

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA**

---

**Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta  
Posgrado en Ciencias Biológicas**

**Participación de los Receptores  $\alpha$  Y  $\beta$  de Estrógenos y del  
GPR30 Sobre la Activación de la Conducta Sexual Femenina  
Inducida por Estradiol, en la Rata Tratada 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

**GUADALUPE RODRÍGUEZ AGUAYO**

DIRECTOR:

**DR. OSCAR GONZÁLEZ FLORES**



Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta  
Posgrado en Ciencias Biológicas

**Participación de los Receptores  $\alpha$  Y  $\beta$  de Estrógenos y del GPR30 Sobre  
la Activación de la Conducta Sexual Femenina Inducida por Estradiol,  
en la Rata Tratada 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

**GUADALUPE RODRÍGUEZ AGUAYO**

**Comité Tutoral**

Director:

Dr. Oscar González Flores

Tutores:

Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio

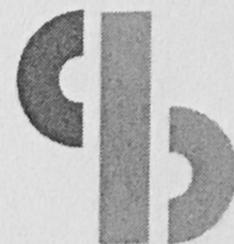
Dr. Héctor Ponce Monter

Dra. Dora Luz Corona Quintanilla

Dr. Kurt Leroy Hoffman



Universidad Autónoma de Tlaxcala  
Posgrado del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta



POSGRADO EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS

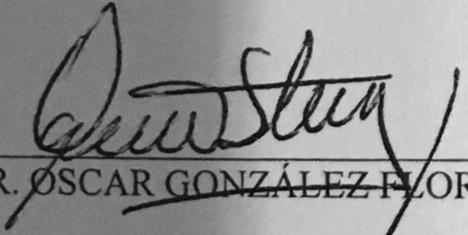
Maestría en Ciencias Biológicas

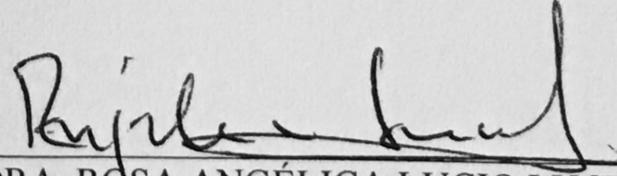
COORDINACIÓN MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA  
PRESENTE

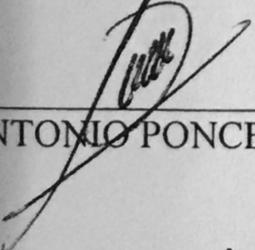
Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Proyecto de tesis que **Guadalupe Rodríguez Aguayo** realiza para la obtención del grado de Maestra en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es "Participación de los receptores  $\alpha$  y  $\beta$  de estrógenos y del GPR30 sobre la activación de la conducta sexual femenina inducida por estradiol, en la rata tratada con benzoato de estradiol".

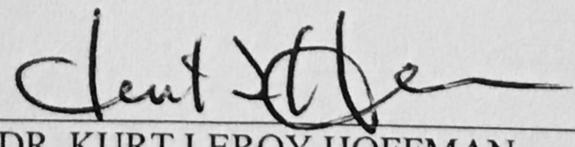
Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

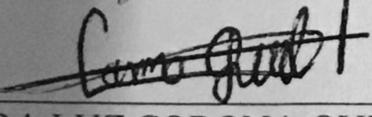
ATENTAMENTE  
TLAXCALA, TLAX., DICIEMBRE 8 DE 2014

  
DR. OSCAR GONZÁLEZ FLORES

  
DRA. ROSA ANGÉLICA LUCIO LUCIO

  
DR. HÉCTOR ANTONIO PONCE MONTER

  
DR. KURT LEROY HOFFMAN

  
DRA. DORA LUZ CORONA QUINTANILLA



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado Bajo la Norma:  
ISO 9001:2000-NMX-CC-9001-IMNC-2000



## FINANCIAMIENTO

Esta tesis se realizó dentro de la Maestría en Ciencias Biológicas del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, posgrado registrado en el Programa para el Fortalecimiento del Posgrado Nacional (Padrón Nacional de Posgrado; PNP). Dicha tesis fue desarrollada en el Centro de Investigación en Reproducción Animal (CIRA), CIVESTAV-UAT, ubicado en el municipio de Panotla, Tlaxcala. Dirigida por el Dr. Oscar González Flores, parcialmente financiada por CONACYT No. CB-2009-C01-134291, PROMEP No 103.5/09/1294 y beca CONACYT de Maestría No. 27542, y RED TEMÁTICA PROMEP “Farmacología de la Reproducción”.

**AGRADECIMIENTOS:**

Al Posgrado del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta.

A la Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Al CONACyT No. CB-2009-C01-134291

Al Dr. Oscar González Flores

A la Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio

Al Dr. Héctor Ponce Monter

A la Dra. Dora Luz Corona Quintanilla

Al Dr. Kurt Leroy Hoffman

## **DEDICATORIA**

A mis padres José Emiliano Rodríguez Briones y María del Rosario Aguayo Gómez, por brindarme su tiempo, sus consejos, su amor, en pro de mi superación.

A Edi Algreto Badillo por brindarme su amor, cariño, comprensión, apoyo y tolerancia en este paso tan importante en mi superación profesional. Sin él, no habría podido lograr este reto tan grande.

A mis hermanos Laura, Obdulia, Emiliano, Tomas, Evelyn, a mis sobrinos Fernanda, Brenda y Juliancito, por tolerar mis estados emocionales en tiempos difíciles, y darme todo su apoyo y cariño.

A mis cuñados Alejandra, Nacho, Uri, Toño y Oscar por brindarme su apoyo y consejos.

A mis compañeros de laboratorio Marcos, Ray, Dr. Javier, Lupita Domínguez, Dr. Porfirio, Yadira, José Luis, don Andrés y Pedro por brindarme su amistad más allá del trabajo del laboratorio, por sus charlas amenas (sobre todo las de Ray), por darme su apoyo en mis experimentos y por sus consejos. Les deseo lo mejor a todos.

# ÍNDICE

Pág.

FINANCIAMIENTO.....	i
AUTORIZACIÓN.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
RESUMEN.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1. Ciclo estral en la rata.....	3
2.2. Conducta sexual femenina.....	5
2.2.1. Regulación endocrina de la conducta sexual femenina en la rata...	8
2.2.2. Regulación neural de la conducta sexual femenina en la rata....	9
2.2.3. Circuito neural involucrado en el reflejo de lordosis en roedores....	13
2.3. Receptor de progesterona.....	13
2.3.1. Aspectos estructurales y funcionales del receptor de progesterona...	15
2.4. Mecanismos de acción hormonal involucrados en la CL en la rata.....	16
2.4.1. Mecanismo genómico.....	16
2.4.2. Mecanismo membranal.....	19
2.5. Estrógenos: Síntesis y función.....	19
2.6. Aspectos estructurares y funcionales de los receptores de estrógenos.....	20

2.6.1. Receptor de estrógenos alfa y beta.....	23
2.6.1.1. Distribución de los receptores de estrógenos alfa y beta.....	26
2.6.1.2. Distribución de los Receptores de estrógenos alfa y beta en áreas involucradas en la CSF en rata.....	26 29
2.6.1.3. Alteraciones y deficiencias de los receptores de estrógenos.....	
2.7. Receptor Acoplado a proteína G (GPR30).....	31
2.7.1. Alteraciones y deficiencias asociadas con el GPR30.....	32
2.8. Mecanismos de señalización intracelular de los receptores de estrógenos....	33
2.8.1. Agonistas y antagonistas como moduladores selectivos para los RE $\alpha$ y RE $\beta$ (SERMs).....	36 37
2.8.1.1. Efecto de los SERMs: Agonistas y antagonistas sobre la regulación de la CSF.....	40 41
2.9. Agonistas y antagonistas del GPR30.....	42
2.9.1. Participación de los agonistas y antagonistas del GPR30 sobre la regulación de la CL.....	42
3. JUSTIFICACIÓN.....	43
4. HIPÓTESIS.....	44
5. OBJETIVOS.....	45
5.1 Objetivo general.....	45
5.2. Objetivos particulares.....	45
6. METODOLOGÍA.....	45

6.1. Fármacos.....	46
6.2. Evaluación de la conducta de lordosis.....	46
6.3. Evaluación estadística de la conducta de lordosis.....	47
6.4. Grupos experimentales.....	47
7. RESULTADOS.....	48
7.1. Participación de los agonistas de los RE $\alpha$ , RE $\beta$ y GPR30 sobre la activación de la CL en la rata pretratada con BE.....	48
7.2. Experimento 2.- Efecto de los antagonistas de los RE $\alpha$ y RE $\beta$ a sobre la CL inducida por estradiol en la rata pretratada con BE.....	54 57
8. DISCUSIÓN.....	65
9. CONCLUSIONES.....	65
10. PERSPECTIVAS.....	66
11. REFERENCIAS.....	67
12. GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	91

ÍNDICE DE FIGURAS		Pág.
Figura. 1	Esquema del Ciclo estral de la rata.....	4
Figura. 2	Esquema de Evaluación de la intensidad de la lordosis en la rata.....	7
Figura 3	Tabla de Áreas cerebrales relacionadas con la regulación de la conducta de lordosis en la rata mediante lesión o estimulación eléctrica.....	11
Figura 4	Tabla de Áreas cerebrales relacionadas con la regulación de la conducta de lordosis en la rata mediante implantes de progesterona.....	12
Figura. 4	Esquema del Circuito neuronal involucrado en la expresión de la conducta de lordosis.....	14
Figura. 5	Esquema de la Estructura de los receptores de progesterona.....	18
Figura. 6	Esquema del Modelo de comunicación cruzada entre el mecanismo genómico y membranal en la activación de la lordosis en la rata....	22
Figura. 7	Esquema de Esteroidogénesis.....	25
Figura. 8	Estructura de los receptores de estrógenos.....	28
Figura. 9	Esquema de la Estructura del receptor membranal GPR30.....	35
Figura. 10	Grafica de la Participación del agonistadel RE $\alpha$ sobre la activación de la CL en la rata pretratada con BE.....	51

Figura. 11	Grafica de la Participación del agonista del RE $\beta$ sobre la activación de la CL en la rata pretratada con BE.....	52
Figura. 12	Grafica de la Participación del agonista del GPR30 sobre la activación de la CL en la rata pretratada con BE.....	53
Figura. 13	Grafica de la Participación del antagonista del RE $\alpha$ sobre la activación de la CL en la rata pretratada con BE.....	55
Figura. 14	Grafica de la Participación del antagonista del RE $\beta$ sobre la activación de la CL en la rata pretratada con BE.....	56

## RESUMEN

Esta tesis incluye una serie de experimentos para dilucidar el papel de los receptores de estrógenos alfa ( $RE\alpha$ ), beta ( $RE\beta$ ) y del receptor membranal acoplado a proteína G (GPR30) sobre la activación de la lordosis en la rata pretratada con benzoato de estradiol. Para ello, se utilizaron 162 ratas de la cepa Sprague-Dawley, ovariectomizadas (ovx) e implantadas en el ventrículo lateral derecho con una cánula guía de acero inoxidable. A la semana posterior del implante cada animal recibió una inyección subcutánea de benzoato de estradiol (BE,  $5\mu\text{g}/0.1\text{ml}$ ), en seguida, se formaron grupos de entre 8 y 10 animales. Una vez transcurridas 40 horas después de la inyección de BE, se les administró de manera intracerebroventricular (icv) los siguientes fármacos; primer grupo (control negativo) se le administró únicamente el vehículo de los agonistas de los receptores de estrógenos  $\alpha$ ,  $\beta$  y del GPR30, así como de los antagonistas del  $RE\alpha$  y  $RE\beta$  ( $1\mu\text{l}$  de DMSO), al segundo grupo se le administró  $2\text{ ng}/1\mu\text{l}$  de  $E_2$  (control positivo) del tercero al séptimo grupo se administró  $0.08$ ,  $0.4$ ,  $2$ ,  $10$  y  $50\text{ ng}/1\mu\text{l}$  de PPT (Propil-pirazol-triol; agonista del  $RE\alpha$ ), respectivamente; del octavo al onceavo, se administró  $0.08$ ,  $0.4$ ,  $2$ ,  $10$  y  $50\text{ ng}/1\mu\text{l}$  de DPN (Diaripronilril; agonista del  $RE\beta$ ), al doceavo y treceavo se les administró  $30\text{ }\mu\text{g}/1\mu\text{l}$  y  $101.5\text{ ng}/1\mu\text{l}$  de MPP y PHTPP (antagonistas de los  $RE\alpha$  y  $RE\beta$ ), respectivamente y a los últimos cuatro grupos se les administró  $3.75$ ,  $7.5$ ,  $15$  y  $30\text{ }\mu\text{g}/1\mu\text{l}$  de G-1 (agonista del GPR30). En el caso del uso de los antagonistas, la administración fue a las 39.5 horas después de la inyección de BE, es decir 30 minutos antes de la administración del control positivo ( $2\text{ ng}/1\mu\text{l}$  de  $E_2$ ). Finalmente, por grupo se evaluó la receptividad de cada hembra a los 30, 120 y 240 minutos después de la administración de los fármacos antes mencionados. La receptividad (conducta de lordosis) se evaluó a través del cociente de lordosis, que es el número de lordosis que realiza la hembra sobre 10 montas del macho y multiplicado por 100 (No. de lordosis de la hebra/10 montas del macho) (100), también se determinó la intensidad de lordosis, siendo, el grado de lordosis (1, 2 ó 3) sobre 10 montas del macho y se multiplica por 10 (gdo. de lordosis/10 montas) (10). Con los datos obtenidos, inicialmente, se realizó una prueba de análisis de varianza para saber si existían diferencias entre todos los grupos experimentales probados. Después, los grupos tratados con los agonistas fueron comparados contra aquellos tratados con el vehículo (grupo control) y el

grupo del antagonista contra el grupo de estradiol (control positivo; Siegel y Castellán 1995) por medio de la prueba post hoc U Mann-Whitney.

Los resultados muestran que la administración del agonista del RE $\alpha$ , el PPT, indujo conducta de lordosis (CL), ya que se muestra incremento en el CL en al menos dos de los tiempos probados, en todas las dosis usadas, sugiriendo la participación de dichos receptores sobre la activación de la CL, posteriormente, para confirmar dicha participación al administrar el antagonista del RE $\alpha$ , el MPP, se observa decremento en el CL a los tres tiempos probados, confirmando la participación del RE $\alpha$  en la activación de la CL. De igual manera, los resultados sobre la participación del RE $\beta$  en la activación de la CL muestran incremento significativo a todos de los tiempos probados y con todas las dosis usadas, por último, los resultados de la participación del GPR30 muestran que las dosis de 3.75, 7.5, 15 y 30  $\mu\text{g}/1\mu\text{l}$  de G-1 inducen CL en al menos dos de los tiempos probados con respecto a su grupo control. Con base en lo anterior se sigue que los agonistas de los receptores de estrógenos RE $\alpha$ , RE $\beta$  y GPR30 participan en la activación de la receptividad, ya que, la administración de dichos agonistas activo la CL.

## 1. INTRODUCCIÓN

La conducta sexual femenina (CSF) se refiere a un conjunto de patrones motores estereotipados (proceptividad y receptividad) y de cambios morfológicos y fisiológicos (atractividad; Beach 1976). Esas cualidades de la hembra le permiten al macho identificar su estado reproductivo con la finalidad de realizar la cópula. Estudios realizados en hembras de roedores, han mostrado que la expresión de la CSF es abolida por la ovariectomía (ovx) y restaurada por la administración secuencial de estradiol ( $E_2$ ) y progesterona (P; Boling y Blandau 1939, Beach 1942). Por lo tanto, se ha propuesto que el  $E_2$  al unirse a sus receptores intracelulares en las áreas cerebrales relacionadas con la expresión de la CSF como el hipotálamo ventromedial, área preóptica media, sustancia gris central etc., induce la síntesis del receptor de P (RP), el cual, a su vez, al unirse con su ligando natural, la P, produce la activación de la receptividad (Pfaff y cols. 1994). Actualmente, se ha descrito que además de la P, existe variedad de compuestos, con diferentes estructuras químicas que replican su efecto activador para inducir la expresión de la receptividad (Conducta de lordosis; CL) cuando son inyectados a hembras de roedores ovx, pretratados con benzoato de estradiol (BE); un ejemplo de ello, son péptidos como la hormona liberadora de la hormona luteinizante, (HLHL; Moss y Foreman 1976), glicina, (Pfaff y cols. 1994), prostaglandina  $E_2$  (PGE $_2$ ; Hall y Luttge 1977, Ojeda y cols. 1977), prolactina (Harlan y Pfaff 1983), adenosina monofosfato cíclico (AMPc; Beyer y Canchola 1981(b)) y el guanosina monofosfato cíclico; (GMPc; Fernández-Guasti y cols. 1983), oxitocina (Caldwell y cols. 1986), González-Flores y cols. 2004) y leptina (García-Juárez y cols. 2011). Estudios recientes de nuestro laboratorio, muestran que la administración intracerebral o subcutánea de pequeñas dosis de  $E_2$  (datos aún no publicados), son capaces de inducir CL en ratas previamente tratadas con una dosis subcutánea de BE, es decir, el  $E_2$  también puede sustituir el efecto disparador de la P sobre la expresión de dicha conducta.

Es bien conocido, que los efectos de los estrógenos son producidos a través de la unión con sus clásicos receptores intracelulares, por lo que, se ha propuesto al receptor alfa (RE $\alpha$ ; Jensen y cols. 1976) y el receptor beta (RE $\beta$ ; Nestler y cols. 1994, Enmark y cols. 1997), dichos receptores son producidos por genes diferentes. Por otro lado, se ha mostrado que el  $E_2$  ejerce sus efectos sobre receptores membranales acoplados a proteína G (GPR30; del inglés; G protein coupled receptor; Thomas y cols. 2005, Revankar y cols. 2005). A pesar

de esos datos, el mecanismo celular por el cual el E<sub>2</sub> dispara la expresión de la CL en ratas pretratadas con BE, no ha sido bien esclarecido, además hace falta determinar la participación de dichos receptores en ese evento reproductivo. Por lo tanto, en el presente trabajo, decidimos determinar si el RE $\alpha$ , el RE $\beta$  o el GPR30 participan en el disparo de la CL en ratas pretratadas con BE. Para ello, se utilizaron las siguientes herramientas farmacológicas: al agonista del RE $\alpha$ , el propil pirazol triol (PPT), al agonista de RE $\beta$ , el diaripronilril (DPN), y a los antagonistas del RE $\alpha$  y RE $\beta$  el metil-piperidino-pyrazol (MPP) y el trifluorometil pirazol pirimidina fenol (PHTPP), respectivamente. La participación del receptor membranal GPR30, se hizo a través de la administración de su agonista G-1.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1. Ciclo estral en la rata**

Heape (1900) describió distintos estados del ciclo estral en las hembras de los mamíferos. Utilizó el término anestro para describir el periodo de reposo en que los órganos reproductivos accesorios están inactivos. Designó los prefijos pro-, di- y met- con el sufijo estro para describir los diferentes periodos que ocurren a lo largo del ciclo estral. Por lo que, el estro describe el período de mayor receptividad sexual. En los roedores, la hembra presenta un ciclo estral de corta duración (4 ó 5 días) debido a la falta del cuerpo lúteo funcional. La fase de estro tiene una duración de 12 a 16 horas y es estimulada por la secreción secuencial de  $E_2$  y P provenientes del ovario (Boling y Blandau 1939, Powers 1970). Después del estro, la hembra entra en un periodo de inactividad sexual, denominado metaestro (o diestro I y II, fase lútea temprana) en donde las concentraciones plasmáticas de  $E_2$  y P descienden. El ciclo se reinicia en el periodo denominado proestro, en la mañana de éste las células de la teca interna del folículo ovárico se producen incremento brusco en la secreción de estradiol, que a su vez, provoca incremento de la hormona luteinizante (HL) generando un pico en su concentración y se induce la ovulación. Inmediatamente, después de la caída en los niveles de LH en la noche del proestro, comienza el incremento en la secreción de P producidas por el ovario (Leavitt y cols. 1971), para que la hembra vuelva a estar receptiva. Finalmente, si se produce la fertilización del óvulo, la hembra se mantiene en diestro debido a las altas concentraciones de P producidas por el cuerpo lúteo recién formado, impidiendo la receptividad (Apostolakis y cols. 2004; Figura 1).

### Ciclo estral de la rata

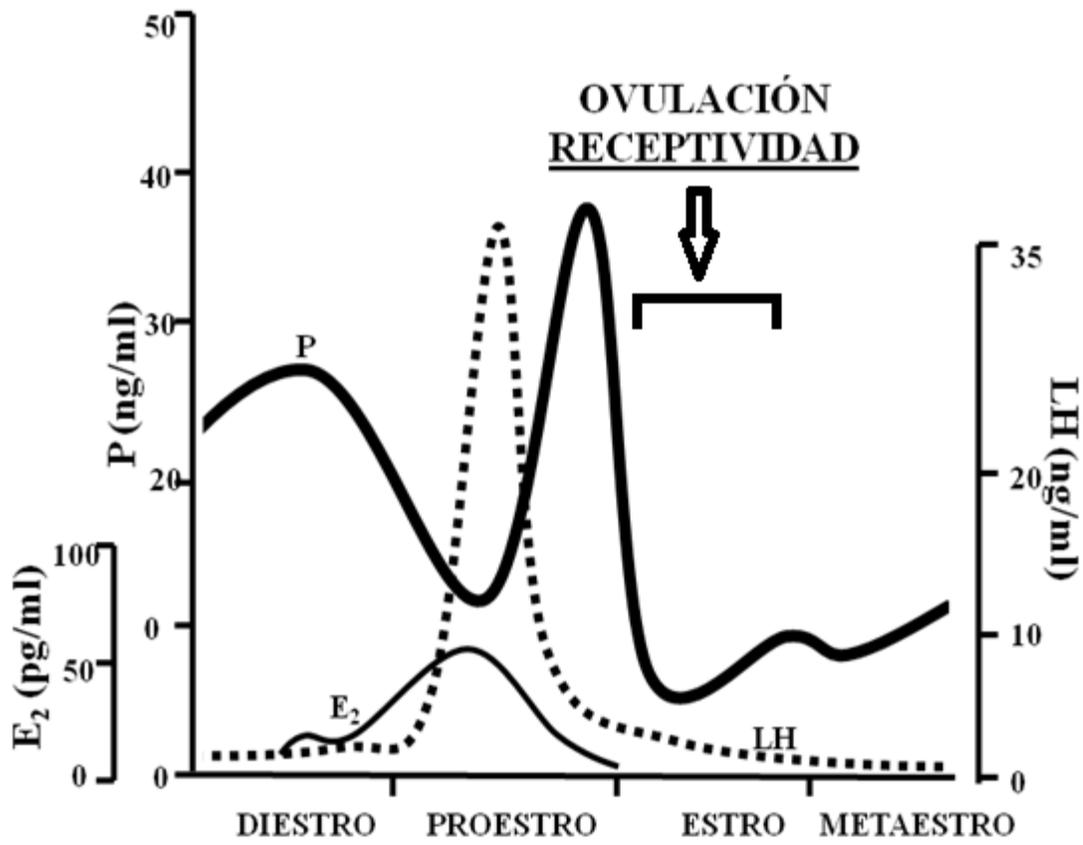


Figura 1. Concentración de hormonas reproductivas durante el ciclo ovárico de la rata hembra. La gráfica muestra distintas concentraciones de secreción hormonal que se producen durante el ciclo ovárico. Asimismo, señala el periodo en el cual ocurre la receptividad sexual y la ovulación en relación a las concentraciones hormonales (tomado de Butcher y cols. 1974) E<sub>2</sub>= estradiol; P= progesterona; LH= hormona luteinizante.

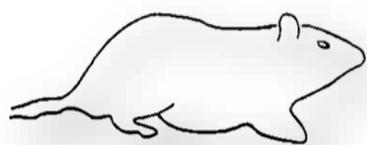
## 2.2. Conducta sexual femenina.

La CSF en hembras de mamíferos se define como un conjunto de conductas estereotipadas, así como modificaciones morfológicas y fisiológicas que presenta una hembra receptiva con el propósito de atraer a un macho sexualmente activo y copular con él (Beach 1942). Beach (1976) describió tres aspectos que son característicos de una hembra en estro:

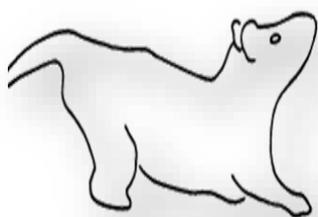
- La atractividad se caracteriza por las modificaciones morfológicas y fisiológicas que sufre la hembra. Por ejemplo; cambios de coloración en su área genital y la producción de secreción de sustancias odoríferas, conocidas como feromonas, las cuales son detectadas por el macho (Beach 1976) y le permiten distinguir el estado reproductivo de la hembra.
  
