females; these physiological changes cause an increase in neuronal activity in preoptic and hypothalamic regions that control the timing of different female sexual behaviors. Activation in the ventromedial hypothalamus (VMH) coincides with the expression of lordosis; in contrast, increased neuronal activity in the preoptic area (POA) facilitates proceptive behaviors (sexual solicitations and pacing behaviors) but inhibits lordosis [1,2]. This suggests that short loop feedback between the VMH and POA coordinates the timing and expression of appetitive and consummatory aspects of female sexual behavior. Initial studies used different strategies to demonstrate the opposite effects of these brain areas on lordosis. For example, bilateral lesions of the VMH cause a decrease in the expression of lordosis behavior in ovariectomized (OVX) rats primed with E_2 and P [3]

whereas electrical stimulation of this region facilitates it. Conversely, bilateral lesions of the medial POA facilitate lordosis [1] but inhibit sexual solicitations [4].

There are abundant data in the literature showing the participation of different neurotransmitter systems in the regulation of female sexual behaviors in these brain areas (noradrenergic, cholinergic, serotonergic, glutamate, or GABA systems, etc.). The role of GABA and glutamate in these regions also follows a similar reciprocal pattern: Glutamate and GABA actions in the medial POA are excitatory and inhibitory, respectively, for lordosis [5], while the administration of those neurotransmitters in the VMH has the opposite actions on lordosis [5–7]. Moreover, E_2 priming increases GABA turnover in the VMH [8], an action likely due to a function of increased synthesis of the GABA biosynthetic enzyme GAD65 [9] through the activation of either the α or β isoform of the E_2 receptor [10]. The increased GABA transmission in the VMH disinhibits lordosis either by inhibiting local serotonin release (which

* Corresponding author at: Centro de Investigación en Reproducción Animal, Apartado Postal No 62, Tlaxcala, Tlax. c.p. 90000, Mexico.
E-mail address: oglezflo@gmail.com (O. González-Flores).

<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2022.136518>

Received 3 November 2021; Received in revised form 20 January 2022; Accepted 7 February 2022

Available online 9 February 2022

0304-3940/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.

tonically inhibits lordosis behavior in the VMH [11] and/or by the inhibition of glutamate neurons). In turn, a large amount of vaginocervical stimulation from male intromission and ejaculations that results in the termination of female sexual behavior activates glutamate neurons in the VMH [12].

At a macro level, the POA, VMH, and other hypothalamic regions also show reciprocal relationships between different regulatory systems, notably between feeding and sex, given that sufficient energy stores are important for reproductive function. Interestingly, some peptide transmitters that stimulate food intake (e.g., NPY, AGRP) inhibit sexual behavior, whereas peptides that inhibit food intake (e.g., α MSH, hypocretins/orexins, Substance-P, leptin) stimulate sexual behavior [2,13]. Some of this regulation comes from peripheral sources, including adipose tissue that secretes hormones called adipokines, such as apelin, leptin, adiponectin, resistin, and visfatin, [14].

Apelin-13 is synthesized from an endogenous pre-proapelin precursor, which is constituted of 77 amino acids and is enzymatically hydrolyzed into various active forms such as apelin-36 and apelin-13. The last one is the shortest form showing the highest biological activity and has been used in the most *in vivo* and *in vitro* experiments [15]. Apelin-13 has been detected in both a) peripherally, in the stomach, lung, heart, adipose tissue, blood vessels, and b) in the central nervous system at high concentrations [16,17]. High levels of apelin-13 were found in the medial and lateral POA, where numerous intensely stained but low-density neuronal bodies were observed [16,18]. Besides, a high density of apelin-positive nerve fibers was also found in the hypothalamus [16]. Moreover, apelin-13 has been found in the hypothalamus-pituitary gland-gonads axis where is considered an important factor in reproductive events in both females and males [19].

At a molecular level, apelin-13 binds to the APJ receptor, which has no subtypes [17], and both ligand and receptor have been widely detected in neurons and oligodendrocytes of the CNS [20], suggesting that apelin-13 plays an important role in the neuronal signaling pathway [17]. APJ is coupled to a Gi protein which can inhibit activated adenyl cyclase and cAMP formation [18], thereby inhibiting the activation of protein kinase A (PKA), a signaling pathway that has been widely documented in the facilitation of female sexual behavior induced by a variety of compounds [13,21,22]. However, apelin-13, upon binding to its active receptor can also activate a Gq protein that in turn activates phospholipase C (PLC), which transforms the membrane lipid phosphatidylinositol biphosphate (PIP2) to generate diacylglycerol (DAG), which in turn activates MAPK and inositol 1,4,5-trisphosphate, which induces Ca^{2+} release, activation of Ca^{2+} /calmodulin kinase, and the activation of the nitric oxide (NO) synthase pathway. Both protein kinases and NO have also been implicated in the activation of lordosis behavior in estradiol-primed OVX rats [22,23]. Interestingly, studies in the hypothalamus and pituitary gland in the mouse showed that intraperitoneal administration of apelin-13 does not affect the release of gonadotropin-releasing hormone (GnRH), but it reduces the release of luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone (FSH) from the pituitary [19]. The mechanisms by which apelin-13 does this are not yet known.

We have proposed previously that the facilitation of female sexual behavior induced by a variety of chemical agents or by sensory stimuli such as early vaginocervical stimulation is produced by the release of GnRH [24]. Therefore, in the present work, we first analyzed whether the intracerebral infusion of different doses of apelin-13 can induce the expression of female sexual behavior (lordosis) and whether this administration produces any differential effect between the VMH and POA of OVX rats primed with estradiol benzoate (E_2B).

2. Material and methods

2.1. Subjects

One hundred and three Sprague-Dawley female rats were bred in our

colony. The females were sexually inexperienced with a bodyweight of 200–250 g at the start of the experiments. The animals were housed in a room with an imposed light–dark cycle (14:10, with light off at 10:00 hrs) and a controlled temperature (21 ± 2 °C). Subjects were fed with Purina rat pellets and water *ad libitum*. Females were anesthetized and OVX ventrally, then housed in groups of four until recovery. One week after OVX, females were again anesthetized and implanted bilaterally, using a Kopf stereotaxic apparatus (Tujunga, CA, USA), with stainless-steel guide cannulae (22 ga, 23 mm; Plastics One, Roanoke, VA, USA) directly into either the VMH (A/P -2.8 mm, P -9.2 mm with respect to bregma) or the POA (A/P -0.6 mm, P -8 mm with respect to bregma) using the coordinates from the atlas of Paxinos and Watson [25]. The cannulae were fixed to the skull through the use of screws and dental cement. An insert cannula (30 ga) provided with a cap was introduced into the guide cannula to prevent clogging and contamination. All surgical procedures were done under xylazine (4 mg/kg) and ketamine (80 mg/kg) anesthesia and followed by sc injection of carprofen (5 mg/kg/24 h \times 3 days sc). After surgeries, females were intramuscularly injected with procainic benzilpenicilin (22,000 IU/kg) and cristaline benzilpenicilin (7500 IU/Kg) each 24 h by 3 days. Twenty-four males were housed in the same room as the females in groups of 3 and were given the same *ad libitum* access to food and water. The animal care and experimental procedures were adhered to both NIH guidelines and the Mexican Law for the Protection of Animals and approved by the CIN-VESTAV animal care committee.

2.2. Drugs

E_2B was purchased from Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA) and dissolved in sesame oil. Apelin-13 was purchased from Cayman Chemical (Ann Arbor, Michigan, USA) and was dissolved in 10% DMSO.

2.3. Experiment 1. Dose-response effects of apelin-13 infusions into the VMH on lordosis behavior

This experiment determined whether apelin-13 elicits lordosis behavior when administered into the VMH. One week after cannulae implantation, the rats were injected s.c with 5 μ g of E_2B at hour 0. Forty hours later, independent groups of females received infusions of different doses of apelin-13: 0.37 μ g (n = 9), 0.75 μ g (n = 10), 1.5 μ g (n = 10) or 15 μ g (n = 10). The doses were determined from the work of Sandal, et al. [19]. Control animals (n = 9) received 10% DMSO. Doses were administered with a 10 μ l Hamilton syringe in 1 μ l per side over 1 min, with the infusion cannulae left in the guide for another min to let the dose diffuse into brain tissue. Behavioral tests were conducted at 30, 120, and 240 min after apelin-13 administration.

2.4. Experiment 2. Dose-response effect of apelin-13 infusions into the POA on lordosis behavior

This experiment determined whether apelin-13 alters lordosis behavior when administered into the POA. One week after implantation of cannulae into the POA, the rats were injected with 5 μ g of E_2B sc at hour 0. Forty hours later, independent groups of females received different doses of apelin-13: 0.37 μ g (n = 9), 0.75 μ g (n = 10), or 1.5 μ g (n = 10). Control animals (n = 10) received 10% DMSO. Doses were administered into POA with the same protocol as in the experiment 1.

2.5. Behavioral tests

Females were placed into a circular Plexiglas arena (55 cm diameter) that contained a sexually experienced and vigorous male until they were mounted ten times. We determined for each female: (a) the lordosis quotient [LQ = (number of lordosis/10 mounts) \times 100], a measure of sexual responsiveness; and (b) lordosis score [LS = (lordosis intensity/10 mounts) \times 10], which is on a three-point scale, as a mean reflex

intensity. Both behavioral indices are based on Hardy and DeBold [26].