- La proceptividad incluye a un conjunto de patrones conductuales estereotipados que la hembra realiza y que los dirige al macho para invitarlo a copular con ella (Beach 1976, Madlafouseck y Hlinák 1978, Erskine 1989). En roedores se incluyen diversas conductas. Por ejemplo, a) pequeños brincos que efectúa la hembra sobre sus cuatro patas, b) carreras cortas que la hembra realiza en forma de zig-zag que terminan de manera abrupta y con la inmovilidad de la hembra y c) movimientos de alta frecuencia de la cabeza de la hembra que produce que las orejas se muevan.
  
- La receptividad consiste en la adopción de la postura de lordosis debido al arqueamiento de la columna vertebral, la elevación de la cabeza y la región perineal, seguida de un movimiento lateral de la cola, para colocar a la vagina en una posición accesible a la intromisión del pene (Beach 1942, Moralí y Beyer 1969, Pfaff 1979). Esta conducta se presenta en respuesta a la monta que el macho le realiza a la hembra, estimulando los flancos y la región peri-anal.

Hardy y De Bold (1972) desarrollaron una herramienta matemática para evaluar la receptividad sexual de una hembra, la cual consiste en determinar el cociente de lordosis. El cociente de lordosis resulta al dividir el número de veces que la hembra presenta la lordosis entre el número de montas realizadas por el macho (10) y el resultado es multiplicado por 100. Además, la intensidad o el puntaje de la lordosis también puede cuantificarse a través de evaluar el grado de dorsiflexión que la hembra realiza y que va desde 1 (ligera lordosis) hasta el grado máximo que es de 3 dividido por el número de montas que el macho le realiza y el resultado es multiplicado por 10 (Figura 2).

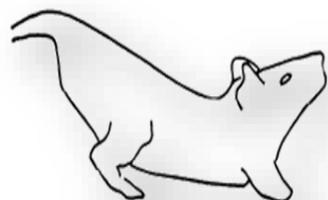
Evaluación de la intensidad de la lordosis en la rata



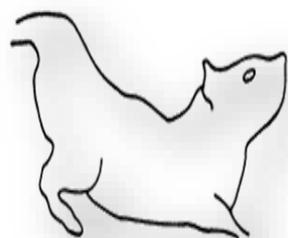
Lordosis grado 0



Lordosis grado 1



Lordosis grado 2



Lordosis grado 3

Figura 2. Intesidad de la postura de lordosis realizadas por las ratas durante la CSF. Muestra el grado de lordosis realizado por la hembra en respuesta a la monta del macho (modificado de Pfaff 1980).

### 2.2.1. Regulación endocrina de la conducta sexual femenina en la rata

En las hembras de roedores, el E<sub>2</sub> y la P son secretados por los ovarios y, a través del torrente sanguíneo, se dirigen al sistema nervioso central en donde se generan cambios fisiológicos necesarios para que se produzca la conducta sexual (lordosis y proceptividad; Morali y Beyer 1979). Este efecto hormonal fue comprobado cuando a las hembras se les realizó la ovx justamente en la tarde del proestro, es decir, ya alcanzado el nivel máximo de E<sub>2</sub> pero antes de la producción del pico de P. Bajo esas condiciones las hembras no presentaron receptividad (Edwards y cols. 1968, Powers 1970), pero si se les administraba P, inmediatamente después de la ovx, la conducta de lordosis la realizaban de forma normal (Powers 1970, Moreines y Powers 1977), sugiriendo que existe un efecto sinérgico entre E<sub>2</sub> y P sobre la inducción de la CSF. Además, las siguientes observaciones también apoyan éste efecto sinérgico:

- La dosis de E<sub>2</sub> que se requiere para inducir la receptividad es menor cuando se combina con P que cuando se administra sola (Boling y Blandau 1939, Beach 1942, Beyer 1980, Pfaff 1980).
- La latencia para iniciar la receptividad es más larga cuando se administra solamente el E<sub>2</sub> y más corta cuando se adiciona P (Beach 1942, Morali y Beyer 1979).
- La P, además de facilitar la acción del E<sub>2</sub> determina la duración de la receptividad ya que ejerce un efecto inhibitorio (inhibición secuencial), durante el cual, la administración adicional de P, 24 horas después, es incapaz de volver a facilitar la receptividad (Nadler 1970, Feder y Marrone 1977, Blaustein y Feder 1979).

Por otro lado, la P también promueve la atractividad y las conductas proceptivas; en contraste, el que se genere y se presente cierta intensidad de la respuesta de lordosis dependerá de la dosis de estrógenos más que la cantidad de P administrada; por ejemplo, una dosis de 0.5 mg de P combinada con alguna dosis de BE, induce diferentes niveles de receptividad (Whalen and Hardy 1970), mientras a hembras que fueron inyectadas con 5  $\mu$ g de BE diariamente por 5 días y que además recibieron 0.5 o 10 mg de P, su nivel de receptividad no se incrementa (Edwards y cols. 1968).

Interesantemente, la receptividad en la rata también puede ser inducida con la administración de dosis repetidas de diferentes estrógenos. Así, estudios sistemáticos realizados por el grupo de Beyer (1976), mostraron que el E<sub>2</sub> era el estrógeno más potente para inducir receptividad en rats ovx, seguida de estrona y el estriol. Otros de sus estudios han mostrado que dependiendo de la dosis de E<sub>2</sub> administrada dependerá la expresión de varios componentes de la CSF, como en la intensidad y la frecuencia de los patrones proceptivos e inclusive en la magnitud del arqueamiento durante la lordosis. Además, la latencia para responder con lordosis a la monta del macho se acorta, mientras que la duración de la lordosis se prolonga en ratas ovx tratadas con dosis crecientes de E<sub>2</sub> (Beyer y cols. 1976).

### 2.2.2. Regulación neural de la conducta sexual femenina en la rata

Como se mencionó en secciones anteriores, diversos estudios han demostrado que el E<sub>2</sub> actúa inicialmente sensibilizando diferentes áreas cerebrales relacionadas con la regulación de la CSF (Pfaff y cols. 1969, Meisel 1987, Hoshina 1994, Pfaus y cols. 1999, Georgescu y cols. 2009; ver la tabla 1 y 2). Por ejemplo; en el hipotálamo ventromedial, el E<sub>2</sub> participa en la inducción de síntesis de proteínas, tales como el RP, para que posteriormente la P, al unirse a ese receptor, sea quien dispare dicha conducta (Beyer y cols. 1980). Este efecto fue demostrado con experimentos en donde la administración de E<sub>2</sub>, directamente en esa área, indujo intensa receptividad en ratas ovx (Rubin y Barfield 1980). Además, se ha mostrado la existencia de una correlación entre la administración de E<sub>2</sub> y la expresión del RP en dicha área cerebral (Pfaff y Sakuma 1979, Turcotte y Blaustein 1993). En otros estudios se ha demostrado que el área preóptica media ejerce efectos inhibitorios ya que sí se estimula eléctricamente a esa área en ratas intactas u ovx tratadas con E<sub>2</sub> y P, se observa decremento

significativo en la expresión de la CL y aumento en las conductas de rechazo. Por otro lado, ratas ovx a las que se les lesiona esa área, la CL se facilita aún si han sido tratadas con bajas dosis de estrógenos en comparación con las hembras controles o no lesionadas (Beyer y cols. 1989). En otra serie de estudios se ha encontrado que la administración del E<sub>2</sub> directamente en el hipotálamo ventromedial facilita la receptividad, (Pfaff y cols. 1994), mientras que en el área preóptica media se induce tanto receptividad como proceptividad (brincos, carreras y orejeo; Hoshina 1994, Kato 2000).

Áreas cerebrales relacionadas con la regulación de la conducta sexual en la rata mediante  
lesión o estimulación eléctrica

Estructura cerebral	Lesión	Estimulación eléctrica	Referencias
Hipotálamo ventromedial	-	+	(Pfaff y Sakuma 1979)
Hipotálamo anterior	-	+	(Dey y cols. 1942)
Sustancia gris central	-	+	(Sakuma y Pfaff 1979)
Área preóptica media	+	-	(Malsbury y cols. 1981)
Septum	+	-	(Nance y cols. 1975)
Bulbo olfatorio	+	-	(McGinnis y cols. 1978)

+, Incremento o inducción de CL; -, disminución o ausencia de CL

Tabla 1. Áreas cerebrales implicadas en la regulación de la CL en roedores. La tabla muestra las áreas cerebrales involucradas en la expresión de la conducta sexual femenina en roedores identificadas a través de técnicas de lesión.

Áreas cerebrales relacionadas con la regulación de la conducta sexual en la rata mediante implantes de progesterona

Estructura cerebral	Implante de Progesterona	Referencias
Área preóptica media	+	(Beyer y González-Mariscal 1991)
Área tegmental ventral	+	(DeBold y Malsbury 1989)
Núcleo arqueado	+	(Rubin y Barfield 1983)
Hipotálamo ventromedial	+	(Pleim y cols. 1990)
Formación reticular mesencefálica	+	(Ross y cols. 1971)
Núcleo caudado	+	(Yanase y Gorski 1976)
Habénula	+	(Tennent y cols. 1982)
Amígdala	+	(Franck y Ward 1981)
Hipocampo	+	(Franck y Ward 1981)

+, Incremento o inducción de CL; -, disminución o ausencia de CL

Tabla 2. Estructuras cerebrales implicadas en la regulación de la conducta sexual femenina en roedores. En la tabla se muestra las distintas estructuras cerebrales que están implicadas en la regulación neuroendocrina de la conducta sexual femenina en roedores a través de implantes de hormonas.

### 2.2.3. Control nervioso del reflejo de lordosis en roedores

Inicialmente el grupo de Pfaff propuso la existencia de un circuito nervioso en el control del reflejo de lordosis, en donde se incluía a la formación reticular del tallo cerebral, el núcleo vestibular lateral, la sustancia gris central mesencefálica, dichas áreas eran estimuladas por el E<sub>2</sub> a través de sus efectos iniciales sobre el hipotálamo ventromedial (Pfaff 1980, Pfaff 1994).

Por otro lado, el grupo de Micevich (2013) recientemente propuso que ese circuito nervioso se extiende desde el núcleo arqueado del hipotálamo hacia el hipotálamo ventromedial y posteriormente al área preóptica media (Sinchak y cols. 2001, Micevich y cols. 2003, Sinchak y cols. 2010). Estos autores proponen que el núcleo arqueado del hipotálamo es el sitio en donde el E<sub>2</sub> inicia su efecto (Sinchak y Micevich 2003, Micevich y Mermelstein 2008, Sinchak y cols. 2013). Sin embargo, ambos modelos establecen que el reflejo de lordosis se produce por la integración de las señales sensoriales que la hembra recibe al momento de que el macho estimula sus flancos, la base de la cola y el periné, durante la monta. Esos estímulos activan receptores cutáneos de presión, que envían sus señales a médula espinal; de tal forma, que información generada en la piel de los flancos es transmitida por vías aferentes a la médula espinal, en segmentos lumbares 1 y 2, mientras que las señales provenientes de la grupa, la base de la cola y del periné llega a los segmentos lumbares 5, 6 y sacro 1. Posteriormente, esa información asciende a través de la formación reticular del tallo cerebral hacia el núcleo vestibular lateral y a la sustancia gris central mesencefálica en donde se facilita la actividad de las neuronas motoras responsables de producir la contracción de los músculos lateral longissimus y transverso-espinal lumbar para que se produzca el reflejo de la lordosis (Pfaff 1980, 1994; Figura 3).

### Control nervioso involucrado en el reflejo de lordosis

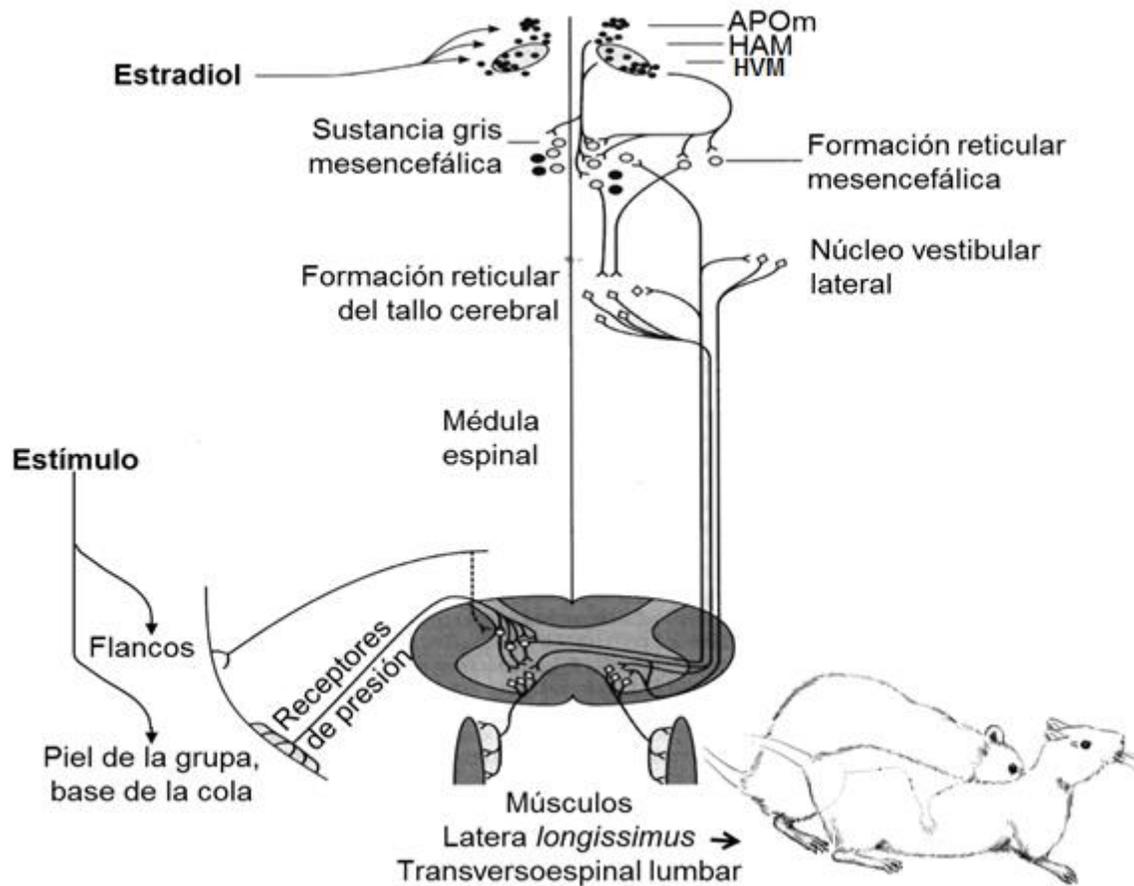


Figura 3. Control nervioso que regula el reflejo de la lordosis. El esquema muestra las estructuras nerviosas que participan en el reflejo de la lordosis en respuesta a la estimulación de los flancos, la base de la cola y el periné. Dichos estímulos activan receptores cutáneos de presión, enviando señales a la médula espinal. Estas señales desembocan en interneuronas ubicadas en la sustancia gris (región lumbar) que envían información vía ascendente a la formación reticular del tallo cerebral, al núcleo vestibular lateral y a la sustancia gris central mesencefálica, las cuales facilitan la actividad de las motoneuronas responsables de producir la contracción de los músculos lateral longissimus y transverso-espinal lumbar, ocasionando que el reflejo de la lordosis se presente (Pfaff 1980, Pfaff y cols. 1994; APOm, área preoptica medial; HAM, hipotálamo antero medial; HVM, hipotálamo ventromedial).

### 2.3. Receptor de progesterona

La P es una hormona que también conocida como P4(pregn-4-en-3,20-diona) y de origen esteroide (C-21) involucrada en el ciclo estral. Se produce, esencialmente, en el ovario (cuerpo lúteo) y la placenta, también puede sintetizarse en las glándulas adrenales y en el hígado. Su principal función es la modulación de diversos aspectos relacionados con la expresión de la CSF en roedores. La mayoría de sus efectos se producen en el sistema nervioso central a través de unirse al RP para formar un complejo activo hormona/RP en el núcleo de las células blanco (Rainbow y cols. 1980, Blaustein 1982, Rainbow y cols. 1982, O'Malley y cols. 1991). Ese complejo funciona como factor de transcripción ya que regula la expresión génica al actuar sobre sitios aceptores ubicados en el ADN. Sin embargo, se han descrito otros mecanismos celulares por los cuales la P ejerce sus efectos, por ejemplo, modulando la liberación de varios sistemas de neurotransmisores (Kuo y Greengard 1969, Kow y cols. 1994), o bien actuando a nivel del citoplasma activando cascadas de señalización intracelular (Migliaccio y cols. 2006, Lima-Hernández y cols. 2012).

Existen estudios realizados en ratas ovx donde señalan que la síntesis del RP es inducida por los estrógenos (Milgrom y cols. 1970, McLusky y McEwen 1978, Brown y cols. 1987, O'Malley y cols. 1991). Por ejemplo, la administración de estradiol provocó un incremento en la concentración de dicho receptor en áreas neurales asociadas a la CSF como el área preóptica media y el hipotálamo ventromedial (Blaustein y Feder 1979, Pfaff y cols.1994). Así, de 12 a 16 horas después de la administración de esta hormona, se ha encontrado incremento de la síntesis de RP en las células hipotalámicas (Blaustein y Turcotte 1989), de tal manera, se ha mostrado una correlación entre la concentración de RP en el hipotálamo y la expresión de la CSF (Etgen 1984, Brown y cols. 1987). Una evidencia que señala la correlación entre las concentraciones del RP y la CSF es durante un proceso denominado “inhibición secuencial,” la cual es atribuida a la P. El proceso por el cual se produce esta inhibición se presenta después de que la P facilitó la receptividad en hembras ovx previamente tratadas con BE. Esta facilitación es seguida por un período en el cual las hembras son refractarias a una segunda administración de P, 24 horas después, en donde se ha propuesto que la primera dosis de P administrada provoca que los RPs sean reconocidos por el sistema del proteosoma 26S en las áreas hipotalámicas para ser degradados (González-Flores y cols. 2004), por lo que la segunda dosis administrada de P ya no encuentra

receptores para unirse y así ejercer sus efectos. Por lo tanto se presenta la inhibición secuencial (Vathy y cols. 1989, González-Flores y cols. 2004). El grado de esa inhibición depende de la dosis de P utilizada, a diferencia de su efecto facilitador, el cual es independiente de la dosis utilizada.

### 2.3.1. Aspectos estructurales y funcionales del receptor de progesterona

El RP es miembro de una familia de factores de transcripción nucleares activados tanto ligando-dependiente como independientemente, en donde se incluyen a los receptores de andrógenos (RAs), de estrógenos (REs), de glucocorticoides, de mineralocorticoides, de hormona tiroidea, de ácido retinoico y de vitamina D. Estos receptores juegan un papel muy importante ya que regulan la transcripción génica involucrada en una variedad de funciones biológicas. Por ejemplo, participan regulando el desarrollo, el metabolismo y diversos aspectos reproductivos (Kastner y cols. 1990, Weigel 1996).

Diversos estudios realizados en humanos, pollos y ratas, han reportado la existencia de dos tipos de RPs; la isoforma A (RP-A) y la isoforma B (RP-B) con 94 y 114 KD, respectivamente, las cuales pueden formar homodímeros o heterodímeros después de unirse con su ligando, un evento que les permite interactuar en los sitios promotores en el ADN. Ambas isoformas son codificadas por un solo gen, pero por diferente promotor, así, la isoforma RP-A es una versión truncada de la isoforma RP-B, es decir, el RP-B tiene un segmento adicional de 164 aminoácidos en el extremo amino-terminal que no se encuentra en la isoforma RP-A (Kato y Onouchi 1978, Misrahi y cols. 1987, Kastner y cols. 1990). A pesar de que ambas isoformas muestran similitudes en sus propiedades para unirse al ADN y a su ligando, la P al unirse a alguno de ellos tiene diferente especificidad celular y genética para llevar a cabo actividades transcripcionales. Así, el RP-B es un activador más eficiente que el RP-A cuando actúa sobre los clásicos elementos de respuesta a la hormona en el ADN, debido a una función de activación extra dentro de los primeros 164 aminoácidos, no encontrada en el RP-A (Kastner y cols. 1990, Edwards y cols. 2003).

Se han descrito varios dominios a lo largo de la estructura del RP (Figura 4; Conneely y cols. 1987, Misrahi y cols. 1987) que se mencionan a continuación:

- El dominio de unión al ADN (DUA), compuesto por 70 aminoácidos, posee un par de prolongaciones de aminoácidos modificados denominados dedos de zinc. Los cuales interacciona con secuencias de ADN específicas llamadas elementos que responden a la hormona (Beato y Sánchez-Pacheco 1996). Este sitio muestra de 99-100% de conservación con respecto a los otros receptores a esteroides.
  
- El dominio de unión del ligando (DUL), compuesto de 250 aminoácidos, que interacciona con un complejo oligomérico de proteínas de alto peso molecular (90, 72 y 59KD) denominadas proteínas de choque térmico (HSP). Como su nombre lo dice, es el sitio en donde se une la hormona (ligando) y provoca el desprendimiento de esas proteínas de choque térmico, la dimerización y transactivación (Horwitz y Alexander 1983, Conneely y cols. 1987, McDonell 1995).
  
- La región de la bisagra; (RB), se localiza entre el dominio de unión del ligando y el del ADN. Su función no ha sido bien determinada, pero le permite al RP plegarse para poder pasar a través del poro nuclear y llegar al núcleo.
  
- La región amino terminal de la proteína (NH<sub>2</sub>), es la parte más variable de la molécula en cuanto el número de aminoácidos entre los diferentes receptores de esteroides. Se ha propuesto que tiene funciones de transactivación (Weigel 1996) debido a que es el sitio en donde el receptor sufre la mayoría de sus fosforilaciones. Dentro de las regiones amino-terminal (NH<sub>2</sub>) y carbo-oxilo terminal (COOH) de la molécula se han localizado las funciones de activación 1 y 2 (FA-1 y FA-2), las cuales permiten la interacción del RP con la maquinaria transcripcional. Cabe mencionar que el RP-B posee una función de activación extra, la FA-3, no encontrada en la isoforma A.

## Estructuras de los receptores de progesterona

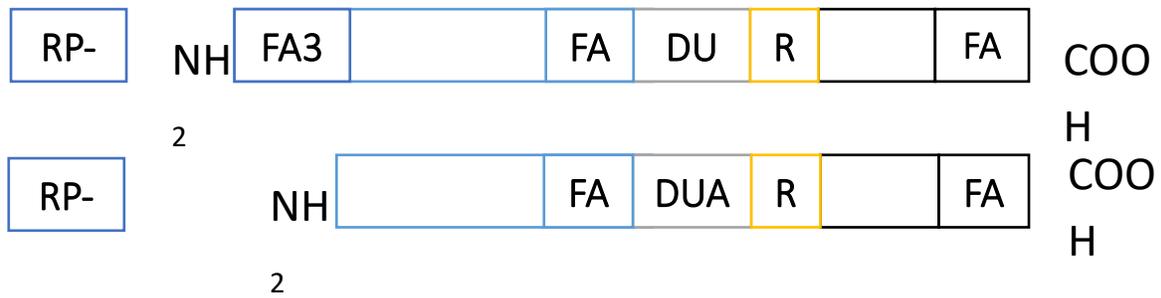


Figura 4. Estructura de los Receptores de Progesterona. (Conneely y cols. 1989, Kastner y cols. 1990, Mani y Portillo 2010). Se observan los distintos dominios de cada isoforma, así como la función de activación extra del RP-B (FA-3). Región amino terminal, NH<sub>2</sub>; función de activación, FA 1, 2 y 3; dominio de unión al ADN, DUA; región de la bisagra, RB; dominio de unión al ligando, DUL; región carbo-oxilo terminal, COOH.

#### 2.4. Mecanismos de acción hormonal involucrados en la conducta de lordosis en la rata

Como ya fue mencionado, las hormonas esteroides modulan la expresión de la conducta sexual en hembras de roedores, siendo el reflejo de lordosis el más representativo, por lo cual se han propuesto dos mecanismos de acción involucrados en la regulación de las hormonas esteroides, es decir: el clásico mecanismo genómico y el membranal.

##### 2.4.1. Mecanismo genómico

Los procesos celulares involucrados en este tipo de mecanismo, pueden tardar de horas e incluso días para inducir la expresión de la CL, es decir, existe un tiempo de latencia largo entre la administración sistémica del compuesto y la inducción de la CSF (Hertz y cols. 1937). Está plenamente establecido que tanto el E<sub>2</sub> y la P utilizan un mecanismo genómico no solo en procesos reproductivos sino de otro tipo, como plasticidad neuronal, desarrollo, diferenciación, entre otros (Jensen y cols. 1968).