2.6. Statistical analysis

The effects of the different doses of apelin-13 versus control on the LQ and LS only in the animals implanted in the VMH were evaluated at each testing time by separate nonparametric Kruskal-Wallis analyses for independent groups (significance level $p < 0.05$). For each significant main effect, post hoc Mann-Whitney U tests were used to compare each dose against the control [27] in animals implanted in both areas (VMH and POA). The effect size was estimated using Cohen's d for non-parametric data [28].

2.7. Histological examination of cannulae placement

Twenty-four hours after completing the experiments, all the females received an overdose of 800 mg/kg ip of sodium pentobarbital, and then perfused intracardially with 0.9% saline to clear the brain, followed by 10% formalin to fix the brain tissue. Brains were removed and cryoprotected by immersion in 10, 20, and 30% sucrose solutions for 24 h, respectively, and stored at -70°C . Frozen brain sections (20 μm) were cut with a cryostat Leica CM1520 in the transverse plane and stained with cresyl violet to verify cannulae placement. Results from animals whose cannulae were located outside the VMH ($n = 9$) or the POA ($n = 7$) were removed from the experiment.

3. Results

3.1. Experiment 1. Dose-response effect of apelin-13 infusions into the VMH on lordosis behavior.

Table 1 shows the LQ and LS obtained at 30, 120, and 240 min after infusion of 0.37, 0.75, 1.5, and 15 μg of apelin-13 bilaterally into the VMH. The Kruskal-Wallis test found significant differences in the LQ at each of the three assessed times (all $ps < 0.01$). The Kruskal-Wallis test also found significant differences in the LS at each of the three-time points (all $ps < 0.01$). Post-hoc, Mann-Whitney U tests revealed statistical differences in LQ as follows; for the dose of 0.37 μg , only at 120 and 240 min, for the doses of 0.75 μg and 1.5 μg at the three times tested, while for the dosage of 15 μg only at 30 and 120 min but not at 240 min, for this reason, we did not test this dose in the POA. Fig. 1A shows

Table 1
Effect of injection of 0.37, 0.75, 1.5, and 15 μg of apelin-13, directly into the VMH, on the lordosis quotient (LQ) and lordosis score (LS).

Treatment	Female response	TIME (minutes)		
		30	120	240
		mean + s.e.	mean + s.e.	mean + s.e.
Vehicle	LQ	5.5 + 2.9	16.6 + 6.4	21.1 + 6.7
	LS	0.5 + 0.3	2.2 + 0.9	2.4 + 0.7
Apelin-13, 0.37 μg	LQ	23.3 + 7.2	60.0 + 9.5**	55.5 + 11.4*
	LS	2.8 + 1	8.2 + 1.8**	7.6 + 1.8*
Apelin-13, 0.75 μg	LQ	48.0 + 10**	79.0 + 5.4***	82.0 + 6.4***
	LS	7.5 + 2.1**	13.4 + 1.5***	12.7 + 1.5***
Apelin-13, 1.5 μg	LQ	37.0 + 10.6**	43.0 + 7.6**	48.0 + 8**
	LS	6.1 + 2**	6.6 + 1.8**	7.1 + 1.3**
Apelin-13, 15 μg	LQ	39.0 + 7.3**	47.0 + 10.1**	40.0 + 10.7
	LS	5.8 + 1.4***	5.8 + 1.3*	6.4 + 1.8

All dosages induced lordosis, the highest response was obtained by 0.75 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ of apelin-13 at the three times tested compared with the control group (DMSO). * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

bilateral cannulae placements within the VMH. Placements were largely in the dorsolateral regions of this area.

Fig. 1A shows bilateral cannulae placements within the VMH and POA. Placements were largely in the center of the VMH and POA, with some in the ventrolateral region.

The effect size results confirm that the administration of apelin-13 directly in VMH effectively facilitated lordosis behavior, particularly with the dose of 0.75 μg at the three times tested (Table 3).

3.2. Experiment 2: Dose-response effect of apelin-13 infusions into the POA on lordosis behavior.

Table 2 shows the LQ and LS obtained following infusions of 0.37, 0.75, and 1.5 μg of apelin-13 to the POA. Unlike the VMH, the control animals that received DMSO into POA showed a marked increase in the display of lordosis behavior. Although at 120 and 240 min the lordosis induced by the 0.37 μg and 0.75 μg doses are clear; however, the Mann-Whitney U test showed significant differences only with the dose of 0.75 μg when compared to the control group. It is interesting to note that in the case of LS, a significant response was only found at 240 min with the dose of 0.75 μg . Fig. 1B shows bilateral cannulae placements within the POA. Placements were largely in the dorsolateral regions of this area.

The effect size results for this experiment confirm that apelin-13 administered directly in the POA did not produce a robust effect on lordosis (Table 3).

4. Discussion

The results show that infusions of apelin-13 into the VMH facilitate lordosis behavior in OVX, E₂B primed rats in a dose- and time-dependent manner. POA infusions had a weaker effect as only the 0.75 μg dose induced lordosis at 120 min. Although this dose was also the most effective following infusions to the VMH. The fact that this dose induced clear lordosis behavior following infusions to the POA implies that disinhibition induced the facilitation. Female sexual behaviors, solicitations and lordosis are regulated by the POA and VMH which exert opposite effects, such as activation of the POA facilitates solicitations and inhibits lordosis, while activation of the VMH facilitates lordosis [1,29]. Some features of the response to apelin differ from those observed in response to induced by the combination between estrogen and P since apelin-13 does not induce solicitations.

McCarthy et al. [5] showed a differential effect between both brain areas where an increase in GABAergic activity in the VMH facilitates lordosis whereas in the POA inhibits this behavior. The lesion and electrical stimulation studies, and the effects of different compounds such as progestins and amino acids, infused directly into the POA, decreases the excitability of POA neurons inducing a tonic inhibition of lower neuronal structures and eliciting lordosis expression [1,5,7]. Such an effect could be utilized to provide a timing mechanism for mutually exclusive sexual behaviors like solicitations and lordosis, that require opposite motor patterns (e.g., headwise orientation and runaway). Work from our laboratory coincides with the present apelin-13 effects since the administration of different ring A reduced P-metabolites induced clear lordosis behavior when administered in cerebral nuclei [30], or as implants of P directly in the POA [31]. It is not clear why 0.75 μg of apelin-13 infused into the POA (at 120 and 240 min) was the only dose that significantly induced lordosis. Could be that the lesions produced by the implants in the POA in animals that received vehicle, showed greater lordosis behavior than animals that also received the vehicle in the VMH: which supports the idea that POA lesioning favors the appearance of female sexual behavior in estrogenized rats. Most of the doses infused in that area were unable to inhibit the inhibition of the POA and therefore did not induce significant lordosis. The 0.75 μg dose possibly facilitated lordosis by interacting with higher affinity on APJ receptors causing greater POA inhibition. Further studies are required to test this hypothesis.

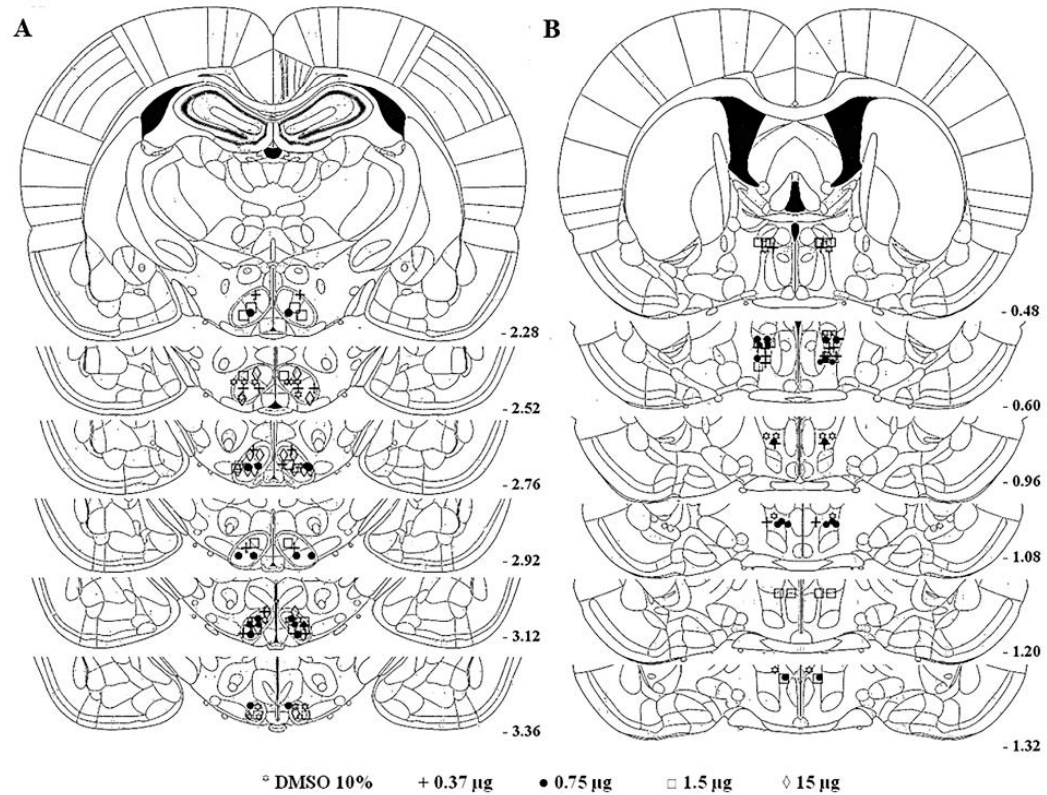


Fig. 1. Fig. 1A shows bilateral cannulae placements within the VMH and POA.