El mecanismo genómico comienza cuando esas hormonas atraviesan por difusión pasiva la membrana celular de las neuronas hipotalámicas o del área preóptica etc., y se unen con su receptor localizado en el núcleo, el cual se encuentra laxamente unido a la cromatina. Así, cuando se forma el complejo hormona-receptor se promueve el desplazamiento de las proteínas de choque térmico (unidas al receptor en ausencia de su ligando) con el subsecuente cambio alostérico y la dimerización entre las diferentes isoformas. Además, ambas isoformas del RP, al unirse con su hormona, pueden ser fosforiladas, (adición de un grupo fosfato), un evento que transforma al receptor en un factor de transcripción que al llegar a los sitios aceptores en el ADN modula a la maquinaria transcripcional provocando la generación de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) y la subsecuente síntesis de proteínas específicas que pudieran ser las responsables de la activación de la CL (O'Malley y cols. 1991, Beato y Sánchez-Pacheco 1996).

#### 2.4.2. Mecanismo membranal

El mecanismo membranal se genera cuando diferentes compuestos con estructuras químicas diferentes, que debido a su naturaleza lipofóbica, no penetran la célula, pero ejercen su efecto sobre receptores localizados en la membrana. Tales compuestos son: el factor liberador de gonadotrofinas (GnRH), la prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), la oxitocina, la noradrenalina, la leptina, etc, los cuales pueden provocar la síntesis de segundos mensajeros (adenosina monofosfato cíclico (AMPC), guanosina monofosfato cíclico (GMPC) al unirse sobre ese tipo de receptores membranales. A su vez, estos nucleótidos cíclicos actúan sobre sus cinasas específicas (proteína cinasa A; PKA), proteína cinasa G; PKG) activándolas para que fosforilen proteínas que pudieran estar relacionadas con el despliegue de la lordosis, por ejemplo, al RP (Beyer y Canchola 1981, Fernández-Guasti y cols. 1983, Chu y cols. 1999). Este mecanismo ha sido apoyado por los resultados que muestran que la CL se puede presentar con una corta latencia, aproximadamente 15 minutos después de la administración de alguno de los compuestos antes mencionados e incluso por la propia P cuando es administrada por vía intravenosa (Kubli-Garfias y Whalen 1977). Además, progestinas reducidas en el anillo A (5 $\alpha$ , 3 $\beta$ -pregnanolona, 5 $\beta$ -3 $\alpha$ -pregnanolona y 5 $\alpha$ -3 $\alpha$ -pregnanolona), que poseen baja o nula afinidad por el RP, pero que se sabe que ejercen sus efectos sobre diferentes componentes de la membrana celular, estimulan la conducta sexual en ratas ovx pretratadas con BE (Beyer y cols. 1989, Beyer y cols. 1995), por lo que se sugiere la participación de un mecanismo genómico y, por ende, de la síntesis de proteínas.

A principio de la década de los años ochenta, el grupo de Beyer (1980) propuso el primer modelo (Figura 5) de comunicación cruzada entre el mecanismo genómico y el membranal sobre la facilitación de la receptividad.

Diversos eventos favorecen la participación de este modelo:

- Al llegar los estrógenos a las neuronas hipotalámicas atraviesan la membrana y se unen en el citoplasma a su receptor intracelular formando un complejo hormona-receptor activo (Pfaff y cols. 1994).
  
- Este complejo es translocado al núcleo, en donde al unirse a sitios aceptores ubicados en el ADN, provocan la transcripción de un ARN mensajero (ARNm; Grandien y cols. 1997).
  
- El ARNm lleva la información hacia el retículo endoplásmico rugoso, en donde se sintetizarán proteínas, que en ese tiempo se pensaban que eran proteínas inducidas por estrógeno en estado inactivo, pero que actualmente se sabe que son los RPs (MacLusky y McEwen 1978, Brown y cols. 1987).

Cabe mencionar que la activación de esas proteínas podría ser a través de agentes como la HLHL o la PGE<sub>2</sub> (Beyer y cols. 1997; Ramírez-Orduña y cols. 2007), o bien a través de la leptina (García-Juárez y cols. 2011), que al actuar sobre sus receptores membranales provocaban la formación del segundo mensajero AMPc, actualmente se podría proponer que sintetiza al GMPc, DG, etc., los cuales se activan al unirse sobre sus cinasas correspondientes (PKA, PKG, PKC, Src) y así llevan a cabo la fosforilación del RP y por consiguiente la activación de la receptividad (Beyer y Canchola 1981, Beyer y González-Mariscal 1986).

Modelo de comunicación cruzada entre el mecanismo genómico y membranar en la activación de la lordosis en la rata

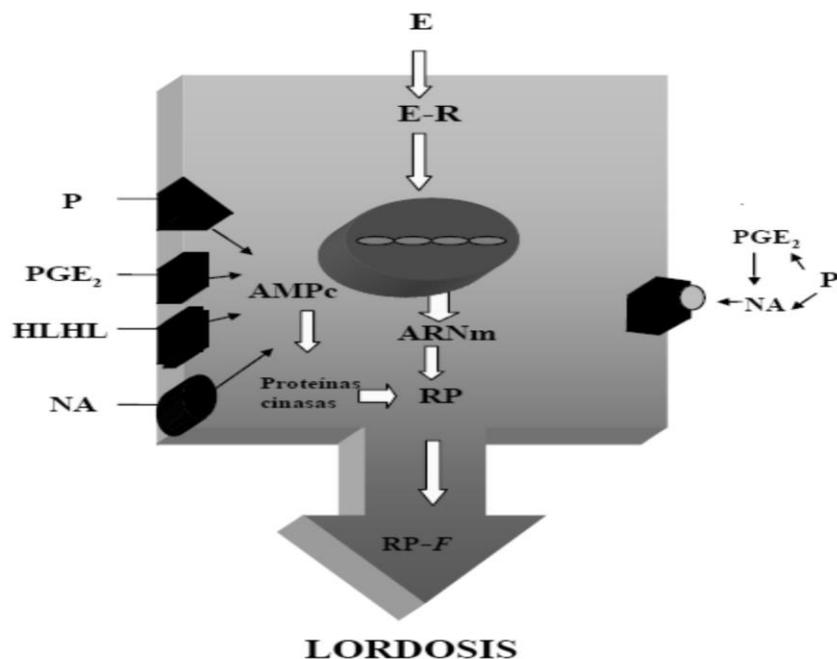


Figura 5. Modelo de comunicación cruzada entre el mecanismo genómico y membranar en la activación de la lordosis en la rata. Modelo propuesto por Beyer y cols. (1980) para explicar la activación de la conducta de lordosis inducida por agentes que actúan sobre la membrana celular. La figura muestra la acción en cascadas de segundos mensajeros para la activación del receptor a progesterona (RP) intracelular. P=progesterona; PGE<sub>2</sub>= prostaglandina E<sub>2</sub>; HLHL= hormona liberadora de la hormona luteinizante; NA= noradrenalina; AMPc= adenosin monofosfato cíclico; E= estrógeno, E-R= receptor a estrógeno; ARNm= ácido ribonucleico y RP-F= receptor a progesterona funcional.

Existe evidencia a favor de este modelo de comunicación cruzada. Por ejemplo, para que la P produzca su efecto facilitador sobre la conducta de lordosis se requiere un pretratamiento con estradiol con una duración mínima de entre 24 y 36 horas, (Powers 1970), tiempo

necesario para que la síntesis de proteínas se lleve a cabo. Además, la conducta inducida por las progestinas  $5\alpha$ -dihidroprogesterona,  $5\alpha,3\alpha$ -pregnanolona,  $5\beta,3\alpha$ -pregnanolona y  $3\beta,5\beta$ -pregnanolona es bloqueada por la administración de un fármaco llamado RU486 (González-Mariscal y cols. 1989, Beyer y cols. 1995), así como la inducida por los agentes no esteroides como GnRH, prostaglandina  $E_2$  y AMPc (Beyer y cols. 1997). Dichos compuestos producen su efecto a través de diferentes vías de señalización intracelular y en consecuencia la activación de proteínas cinasas, sin la interacción directa con el receptor a progesterona (Mani y cols. 2000, González-Flores y cols. 2004, González-Flores y cols. 2006, Ramírez-Orduña y cols. 2007).

## 2.5. Estrógenos: Síntesis y función

Los estrógenos son hormonas esteroides secretadas por diferentes glándulas endócrinas, como los ovarios, la placenta, glándulas adrenales y mamarias, la piel, incluso el cerebro. Son tres los estrógenos naturales que son producidos por dichas glándulas: la estrona ( $E_1$ ), el  $17\beta$  estradiol, ( $E_2$ ) y estriol ( $E_3$ ). Estos esteroides son sintetizados y producidos durante diferentes estados reproductivos en las mujeres por ejemplo El  $17\beta$  estradiol es el principal y más potente estrógeno (Kuiper 1997) en mujeres durante sus años reproductivos, mientras que en la menopausia es la  $E_1$  y durante la gestación es el  $E_3$ . La síntesis de los estrógenos (Figura 6) que se origina por los ovarios, se producen por las células de la granulosa en donde al actuar la enzima aromatasas, provoca la reducción del anillo A de la molécula de andrógenos en un anillo bencénico, además de que elimina el grupo metilo del carbono 10; Azcoitia y cols. 2011), convirtiéndolos en  $E_2$  y  $E_1$ , pero no en el  $E_3$  ya éste solo puede ser metabolizado en el hígado. Sin embargo, existen estudios que muestran que los estrógenos son sintetizados en múltiples sitios, pero de manera discreta en todo el cuerpo donde pueden tener efectos muy localizados (Gruber y cols. 2002, Baquedano y cols. 2003).

Los estrógenos ejercen diversas funciones en distintas partes del organismo, por ejemplo, regulan la proliferación y diferenciación celular, el balance energético, funciones del sistema cardiovascular, regulan la temperatura, controlan la formación de hueso y el estrés, también proporcionan neuroprotección en caso de enfermedades neurodegenerativas y traumatismos (Gustafsson 2003, Amin y cols. 2005, Forger 2006, Kipp y cols. 2006, Brann y cols. 2007,

Simpkins y cols. 2012, Handa y cols. 2012). Uno de los efectos que actualmente están siendo muy estudiados es el papel de los E<sub>2</sub> sobre las funciones cognitivas que muestra un impacto significativo en procesos relacionados con plasticidad neuronal, ya que, algunos estudios han mostrado que el E<sub>2</sub> en el SNC puede modular la actividad de diferentes sistemas de neurotransmisores incluyendo el serotoninérgico, dopaminérgico, adrenérgico y colinérgico (Luine 1985, McEwen y Alves 1999, Sellix y cols. 2004).

Con respecto a la participación en la modulación del comportamiento sexual y reproducción, se ha descrito que el E<sub>2</sub> producido por el ovario, sensibiliza diferentes áreas cerebrales, por ejemplo al hipotálamo, en donde activa a los circuitos que regulan la ovulación ya que induce la liberación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH; Herbison y Pape 2001; Micevich y cols. 2009; Micevich y Kelly 2012) la cual se conoce que tiene la capacidad de inducir la expresión del comportamiento sexual femenino, así como la liberación de gonadotropinas que a su vez, provocaran la ovulación y asegurar un posible embarazo. (Pfaff 1976, Beyer y cols. 1988). Todas estas funciones son reguladas a través de la unión del estrógeno con sus receptores intracelulares alfa y beta y quizá a través de ejercer efectos membranales sobre el receptor GPR30.



## 2.6. Aspectos estructurares y funcionales de los receptores de estrógenos

### 2.6.1. Receptor de estrógenos alfa y beta

Actualmente se han caracterizado dos tipos de receptores de estrógenos que funcionan como factores de transcripción (Figura 7), el RE $\alpha$ , codificado por un gen sobre el brazo largo del cromosoma 6 (6q25.1: Jensen 1962) y el receptor denominado beta, RE $\beta$ , que es codificado por un gen sobre el brazo largo del cromosoma 14 (14q23.2; Enmark 1997). Aunque son codificados por distintos genes, ambos están compuestos, al igual que el RP, por 5 dominios (Pettersson y cols. 1997, Pettersson y cols. 2000, Gruber y cols. 2002):

➤ Dominio A/B ubicado en la región amino terminal, es un sitio en donde se localiza la función de activación 1 (FA-1), la cual es esencial para la interacción con proteínas correguladoras y para la actividad transcripcional independiente de la unión con la hormona (Acevedo y Kraus 2004). Este dominio A/B, también contiene aminoácidos que son blanco para que la proteína sufra modificaciones postransduccionales al ser fosforilado por diferentes proteínas (Callewaert y cols. 2006).

➤ Dominio de unión al ADN (DUA), es una región indispensable para inducir y regular la transcripción de los genes blanco, ya que a través de prolongaciones de aminoácidos denominada dedos de zinc, los receptores se unen a secuencias específicas en el ADN (Helsen y cols. 2012).

➤ Dominio de la bisagra (DB), contiene secuencias de aminoácidos que permiten el plegamiento del receptor para que pueda atravesar los poros nucleares y que ejerza modificaciones postransduccionales que pueden influir en su propia actividad y su degradación (Anbalagan Y cols. 2012, Clinckemalie y cols. 2012).

➤ Dominio de unión al ligando (DUL), como su nombre lo dice es el sitio en donde se une la hormona con el receptor. Es una estructura tridimensional formada por 12  $\alpha$ -hélices, que al unirse su ligando permite la dimerización del receptor, así como la integración de proteínas co-reguladoras, proceso que se lleva a cabo vía el sitio de función de activación 2 (FA-2)

localizado en este dominio. Esta parte del receptor provoca la transcripción dependiente del ligando (Parker y White 1996, Brzozowski y cols. 1997).

➤ El dominio F, ubicado en la región carboxilo terminal, compuesto por 42 aminoácidos, su actividad no ha sido bien definida, pero se piensa que afecta la actividad agonista-antagonista de agentes moduladores de los receptores de estrógenos, así como la dimerización del receptor y la interacción con agentes correguladores (Montano y cols. 1995, Koide y cols. 2007).

## Estructura de los receptores de estrógenos

### RE $\alpha$



### RE $\beta$



Figura 7. Estructura de los receptores de estrógenos. Muestra los dominios de ambos receptores de estrógenos. NH<sub>2</sub>, región amino terminal; dominio A/B; FA-1 y FA-2 función de activación 1 y 2 respectivamente; DUA, dominio de unión al ADN; DB, dominio de bisagra; DUL, dominio de unión al ligando; COOH, región carboxilo terminal (Kumar y cols. 2011).

#### 2.6.1.1. Distribución de los receptores de estrógenos alfa y beta

Se ha reportado que los RE $\alpha$  y RE $\beta$  se encuentran intensamente distribuidos en el sistema límbico (tálamo, hipotálamo, hipocampo, amígdala cerebral, el núcleo amigdalóide medial y cortical, cuerpos mamilares, cuerpo calloso, septo y mesencéfalo), el núcleo del lecho de la estría terminal, en el área preóptica hipotalámica, núcleo supraquiasmático, la habénula (Vida y cols. 2008). También las células gliales expresan ambos receptores (Mhyre y Dorsa 2006), sin embargo, los patrones de distribución no muestran que haya un traslape de estos, de modo que, algunas regiones solo expresan RE $\alpha$ . Por ejemplo, en el hipotálamo ventromedial y el órgano subfornical, mientras, que, en neuronas del bulbo olfatorio, núcleo supraóptico, hipotálamo paraventricular y tuberal, y el cerebelo expresan exclusivamente RE $\beta$ . El grupo de Gustaffson demostró que los RE $\alpha$  y RE $\beta$  son diferencialmente expresados en subregiones discretas del complejo amigdalóide de la rata. Así, en la amígdala se observa una expresión preferente del RE $\alpha$ , lo mismo que en el núcleo cortical posterolateral, área hipocampal de la amígdala, núcleo dorsolateral. En la amígdala, las áreas que muestran mayor expresión de los RE $\beta$  fueron: el núcleo central y medial anterodorsal (Osterlund y cols. 1998). Sin embargo, ambas isoformas son altamente expresadas en el núcleo medial posterodorsal.

Existen variedad de trabajos relacionados con la expresión y distribución de las isoformas de los receptores de estrógenos. Por ejemplo, experimentos en donde animales que han recibido la administración, por dos semanas, de estradiol (170 $\mu$ g total), se ha observado un decremento en la expresión del RE $\alpha$  en el núcleo arqueado del hipotálamo, hipotálamo ventromedial, núcleo cortical posterolateral de la amígdala, además los niveles de RE $\beta$  se redujeron en el núcleo medial de la amígdala, sin embargo, se observó un incremento en la expresión del RE $\beta$  en el núcleo arqueado del hipotálamo. Estos resultados sugieren que el estrógeno modula las funciones de la amígdala e hipotálamo a través de los subtipos de receptores (Osterlund y cols. 1998). En estudios realizados en cultivos de células del hipocampo, se ha mostrado la existencia de incremento en la expresión del RE $\alpha$  pero, a su vez, decremento en RE $\beta$  después de la administración del estradiol (Prange-Kiel y cols. 2003). Sin embargo, la expresión del RE $\alpha$  es más abundante que el RE $\beta$  en el ARH pero menor en el hipocampo ya que en esta área predomina el RE $\beta$  (Turcotte y Blaustein 1993, Shughrue 1997, Shughrue y Merchenthaler 2001, Rissman 2008). Otros estudios realizados

en ratas ovx, muestran que la administración de estrógenos reduce la expresión del RE $\beta$  en el bulbo olfatorio, corteza entorrinal, núcleo septal lateral, banda diagonal, amígdala lateral, medial y basolateral, núcleo del lecho de la estría terminal, núcleo hipotalámico paraventricular, amígdala medial, núcleo preóptico y núcleo supraquiasmático (Turcotte y Blaustein 1993). Cabe mencionar que no solo estos receptores han sido localizados en el cerebro, sino también en órganos periféricos, como en el pulmón, útero, glándula mamaria e intestino. Sin embargo, en hepatocitos solo se expresa el RE $\alpha$ , mientras que la expresión del RE $\beta$  es predominante en la próstata, vagina y cerebelo (Taylor 2000). Estudios realizados con ratones knockout muestran que el RE $\alpha$  es el receptor más importante en el desarrollo de las funciones reproductivas (Hewitt y Korach 2003, Ogawa y cols. 1998), a pesar de que el RE $\beta$  se haya encontrado en neuronas hipotalámicas que poseen GnRH no parece estar implicado en la regulación del pico de LH en respuesta al aumento en los niveles de estrógenos (Dorling y cols. 2003, Wintermantel y cols. 2006). Además, se ha mostrado que el RE $\alpha$  es el receptor predominante en la regulación del desarrollo normal mamario (Hewitt 2005, Harris 2007), de igual manera, en células de la teca, cuerpo lúteo y miometrio. Sin embargo, en células de la granulosa del ovario se ha encontrado que los RE $\beta$  son los que más se expresan. Cabe señalar que la expresión de ambos receptores se produce de manera diferencial durante las etapas del ciclo reproductivo, por ejemplo, en las hembras gestantes y durante el proestro, se expresa mayormente el RE $\beta$  en el área preóptica del hipotálamo, núcleo supraóptico hipotalámico y en la amígdala medial y siendo mas alta en la fase de diestro (Osterlund y cols. 1998, Patisaul y cols. 1999, Arteaga-López y cols. 2003, Shima y cols. 2003). En otros estudios se ha mostrado que las células del núcleo ventromedial, cuando solo expresan al RE $\alpha$ , el estrógeno induce mayor síntesis del RP que cuando se coexpresan ambas isoformas, es decir se puede proponer que el RE $\beta$  tiene algún efecto inhibitor sobre los efectos transcripcionales inducidos por el RE $\alpha$  (Matthews y cols. 2006), sin embargo este fenómeno no se ha descrito en el área preóptica media (Keith y cols. 2008).

### 2.6.1.2. Distribución de los Receptores de estrógenos alfa y beta en áreas involucradas en la CSF en rata

Los RE $\alpha$  y RE $\beta$  son expresados en áreas cerebrales relacionadas en la regulación de la CSF, como el hipotálamo ventromedial (Rubin y Barfield 1983), APOm (Hoshina 1994, Kato 2000), ya que, se ha mostrado la existencia de los RE $\alpha$  y RE $\beta$ , tanto en células del APOm como en el HVM en ratas que expresan CSF (Meisel 1987, Hoshina 1994, Kato 2000, Pfaff 2000, Pfaus 1999, Rhodes 2006). Además, estudios realizados con inmunocitoquímica han mostrado la existencia de receptores de estrógenos en la sustancia gris mesencefálica, área tegmental central gris lateral y ventral, áreas neurales también involucradas en la regulación de la CSF (Turcotte y Blaustein 1993), datos que concuerdan con los trabajos electrofisiológicos en donde la estimulación eléctrica de esas áreas, sobre todo de la sustancia gris mesencefálica y el área tegmental ventral, facilitan la expresión de la CSF, mientras que la lesión de esas áreas ejercen un efecto contrario ya que decrementan la producción de la respuestas receptivas en ratas (Sakuma y Pfaff 1979).

Por otra parte, se ha descrito que la participación del RE $\alpha$  es crítica para que la hembra efectúe la conducta de lordosis. Por ejemplo, en estudios en donde se han utilizado ratones que no expresan al RE $\alpha$ , el reflejo de la lordosis no se presentó, mientras que en estudios con ratones deficientes de RE $\beta$ , la receptividad se sigue expresando, aunque con algún cambio sutil, indicando que el RE $\alpha$  es el receptor más importante en la expresión de la CSF normal (Ogawa y cols. 1998, Rissman y cols. 1999, Kudwa y cols. 2003). En otra serie de estudios se ha explorado el papel que juega el RE $\beta$  en diferentes contextos reproductivos; por ejemplo, se ha sugerido que puede modular los efectos preparadores que ejerce el estradiol con RE $\alpha$ , sobre la expresión de la CSF. Si a las ratas ovx y pretratadas con el agonista selectivo del RE $\alpha$ , el PPT se les administra la P, muestran clara receptividad, mientras que aquellas hembras ovx y pretratadas con un agonista del RE $\beta$  no la expresan. Además, si ambos agonistas se coadministran se presenta un decremento de la receptividad, por lo que estos datos sugieren que el estradiol unido al RE $\beta$  inhibe la actividad del RE $\alpha$  (Mazzuco 2008). Otros trabajos, hechos *in vitro* (Paruthiyil 2004, Sotoca, 2008) apoyan esos efectos, ya que cuando se coexpresan ambos receptores en una misma célula, el RE $\beta$  antagoniza la transcripción producida por el RE $\alpha$  (Matthews, 2003), específicamente a través

de su variante RE $\beta$ 2 la cual incrementa la degradación de RE $\alpha$  (Matthews 2006). Sin embargo, el papel fisiológico del RE $\beta$  en muchos tejidos está todavía en debate.

#### 2.6.1.3. Alteraciones y deficiencias de los receptores de estrógenos

Se ha mostrado que el tratamiento agudo con estrógenos, en ratones hembras prepuberales o adultos normales, produce diversas respuestas uterinas, como aumento en la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas o bien el incremento en la concentración de los estrógenos. Además, en los ratones que carecen de RE $\alpha$  se ha observado la disminución de los efectos estrogénicos sobre el útero provocando infertilidad (Lubahn y cols. 1993), en contraste, los ratones que carecen de RE $\beta$  tienen funciones uterinas normales capaces de mantener la implantación y la gestación a término (Krege y cols. 1998), mientras que ratones con deficiencia en la expresión de ambos REs, muestran un fenotipo uterino similar al de los ratones deficientes de RE $\alpha$  en respuesta al estrógeno, por lo que se sugiere que la mayoría de las respuestas estrogénicas en el útero son mediadas a través del RE $\alpha$  (Dupont y cols. 2000). De igual forma, estudios en ratones deficientes de RE $\alpha$  muestran defectos en la foliculogénesis y la formación de quistes hemorrágicos, mientras que aquellos que no presentan al RE $\beta$  no ovulan de manera regular (Couse y cols. 1999). Además, el fenotipo del ovario del ratón deficiente de RE $\alpha$  es similar a los ratones que han sido modificados genéticamente que presentan una elevación de la LH, por lo que los ratones deficientes de RE $\alpha$ , también muestran una elevación en las concentraciones de LH. Estos datos sugieren que algunos fenómenos que se producen en el eje hipotálamo-gónadas y que participa el RE $\alpha$  son indispensables para regular los niveles de LH en ratones deficientes de RE $\alpha$ .