Table 2
Effect of the injection of 0.37, 0.75, and 1.5 µg of apelin-13, directly in the POA, on the lordosis quotient (LQ) and lordosis score (LS).

Treatment	Female response	TIME (minutes)		
		30	120	240
		mean + s.e.	mean + s.e.	mean + s.e.
Vehicle	LQ	31 + 7.5	35 + 7.5	42 + 11.4
	LS	3.6 + 0.9	4.9 + 1.3	5 + 1.4
Apelin-13, 0.37 µg	LQ	31.1 + 11.2	60 + 13.1	63.3 + 12.0
	LS	4.6 + 1.6	9.8 + 2.4	9.3 + 1.9
Apelin-13, 0.75 µg	LQ	48 + 11.3	67 + 11.1*	73 + 12.1*
	LS	6 + 1.4	8.8 + 1.7	12.3 + 2.3*
Apelin-13, 1.5 µg	LQ	17 + 9.0	35 + 11.9	40 + 12.0
	LS	2 + 1.0	5.8 + 2.1	6.1 + 2.1

Dose of 0.75 µg/µl of apelin-13 elicits lordosis behavior at 120 and 240 min after its administration compared with the control group (DMSO). *p < 0.05.

The cellular mechanism by which apelin-13 induces such behavior in these brain areas has never been studied. However, apelin-13, at the peripheral level, regulates the functioning of the cardiovascular system through its action on blood vessels and the heart [32]. Apelin-13 generates a decrease in blood pressure through the NO pathway [33], and increase in cardiac contractility [32]. Moreover, apelin-13 and its APJ receptor have been detected together in neurons within different brain regions [17]. Thus, apelin-13 has been implicated in several behavioral phenomena such as antinociceptive processes involving µ-opioid receptors [34] or in learning events and memory consolidation involving α-adrenergic, serotonergic 5-HT2, cholinergic, dopaminergic,

Table 3
Effect sizes for lordosis quotient in experiments 1 and 2.

Administration area	Treatment	Effect size (d) at three test times		
		1	2	3
VMH	1 µl DMSO vs E ₂ B + 0.37 µg of Apelin-13	0.944	1.736	1.153
	1 µl DMSO vs E ₂ B + 0.75 µg of Apelin-13	1.786	1.736	2.585
	1 µl DMSO vs E ₂ B + 1.5 µg of Apelin-13	1.392	1.263	1.294
POA	1 µl DMSO vs E ₂ B + 15 µg of Apelin-13	2.027	1.326	0.523
	1 µl DMSO vs E ₂ B + 0.37 µg of Apelin-13	0.056	0.739	0.65
	1 µl DMSO vs E ₂ B + 0.75 µg of Apelin-13	0.506	1.002	1.002
	1 µl DMSO vs E ₂ B + 1.5 µg of Apelin-13	0.658	0.17	0.017

GABAergic, and NO systems [24]. These neurotransmitters are important regulators of female sexual behavior in E₂-primed rats [5,21,23]. Based on this, we could speculate that apelin-13 may be modulated by several agents to regulate the expression of female sexual behavior. For example, it has been shown that apelin synthesis is significantly regulated by several agents as: growth hormone or insulin, especially in adipose cells [35]. In addition, several transcription factors have been identified that regulate the expression of apelin gene promoters, and the expression of this compound is induced by some cytokines associated

with the Stat3 protein [36].