## 2.7. Receptor Acoplado a proteína G (GPR30)

Actualmente se ha encontrado que el E<sub>2</sub> produce efectos rápidos, dentro de segundos a minutos, a través de activar, ya sea a los propios RE $\alpha$  y RE $\beta$ , los cuales pueden actuar sobre proteínas localizadas a estructuras membranales denominadas caveolinas (Duan y cols. 2001, Duan y cols. 2002, Chaban y cols. 2004) o bien, unirse a receptores membranales metabotrópicos, los denominados como GPR30 (Thomas y cols. 2005, Revankar 2005). El papel fisiológico que juega este tipo de receptor como mediador de los efectos estrogénicos en el cerebro, no ha sido bien esclarecido, sin embargo, las acciones rápidas del E<sub>2</sub> en neuronas hipotalámicas se describieron hace muchos años y ahora se piensa que pudieran haber sido a través del GPR30 (Kelly y cols. 1977, Mermelstein y cols. 1996, Kelly y Rønnekleiv 2005, Mhyre y Dorsa 2006, Roepke y cols. 2008). Esta idea fue apoyada ya que se ha mostrado que el E<sub>2</sub> tiene una afinidad por el GPR30, similar a la que presenta para el RE $\alpha$  y RE $\beta$ , sugiriendo que este receptor pudiera participar en las acciones producidas por el E<sub>2</sub> en la membrana celular (Revankar y cols. 2005, Thomas y cols. 2005).

En el humano, se ha encontrado que el gen que codifica para la síntesis del GPR30 se localiza en el cromosoma 7-p22 y genera a una proteína de 375 aminoácidos con una masa molecular aproximadamente de 41Kd (Filardo y cols. 2000) compuesta por un extremo amino, otro carboxilo terminal y por 7 dominios transmembranales acoplados a proteína G (Figura 8). Cuando este receptor se encuentra en la membrana celular, al igual que todos los receptores metabotrópicos, su dominio N-terminal se localiza fuera de la célula y puede ser modificado por glicosilaciones. Sin embargo, el GPR30 también se puede encontrar en la membrana del retículo endoplásmico, pero en estas condiciones no es activado por el estradiol (Revankar y cols. 2005; Otto y cols. 2008). Por otro lado, la región del carboxilo terminal se une a una proteína G a través de su tercera asa intracelular. Así, este tipo de receptor le proporciona al E<sub>2</sub> algunos efectos celulares alternativos tanto en el cerebro como en órganos periféricos, a los clásicos efectos que ejerce sobre sus receptores intracelulares (Revankar y cols. 2005, Prossnitz y cols. 2008). Además, diversos estudios han mostrado que la estimulación de E<sub>2</sub>, en células que han sido transfectadas con GPR30, puede ser bloqueada cuando se administra el antagonista selectivo para los RE $\alpha$  y RE $\beta$ , el ICI182780 (Revankar y cols. 2005, Thomas y cols. 2005). Sin embargo, los resultados obtenidos por

Filardo y cols. (2000) son contradictorios, ya que ellos encontraron que dicho antagonista activaba fuertemente al GPR30.

En estudios utilizando células transfectadas, se encontró, que el E<sub>2</sub>, al unirse con el GPR30 activa a la subunidad  $\alpha$  de la proteína G, que, a su vez, también activa al adenilato ciclasa el cual es el encargado de la producción del AMPc. Además, las subunidades  $\beta$  y  $\gamma$  de esa proteína G, puede activar a la tirosina cinasa Src, la cual se conoce que activa la MAPK (Filardo y cols. 2005). Estudios recientes hechos in vitro, muestran que el E<sub>2</sub> al unirse al GPR30 activa a la MAPK, lo que provoca la secreción de factores de crecimiento dentro de los espacios extracelulares, este efecto, a su vez, induce la proliferación de células cancerosas de la glándula mamaria. Además, en diversas líneas celulares, el E<sub>2</sub> también se une al GPR30 y estimula la producción de AMPc, la movilización de calcio y la regulación de varias vías de señalización intracelular que provocan la activación de la MAPK (Revankar y cols. 2005, Filardo y cols. 2002, Filardo y cols. 2005). En diferentes tipos celulares, se ha reportado que el GPR30 produce la muerte celular por apoptosis y la detención del ciclo celular (Teng y cols. 2008). Existe controversia sobre algunos efectos del E<sub>2</sub> a través de su unión con el GPR30, por ejemplo, en un estudio reciente se mostró que el E<sub>2</sub> radioactivo no se une a GPR30 ni estimula la formación de AMPc, ni libera calcio, por lo que no se encontró algún efecto del estrógeno sobre el útero y la glándula mamaria en el ratón (Otto y cols. 2008). Así, el GPR30 solo podría mediar algunas acciones de los estrógenos en células las cuales no expresan a los RE $\alpha$  y RE $\beta$  (Pedram y cols. 2006).

## Estructura del receptor membranar GPR30

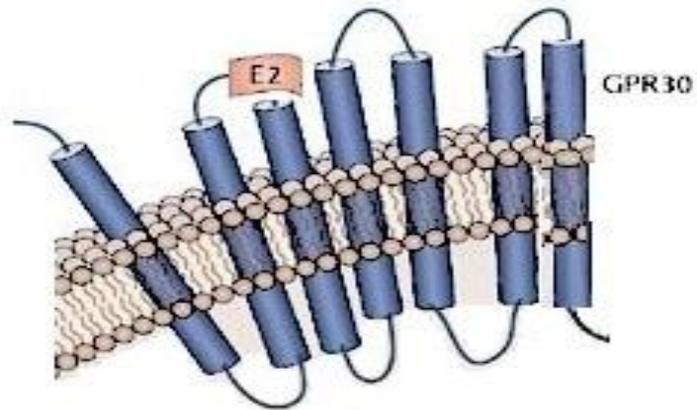


Figura 8. Estructura del receptor membranar GPR30. Se muestra que el GPR30 es una proteína compuesta por 7 dominios transmembranales acoplados a proteína G y en la tercera asa extracelular se une el E<sub>2</sub> (Modificado de Nature Chemical Biology).

### 2.7.1. Alteraciones y deficiencias asociadas con el GPR30

En estudios realizados en ratones con delección parcial del gen que codifica para GPR30 (GPR30-lacZ), no se observaron anomalías de la glándula mamaria ni del tracto reproductivo y las hembras fueron fértiles, además, el peso y masa corporal fueron similares que los grupos silvestres. En esos ratones solo se encontró un moderado decremento en células de timocitos CD4+ y CD8+ en sangre (Isensee y cols. 2009), pero no tuvieron ninguna anomalía física, ni inmunológicas o reproductiva evidente (Isensee y cols. 2009). En contraste con lo reportado por Isensee y col (Martensson y cols. 2009), en estudios con ratones GPR30-KO, en donde encuentran una hiperglucemia e intolerancia a la glucosa, así como los niveles plasmáticos de IGF-I reducidos, además, muestran disminución en el desarrollo esquelético y el crecimiento. En este mismo estudio, los ratones presentaron hipertensión arterial y resistencia vascular (Martensson y cols. 2009).

Aunque el GPR30 se expresa en todos los órganos reproductivos, los análisis histopatológicos en ratones machos y hembras que no presentan este receptor, no mostraron ninguna anomalía y el eje hipotálamo-pituitaria-gónadas tiene un funcionamiento normal (Otto 2009). Es importante destacar que el GnRH influye en la expresión de GPR30 en células de la granulosa y de la teca interna del folículo ovario del hámster, lo que sugiere que el GPR30 pudiera estar implicado en la regulación del desarrollo del folículo preantral (Wang y cols. 2007).

## 2.8. Mecanismos de señalización intracelular de los receptores de estrógenos

Se conoce que la señalización intracelular que ejercen los estrógenos ocurre a través de múltiples vías, en donde los receptores de estrógenos pueden modular la transcripción de genes blanco de manera directa o indirectamente. Actualmente se han propuesto diversos mecanismos de señalización que pudieran ser utilizados para las acciones de los diferentes tipos de receptor de estrógenos (Hall y cols. 2001, Nilsson y cols. 2001, Matthews y Gustafsson 2003, Micevich 2009):

➤ Mecanismo de activación dependiente del ligando. Como su nombre lo dice este mecanismo requiere que la hormona (ligando) se una con el RE para que el complejo hormona/receptor interactúe con los elementos de respuesta a estrógeno (ERE) localizados en el ADN y así se produzca la transcripción de genes específicos (Jensen 1968, Nilson y cols. 2001). Sin embargo, no siempre el complejo hormona/receptor interactúa de manera exclusiva con los ERE, si no que también puede asociarse con otros factores de transcripción y ser activado sin que se una directamente a los ERE (Nilson y cols. 2001).

➤ Mecanismo de activación independiente del ligando (señalización rápida del RE). El RE viaja del núcleo al citoplasma y se une a una serie de vacuolas denominadas caveolinas en donde interactúa con otros receptores membranales (Levin 2008), incluyendo al receptor de factor de crecimiento insulínico tipo1 (IGF-I; Quesada y Etgen 2002) y el receptor de glutamato metabotrópico (Boulware y cols. 2005) los cuales activan diferentes proteínas cinasas como a la PKA, PKC y a la MAPK (Rønnekleiv y cols. 2005, Kelly y Rønnekleiv 2008, Micevych y Mermelstein 2008, Micevich y Kelly 2012) que a su vez, regularán la actividad del RE y a sus proteínas correguladores en ausencia del ligando (Kuroki y cols. 2000, Losel y Wehling 2003).

➤ Mecanismo de señalización membranal (señalización rápida), el E se une a un receptor anclado a la membrana como al GPR30, el cual provoca la activación de vías de señalización intracelular a través de esas proteínas cinasas (PKA, MAPK, Src), las cuales

regulan la actividad de los receptores de estrógenos (Revankar y cols. 2005, Thomas y cols. 2005, Micevich y Kelly 2012).

El mecanismo de acción dependiente del ligando es el más estudiado, y consiste en que el RE, en ausencia del ligando, preferentemente se encuentra en el núcleo como un complejo inactivo unido a proteínas de choque térmico (Hsp90 y Hsp70). Cuando el estrógeno llega a sus células blanco, se une al RE activándolo y disociando a las proteínas de choque térmico, además de sufrir una serie de cambios conformacionales (O'Malley y cols. 1991, Beato y Sánchez-Pacheco 1996) que le permiten unirse con sus elementos de respuesta a la hormona sobre regiones reguladoras del ADN (Pettersson y cols. 1997). Una vez unidos los receptores sobre el ADN, reclutan diversos factores de transcripción basales que harán que la ARN polimerasa II comience la transcripción del gen (Rosenfeld y cols. 2001).

El complejo RE-coactivador permite el acceso a la cromatina y estabiliza al complejo de pre-iniciación transcripcional. Además, la transcripción de muchos genes se incrementa en presencia de estradiol, sin embargo, también puede ser inhibida, dependiendo el contexto celular y el tipo de receptor activado. En su mayoría, algunos genes que son activados promueven la proliferación y progresión del ciclo celular, mientras que existen otros que al ser activados participan en fenómenos apoptóticos y regulación antiproliferativa (Frasor y cols. 2003). La unión del ligando con los RE $\alpha$  y RE $\beta$  pueden formar tanto homodímeros (RE $\alpha$ /RE $\alpha$  o RE $\beta$ /RE $\beta$ ) como heterodímeros (RE $\alpha$ /RE $\beta$ ), lo que le permite inducir o reprimir la transcripción de genes, alterando así la síntesis de proteínas (Gruber y cols. 2002). La interacción entre los dos tipos de REs y las implicaciones para la modulación transcripcional son complejas y delicadas, lo cual depende del contexto celular y cofactores asociados (Koehler y cols. 2005). Estudios *in vitro* han mostrado la existencia de colocalización intracelular del RE $\alpha$  y el RE $\beta$  que forman heterodímeros después de que se unen con sus ligandos, un evento en donde el RE $\beta$  reprime la actividad transcripcional inducida por el RE $\alpha$  (Pettersson y cols. 2000). También ha mostrado que el E<sub>2</sub> al unirse a los RE $\alpha$  y RE $\beta$ , además de modular la expresión de genes a largo plazo, pueden ejercer efectos inmediatos al actuar sobre la membrana celular e inducir la activación de diferentes vías de señalización intracelular que involucran a proteínas cinasas, que a su vez pueden alterar a las propiedades eléctricas de las células a través de modular el flujo de iones que atraviesa la membrana

(Micevich 2009). Pietras y Szego (1975), fueron los primeros en describir los efectos rápidos del E<sub>2</sub> sobre el flujo de calcio en células endometriales. Posteriormente, diversos estudios también demostraron este tipo de efectos sobre tejido neuroendocrino (Kelly y cols. 1977, Mermelstein y cols. 1996), por ejemplo, El rápido aumento de calcio intracelular en células pituitarias (Dufy y cols. 1979). Además, se ha mostrado que el E<sub>2</sub> ejerce efectos inmediatos en diferentes órganos reproductores como las glándulas mamarias (Migliaccio y cols. 1996, Ahmad y cols. 1999, Lobenhofer y cols. 2000, Song y cols. 2002), el útero (Aronica y cols. 1994), los ovarios (Tesarik y Mendoza 1997, Morley y cols. 1999) e incluso en las células del hueso (Endoh y cols. 1997, Longo y cols. 2004).

Actualmente, se ha demostrado que diferentes vías de señalización intracelular son activadas por E<sub>2</sub>, como la vía de la MAPK (Migliaccio y cols. 1996, Endoh y cols. 1997, Kousteni y cols. 2000, Russell y cols. 2001, Song y cols. 2002, Fitzpatrick y cols. 2002), la vía del fosfatidil inositol 3 kinasa (PI3K/Akt; Haynes y cols. 2003, Yu y cols. 2004), así como la generación de segundos mensajeros por medio de los receptores acoplados a la proteína G (AMPc y calcio; Mermelstein y cols. 1996, Morley y cols. 1999, Sylvia y cols. 2001, Wyckoff y cols. 2001, Chaban y cols. 2004), o bien la estimulación de receptores activados por factores de crecimiento (Revankar y cols. 2005, Thomas y cols. 2005). La activación de estas vías de señalización se produce de manera específica dependiendo del tipo celular. Sin embargo, cuando los RE $\alpha$  y RE $\beta$  son activados por E<sub>2</sub> en el núcleo celular, actúan como factores de transcripción, pero cuando viajan a la membrana celular, pueden actuar como proteínas de anclaje que activan a las vías de señalización antes señaladas (Razandi y cols. 2003, Pedram y cols. 2007).

2.8.1. Agonistas y antagonistas como moduladores selectivos para los RE $\alpha$  y RE $\beta$  (SERMs). Como ya fue mencionado en secciones anteriores, el E<sub>2</sub> ejerce efectos importantes en diversos tejidos, ya que provoca cambios conformacionales sobre sus diferentes tipos de receptores (Palkowitz 1997, Zhuo 2007). La interacción hormona-receptor ha llevado al desarrollo de compuestos denominados moduladores selectivos de receptores a estrógenos (SERMs) que funcionan como agonistas en algunos tejidos, pero como antagonistas en otros. Los receptores de estrógenos se pueden unir a diversos ligandos de tipo esteroideos y no esteroideos, así, la búsqueda de mejores SERMs ha alentado el desarrollo de variedad de

compuestos químicos, especialmente de tipo no esteroideos. Así, el primer SERM clínicamente probado en la década de 1970, fue el tamoxifen, el cual puede actuar como un antagonista en algunos tejidos como en el hueso, cerebro y sistema cardiovascular (Turner 1987, Moon 1991), y agonista en otros, tales como útero y glándula mamaria (Jordan 1995, Park 2002). Además, unido con el RE $\alpha$ , el tamoxifen muestra actividad agonista y antagonista, y como antagonista puro al unirse con el RE $\beta$  (Barkhem 1988, McInerney 1996, Zou 1999, Bateau-Lozano 2002). De igual forma, ligandos endógenos, como el E<sub>2</sub> y la estrona (E<sub>1</sub>), exhiben actividad agonista al unirse a ambos tipos de receptores. Debido a las diferencias en la afinidad de unión y a la respuesta que se obtienen en el tejido específico, actualmente se han desarrollado algunos agonistas selectivos para esos receptores. Por ejemplo, el Propil-pirazol-triol (PPT), agonista para el RE $\alpha$  (Kraichely y cols. 2000, Harris y cols. 2002) y el agonista para el RE $\beta$  Diaripronitril (DPN (Meyers y cols. 2001), los cuales han sido utilizados para investigar la actividad de los receptores de estrógenos, tanto en condiciones *in vivo* (Mazzuco y cols. 2008, Lebesgue y cols. 2009) como *in vitro* (Kraichely y cols. 2000, Stauffer y cols. 2000, Meyers y cols. 2001, Harris y cols. 2002). Así, se han obtenido resultados que muestran que el DPN tiene efectos antiinflamatorios en enfermedades como la artritis reumatoide (Harris 2007), mientras que el agonista PPT muestra efectos neuroprotectores (Morissette y cols. 2008), pero ambos agonistas pueden participar en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (Deschamps y cols. 2010). Por otro lado, también se han sintetizado antagonistas específicos para el RE $\alpha$  y RE $\beta$  como el MPP y PHTPP, respectivamente, los cuales favorecen la expresión de los síntomas de artritis reumatoide así como enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (Hernández-Fonseca y cols. 2012).

### 2.8.1.1. Efecto de los SERMs: Agonistas y antagonistas sobre la regulación de la CSF

Existen pocos datos sobre el papel que juegan los SERMs sobre la regulación de la conducta sexual femenina (Miller 2005, Rhodes y cols. 2006, Walf y cols. 2008, Mazucco y cols. 2008, Lebesgue y cols. 2009, Micevich y cols. 2009). El grupo de Walf (2007) mostró que el agonista del RE $\alpha$ , el PPT, administrado en ratas previamente tratadas con BE incrementó la CL, sugiriendo que el RE $\alpha$  es importante en la regulación de la expresión de la CL en la rata, mientras que la administración del agonista de RE $\beta$  no indujo la CL (Walf y Frye 2007). Además, Mazzucco y cols. (2008) administraron a los agonistas de los receptores RE $\alpha$  y RE $\beta$  durante el tiempo del pretratamiento, para explorar cuál de los receptores de estrógenos participa sobre la facilitación de la CL inducida con P en ratas. Encontraron que el PPT, participó como pretratamiento, ya que la administración de P 48 horas después, activó la expresión de la receptividad. Por otro lado, en animales pretratados con el DPN, la P no indujo CL. Estos datos sugieren que el RE $\alpha$  es la proteína que participa en el pretratamiento sensibilizando al sustrato neural para que se despliegue la CL por P, sin embargo, cuando se administran conjuntamente ambos agonistas, se muestra una ligera reducción de la CL, por lo que propusieron que el RE $\beta$  pudiera estar modulando la acción del RE $\alpha$  sobre el pretratamiento (Mazzucco y cols. 2008).

### 2.9. Agonistas y antagonistas del GPR30

Como se mencionó en párrafos anteriores, el GPR30, activa diversas vías de señalización celular en respuesta al estrógeno, sin embargo, los efectos producidos al ser activado este receptor no han sido bien esclarecidos. Así, Eric Prossnitz y cols. (2009) estudiaron los efectos inducidos al administrar al agonista y al antagonista para el GPR30 llamados G-1 y G-15, respectivamente. Ellos encontraron que los agonistas y antagonistas del GPR30 regulan la hiperglucemia e intolerancia a la glucosa, así como los niveles plasmáticos de IGF-I, el desarrollo esquelético y el crecimiento, además participan en la hipertensión arterial y resistencia vascular (Martensson y cols. 2009). Estos estudios también revelaron que el GPR30 contribuye tanto en respuestas uterinas como neurológicas inducidas por estrógenos (Megan y cols. 2009).

### 2.9.1. Participación de los agonistas y antagonistas del GPR30 sobre la regulación de lordosis

En estudios relacionados con el uso del agonista selectivo para el GPR30, el G-1, sobre la conducta de lordosis (Anchan y cols. 2014), muestran que la administración de G-1 de manera subcutánea, seguido de P a hembras de ratón indujo un cociente de lordosis significativo en comparación con el grupo control, mientras que al administrar el antagonista del GPR30, el G-15, se produjo decremento en el cociente de lordosis inducido por la P. Sin embargo, en estos estudios solo se ha explorado la participación de los agonistas como pretratamiento y no como activador de la receptividad.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Los estrógenos regulan gran variedad de procesos fisiológicos a través de la activación de sus diferentes receptores, los cuales pueden modular la transcripción de genes blanco de manera directa o indirecta. Sin embargo, esos mecanismos y sus efectos membranales no han sido bien esclarecidos, por lo que explorar los efectos de los agonistas y antagonistas de los receptores de estrógenos sobre la conducta de lordosis en la rata ovariectomizada, pretratada con benzoato de estradiol es un buen modelo de estudio para determinar la participación de los receptores de estrógenos RE $\alpha$ , RE $\beta$  y del GPR30.

#### **4. HIPÓTESIS**

La expresión de la conducta de lordosis inducida por estradiol, en ratas ovariectomizadas, pretratadas con benzoato de estradiol involucra la participación de los receptores de estrógenos RE $\alpha$ , RE $\beta$  y del GPR30.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. Objetivo general

Explorar la participación de los receptores de estrógenos RE $\alpha$ , RE $\beta$  y GPR30 en la activación de la conducta de lordosis en la rata hembra ovariectomizada y pretratada con benzoato de estradiol.

### 5.2. Objetivos particulares

Explorar la participación del receptor de estrógenos alfa a través de la administración intracerebroventricular de su agonista Propil Pirazol Triol, en la rata hembra ovariectomizada y pretratada con benzoato de estradiol.

Explorar la participación del receptor de estrógenos alfa a través de la administración intracerebroventricular de su antagonista, el metil-piperidino-pyrazol, en la rata hembra ovariectomizada y pretratada con benzoato de estradiol.

Explorar la participación del receptor de estrógenos beta a través de la administración intracerebroventricular de su agonista, Diaripronitril en la rata hembra ovariectomizada, pretratada con benzoato de estradiol.

Explorar la participación del receptor de estrógenos beta a través de la administración intracerebroventricular de su antagonista, Trifluorometil pirazol pirimidina fenol en la rata hembra ovariectomizada, pretratada con benzoato de estradiol.

Explorar la participación del receptor a estrógeno GPR30 a través de la administración intracerebroventricular de su agonista el G1, en la rata hembra ovariectomizada, pretratada con benzoato de estradiol.

## 6. METODOLOGÍA

Se utilizaron 162 ratas hembra vírgenes de la cepa Sprague-Dawley de la colonia del Centro de Investigación en Reproducción Animal, laboratorio CINVESTAV-UAT, Panotla, Tlaxcala. Las hembras se mantuvieron en un cuarto bajo un ciclo invertido de luz-oscuridad (14 horas luz-10 horas oscuridad). El peso de las hembras era de 230 a 250gr, en la primera semana se les realizó la ovariectomía (ovx), en la segunda semana fueron anestesiadas con xilazina (120 mg/kg) y ketamina (80 mg/kg) por vía intraperitoneal, para ser implantadas con una cánula guía de acero inoxidable (calibre 22, de 17 mm de longitud) en el ventrículo lateral derecho por medio de cirugía estereotáxica, utilizando para ello las coordenadas del atlas de Paxinos y Watson (2006; antero-posterior 8.2mm lateral 1.5mm y profundidad 3.5mm).

### 6.1. Fármacos

Una semana después del implante de la cánula, cada animal recibió una inyección subcutánea de BE (5 µg/0.1ml), posteriormente se formaron grupos de entre 8 y 10 animales para administrarles las diferentes dosis de los agonistas, para el RE $\alpha$ , Propil Pirazol Triol (PPT) para el RE $\beta$ , Diaripronitril (DPN) y para el receptor membranal GPR30 el G1, así como de los antagonistas para el RE $\alpha$  y RE $\beta$ , metil-piperidino-pirazol (MPP) y Trifluorometil pirazol pirimidina fenol (PHTPP), respectivamente. Las dosis utilizadas para el PPT fueron: 0.08, 0.4, 2, 10 y 50 ng; para el DPN fueron: 0.08, 0.4, 2, 10 y 50 ng); y para el G-1 fueron: 3.75, 7.5, 15 y 30 µg, mientras que la dosis utilizada para el antagonista MPP fue de 30 µg y para el PHTPP fue de 101 ng. Las dosis utilizadas fueron administradas en 1µl de DMSO (vehículo de los agonistas y antagonistas)

## 6.2. Evaluación de la conducta de lordosis

Las hembras fueron sometidas a pruebas de conducta sexual con machos sexualmente expertos dentro de arenas circulares de Plexiglas (60 cm de diámetro) a los 30, 120 y 240 minutos después de la administración de los fármacos. La prueba duró hasta que la hembra recibió diez montas del macho y, la receptividad se evaluó a través del cociente de lordosis  $CL = (\text{No. de lordosis} / \text{No. de montas}) (100)$ , además se avaluó la intensidad de lordosis  $(\text{gdo. de lordosis} / \text{No. de montas}) (10)$ , dado que previamente observamos que estos agentes no inducen proceptividad por ello este parámetro no se cuantificó.

## 6.3. Evaluación estadística de la conducta de lordosis

Los datos fueron analizados con el programa SYSTAT 5.04 (SYSTAT, Inc. Evaston, IL, EUA). Inicialmente, se realizó una prueba de análisis de varianza (Kruskal-Wallis) para saber si existían diferencias entre todos los grupos experimentales probados. Posteriormente, los grupos tratados con los agonistas fueron comparados contra aquellos tratados con el vehículo (grupo control) y el grupo del antagonista contra el grupo de estradiol (control positivo) (Siegel y Castellan 1995) por medio de la prueba post hoc U-Mann-Whitney.

#### 6.4. Grupos experimentales

Con 162 hembras ovariectomizadas y pretratadas con BE se formaron grupos de 8 ó 10 animales y se les administró de manera intracerebroventricular en 1µl de DMSO los siguientes fármacos:

Grupo control negativo 1: once hembras recibieron una infusión de 1 µg de DMSO en 1µl (vehículo de los agonistas (PPT, DPN y G-1) y antagonista de los RE $\alpha$  y RE $\beta$ ; MPP y PHTPP)

Grupo control positivo 2: diez hembras recibieron una inyección subcutánea de benzoato de estradiol 5 µg/0.1ml + una infusión de 2ng/1µl de E<sub>2</sub>

Grupo experimental 3: ocho hembras recibieron una infusión de 0.08 ng/1µl de PPT

Grupo experimental 4: ocho hembras recibieron una infusión de 0.4 ng/1µl de PPT

Grupo experimental 5: ocho hembras recibieron una infusión de 2 ng/1µl de PPT

Grupo experimental 6: nueve hembras recibieron una infusión de 10 ng/1µl de PPT

Grupo experimental 7: nueve hembras recibieron una infusión de 50 ng/1µl de PPT

Grupo experimental 8: once hembras recibieron una infusión del antagonista MPP (30µg/1µl) + E<sub>2</sub> (2 ng/1µl)

Grupo experimental 9: ocho hembras recibieron una infusión de 0.08 ng/1µl de DPN

Grupo experimental 10: diez hembras recibieron una infusión de 0.4 ng/1µl de DPN

Grupo experimental 11: nueve hembras recibieron una infusión de 2 ng/1µl de DPN

Grupo experimental 12: nueve hembras recibieron una infusión de 10 ng/1µl de DPN

Grupo experimental 13: nueve hembras recibieron una infusión de 50 ng/1µl de DPN

Grupo experimental 14: nueve hembras recibieron una infusión del antagonista PHTPP (101 ng/1µl) + E<sub>2</sub> (2 ng/1µl)

Grupo experimental 15: ocho hembras recibieron una infusión de 3.75 µg/1µl de G-1

Grupo experimental 16: ocho hembras recibieron una infusión de 7.5 µg/1µl de G-1

Grupo experimental 17: nueve hembras recibieron una infusión de 15 µg/1µl de G-1

Grupo experimental 18: nueve hembras recibieron una infusión de 30 µg/1µl de G-1

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Participación de los agonistas de los RE $\alpha$ , RE $\beta$ y GPR30 sobre la activación de la CL en la rata pretratada con BE

En la figura 8 se muestran los resultados obtenidos por la administración intracerebral de 0.08, 0.4, 2, 10 y 50 ng/1 $\mu$ l del agonista para el RE $\alpha$  sobre el cociente de lordosis (panel A) e intensidad de lordosis (panel B) en la rata ovx pretratada con BE a tres tiempos probados (30, 120 y 240 minutos después de la administración del fármaco). En el primer tiempo de observación las hembras que muestran mayor cociente de lordosis ( $*P<0.001$ ) son las que recibieron 0.08 y 0.4 ng/1 $\mu$ l. En la segunda y tercera observación las dosis que muestran mayor cociente de lordosis son 0.08 y 2 ng/1 $\mu$ l. Sin embargo las demás concentraciones también indujeron CL ( $^{\omega}P<0.01, ^{+}P<0.05$ ). Con respecto a la intensidad de lordosis se muestra en la primera observación que las hembras que recibieron 0.08, 0.4 y 2 ng/1 $\mu$ l muestran mayor intensidad de lordosis ( $*P<0.001$ ). En la segunda observación todas las concentraciones inducen de manera significativa la intensidad de lordosis y en la última observación la de 2 ng/1 $\mu$ l es la concentración que induce mayor intensidad de lordosis, sin embargo, las demás concentraciones también indujeron intensidad de lordosis en alguno de los tiempos probados ( $^{\omega}P<0.01, ^{+}P<0.05$ ).

En la figura 9 se muestran los resultados obtenidos por la administración intracerebral de 0.08, 0.4, 2, 10 y 50 ng/1 $\mu$ l del agonista para el RE $\beta$  sobre el cociente de lordosis (panel A) e intensidad de lordosis (panel B) en la rata ovx pretratada con BE a tres tiempos probados (30, 120 y 240 minutos después de la administración del fármaco). En la primera y segunda observación todas las dosis muestran incremento significativo en el CL respecto al grupo control ( $*P<0.001$ ), en la última observación la dosis que muestra mayor CL es la de 10 ng/1 $\mu$ l, sin embargo, las demás dosis también indujeron CL a los tres tiempos probados ( $^{\omega}P<0.01, ^{+}P<0.05$ ). Con respecto a la intensidad de lordosis, en la primera observación todas las dosis muestran incremento significativo en la intensidad de lordosis ( $*P<0.001$ ). En la segunda y tercera observación las dosis de 0.08, 0.4, 2 y 10 ng/ $\mu$ g muestran mayor incremento en la intensidad, sin embargo, la dosis de 50 ng/ $\mu$ g también se incrementa la intensidad en las dos últimas observaciones ( $^{\omega}P<0.01, ^{+}P<0.05$ ).

En la figura 10 se muestran los resultados obtenidos por la administración intracerebral del agonista del receptor GPR30 sobre el cociente de lordosis (panel A) e intensidad de lordosis (panel B) en la rata ovx pretratada con BE a tres tiempos probados (30, 120 y 240) y con 4 diferentes dosis 3.75, 7.5, 15 y 30  $\mu\text{g}$ . En la primera observación la dosis que indujo mayor CL fue la de 3.75  $\mu\text{l}/1\mu\text{l}$  ( $^{\circ}P<0.01$ ). En la segunda observación la dosis que muestra mayor CL fue 15  $\mu\text{l}/1\mu\text{l}$  ( $*P<0.001$ ) y en la última observación las dosis que indujeron mayor CL fueron las de 3.75 y 30  $\mu\text{l}/1\mu\text{l}$  ( $^{\circ}P<0.01$ ,  $+P<0.05$ ). Con respecto a la intensidad de lordosis en la primera observación las hembras que recibieron la dosis de 3.75  $\mu\text{l}/1\mu\text{l}$  muestran mayor intensidad de lordosis ( $^{\circ}P<0.01$ ). En la segunda observación la dosis que indujo mayor intensidad fue la de 15  $\mu\text{l}/1\mu\text{l}$  ( $*P 0.001$ ) y en la última observación la dosis de 3.75  $\mu\text{l}/1\mu\text{l}$  es la que induce mayor intensidad ( $^{\circ}P<0.01$ ,  $+P<0.05$ ).

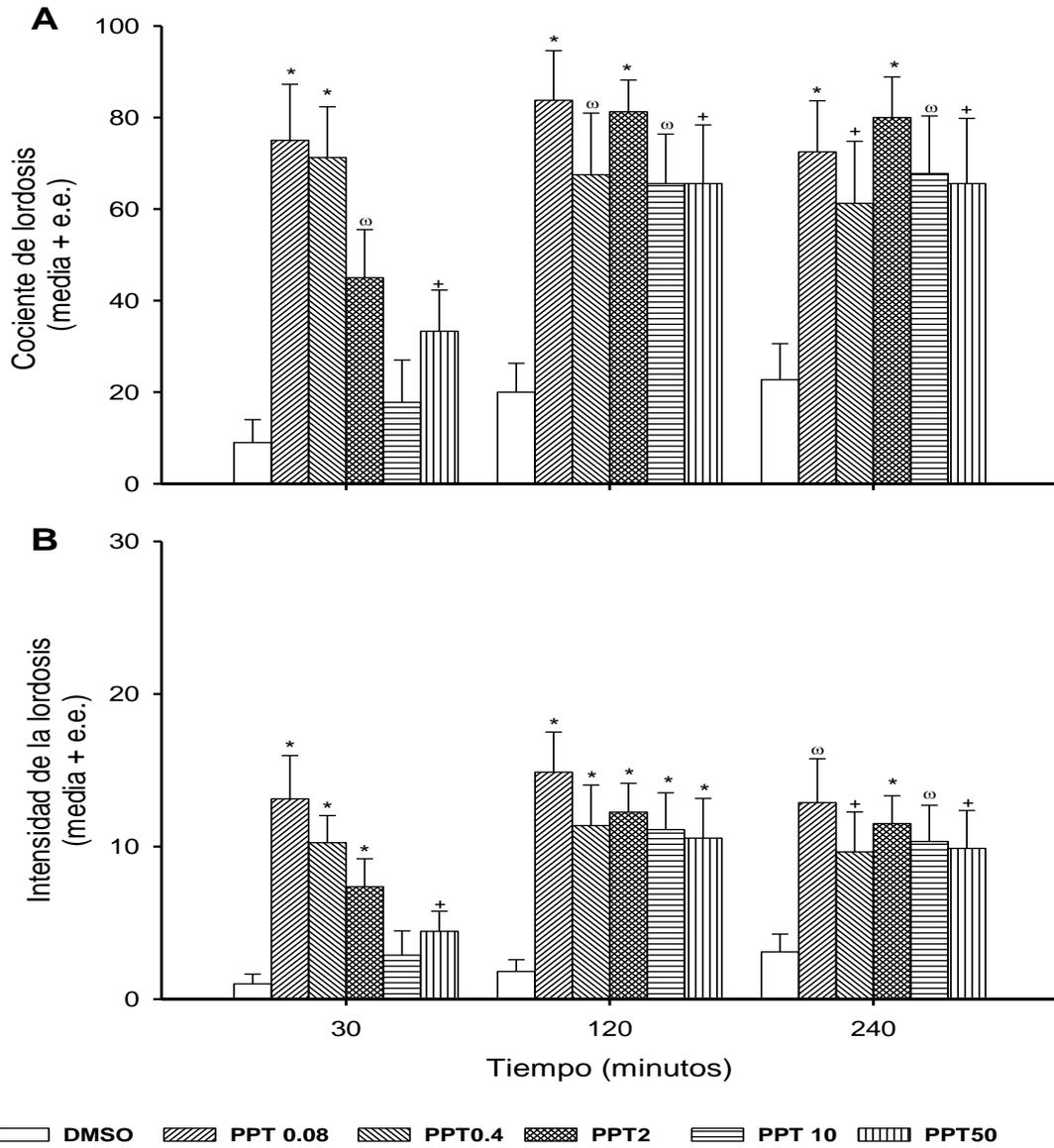


Figura 8. Efecto de diferentes dosis del agonista (PPT) del RE $\alpha$  sobre la activación de la CL en la rata tratada con BE observado a los 30, 120 y 240 minutos. El panel A muestra el cociente de lordosis inducido por una infusión intracerebral de 0.08, 0.4, 2, 10 y 50 ng/1 $\mu$ l del agonista para el RE $\alpha$ , el PPT. Mientras que el panel B muestra la intensidad de lordosis inducida por una infusión intracerebral de 0.08, 0.4, 2, 10 y 50 ng/1 $\mu$ l del agonista para el RE $\alpha$ , el PPT.

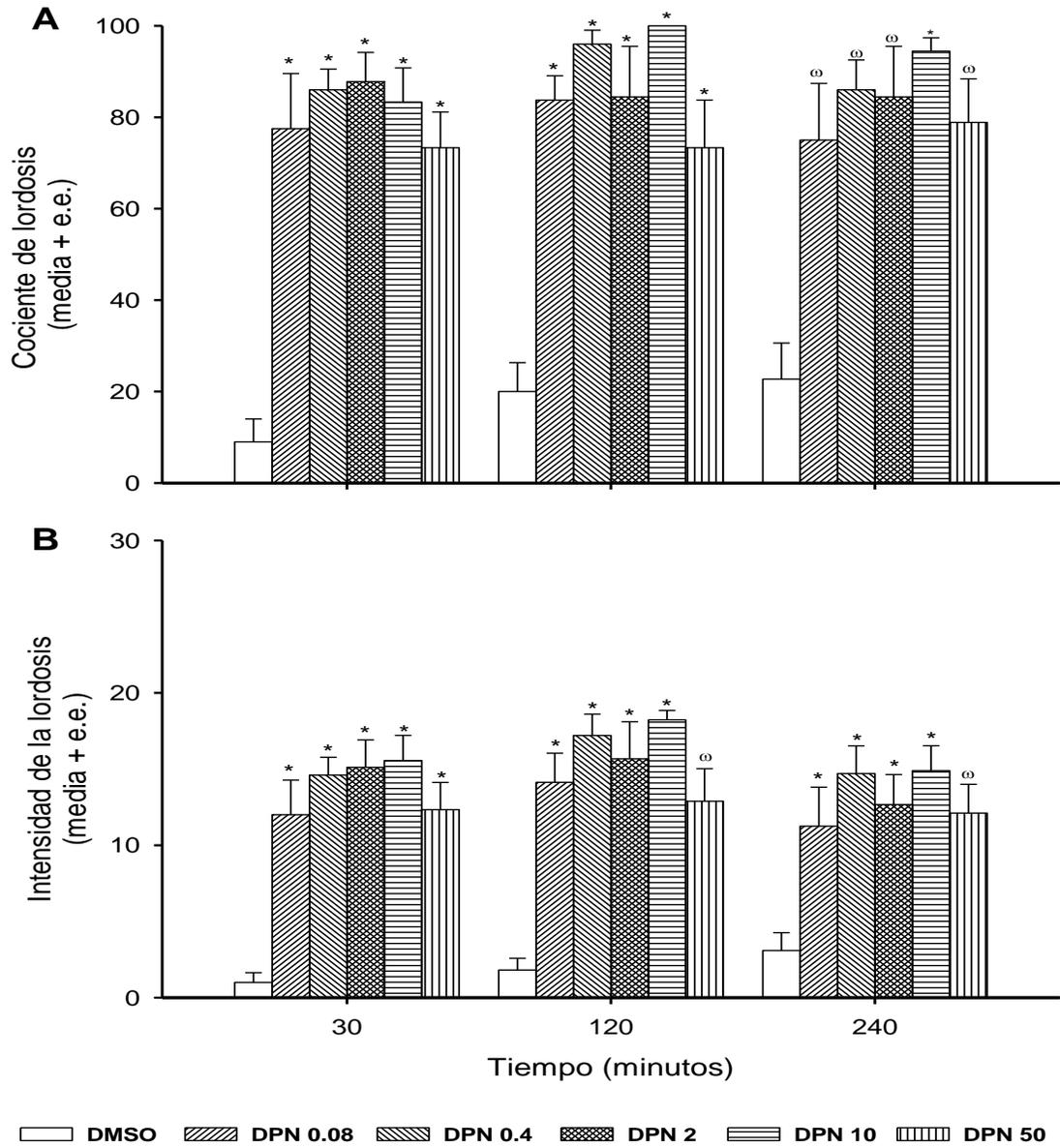


Figura 9. Efecto de diferentes dosis del agonista (DPN) del RE $\beta$  sobre la activación de la CL en la rata tratada con BE observado a los 30, 120 y 240 minutos. Se muestra el cociente de lordosis (panel A) y la intensidad de lordosis (panel B) inducido por una infusión intracerebral de 0.08, 0.4, 2, 10 y 50 ng/1 $\mu$ l del agonista para el RE $\beta$ , el DPN.

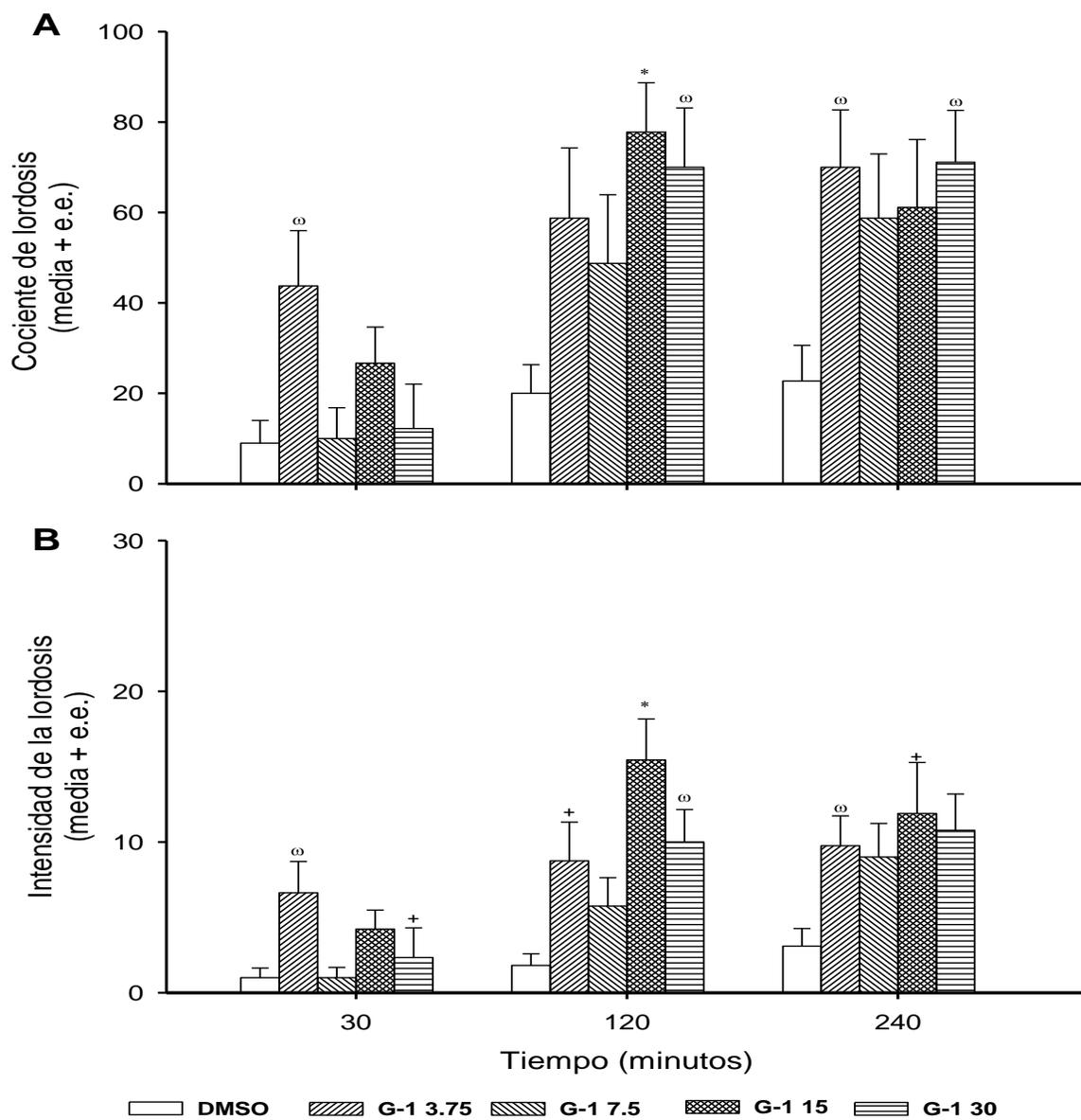


Figura 10. Efecto de diferentes dosis del agonista del GPR30, G-1, sobre la activación del cociente e intensidad de lordosis en la rata tratada con BE observado a los 30, 120 y 240 minutos. Se muestra el cociente de lordosis (panel A) y la intensidad de lordosis (panel B) inducido por una infusión intracerebral de 3.75, 7.5, 15 y 30  $\mu\text{l}/1\mu\text{l}$  del agonista para el GPR30, el G-1.

7.3. Experimento 2.- Efecto de los antagonistas de los RE $\alpha$  y RE $\beta$  a sobre la CL inducida por estradiol en la rata pretratada con BE.

En la figura 11 se muestran los resultados obtenidos por la administración intracerebral del antagonista del RE $\alpha$  sobre el cociente de lordosis (panel A) e intensidad de lordosis (panel B) en la rata ovx pretratada con BE a tres tiempos probados (30, 120 y 240). Se observa el decremento del cociente de lordosis (CL) inducido por la administración de 30  $\mu$ g en 1 $\mu$ l del antagonista del RE $\alpha$ , el MPP, a los 120 y 240 minutos (\* $P < 0.001$ ,  $^{\omega}P < 0.01$ , + $P < 0.05$ ). Con respecto a la intensidad de lordosis se observa decremento en la intensidad de la lordosis a los tres tiempos probados (\* $P < 0.001$ ,  $^{\omega}P < 0.01$ , + $P < 0.05$ ).

En la figura 12 se muestran los resultados obtenidos por la administración intracerebral del antagonista del RE $\beta$  sobre el cociente de lordosis (panel A) e intensidad de lordosis (panel B) en la rata ovx pretratada con BE a tres tiempos probados (30, 120 y 240). Se observa el decremento del cociente de lordosis inducido por la administración de 101 ng en 1 $\mu$ l del antagonista del RE $\beta$ , el PHTPP, a los 120 y 240 minutos (\* $P < 0.001$ ,  $^{\omega}P < 0.01$ , + $P < 0.05$ ). Con respecto a la intensidad de lordosis se observa decremento en la intensidad de lordosis a los 120 y 240 minutos después de la administración del PHTPP (\* $P < 0.001$ ,  $^{\omega}P < 0.01$ , + $P < 0.05$ ).

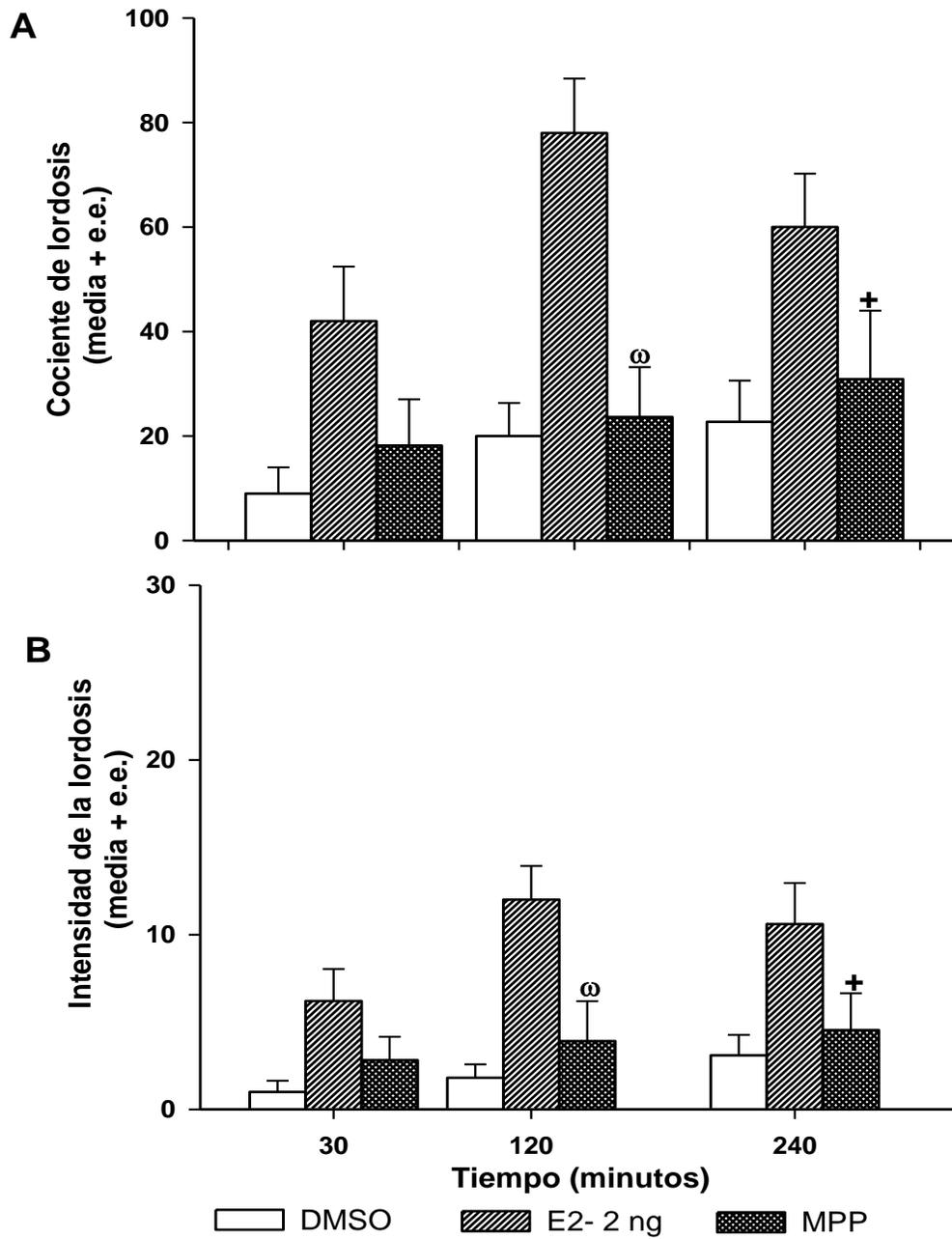


Figura 11. Efecto del antagonista del RE $\alpha$  sobre la CL inducida por estradiol en la rata pretratada con BE. El panel A muestra el decremento del cociente de lordosis inducido por la administración del antagonista del RE $\alpha$ , el MPP y el panel B muestra el decremento de la intensidad de lordosis inducido por la administración del antagonista del RE $\alpha$ , el MPP.