We have shown that lordosis is induced by different agents through the release of GnRH, since intracerebral administration of the GnRH-1 receptor antagonist, antide, reduced lordosis induced by these agents [37]. However, it has been proposed that intraperitoneal injection of apelin-13 in mice does not affect GnRH release (although it is not known if the same thing happens in the rat), so the lordosis behavior obtained in this work by apelin-13 could be through a different neurochemical or cellular mechanism. For example, a high number of proopiomelanocortin neurons of the arcuate nucleus express APJ receptor mRNA, and the addition of an apelin-13 agonist increases α -melanocyte-stimulating hormone (α -MSH) release from rat hypothalamic slices, whereas the addition of an inactive fragment of apelin-13, does not [38]. This is in keeping with the finding by Thody [39] that intraventricular administration of α -MSH increased lordosis behavior in OVX female rats primed with E₂B alone or in combination with P [39]. Therefore, apelin-13 could induce lordosis indirectly through the release of α -MSH in E₂B-primed rats. However, in earlier experiments by the same group, they argue that α -MSH had two effects depending on the level of receptivity of the female; for example, in OVX rats which showed a low level of sexual receptivity in estrogen and P treated females, sc injections of α -MSH increased the lordosis response, but in rats showing high receptivity, this peptide had the opposite effect and decreased lordosis behavior. This is likely due to α -MSH acting on MC3 receptors in the VMH to induce lordosis and MC4 receptors in the POA to induce solicitations [38]. However, the selective MC4 agonist bremelanotide enhances solicitations selectively in the POA without altering lordosis in OVX rats primed with either E₂ alone or E₂P [38,39].

As previously demonstrated, apelin-13 can modulate the effects of NO, not only peripherally in the process of blood pressure-lowering [33], but also centrally in learning and locomotion processes [24]. ICV administration of apelin-13 elicited a marked activation of locomotion in a dose-dependent manner, whereas administration of L-NAME, an inhibitor of NO synthase, inhibited this behavior [40]. Therefore, it could be speculated that apelin-13 induces female sexual behavior in E₂B-primed rats through NO production. In support of this idea, lordosis that is induced by different chemical agents can be reduced or blocked by intracerebral administration of inhibitors of the enzymes involved in intracellular cascading exerted by NO, for example, L-NAME, ODQ (inhibitor of soluble guanylate cyclase) or KT5823 (inhibitor of protein kinase G) [23].

In summary, the present results indicate that, regardless of their mechanism of action, apelin-13 can induce significant lordosis behavior when infused into either the VMH and only with a dose of 0.75 μ g at 120 min in the APO to E₂B-primed rats. Elucidation of the functional significance of these findings, as well as the precise cellular mechanisms by which apelin-13 exerts this effect will require further study, especially exploring whether it does so indirectly through the release of α -MSH or through the NO system or by other intracellular signaling pathways such as protein kinase A (PKA) or by MAPK.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

This research was supported by Fondo Sectorial de investigación para la Educación del CONACYT, grant number CB-255936/2015. Luna-Hernández and Tapia Hernández both are fellowship from CONACYT No. 1006947 and No. 1006648, respectively.