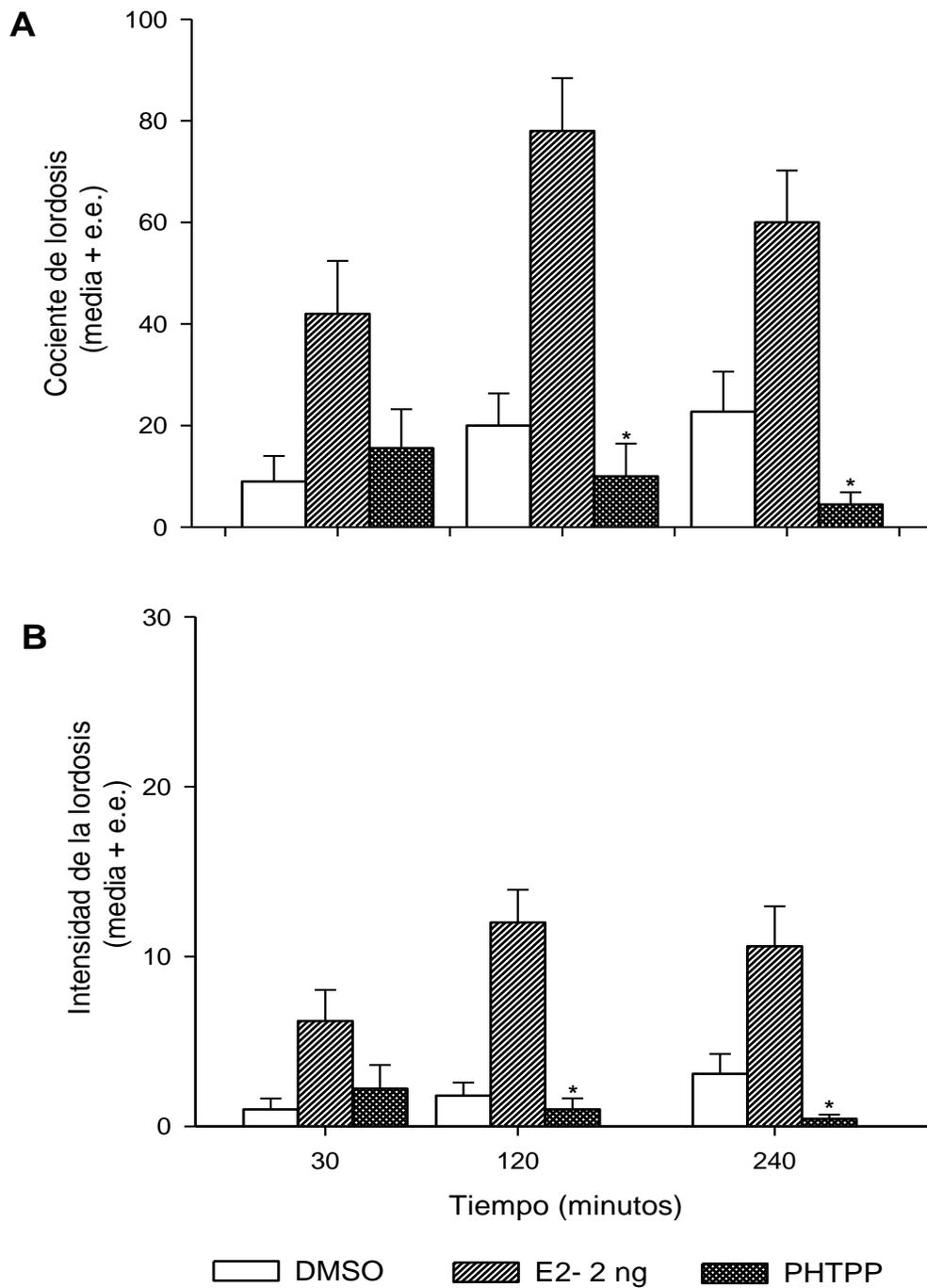


Figura 12. Efecto del antagonista del RE $\beta$  sobre la CL inducida por estradiol en la rata pretratada con BE. El panel A muestra el decremento del cociente de lordosis inducido por la administración del antagonista del RE $\beta$ , el PHTPP y el panel B muestra el decremento de la intensidad de lordosis inducido por la administración del antagonista del RE $\beta$ , el PHTPP.

## 8. DISCUSIÓN

Los resultados del presente trabajo muestran la activación de la conducta de lordosis inducida por los agonistas de los receptores de estrógenos RE $\alpha$ , RE $\beta$  y GPR30 en la rata pretratada con BE. Ya que el análisis estadístico muestra diferencias significativas, con respecto al grupo control, en las respuestas de las hembras que fueron tratadas con los agonistas de dichos receptores. La participación de los RE $\alpha$ , RE $\beta$  y GPR30 sobre la CL en ratas pretratadas con BE es también reforzada por la administración de antagonistas de los RE $\alpha$  y RE $\beta$ , donde se muestra decremento de la CL inducida por el E<sub>2</sub>. Existen estudios realizados en nuestro laboratorio (González-Flores y Etgen 2004, González-Flores y cols. 2006, González-Flores y cols. 2010, Lima-Hernández y cols. 2012) y en otros, que apoyan los resultados presentados en esta tesis, en donde compuestos con estructuras químicas diferentes, fueron capaces de sustituir el efecto activador de la P sobre la CL en la rata pretratada con BE. Por ejemplo, péptidos como la hormona liberadora de la hormona luteinizante (HLHL; Moss y Foreman 1976), aminas biogénicas (noradrenalina), la prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>; Hall y Luttge 1977, Ojeda y cols. 1977), nucleótidos cíclicos como el adenosin monofosfato cíclico (AMPc; Beyer y Canchola 1981(b) y el guanosin monofosfato cíclico (GMPc; Fernández-Guasti y cols. 1983, González-Flores y cols. 2004), proteínas (leptina; García-Juárez 2011), por lo cual, se propone que los agonistas utilizados en la presente tesis, al igual que los fármacos de los estudios antes mencionados también sustituyen a la P sobre la activación de la CL en la rata pretratada con BE, ya que dichos agonistas fueron capaces de inducir dicha conducta. Existen mínimos trabajos con respecto al uso de los agonistas sobre la receptividad, el único trabajo sobre la regulación de la CL a través del uso de los agonistas selectivos de los receptores de estrógenos en ratas, es el de Mazzuco (2008) en donde explora el uso de los agonistas de los receptores RE $\alpha$  y RE $\beta$  como pretratamiento, sobre la facilitación de la receptividad, inducida con P en ratas y encuentra que el agonista del RE $\alpha$ , el PPT, participa en la CL, ya que, la administración del agonista PPT seguida de la P 48 horas después, ocasiona la activación de dicha conducta, contrario a lo anterior, cuando se administra el agonista de RE $\beta$ , el DPN, la P no induce CL, sugiriendo que el RE $\alpha$  es quien participa en el pretratamiento, para que posteriormente sea la P quien active la CL, además, también al administrar la combinación de ambos agonistas, se muestra ligera reducción de la CL, por lo cual proponen que el RE $\beta$  pudiera estar modulando la acción

del RE $\alpha$  sobre el pretratamiento. Al parecer ambas isoformas tienen un papel importante en la regulación de la CL y aunque el RE $\beta$  no participa directamente en el pretratamiento de la CL, se sugiere que participa en la modulación del RE $\alpha$ , para que este receptor sea quien modula la síntesis de proteínas.

Así, los diversos compuestos con estructuras químicas diferentes, ya antes mencionados, actúan sobre sus respectivos receptores a nivel de la membrana facilitando la generación de segundos mensajeros, activando cascadas de señalización de cinasas (PKA, PKC, PKG, MAPK, Src), las cuales están involucradas en la regulación de la receptividad, al fosforilar (activar) al RP. Además de estos compuestos lorigénicos, el E<sub>2</sub> también sustituye a la P sobre la receptividad, ya que dosis supra fisiológicas o repetidas de estrógenos inducen CL en ratas pre-tratadas con BE (Beyer 1980). De igual forma, experimentos en nuestro laboratorio muestran que dosis pequeñas de E<sub>2</sub> (0.016 a 10 ng; en orden de magnitud de 5) administradas en el ventrículo lateral derecho a ratas pretratadas con BE, inducen lordosis (datos no publicados), por lo que la presente tesis propone que la activación de la CL inducida por los agonistas de los RE $\alpha$ , RE $\beta$  y GPR30 pudiera ser por medio de un mecanismo membranal a través de alguna de las vías de señalización de cinasa (PKA, PKC, PKG, MAPK, Src), ya que el tiempo de latencia entre la administración del fármaco y la inducción de la CL es corta. Sin embargo, tampoco se descarta el mecanismo genómico ya que algunas dosis de agonistas tienen respuestas significativas a los 240 minutos después de la administración de los fármacos, tiempo necesario para que se lleve a cabo la síntesis de proteínas.

Respecto a estudios que exploran la participación del receptor GPR30, Anchan (2014) realizó experimentos con el uso del agonista selectivo, el G-1, sobre la CL y muestra que la administración de G-1 de manera subcutánea a ratones hembra seguido de P, regula la receptividad del ratón hembra. Sin embargo, es importante mencionar que en la presente tesis los fármacos fueron utilizados como activadores de la CL y no como pretratamiento como lo realizado en el trabajo de Mazzuco y el de Anchan.

En relación al uso de los antagonistas de los receptores de estrógenos (MPP y PHTPP) no se han encontrado estudios sobre receptividad, sin embargo, el uso de dichos antagonistas participa en la regulación de artritis reumatoide así como enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (Hernández-Fonseca y cols. 2012).

En cuanto a los mecanismos celulares que regulan la conducta sexual, por mucho tiempo se pensó que su activación solo involucraba la transcripción genética. Sin embargo, nuevos conceptos señalan que los efectos membranales son críticos para el despliegue de la receptividad sexual, dichos efectos involucran la generación de segundos mensajeros así como la activación de múltiples vías de señalización intracelular (PKA, PKC, Src, MAPK, fosfatidil inositol 3 kinasa (PI3K), en áreas cerebrales asociadas con la regulación de la CSF (Kow y cols. 1994, Beyer y cols. 1997, González-Flores y Etgen 2004, González-Flores y cols. 2006, Ramírez-Orduña y cols. 2007, González-Flores y cols. 2010). Por lo cual, se han descrito dos mecanismos celulares involucrados en la regulación de la CSF, el mecanismo genómico (Jensen 1968) donde el complejo hormona-receptor funciona como factor de transcripción induciendo la síntesis de proteínas, las cuales participan en la regulación de dicha conducta y más reciente, el mecanismo membranal que involucra varios compuestos con estructuras químicas diferentes sobre la activación de la CL en ratas pre-tratadas con estrógenos, como por ejemplo, la HLHL, PGE2, AMPc, GMPc, entre otros agentes antes mencionados, dichos compuestos sustituyen el efecto de la P en la inducción de la lordosis, al actuar sobre sus respectivos receptores membranales, induciendo la formación de segundos mensajeros, activando vías de señalización de proteínas cinasas (PKA, PKC, MAPK, Src), las cuales fosforilan al RP, es decir, lo activan, una vez activo este receptor, es el responsable de modular la CL (Beyer y cols. 1989). Cabe mencionar que estos compuestos activan la CL siempre y cuando los sujetos estén tratados previamente con estrógenos (BE). Beyer (1980) propone un modelo que involucra ambos mecanismos (comunicación cruzada) en la activación de dicha conducta, el cual consiste en los siguientes eventos:

El E<sub>2</sub> por sus capacidades lipídicas atraviesa fácilmente la membrana de células hipotalámicas uniéndose con su receptor intracelular, formando un complejo hormona-receptor activo. Posteriormente, este complejo viaja al núcleo a sitios específicos del ADN llamados elementos de respuesta al estrógeno, activando la maquinaria transcripcional, cuyo resultado es la formación de ARNm y por ende, la síntesis de proteínas, entre ellas el RP (Brown y cols. 1987). Se requiere entre 24 y 36 horas para la síntesis proteica (Powers 1970), sin embargo, estos receptores se encuentran de forma inactiva. La activación ocurre por fosforilación, la cual puede ser inducida por agentes como la propia P o bien por la PGE2, la leptina (García-Juárez 2011), la noradrenalina o GnRH (Ramírez Orduña 2007), al actuar

sobre sus receptores membranales y activar cascadas de segundos mensajeros y proteínas cinasas, puesto que, la activación de receptores a esteroides puede ocurrir en ausencia del ligando (Cenni y Picard 1999). Sin duda los mecanismos que regulan la CL son muy complejos, sin embargo, se han realizado diversos estudios que exploran las diferentes vías de señalización involucradas en la regulación de esta conducta inducida por diversos compuestos lordogénicos, por ejemplo, se ha explorado la participación de la PKA y PKC sobre la CL inducida por P y sus metabolitos reducidos en el anillo A mediante la administración de los inhibidores RpAMPs y H7 para las cinasas PKA y PKC, respectivamente, mostrando un decremento en la CL (González-Flores y cols. 2006). En cuanto a la vía de la MAPK se ha propuesto que participa sobre la activación de la CL inducida por el 8-bromo-GMPc, Análogo de GMPc, ya que la CL fue bloqueada por el PD98059 (inhibidor de la MAPK) en la rata previamente tratada con BE. Además, la administración del PP2 (inhibidor de la Src) bloqueo la receptividad inducida por P, en ratas pretratadas con BE (González-Flores y cols. 2010). Por lo tanto, las vías de señalización (MAPK, PKA, PKC, Src) son un componente esencial en la facilitación de la CL inducida por diversos agentes ya mencionados.

Respecto a los mecanismos de acción que ejercen los estrógenos, se han descrito dos isoformas, el RE $\alpha$  y RE $\beta$ , a través de estas, los estrógenos llevan a cabo sus diversas funciones por medio de señales genómicas y membranales (Micevich 2009), ya que, además de funcionar como factores de transcripción una vez unidos a su ligando, se activan múltiples vías de señalización que involucran tanto a su receptor nuclear, así como de membrana. El E<sub>2</sub> posee acciones rápidas que van de segundos a minutos (Raz y cols. 2008) a través de activar el receptor membranal GPR30 (Thomas y cols. 2005), pero también a partir de la formación de caveolinas (Leevin 2008) lo que le permite al receptor intracelular asociarse con otras proteínas como el receptor de factor de crecimiento insulínico tipo1 (IGF-I; Quesada y Etgen 2002) y el receptor metabotrópico de glutamato (Boulware y cols. 2005), estas acciones rápidas son reguladas por la activación de una variedad de vías de señalización intracelular (PKA, PKC, MAPK, Src; Rønnekleiv y cols. 2005, Kelly y Rønnekleiv 2008, Micevich y Mermelstein 2008, Micevich y Kelly 2012).

Pietras y Szego (1975) fueron los primeros en describir los efectos rápidos del E<sub>2</sub> observando flujo de calcio en células endometriales, posteriormente, estudios *in vivo* e *in*

*vitro* muestran que el E<sub>2</sub> por medio del RE $\alpha$ , en la membrana y no en el núcleo, inducen rápida señalización a través de la activación de cinasas (Razandi y cols. 2003, Pedram y cols. 2009). El E<sub>2</sub> también ha mostrado señalización rápida en diversos tejidos como los senos (Migliaccio y cols. 1996, Ahmad y cols. 1999, Lobenhofer y cols. 2000, Song y cols. 2002), útero (Aronica y cols. 1994), ovario (Tesarik y Mendoza 1997, Morley y cols. 1999), células de hueso (Endoh y cols. 1997, Kousteni y cols. 2001, Longo y cols. 2004). Así mismo, se han mostrado variedad de vías de señalización intracelular activadas por E<sub>2</sub>, por ejemplo, la activación de la MAPK (Migliaccio y cols. 1996, Endoh y cols. 1997, Kousteni y cols. 2000; Russell y cols. 2001, Song y cols. 2002, Fitzpatrick y cols. 2002), la vía fosfatidil inositol 3 kinasa (PI3K/Akt; Haynes y cols. 2003, Yu y cols. 2004), generación de segundos mensajeros mediada por receptores acoplados a proteína G (AMPc y calcio; Mermelstein y cols. 1996, Morley y cols. 1999, Sylvia y cols. 2001, Wyckoff y cols. 2001, Chaban y cols. 2004), así como la estimulación de receptores de factores de crecimiento (Revankar y cols. 2005, Thomas y cols. 2005). Es importante mencionar que el E<sub>2</sub> ejerce acciones rápidas en sitios neurales, ya que, estudios mostraron efectos rápidos en tejido neuroendocrino (Kelly y cols. 1977, Mermelstein y cols. 1996) incluyendo un rápido aumento de calcio intracelular de células pituitarias (Dufy y cols. 1979), el E<sub>2</sub> altera las propiedades eléctricas y modula el flujo de iones, por lo que libera rápidamente Ca<sup>+</sup> intracelular donde la interacción del RE $\alpha$  con el receptor de membranal de glutamato es necesaria para el flujo de este ion, alterando el disparo neural de las neuronas hipotalámicas (Kelly y cols. 1976), también se sabe que el calcio intracelular tiene la capacidad de activar cinasas como la dependiente de calcio-calmodulina (Berridge 1993), un estudio muestra que el calcio activa al RE $\alpha$  en células MCF-7 (Shailaja y cols. 2011). En otros trabajos, el E<sub>2</sub> rápidamente hiperpolariza neuronas GnRH en cerdos de guinea a través de la activación de canales de K<sup>+</sup> (Kelly y cols. 1984, Lagrange y cols. 1995) aumentando la liberación de neuropeptidos (Micevych y cols. 1988). Además, se sabe que el E<sub>2</sub> a través del RE $\alpha$ , localizado en la membrana y no en el núcleo se asocia en comunicación cruzada con el receptor de glutamato (mGluR-1<sup>a</sup>; Micevich 2003). Por lo tanto, los receptores RE $\alpha$  y RE $\beta$  cuando son activados por E<sub>2</sub> en el núcleo celular actúan como factores de transcripción al mediar efectos a largo plazo a través de la expresión de genes (Mermelstein y cols. 1996, Foy y cols. 1999, Duan y cols. 2001, Duan y cols. 2002), pero cuando viajan a la membrana celular activan una variedad de vías de señalización intracelular

involucrando a proteínas cinasas (MAPK, PKA, PKC, PI3K y Src; Losel y Wehling 2003, Micevich 2009).

Respecto al receptor GPR30, este receptor membranal regula diversos eventos reproductivos (Micevich y Mermelstein, 2008, Li y cols. 2013), ya que es altamente expresado en el hipotálamo (Funakoshi y cols. 2006), sitio neural que se sabe está implicado en la regulación de la CSF en la rata. Sin embargo, en un estudio reciente se mostró que el E<sub>2</sub> radioactivo no se une a GPR30, no estimula APMc, tampoco libera calcio y por ende no tiene efectos como los del estrógeno en el útero y glándula mamaria en el ratón (Otto y cols. 2008), se ha propuesto que es debido a que el GPR30 es incapaz de mediar cualquier acción del estrógeno en células en las cuales estén ausentes los RE $\alpha$  y RE $\beta$  (Pedram y cols. 2006). En estudios con delección parcial del gen que codifica para GPR30 (GPR30-lacZ) en el ratón, no se observaron anomalías de la glándula mamaria ni del tracto reproductivo y las hembras fueron fértiles, además, el peso y masa corporal eran comparables a sus compañeros de camada sin delección (Isensee y cols. 2009) por lo que no muestran ninguna anomalía física obvia, tampoco inmunológicas o reproductivas en esos ratones hembra GPR30-KO, sin embargo, en otros estudios con ratones GPR30-KO, encuentran hiperglucemia e intolerancia a la glucosa así como niveles reducidos de IGF-I en suero, también muestran disminución en el desarrollo esquelético y el crecimiento, además estos ratones presentaron hipertensión arterial y resistencia vascular (Martensson y cols. 2009). A pesar de la dificultad por entender las funciones de este receptor, varios trabajos han aportado datos interesantes, por ejemplo, en trabajos in vitro con células cancerígenas, demuestran que el estradiol induce la activación de GPR30 ocasionando la activación de diferentes vías de señalización (PKA, Src y MAPK; Revankar 2005, Filardo 2005). Ya que, en células MCF-7, por una parte, el E<sub>2</sub> asociado con el GPR30, activa a la subunidad  $\alpha$  de la proteína G induciendo la activación de adenilato ciclasa, el cual produce la formación de AMPc. Por otra parte, las sub unidades  $\beta$  y  $\gamma$  de la proteína G activan a la tirosina cinasa Src, provocando la subsecuente activación de la MAPK, (Filardo y cols. 2005, Quinn y cols. 2009, Maggiolini y cols. 2010).

Por lo que se refiere a la expresión de los receptores de estrógenos tanto el RE $\alpha$  como el RE $\beta$  son expresados en sitios neurales implicados en la CSF como el hipotálamo ventromedial (Rubin y Barfield 1983, Meisel 1987), área preóptica media (Hoshina 1994, Kato 2000). Ya que se ha mostrado la existencia de receptores de estrógeno RE $\alpha$  y RE $\beta$ , tanto

en células del área preóptica media como en el hipotálamo ventromedial en ratas que expresan CL (Hoshina 1994, Pfaus 1999, Kato 2000, Pfaff 2000, Rhodes 2006). Además, estudios de inmunocitoquímica evidencian la existencia de receptores de estrógenos en la sustancia gris mesencefálica, área tegmental central gris lateral y ventral, áreas neurales también involucradas en la regulación de la CL (Turcotte y Blaustein 1993), así, trabajos de electrofisiología muestran que la estimulación de la sustancia gris mesencefálica y el área tegmental adyacente facilitan la CL contrario a lo anterior, la lesión en esas áreas produce decremento en las respuestas receptivas en ratas (Sakuma y Pfaff 1979). Por otra parte, se ha descrito que el RE $\alpha$  es crítico para la expresión de receptividad (lordosis), por ejemplo, en estudios utilizando ratones deficientes de RE $\alpha$ , el reflejo de la lordosis fue erradicado, mientras que en estudios con ratones deficientes de RE $\beta$ , la receptividad se mantiene con algún cambio sutil, indicando que el RE $\alpha$  es crucial para la expresión de la CL (Ogawa y cols. 1998, Rissman y cols. 1999, Kudwa y cols. 2003). Otros estudios sugieren que el RE $\beta$  modula la acción del RE $\alpha$  sobre el pretratamiento de la CL, esto se ha observado en ratas tratadas con el agonista selectivo del RE $\alpha$ , el PPT, seguido de la administración de P, las cuales muestran clara receptividad, mientras que, las tratadas con el agonista del RE $\beta$  no muestran receptividad, sin embargo, al combinar ambos agonistas, existe un decremento de la receptividad, por lo que este estudio sugiere que el RE $\beta$  modula la actividad del RE $\alpha$  (Mazzuco 2008). Además, existen otros trabajos *in vitro* (Paruthiyil 2004, Sotoca, 2008) donde han observado que cuando en la misma célula son coexpresados dichos receptores, el RE $\beta$  puede antagonizar la transcripción dependiente de RE $\alpha$  (Matthews, 2003). Por lo cual la expresión de RE $\beta$  incrementa la degradación de RE $\alpha$  (Matthews 2006). Sin embargo, el papel fisiológico del RE $\beta$  en muchos tejidos está todavía en debate.

Si bien los mecanismos de acción de los RE $\alpha$ , RE $\beta$  y GPR30, involucrados en la activación de la CL no han sido bien esclarecidos, las evidencias antes mencionadas sugieren que las vías de señalización de proteínas cinasas como MAPK, Src, PKA inducidas por la activación de los receptores de estrógenos podrían estar participando en la regulación de dicha conducta, puesto que la administración de los agonistas selectivos para cada receptor indujo CL a ratas previamente tratadas con estrógenos en al menos dos tiempos de observación y con todas las dosis probadas, sugiriendo la participación del mecanismo membranal, sin embargo no se descarta el mecanismo genómico, ya que algunos resultados

muestran incremento de la CL en la última prueba conductual (240 minutos) no observada en las primeras dos. Estudios muestran que ese tiempo es suficiente para la realización de síntesis de proteínas (Achenbach y Nierhaus 2014).

Cabe mencionar que las vías de señalización intracelular (PKC, PKA, MAPK Src) involucradas en la regulación de algunas funciones de los RE $\alpha$ , RE $\beta$  y GPR30, interesantemente son las mismas que se requieren en la activación de la CSF inducida por diversos compuestos, en la rata pretratadas con estrógenos. Con base en lo anterior proponemos que la receptividad inducida por los agonistas de los receptores de estrógenos RE $\alpha$ , RE $\beta$  y del GPR30 está regulada por la activación de una o varias de estas vías de señalización (PKA, PKC, MAPK, Src). Sin embargo, la señalización del estrógeno a través de sus receptores encontrados en la membrana, tanto como en el núcleo sobre la acción del estradiol en circuitos neurales que regulan la receptividad sexual es demasiado compleja y requiere más exploración.

## **9. CONCLUSIONES**

Los resultados del presente trabajo sugieren que la receptividad inducida por el estradiol en la rata tratada con benzoato de estradiol, es a través de los receptores de estrógenos RE $\alpha$ , RE $\beta$  y GPR30, ya que la administración de los agonistas selectivos de cada receptor, PPT, DPN y G-1, respectivamente, en el ventrículo lateral derecho causó incremento en el cociente de lordosis. Para reafirmar la participación de los RE $\alpha$  y RE $\beta$ , al administrar los antagonistas de dichos receptores hubo reducción en el CL inducido por E<sub>2</sub>. Además, se propone que la receptividad inducida por el estradiol es activada por un mecanismo membranal, por el tiempo tan corto en que la CL se presenta (30 minutos) y se piensa que probablemente están involucradas algunas vías de señalización de cinasas (PKA, MAPK y Src) ya que en otros modelos se ha demostrado la participación de estas cinasas.

## **10. PERSPECTIVAS**

Se pretende realizar a futuro experimentos con el uso de inhibidores de las proteínas cinasas PKA, PKC, MAPK y Src para explorar la participación del mecanismo membranal.

Otro trabajo experimental podría ser con el uso de inhibidores de la síntesis de proteínas seguido de la administración de los agonistas de los RE $\alpha$ , RE $\beta$  y GPR30, para explorar la participación del mecanismo genómico.

## 11. REFERENCIAS

1. Acevedo ML y Kraus WL. 2004. Transcriptional activation by nuclear receptors. *Essays Biochem* 40: 73-88.
2. Achenbach J y Nierhaus KH. 2014. The mechanics of ribosomal translocation. *Biochimie* 14: 376-385.
3. Ahmad S, Singh N y Glazer R. 1999. Role of Akt1 in  $17\beta$ -estradiol and insulinlike growth factor I (IGF-1)-dependent proliferation and prevention of apoptosis in MCF-7 breast carcinoma cells. *Biochem Pharmacol* 58: 425-430.
4. Amin Z, Canli T y Epperson CN. 2005. Effect of estrogen-serotonin interactions on mood and cognition. *Behav Cogn Neurosci Rev* 4: 43-58.
5. Anbalagan M, Huderson B, Murphy L y Rowan BG. 2012. Post-translational modifications of nuclear receptors and human disease. *Nucl Recept Signal* 10: 001.
6. Anchan DD, Gafur A, Sano K, Ogawa S y Vasudevan N. 2014. Activation of the GPR30 receptor promotes lordosis in female mice. *Neuroendocrinology* 100: 71-80.
7. Apostolakis EM y Lanz R. 2004. Pituitary adenylate cyclase-activating peptide: A pivotal modulator of steroid-induced reproductive behavior in female rodents. *Mol Endocrinol* 18: 173-183.
8. Aronica S, Kraus WL y Katzenellenbogen B. 1994. Estrogen action via the cAMP signaling pathway: Stimulation of adenylate cyclase and cAMP-regulated gene transcription. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 8517-8521.
9. Arteaga-Lopez PR, Dominguez R, Cerbon MA, Mendoza-Rodríguez CA y Cruz, M. E. 2003. Differential mRNA expression of Alpha and Beta estrogen receptor isoforms and GnRH in the left and right side of the preoptic and anterior hypothalamic area during the estrous cycle of the rat. *Endocrinology* 21: 251-260.
10. Azcoitia I, Yague JG y Garcia-Segura LM. 2011. Estradiol synthesis within the human brain. *Neuroscience* 191:139-147
11. Bagchi MK, Ellisto JF, Tsai SY y O'Malley B W. 1991. Progesterone enhances target gene transcription by receptor free of heat shock protein hsp90, hsp56 and hsp70. *Mol Cell Biol* 11: 4998-5004.

12. Baquedano MS, Saraco N, Berensztein E, Pepe C y Bianchini M. 2007. Identification and developmental changes of aromatase and estrogen receptor expression in prepubertal and pubertal human adrenal tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 2215-2222.
13. Barkhem T, Carlsson B, Nilsson Y, Enmark E, Gustafsson J y Nilsson S. 1998. Differential response of estrogen receptor Alpha and estrogen receptor Beta to partial estrogen agonists/antagonists. *Mol Pharmacol* 54: 105-112.
14. Beach FA. 1942. Importance of progesterone to induction of sexual receptivity in spayed female rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 51: 369-371.
15. Beach FA. 1976. Sexual attractivity, proceptivity and receptivity in female mammals. *Horm Behav* 2: 105-138.
16. Beato M y Sánchez-Pacheco A. 1996. Interaction of steroid hormone receptor with the transcription initiation complex. *Endocrinology* 17: 587-609.
17. Berridge MJ. 1993. A tale of two messengers. *Nature* 365: 388-389.
18. Beyer C y González-Mariscal G. 1991. Effects of progesterone and natural progestins in brain: En *Reproduction, Growth and Development*. Negro Vilar A y Pérez-Palacios G (eds.) Editorial Raven Press, New York. pp. 199-208.
19. 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. *Physiol Behav* 58: 985-993.
20. Beyer C, González-Flores O y González-Mariscal G. 1997. Progesterone receptor participates in the stimulatory effect of LHRH, prostaglandin E<sub>2</sub> and cyclic AMP on lordosis and proceptive behavior in rats. *J Neuroendocrinol* 9: 609-614.
21. Beyer C, González-Mariscal G, Eguibar JR y Gomora P. 1988. Lordosis facilitation in estrogen primed rats by intrabrain injection of pregnanes. *Pharmacol Biochem Behav* 31: 919-926.
22. Beyer C, Gonzalez-Mariscal G, Eguibar JR y Gómora P. 1989. Lordosis facilitation in estrogen-primed rats by intrabrain injection of pregnanes. *Pharmacol Biochem Behav* 31: 919-926.
23. Beyer C, Moralí G, Larsson K y Söderstein P. 1976. Steroid regulation of sexual behavior. *J Steroid Biochem* 7: 1171-1176.

24. Beyer C. 1980. A model for explaining estrogen progesterone interactions in induction of lordosis behavior. *Endocrinology* 5: 15-23.
25. Beyer C y Canchola E. 1981 (a). Facilitation of progesterone induced lordosis behavior by phosphodiesterase inhibitors in estrogen primed rats. *Physiol Behav* 27: 731-733.
26. Beyer C y Canchola E. 1981 (b). Facilitation of lordosis behavior in the ovariectomized estrogen primed rat by dibutyryl cAMP. *Physiol Behav* 26: 249-251.
27. 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. *Ann NY Acad Sci* 474: 270-281.
28. Blaustein JD y Feder HH. 1979. Cytoplasmic progestin receptors in guinea pig brain: characteristics and relationship to the induction of sexual behavior. *Brain Res* 169: 481-497.
29. Blaustein JD. 1982. Progesterone in high doses may overcome progesterone's desensitization effect on lordosis by translocation of hypothalamic progestin receptors. *Horm Behav* 16: 175-190.
30. Boling JL y Blandau R. 1939. The estrogen-progesterone induction of mating responses in the spayed female rats. *Endocrinology* 25: 359-364.
31. Boulware MI, Weick JP, Becklund BR, Kuo SP, Groth RD y Mermelstein PG. 2005. Estradiol activates group I and II metabotropic glutamate receptor signaling, leading to opposing influences on cAMP response element-binding protein. *J Neurosci* 25: 5066-5078.
32. Brann DW, Dhandapani K, Wakade C, Mahesh, Micevich P y Khal MM. 2007. Neurotropic and neuroprotective actions of estrogen: Basics mechanisms and clinical implications. *Steroids* 72: 381-405.
33. Brown TJ y Clark AS. 1987. Regional sex differences in progestin receptor induction in the rat hypophysalamus: effects of various doses of estradiol benzoate. *J Neurosci* 7: 2529-2536.
34. Brzozowski AM, Pike AC, Dauter Z, Hubbard ER, Bonn T, Engstrom O, Ohman L, Greene GL, Gustafsson JA y Carlquist M. 1997. Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor. *Nature* 389: 753-758.

35. Butcher RL y Collins WF. 1974. Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17 $\beta$  throughout the 4-day cycle of the rat. *Endocrinology* 94: 1704-1708.
36. Buteau-Lozano H, Ancelin M, Lardeux B, Milanini J y Perrot-Applanat M. 2002. Transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor by estradiol and tamoxifen in breast cancer cells: A complex interplay between estrogen receptors Alpha and Beta. *Cancer Res* 62:4977-4984.
37. Caldwell JD, Prange AJ y Pedersen CA. 1986. Oxytocin facilitates the sexual receptivity of estrogen-treated female rats. *Neuropeptides* 7: 175-189.
38. Camacho-Arroyo I, Guerra-Araiza C y Cerbón MA. 1998. Progesterone receptor isoforms are differentially regulated by sex steroids in the rat forebrain. *Neuroreport* 9: 3993-3996.
39. Cenni B y Picard D. 1999. Ligand-independent activation of steroid receptors: New roles for old players. *Trends Endocrinol Metab* 10: 41-46.
40. Chaban VV, Lakhter AJ y Micevych P. 2004. A membrane estrogen receptor mediates intracellular calcium release in astrocytes. *Endocrinology* 145: 3788-3795.
41. Chu HP y Etgen AM. 1997. A potential role of cyclic GMP in the regulation of lordosis behavior of female rats. *Horm Behav* 32: 125-132.
42. Chu HP, Morales JC y Etgen AM. 1999. Cyclic GMP may potentiate lordosis behavior by progesterone receptor activation. *J Neuroendocrinology* 11: 107-113.
43. Clements LG y Weaver DR. 1985. The role of gonadal hormones in the activation of female sexual behavior. En: *Handbook of Behavioral Neuroendocrinology*. Adler N, Pfaff D, Goy RW (eds.) Editorial. New York and London. pp. 7.
44. Clinckemalie L, Vanderschueren D, Boonen S y Claessens F. 2012. The hinge region in androgen receptor control. *Mol. Cell Endocrinol* 358: 1-8.
45. Conneely OM, Kettelberger DM, Tsai MJ, Schrader WT y O'Malley BW. 1989. The chicken progesterone receptor A and B isoforms are products of an alternate translation initiation event. *J Biol Chem* 264: 14062-14064.
46. Couse JF y Korach KS. 1999. Estrogen receptor null mice: What have we learned and where will they lead us. *Endocrinology* 20: 358-417.

47. Dennis MK, Burai R, Ramesh C, Petrie WK, Sara NA, Nayak TK, Cristian GB, Andrei L, Eugen B, Elena D, Nae JD, Larry AS, Helen JH, Jeffrey BA, Tudor IO y Prossnitz RE. 2009. In vivo effects of a GPR30 antagonist. *Nat Chem Biol* 5: 421-427.
48. [Dennis MK](#), [Burai R](#), [Ramesh C](#), [Petrie WK](#), [Alcon SN](#), [Nayak TK](#), [Bologa CG](#), [Leitao A](#), [Brailoiu E](#), [Deliu E](#), [Dun NJ](#), [Sklar LA](#), [Hathaway HJ](#), [Arterburn JB](#), [Oprea TI](#) y [Prossnitz RE](#). 2009. In vivo effects of a GPR30 antagonist. [Nat Chem Biol](#) 6: 421-427.
49. Deschamps AM, Murphy E y Sun J. 2010. Estrogen receptor activation and cardioprotection in ischemia reperfusion injury. *Trends Cardiovasc Med* 20: 73-78.
50. Dey FL, Lenninger CR y Ranson SW. 1942. The effects of hypothalamic lesions on mating behavior in female guinea pigs. *Endocrinology* 30: 323-326.
51. Dorling AA, Todman MG, Korach KS y Herbison AE. 2003. Critical role for estrogen receptor alpha in negative feedback regulation of gonadotropin-releasing hormone mRNA expression in the female mouse. *Neuroendocrinology* 78: 204-209.
52. Duan R, Xie W, Burghardt RC y Safe S. 2001. Estrogen receptor-mediated activation of the serum response element in MCF-7 cells through MAPK-dependent phosphorylation of Elk-1. *J Biol Chem* 276: 11590-98.
53. Duan R, Xie W, Li X, McDougal A y Safe S. 2002. Estrogen regulation of C-Fos gene expression through phosphatidylinositol-3-Kinase-dependent activation of serum response factor in MCF-7 breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 294: 384-394.
54. Dufy B, Vincent J, Fleury H, Du Pasquier P, Gourdjji D y Tixier-Vidal A. 1979. Membrane effects of thyrotropin-releasing hormone and estrogen shown by intracellular recording from pituitary cells. *Science* 204: 509-511.
55. Dupont S, Krust A, Gansmuller A, Dierich A, Chambon P y Mark M. 2000. Effect of single and compound knockouts of estrogen receptors A (ER $\alpha$ ) and B (ER $\beta$ ) on mouse reproductive phenotypes. *Development* 127: 4277-4291.
56. Edwards DA, Whalen RE y Walder RD. 1968. Induction of estrous: estrogen-progesterone interactions. *Physiol Behav* 3: 29-33.
57. Endoh H, Sasaki H, Maruyama K, Takeyama K, Waga I, Shimizu T, Kato S y Kawashima H. 1997. Rapid activation of MAP kinase by estrogen in the bone cell line. *Biochem Biophys Res Commun* 235: 99-102.

58. Enmark E, Pelto-Huikko M, Grandien K, Lagercrantz S, Lagercrantz J, Fried G, Nordenskjöld M y Gustafsson JA. 1997. Human estrogen receptor B-Gene structure, chromosomal localization, and expression pattern. *J Clin Endocrinol Metab* 82: 4258-4265.
59. Erskine MS. 1989. Solicitation behavior in the estrous female rat: a review. *Horm Behav* 23: 473-502.
60. Etgen AM, Chu HP, Fiber JM, Karkanas GB y Morales JM. 1999. Hormonal integration of neurochemical and sensory signals governing female reproductive behavior. *Behav Brain Res* 105: 93-103.
61. Etgen AM. 1984. Progestin receptor and the activation of female reproductive behavior: a critical review. *Horm Behav* 18: 411-430.
62. Etgen AM. 2002. Estrogen regulation of neurotransmitter and growth factor signaling in the brain. En: *Hormones, Brain and Behavior*. Pfaff DW, Arnold AP, Etgen AM, Fahrbach SE y Rubin RT. (eds.) Editorial. Academic Press. San Diego CA. pp. 59-70.
63. Feder HH y Marrone BL. 1977. Progesterone: Its role in the central nervous system as a facilitator and inhibitor of sexual behavior and gonadotropin release. *Ann NY Acad Sci* 286: 331-354.
64. Fernández-Guasti A y Rodríguez-Manzo G. 1983. Effect of guanine derivatives on lordosis behavior in estrogen primed rats. *Physiol Behav* 31: 589-592.
65. Filardo EJ y Thomas P. 2005. GPR30: A seven-transmembrane-spanning estrogen receptor that triggers EGF release. *Trends Endocrinol Metab* 16: 362-367.
66. Filardo EJ, Quinn JA, Bland KI y Frackelton Jr AR. 2000. Estrogen-induced activation of Erk-1 and Erk-2 requires the G protein-coupled receptor homolog, GPR30, and occurs via trans-activation of the epidermal growth factor receptor through release of HB-EGF. *Mol Endocrinol* 14: 1649-1660.
67. Fitzpatrick J, Mize A, Wade C, Harris J, Shapiro R, Dorsa D. 2002. Estrogen mediated neuroprotection against amyloid toxicity requires expression of estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  and activation of the MAPK pathway. *J Neurochem* 82: 674-682.
68. Forger NG. 2006. Cell death and sexual differentiation of the nervous system. *Neuroscience* 138: 929-38.

69. Foy MR, Xu J, Xie X, Brinton RD, Thompson RF y Berger TW. 1999. 17beta-Estradiol Enhances Nmda Receptor-Mediated Epsps And Long-Term Potentiation. *J Neurophysiol* 81: 925-929.
70. Franck JA y Ward IL. 1981. Intralimbic progesterone and methysergide facilitate lordotic behavior in estrogen-primed female rats. *Neuroendocrinology* 32: 50-56.
71. Frasar J, Danes JM, Komm B, Chang KC, Lyttle CR y Katzenellenbogen BS. 2003. Profiling of estrogen upand down-regulated gene expression in human breast cancer cells: Insights into gene networks and pathways underlying estrogenic control of proliferation and cell phenotype. *Endocrinology* 144: 4562-4574.
72. Freeman ME. 1994. The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En: *The Physiology of Reproduction*. Knobil E y Neil JD. (eds.) Editorial. New York, Raven. pp. 45-55.
73. Frye CA y Walf AA. 2007. In the ventral tegmental area, the membrane-mediated actions of progestins for lordosis of hormone-primed hamsters involve phospholipase C and protein kinase C. *J Neuroendocrinol* 19: 717-724.
74. Funakoshi T, Yanai A, Shinoda K, Kawano MM y Mizukami Y. 2006. G protein-coupled receptor 30 is an estrogen receptor in the plasma membrane. *Biochem Biophys Res Commun* 346: 904-910.
75. García-Juárez M, Beyer C, Soto-Sánchez A, Domínguez-Ordoñez R, Gómora-Arrati P, Lima-Hernández FJ, Eguibar JR, Etgen AM y González-Flores O. 2011. Leptin facilitates lordosis behavior through GnRH-1 and progestin receptors in estrogen-primed rats. *Neuropeptides* 45: 63-67.
76. Georgescu M, Sabongui C, Del Corpo A, Marsan L y Pfaus JG. 2009. Vaginal stimulation induces Fos in glutamate neurons in the ventromedial hypothalamus: attenuation by estrogen and progesterone. *Horm Behav* 56: 450-456.
77. González-Flores O y Camacho FJ. 2004. Progestins and place preference conditioning after paced mating. *Horm Behav* 46: 151-157.
78. González-Flores O, Beyer C, Gómora-Arrati P., García-Juárez M, Lima-Hernández FJ, Soto-Sánchez A y Etgen AM. 2010. A role for Src kinase in progestin facilitation of estrous behavior in estradiol-primed female rats. *Horm Behav* 58: 223-229.

79. González-Flores O, Ramírez-Orduña JM, Lima-Hernández FJ, García-Juárez M y Beyer C. 2006. Differential effect of kinase A and C blockers on lordosis facilitation by progesterone and its metabolites in ovariectomized estrogen-primed rats. *Horm Behav* 49: 398-404.
80. González-Mariscal G, González-Flores O y Beyer C. 1989. Intrahypothalamic injection of RU486 antagonizes the lordosis induced by ring A-reduced progestins. *Physiol Behav* 46: 435-438.
81. Grandien K, Berkenstam A, Gustafsson JA. 1997. [The estrogen receptor gene: promoter organization and expression](#). *Int J Biochem Cell Biol* 12: 1343-1369.
82. Gréco B, Allegretto EA, Tetel MJ y Blaustein JD. 2001. Coexpression of ER Beta with ER Alpha and progestin receptor proteins in the female rat forebrain: effects of estradiol treatment. *Endocrinology* 142: 5172-5181.
83. Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C y Huber JC. 2002. Production and actions of estrogens. *N Engl J Med* 346: 340-352.
84. Guerra-Araiza C, Villamar-Cruz O, Gonzalez-Arenas A, Chavira R y Camacho-Arroyo I. 2003. Changes in progesterone receptor isoforms content in the rat brain during the oestrous cycle and after oestradiol and progesterone treatments. *J Neuroendocrinol* 15: 984-990.
85. Gustafsson JA. 2003. What pharmacologists can learn from recent advances in estrogen signalling. *Trends Pharmacol Sci* 24: 479-485.
86. Hall JM, Couse JF y Korach KS. 2001. The multifaceted mechanisms of estradiol and estrogen receptor signaling. *J Biol Chem* 276: 36869-368672.
87. Hall NR y Luttge WG. 1977. Diencephalic sites responsive to prostaglandin E2 facilitation of sexual receptivity in estrogen-primed ovariectomized rats. *Brain Res Bull* 2: 203-207.
88. Handa RJ, Mani SK y Uht RM. 2012. Estrogen receptors and the regulation of neural stress responses. *Neuroendocrinology* 96: 111-118.
89. Hardy DF y De Bold JF. 1972. Effects of coital stimulation upon behavior of the female rat. *Comp Physiol Psychol* 78: 400-408.
90. Harlan RE y Pfaff DW. 1983. Midbrain microinfusions of prolactin increase the estrogen-dependent behavior lordosis. *Science* 219: 1451-1453.

91. Harris HA. 2007. Estrogen Receptor-Beta: Recent Lessons From In Vivo Studies. *Mol Endocrinol* 21: 1-13.
92. Harris HA, Katzenellenbogen JA y Katzenellenbogen BS. 2002. [Characterization of the biological roles of the estrogen receptors, ER Alpha and ER Beta, in estrogen target tissues in vivo through the use of an ER Alpha-selective ligand.](#) *Endocrinology* 143: 4172-4177.
93. Haynes MP, Li L, Sinha D, Russell K, Hisamoto K, Baron R, Collinge M, Sessa W y Bender JR. 2003. Src kinase mediates phosphatidylinositol 3-kinase/ Akt-dependent rapid endothelial nitric-oxide synthase activation by estrogen. *J Biol Chem* 278: 2118-2123.
94. Heape W. 1900. The sexual season of mammals and relation of the proestrous to menstruation. *Q J Micr Sci* 44: 1-70.
95. Helsen C, Kerkhofs S, Clinckemalie L, Spans L, Laurent M, Boonen S, Vanderschueren D y Claessens F. 2012. Structural basis for nuclear hormone receptor DNA binding. *Mol Cell Endocrinol* 348: 411-417.
96. Herbison AE y Pape JR. 2001. New evidence for estrogen receptors in gonadotropin-releasing hormone neurons. *Front Neuroendocrinol* 22: 292-308.
97. [Hernández-Fonseca K](#), [Massieu L](#), [García de la Cadena S](#), [Guzmán C](#) y [Camacho-Arroyo I](#). 2012. Neuroprotective role of estradiol against neuronal death induced by glucose deprivation in cultured rat hippocampal neurons. *Neuroendocrinology* 96:41-50.
98. Hertz R, Meyer RK y Spielman MA. 1937. The specificity of progesterone in inducing sexual receptivity in the ovariectomized guinea pig. *Endocrinology* 21: 533-535.
99. Hewitt SC, Harrell JC y Korach KS. 2005. Lessons in estrogen biology from knockout and transgenic animals. *Annu Rev Physiol* 67: 285-308.
100. Horwitz KB y Alexander PS. 1983. In situ photolinked nuclear progesterone receptor of human breast cancer cells: subunit molecular weights after transformation and traslocation. *Endocrinology* 113: 2195-2201.
101. Hoshina Y, Takeo T, Nakano K, Sato T y Sakuma Y. 1994. Axon-sparing lesion of the preoptic area enhances receptivity and diminishes proceptivity among components of female rat sexual behavior. *Behav Brain Res* 61: 197-204.