References

- [1] B. Powers, E.S. Valenstein, Sexual receptivity: facilitation by medial preoptic lesions in female rats, *Science* 175 (1972) 1003–1005.
- [2] J.G. Pfaus, S.L. Jones, L.M. Flanagan-Cato, J.D. Blaustein, *Female sexual behavior*, Elsevier: New York, NY, USA, 2015.
- [3] J.J. Singer, Hypothalamic control of male and female sexual behavior in female rats, *J. Comp. Physiol. Psychol.* 66 (3, Pt.1) (1968) 738–742, <https://doi.org/10.1037/h0026519>.
- [4] Y. Hoshina, T. Takeo, K. Nakano, T. Sato, Y. Sakuma, Axon-sparing lesion of the preoptic area enhances receptivity and diminishes proceptivity among components of female rat sexual behavior, *Behav. Brain Res.* 61 (2) (1994) 197–204.
- [5] M.M. McCarthy, K.F. Malik, H.H. Feder, Increased GABAergic transmission in medial hypothalamus facilitates lordosis but has the opposite effect in the preoptic area, *Brain Res.* 507 (1990) 40–44, [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)90519-H](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)90519-H).
- [6] M. Georgescu, J.G. Pfaus, Role of glutamate receptors in the ventromedial hypothalamus in the regulation of female rat sexual behaviors: I. Behavioral effects of glutamate and its selective receptor agonists AMPA, NMDA and kainate, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 83 (2006) 322–332.
- [7] L.-M. Kow, R.E. Harlan, B.D. Shivers, D.W. Pfaff, Inhibition of the lordosis reflex in rats by intrahypothalamic infusion of neural excitatory agents: Evidence that the hypothalamus contains separate inhibitory and facilitatory elements, *Brain Res.* 341 (1) (1985) 26–34, [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)91468-4](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)91468-4).
- [8] V.N. Luine, D.R. Grattan, M. Selmanoff, Gonadal hormones alter hypothalamic GABA and glutamate levels, *Brain Res.* 747 (1) (1997) 165–168.
- [9] M.M. McCarthy, D.B. Masters, K. Rimvall, S. Schwartz-Giblin, D.W. Pfaff, Intracerebral administration of antisense oligodeoxynucleotides to GAD65 and GAD67 mRNAs modulate reproductive behavior in the female rat, *Brain Res.* 636 (2) (1994) 209–220.
- [10] E.D. Hudgens, L. Ji, C.D. Carpenter, S.L. Petersen, The gad2 promoter is a transcriptional target of estrogen receptor (ER) α and ER β : a unifying hypothesis to explain diverse effects of estradiol, *J. Neurosci.* 29 (2009) 8790–8797.
- [11] V.N. Luine, V. Wu, C.S. Hoffman, K.J. Renner, GABAergic Regulation of lordosis: Influence of gonadal hormones on turnover of GABA and interaction of GABA with 5-HT, *Neuroendocrinology* 69 (1999) 438–445, <https://doi.org/10.1159/000054447>.
- [12] M. Georgescu, C. Sabongui, A. Del Corpo, L. Marsan, J.G. Pfaus, Vagino-cervical stimulation induces Fos in glutamate neurons in the ventromedial hypothalamus: attenuation by estrogen and progesterone, *Horm. Behav.* 56 (4) (2009) 450–456.
- [13] M. García-Juárez, C. Beyer, P. Gómora-Arrati, R. Domínguez-Ordóñez, F.J. Lima-Hernández, J.R. Eguibar, Y.L. Galicia-Aguas, A.M. Etgen, O. González-Flores, Lordosis facilitation by leptin in ovariectomized, estrogen-primed rats requires simultaneous or sequential activation of several protein kinase pathways, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 110 (2013) 13–18, <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.05.014>.
- [14] A. Estienne, A. Bongrani, M. Reverchon, C. Ramé, P.-H. Ducluzeau, P. Froment, J. Dupont, Involvement of novel adipokines, chemerin, visfatin, resistin and apelin in reproductive functions in normal and pathological conditions in humans and animal models, *Int. J. Mol. Sci.* 20 (18) (2019) 4431, <https://doi.org/10.3390/ijms20184431>.
- [15] Y. Kawamata, Y. Habata, S. Fukusumi, M. Hosoya, R. Fujii, S. Hinuma, N. Nishizawa, C. Kitada, H. Onda, O. Nishimura, M. Fujino, Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular, Cell Res.* 1538 (2–3) (2001) 162–171, [https://doi.org/10.1016/S0167-4889\(00\)00143-9](https://doi.org/10.1016/S0167-4889(00)00143-9).
- [16] A. Reaux, K. Gallatz, M. Palkovits, C. Llorens-Cortés, Distribution of apelin-synthesizing neurons in the adult rat brain, *Neuroscience* 113 (3) (2002) 653–662, [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(02\)00192-6](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(02)00192-6).
- [17] A.-M. O'Carroll, T.L. Selby, M. Palkovits, S.J. Lolait, Distribution of mRNA encoding B78/apj, the rat homologue of the human APJ receptor, and its endogenous ligand apelin in brain and peripheral tissues, *BBA* 1492 (1) (2000) 72–80, [https://doi.org/10.1016/S0167-4781\(00\)00072-5](https://doi.org/10.1016/S0167-4781(00)00072-5).
- [18] A. Reaux, N. De Mota, I. Skultetyova, Z. Lenkei, S. El Messari, K. Gallatz, P. Corvol, M. Palkovits, C. Llorens-Cortés, Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain, *J. Neurochem.* 77 (2001) 1085–1096, <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00320.x>.
- [19] S. Sandal, S. Tekin, F.B. Seker, A. Beytur, N. Vardi, C. Colak, T. Tapan, S. Yildiz, B. Yilmaz, The effects of intracerebroventricular infusion of apelin-13 on reproductive function in male rats, *Neurosci. Lett.* 602 (2015) 133–138, <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.06.059>.
- [20] W. Choe, A. Albright, J. Sulcove, S. Jaffer, J. Hesselgesser, E. Lavi, P. Crino, D. L. Kolson, Functional expression of the seven transmembrane, *J. Neurovirol.* 6 (2000) 61–69.
- [21] C. Beyer, O. González-Flores, M. García-Juárez, G. González-Mariscal, Non-ligand activation of estrous behavior in rodents: cross-talk at the progesterone receptor, *Scand. J. Psychol.* 44 (3) (2003) 221–229, <https://doi.org/10.1111/sjop.2003.44.issue-310.1111/1467-9450.00339>.
- [22] A.M. Etgen, H.-P. Chu, J.M. Fiber, G.B. Karkianias, J.M. Morales, Hormonal integration of neurochemical and sensory signals governing female reproductive behavior, *Behav. Brain Res.* 105 (1) (1999) 93–103, [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(99\)00085-6](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(99)00085-6).
- [23] O. González-Flores, A.M. Etgen, The nitric oxide pathway participates in estrous behavior induced by progesterone and some of its ring A-reduced metabolites, *Horm. Behav.* 45 (1) (2004) 50–57, <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2003.08.003>.

- [24] G. Telegdy, A. Adamik, M. Jászberényi, Involvement of neurotransmitters in the action of apelin-13 on passive avoidance learning in mice, *Peptides* 39 (2013) 171–174.
- [25] G. Paxinos, C. Watson, *The rat brain in stereotaxic coordinates: hard, cover edition*, Elsevier, 2006.
- [26] D.F. Hardy, J.F. DeBold, The relationship between levels of exogenous hormones and the display of lordosis by the female rat, *Horm. Behav.* 2 (4) (1971) 287–297, [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(71\)90003-1](https://doi.org/10.1016/0018-506X(71)90003-1).
- [27] S. Siegel, J.N. Castellán, L.E. Aragón Borja, L.E. Fierros Dávila, *Estadística no paramétrica: aplicada a las ciencias de la conducta*, (1995).
- [28] W. Lenhard, A. Lenhard, Calculation of effect sizes, (2016). https://www.psychometrika.de/effect_size.html.
- [29] J.G. Pfaus, S.L. Jones, L. Flanagan-Cato, J.D. Blaustein, Chapter 50: Female sexual behavior. In A.M. Plant, A.J. Zeleznik (Eds), *Knobil & Neill's Physiology of Reproduction*, Fourth Edition, (Pp. 2287–2370). New York: Elsevier.
- [30] C. Beyer, G. González-Mariscal, J. Ramón Eguibar, P. Gómora, Lordosis facilitation in estrogen primed rats by intrabrain injection of pregnanes, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 31 (4) (1988) 919–926, [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(88\)90405-4](https://doi.org/10.1016/0091-3057(88)90405-4).
- [31] W.G. Luttge, J.R. Hughes, Intracerebral implantation of progesterone: Re-examination of the brain sites responsible for facilitation of sexual receptivity in estrogen-primed ovariectomized rats, *Physiol. Behav.* 17 (5) (1976) 771–775, [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(76\)90038-X](https://doi.org/10.1016/0031-9384(76)90038-X).
- [32] J.J. Maguire, M.J. Kleinz, S.L. Pitkin, A.P. Davenport, [Pyr1] apelin-13 identified as the predominant apelin isoform in the human heart: vasoactive mechanisms and inotropic action in disease, *Hypertension* 54 (2009) 598–604.
- [33] K. Tatemoto, K. Takayama, M.-X. Zou, I. Kumaki, W. Zhang, K. Kumano, M. Fujimiya, The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism, *Regul. Pept.* 99 (2–3) (2001) 87–92, [https://doi.org/10.1016/S0167-0115\(01\)00236-1](https://doi.org/10.1016/S0167-0115(01)00236-1).
- [34] S.-Y. Lv, Y.-J. Qin, N.-B. Wang, Y.-J. Yang, Q. Chen, Supraspinal antinociceptive effect of apelin-13 in a mouse visceral pain model, *Peptides* 37 (1) (2012) 165–170.
- [35] S. Kralisch, U. Lossner, M. Blüher, R. Paschke, M. Stumvoll, M. Fasshauer, Growth hormone induces apelin mRNA expression and secretion in mouse 3T3-L1 adipocytes, *Regul. Pept.* 139 (1–3) (2007) 84–89.
- [36] S. Han, G. Wang, X. Qi, E.W. Englander, G.H. Greeley, Involvement of a Stat3 binding site in inflammation-induced enteric apelin expression, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 295 (5) (2008) G1068–G1078.
- [37] P. Gómora-Arrati, C. Beyer, F.J. Lima-Hernández, M.E. Gracia, A.M. Etgen, O. González-Flores, GnRH mediates estrous behavior induced by ring A reduced progestins and vaginocervical stimulation, *Behav. Brain Res.* 187 (1) (2008) 1–8, <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.08.017>.
- [38] A. Reaux-Le Goazigo, L. Bodineau, N. De Mota, L. Jeandel, N. Chartrel, C. Knauf, C. Raad, P. Valet, C. Llorens-Cortes, Apelin and the proopiomelanocortin system: a new regulatory pathway of hypothalamic α -MSH release, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 301 (5) (2011) E955–E966.
- [39] A.J. Thody, C.A. Wilson, D. Everard, α -Melanocyte stimulating hormone stimulates sexual behaviour in the female rat, *Psychopharmacology* 74 (2) (1981) 153–156.
- [40] M. Jászberényi, E. Bujdosó, G. Telegdy, Behavioral, neuroendocrine and thermoregulatory actions of apelin-13, *Neuroscience* 129 (3) (2004) 811–816.