102. Ichicawa S, Sawada T, Nakamura Y y Morioka H. 1974. Ovarian secretion of pregnane compounds during the estrous cycle and pregnancy in rat. *Endocrinology* 94: 1615-1620.
103. Isensee J, Meoli L, Zazzu V, Nabzdyk C, Witt H, Soewarto D, Effertz K, Fuchs H, Gailus-Durner V, Busch D, Adler T, Hrabe de Angelis MH, Irgang M, Otto C y Noppinger PR. 2009. Expression pattern of G protein-coupled receptor 30 in LacZ reporter mice. *Endocrinology* 150: 1722-1730.
104. Jensen EV, Susuki T, Stumpf WE, Jungbut P y DeSombre ER. 1968. A two-step mechanism for three interaction of estradiol with that rat uterus. *Biochemistry* 59: 632-638.
105. Jensen Ev. 1962. On the mechanism of estrogen action. *Perspect Biol Med* 6: 47-54.
106. Jordan VC. 1995. Alternate antiestrogens and approaches to the prevention of breast cancer. *J Cell Biochem Suppl* 22: 51-57.
107. Kastner P, Krast A, Turcotte B. 1990. Two distinct estrogen-regulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptor forms A and B. *Embo J* 9: 1603-1614.
108. Kato A y Sakuma Y. 2000. Neuronal activity in female rat preoptic area associated with Sexually Motivated Behavior. *Brain Res* 862: 90-102.
109. Kato J. Onouchi T y Okinaga S. 1978. Hypotalamic and hyphophysial progesterone receptors: estrogen-primig effect, diferencial localization,  $5\alpha$ -dihydroprogesterone binding and nuclear receptor. *J Steroid Biochem* 9: 419-427.
110. Kelly MJ y Rønnekleiv OK. 2008. Membrane-initiated estrogen signaling in hypothalamic neurons. *Mol Cell Endocrinol* 290: 14-23.
111. Kelly MJ, Moss RL y Dudley CA. 1976. Differential sensitivity of preoptic-septal neurons to microelectrophoresed estrogen during the estrous cycle. *Brain Res* 114: 152-157.
112. Kelly MJ, Moss RL, Dudley CA y Fawcett CP. 1977. The specificity of the response of preoptic-septal area neurons to estrogen:  $17\beta$ -estradiol versus  $17\alpha$ -estradiol and the response of extrahypothalamic neurons. *Exp Brain Res* 30: 43-52.
113. Kelly MJ, Qiu J y Rønnekleiv OK. 2005. Estrogen signaling in the hypothalamus. *Vitam Horm* 71:123-145.
114. Kelly MJ, Rønnekleiv OK y Eskay RL. 1984. Identification of estrogen-responsive LHRH neurons in the guinea pig hypothalamus. *Brain Res Bull* 12: 399-407.

115. Kipp M, Karakaya S, Pawlak J, Araujo-Wright G, Arnold S y Beyer C. 2006. Estrogen and the development and protection of nigrostriatal dopaminergic neurons: concerted action of a multitude of signals, protective molecules, and growth factors. *F neuroendocrinol* 27: 376-390.
116. Koehler KF, Helguero LA, Haldosen LA, Warner MA y Gustafsson JA. 2005. Reflections on discovery and significance of estrogen receptor Beta. *Endocr Rev* 26: 465-478.
117. Koide A, Zhao C y Naganuma M. 2007. Identification of regions within the F domain of the human estrogen receptor alpha that are important for modulating transactivation and protein-protein interactions. *Mol Endocrinol* 21: 829-842.
118. Kousteni S, Bellido T, Plotkin LI, O'Brien CA, Bodenner DL, Han L, Han K, DiGregorio GB, Katzenellenbogen JA, Katzenellenbogen BS, Roberson PK, Weinstein RS, Jilka RL y Manolagas SC. 2001. Nongenotropic, sex-nonspecific signaling through the estrogen and androgen receptors: dissociation from transcriptional activity. *Cell* 104: 719.
119. Kow LM, Mobbs CV y Pfaff DW. 1994. Roles of second-messenger systems and neuronal activity in the regulation of lordosis by neurotransmitters, neuropeptides, and estrogen: a review. *Neurosci Biobehav Rev* 18: 251-268.
120. Kraichely DM, Sun J, Katzenellenbogen JA y Katzenellenbogen BS. 2000. [Conformational changes and coactivator recruitment by novel ligands for estrogen receptor-alpha and estrogen receptor-beta: correlations with biological character and distinct differences among SRC coactivator family members.](#) *Endocrinology* 14: 3534-3545.
121. Krege JH, Hodgin JB, Couse JF, Enmark E y Warner M. 1998. Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor-B. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 15677-15682.
122. Kubli-Garfias C y Whalen RE. 1977. Induction of lordosis behavior in female rats by intravenous administration of progestins. *Horm Behav* 9: 380-386.
123. Kudwa AE y Rissman EF. 2003. Double oestrogen receptor Alpha and Beta knockout mice reveal differences in neural oestrogen-mediated progestin receptor induction and female sexual behavior. *J Neuroendocrinol* 15: 978-983.

124. Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Haggblad J, Nilsson S, Gustafsson JA. 1997. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology* 138: 863-870.
125. Kumar R, Zakharov MN, Khan SH, Miki R, Jang H, Toraldo G, Singh R, Bhasin S y Jasuja R. 2011. The dynamic structure of the estrogen receptor. *J Amino Acids* 10: 4061.
126. Kumar R, Zakharov MN, Khan SH, Miki R, Jang H, Toraldo G, Singh R, Bhasin S y Jasuja R. 2011. The Dynamic Structure of the Estrogen Receptor. *J Amino Acids* 10: 4061-4068.
127. Kuo JF y Greengard P. 1969. An adenosine 3', 5'-monophosphate-dependent protein kinase from *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 244: 3417-3419.
128. Kuroki Y, Fukushima K, Kanda Y, Mizuno K y Wantanabe Y. 2000. Putative membrane-bound estrogen receptors possibly stimulate mitogen-activated protein kinase in the rat hippocampus. *Eur J Pharmacol* 400: 205-209.
129. Lagrange AH, Rønnekleiv OK y Kelly MJ. 1995. Estradiol- 17beta and mu-opioid peptides rapidly hyperpolarize GnRH neurons: a cellular mechanism of negative feedback. *Endocrinology* 136: 2341-2344.
130. Leavitt WW y Bosley CG. 1971. Source of ovarian preovulatory progesterone. *Nature* 234: 283-284.
131. Lebesgue D , Reyna-Neyra A , Huang X y Etgen AM. 2009. GPR30 differentially regulates short latency responses of luteinising hormone and prolactin secretion to oestradiol. *J Neuroendocrinol* 21: 743-752.
132. Leonhardt SA, Boonyaratanakornkit V y Edwards DP. 2003. Progesterone receptor transcription and non-transcription signaling mechanisms. *Steroids* 68: 761-770.
133. Levin ER. 2008. Rapid signaling by steroid receptors. *AmJ Physiol Regul Integr Comp Physiol* 295: 1425-1430.
134. Li YR, Ren CE, Zhang Q, Li JC y Chian RC. 2013. [Expression of G protein estrogen receptor \(GPER\) on membrane of mouse oocytes during maturation.](#) *J Assist Reprod Genet* 30: 227-232.
135. Lima-Hernández FJ, Beyer C, Gómora-Arrati P, García-Juárez M, Encarnación-Sánchez JL, Etgen AM, González-Flores O. 2012. [Src kinase signaling mediates](#)

[estrous behavior induced by 5 \$\beta\$ -reduced progestins, GnRH, prostaglandin E2 and vaginocervical stimulation in estrogen-primed rats.](#) *Horm Behav.* 62: 579-84

136. Lobenhofer E, Huper G, Iglehart JD y Marks JR. 2000. Inhibition of mitogenactivated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase activity in MCF-7 cells prevents estrogen-induced mitogenesis. *Cell Growth Differ* 11: 99-110.

137. Longo M, Brama M, Marino M, Bernardini S, Korach KS, Wetsel WC, Scandurra R, Faraggiana T, Spera G, Baron R, Teti A y Migliaccio S. 2004. Interaction of estrogen receptor with protein kinase C and c-Src in osteoblasts during differentiation. *Bone* 34: 100-111.

138. Losel R y Wehling M. 2003. Nongenomic actions of steroid hormones. *Nat Rev Mol Cell Biol* 4: 46-56.

139. Lubahn DB, Moyer JS, Golding TS, Couse JF, Korach KS y Smithies O. 1993. Alteration of reproductive function but not prenatal sexual development after insertional disruption of the mouse estrogen receptor gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 11162-11166.

140. Luine VN. 1985. Estradiol increases choline acetyltransferase activity in specific basal forebrain nuclei and projection areas in female rats. *Exp Neurol* 89: 484-490.

141. MacLusky MJ y McEwen BS. 1978. Oestrogen modulates progesterone receptor concentrations in some rat brain regions but not in others. *Nature* 274: 276-278.

142. Madlafousek J y Hlinàk Z. 1978. Sexual behavior of the female laboratory rat: inventory, patterning and measurement. *Behavior* 63: 129-173.

143. Malsbury CW, Pfaff DW y Malsbury AM. 1981. Suppression of sexual receptivity in female hamsters: Neuroanatomical projections from preoptic and anterior hypothalamic sites. *Brain Res* 181: 267-284.

144. Mani S y Fienberg AA. 2000. Requirement for DARPP-32 in progesterone - facilitated sexual receptivity in female rats and mice. *Science* 287: 1053-1056.

145. Mani S y Portillo W. 2010. Activation of progestin receptors in female reproductive behavior: Interactions with neurotransmitters. *Front Neuroendocrinol* 31: 157-171.

146. Martensson UE, Salehi SA, Windahl S, Gomez MF, Sward K, Daszkiewicz- Nilsson J, Wendt A, Andersson N, Hellstrand P, Grande PO, Owman C, Rosen CJ, Adamo ML, Lundquist I, Rorsman P, Nilsson BO, Ohlsson C, Olde B y Leeb-Lundberg LM. 2009. Deletion of the G protein-coupled receptor 30 impairs glucose tolerance, reduces bone

growth, increases blood pressure, and eliminates estradiol-stimulated insulin release in female mice. *Endocrinology* 150: 687-692.

147. Matthews J y Gustafsson JA. 2003. Estrogen signaling: A subtle balance between ER Alpha and ER Beta. *Mol Intervent* 3: 281-292.

148. Mazzucco [CA](#), [Walker HA](#), [Pawluski JL](#), [Lieblich SE](#) y [Galea LA](#). 2008. ERalpha, but not ERbeta, mediates the expression of sexual behavior in the female rat. [Behav Brain Res](#) 191: 111-117.

149. McEwen BS y Alves SE. 1999. Estrogen actions in the central nervous system. *Endocrinol Rev* 20: 279-307.

150. McGinnis MY, Nance DM y Gorski RA. 1978. Olfactory, septal and amygdala lesions alone or in combination: effects on lordosis behavior and emotionality. *Physiol Behav* 20, 435-440.

151. McInerney EM y Katzenellenbogen BS. 1996. Different regions in activation function-1 of the human estrogen receptor required for antiestrogen- and estradiol dependent transcription activation. *J Biol Chem* 271: 24172-24178.

152. Meisel RI, Dohanich GP, McEwen BS y Pfaff DW. 1987. Antagonism of sexual behavior in female rats by ventromedial hypothalamic implants of antiestrogen. *Neuroendocrinology* 45: 201-207.

153. Mermelstein P y Micevych P. 2008. Nervous System Physiology Regulated by Membrane Estrogen Receptors. *Rev Neurosci* 19: 413-424.

154. Mermelstein P, Becker J y Surmeier DJ. 1996. Estradiol reduced calcium currents in rat neostriatal neurons via a membrane receptor. *J Neuroscience* 16: 595-604.

155. Meyers [MJ](#), [Sun J](#), [Carlson KE](#), [Marriner GA](#), [Katzenellenbogen BS](#) y [Katzenellenbogen JA](#). 2001. Estrogen receptor-beta potency-selective ligands: structure-activity relationship studies of diarylpropionitriles and their acetylene and polar analogues. [J Med Chem](#) 44: 4230-4351.

156. Mhyre AJ y Dorsa DM. 2006. Estrogen activates rapid signaling in the brain, role of estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta in neurons and glia. *Neuroscience* 138: 851-858.

157. Micevich P, Kuo J y Christensen A. 2009. Physiology of membrane oestrogen receptor signaling in reproduction. *J Endocrinol* 21: 249-256.

158. Micevich P, Rissman EF, Gustafsson JA y Sinchak K. 2003. Estrogen receptor - Alpha is required for estrogen-induced Mu- opioid receptor internalization. *J Neurosci Res* 71: 802-810.
159. [Micevych PE](#) y [Kelly MJ](#). 2012. Membrane estrogen receptor regulation of hypothalamic function. *Neuroendocrinology* 96: 103-110.
160. Micevych PE, Matt DW y Go VL. 1988. Concentration of cholecystokinin, substance P, and bombesin in discrete regions of male and female rat brain: sex differences and estrogen effects. *Exp Neurol* 100: 416-425.
161. Migliaccio A, Di Domenico M, Castoria G, de Falco A, Bontempo P, Nola E y Auricchio F. 1996. Tyrosine kinase/p21ras/MAP-kinase pathway activation by estradiol-receptor complex in MCF-7 cells. *EMBO J* 15: 1292-1300.
162. Migliaccio A, [Piccolo D](#), [Castoria G](#), [Di Domenico M](#), [Bilancio A](#), [Lombardi M](#), [Gong W](#), [Beato M](#) y [Auricchio F](#). 1998. Activation of the Src/p21ras/Erk pathway by progesterone receptor via cross-talk with estrogen receptor. *EMBO J* 17:2008-2018.
163. Migliaccio A, Castoria G y Auricchio F. 2007. [Src-dependent signalling pathway regulation by sex-steroid hormones: therapeutic implications](#). *Int J Biochem Cell Biol* 39: 1343-1351.
164. Milgrom E, Atger M y Baulieu EE. 1970. Progesterone in uterus and plasma. IV- progesterone receptor (s) in guinea- pigs uterus cytosol. *Steroid* 16: 741-754.
165. Miller NR, Jover T, Cohen HW, Zukin RS y Etgen AM. 2005. Estrogen can act via estrogen receptor Alpha and Beta to protect hippocampal neurons against global ischemia-induced cell death. *Endocrinology* 146: 3070-3079.
166. Misrahi M, Atger M, D'Auriol L, Loosfelt, H, Meriel C, Fridlansky F, Guiochon-Mantel A, Galibert F y Milgrom E. 1987. Complete amino acid sequence of the human progesterone receptor deduced from cloned cDNA. *Biochem Behav* 34: 665-667.
167. Mizukami, Y. 2010. In vivo functions of GPR30/GPER-1, a membrane receptor for estrogen: From discovery to functions in vivo. *J Endocrinol* 57: 101-107.
168. Montano MM, Muller V, Trobaugh A y Katzenellenbogen BS. 1995. The carboxy-terminal F domain of the human estrogen receptor: role in the transcriptional activity of the receptor and the effectiveness of antiestrogens as estrogen antagonists. *Mol Endocrinol* 9: 814-825.

169. Moon LY, Wakley GK y Turner RT. 1991 Dose-dependent effects of tamoxifen on long bones in growing rats: Influence of ovarian status. *Endocrinology* 129:1568-1574.
170. Moralí G y Beyer C. 1979. Neuroendocrine control of mammalian estrous behavior. En: *Endocrine Control of Sexual Behavior*. Beyer C. (ed.) Editorial. New York, Raven Press: pp. 42-50.
171. Moreines J y Powers JB. 1977. Effects of acute ovariectomy on the lordosis response of female rats. *Physiol Behav* 9: 277-283.
172. Morissette M, Al Sweidi S, Callier S y Di Paolo T. 2008. Estrogen and SERM neuroprotection in animal models of Parkinson's disease. *Mol Cell Endocrinol* 290: 60-69.
173. Morley P, Whitfield J, Vanderhyden B, Tsang B y Schwartz J. 1992. A new, nongenomic estrogen action: the rapid release of intracellular calcium. *Endocrinology* 131:1305-1312
174. Moss RL y Foreman MM. 1976. Potentiation of lordosis behavior by intrahypothalamic infusion of synthetic luteinizing hormone releasing hormone. *Neuroendocrinology* 20: 176-181.
175. Nadler RD. 1970. Biphasic influence of progesterone on sexual receptivity of spayed female rats. *Physiol Behav* 5: 95-97.
176. Nance DM, Shryne J y Gorsky RA. 1975. Effects of septal lesions on behavioral sensitivity of female rats to gonadal hormones. *Horm Behav* 6: 59-64.
177. Nestler EJ y Greengard P. 1994. Protein phosphorylation and the regulation of neuronal function. En: *Basic Neurochemistry*. Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RA y Molinoff PB (eds.) Editorial. Raven Press, New York. pp. 449-474.
178. Nilsson S, Makela S, Treuter E, Tujague M, Thomsen J, Andersson G, Enmark E, Pettersson K, Warner M y Gustafsson JA. 2001. Mechanisms of estrogen action. *Physiol Rev* 81: 1535-1565.
179. O'Malley BW, Tsai SY, Bagchi M, Weigel NL, Schrader WT y Tsai MJ. 1991. Molecular mechanism of action of a steroid hormone receptor. *Rec Prog Horm Res* 47: 1-26.
180. Ogawa S, Eng V, Taylor J, Lubahn DB, Korach KS y Pfaff DW. 1998. Roles of estrogen receptor-Alpha gene expression in reproduction-related behaviors in female mice. *Endocrinology* 139: 5070-5081.

181. Ojeda SR y Jameson HE. 1977. Hypothalamic areas involved in prostaglandin (PG)-induced gonadotropin release: effects of PGE<sub>2</sub> and PGF<sub>2</sub> implants on luteinizing hormone release. *Endocrinology* 100: 1585-1594.
182. Osterlund M, Kuiper CG, Gustafsson JA y Hurd YL. 1998. Differential distribution and regulation of estrogen receptor-Alpha and -Beta mRNA within the female rat brain. *Brain Res Mol Brain Res* 54: 175-180.
183. Otto C, Fuchs I, Kauselmann G, Kern H, Zevnik B, Andreasen P, Schwarz G, Altmann H, Klewer M, Schoor M, Vonk R y Fritzscheier KH. 2009. [GPR30 does not mediate estrogenic responses in reproductive organs in mice.](#) *Biol Reprod* 80: 34-41.
184. Otto C, Rohde-Schulz B, Schwarz G, Fuchs I, Klewer M, Brittain D, Langer G, Bader B, Prella K, Nubbemeyer R y Fritzscheier KH. 2008. G protein-coupled receptor 30 localizes to the endoplasmic reticulum and is not activated by estradiol. *Endocrinology* 149:4846-4856.
185. Palkowitz AD, Glasebrook AL, Thrasher KJ, Hauser KL, Short LL, Phillips DL, Muehl BS, Sato M, Shetler PK, Cullinan GJ, Pell TR y Bryant HU. 1997. Discovery and synthesis of [6-hydroxy-3-[4-[2-(1-piperidinyloxy) phenoxy]-2-(4-hydroxyphenyl)] benzo[b] thiophene: a novel, highly potent, selective estrogen receptor modulator. *J Med Chem* 40: 1407.
186. Park WC y Jordan VC. 2002. [Selective estrogen receptor modulators \(SERMs\) and their roles in breast cancer prevention.](#) *Trends Mol Med* 8: 82-88.
187. Parker MG y White R. 1996. Nuclear receptors spring into action. *Nat Struct Biol* 3: 113-115.
188. Paruthiyil S, Parmar H, Kerekatte V, Cunha GR, Firestone GL y Leitman DC. 2004. Estrogen receptor  $\beta$  inhibits human breast cancer cell proliferation and tumor formation by causing a G<sub>2</sub> cell cycle arrest. *Cancer Res* 64: 423-428.
189. Patisaul HB, Whitten PL y Young LJ. 1999. Regulation of estrogen receptor beta mRNA in the brain, opposite effects of 17 $\beta$ -estradiol and the phytoestrogen, coumestrol. *Brain Res Mol Brain Res* 67: 165-171.
190. Paxinos G y Watson C. 2006. The rat brain. En: stereotaxic coordinates. Academic press (eds.) New York. pp. 80-120.

191. Pedram A, Razandi M y Levin ER. 2006. Nature of functional estrogen receptors at the plasma membrane. *Mol Endocrinology* 20: 1996-2009.
192. Pettersson K, Delaunay F y Gustafsson JA. 2000. Estrogen receptor Beta acts as a dominant regulator of estrogen signaling. *Oncogene* 19: 4970-4978.
193. Pettersson K, Grandien K, Kuiper GC y Gustafsson JA. 1997. Mouse estrogen receptor Beta forms estrogen response element-binding heterodimers with estrogen receptor Alpha. *Mol Endocrinol* 11: 1186-1196.
194. Pfaff DW y Pfaffmann, C. 1969. Olfactory and hormonal influences on the basal forebrain of the male rat. *Brain Research* 15: 137-156.
195. Pfaff DW y Sakuma Y. 1979. Deficit in the lordosis reflex of female rats caused by lesions in ventromedial nucleus of the hypothalamus. *J Physiol* 288: 203-210.
196. Pfaff DW. 1980. Estrogens and brain function. Editorial Springer-Verlag. New York. pp.55-73
197. Pfaff DW y Schuartz-Giblin S. 1994. Cellular and molecular mechanisms of female reproductive behaviors. En: *The physiology of reproduction*. Editorial Raven Press. New York. pp. 113-125.
198. Pfaff DW, Arnold AP, Etgen AM, Fahrbach SE y Rubin RT. 1980. Membrane-mediated actions of progestins for lordosis of hormone-primed hamsters involve phospholipase C and protein kinase C. *J Neuroendocrinol* 19: 717-724.
199. Pfaff DW, Sakuma Y, Kow L-M, Lee AL y Easton A. 2006. Hormonal, neural, and genomic mechanisms for female reproductive behaviors. En: *The Physiology of Reproduction*. Neill JD (ed.). pp. 95-103.
200. Pfaff DW, Vasudevan N, Kia HK, Zhu YS, Chan J y Garey J. 2000. Estrogens, brain and behavior: studies in fundamental neurobiology and observations related to women's health. *J Steroid Biochem Mol Biol* 74: 365-373.
201. Pfaff DW. 1980. Estrogens and brain function. Springer-Verlag (eds.) New York.
202. Pfau JG, Marcangione C, Smith WJ, Manitt C y Abillamaa H. 1996. Differential induction of Fos in the female rat brain following different amounts of vaginocervical stimulation: modulation by steroid hormones. *Brain Res* 741: 314-330.

203. Pfaus JG, Smith WJ y Coopersmith CB. 1999. Appetitive and consummatory sexual behaviors of female rats in bilevel chambers: a correlational and factor analysis and the effects of ovarian hormones. *Horm Behav* 35: 224-240.
204. Pietras RJ y Szego CM. 1975. Endometrial cell calcium and oestrogen action. *Nature* 253: 357-359.
205. Pleim ET, Lisciotta CA y DeBold JF. 1990. Facilitation of sexual receptivity in hamsters by simultaneous progesterone implants into the VMH and ventral mesencephalon. *Horm Behav* 24: 139-151.
206. Powers, J. B. 1970. Hormonal control of sexual receptivity during the estrous cycle of rat. *Physiol Behav* 5: 831-835.
207. Prange-Kiel J, Wehrenberg U, Jarry H y Rune GM. 2003. Para/autocrine regulation of estrogen receptors in hippocampal neurons. *Hippocampus* 13: 226-234.
208. Pratt WB, Hutchinson KA y Scherrer LC. 1992. Steroid receptor folding by heat-shock protein and composition of the receptor heterocomplex. *Trends Endocrinol Metab* 3: 326-333.
209. Prossnitz [ER](#), [Arterburn JB](#), [Smith HO](#), [Oprea TI](#), [Sklar LA](#) y [Hathaway HJ](#). 2008. Estrogen signaling through the transmembrane G protein-coupled receptor GPR30. [Annu Rev Physiol](#) 70: 165-190.
210. Quesada A y Etgen AM. 2002. Functional interactions between estrogen and insulin-like growth factor-I in the regulation of alpha1Adrenoceptors and female reproductive function. *J Neurosci* 22: 2401-2408.
211. Quinones-Jenab V, Jenab S, Ogawa S, Adan RA, Burbach JPH y Pfaff DW. 1997. Effects of estrogen on oxytocin receptor messenger ribonucleic acid expression in the uterus, pituitary, and forebrain of the female rat. *Neuroendocrinology* 65: 9-17.
212. Rainbow TC, Davis PG y McEwen BS. 1980. Anisomycin inhibits the activation of sexual behavior by estradiol and progesterone. *Brain Res* 194: 548-555.
213. Rainbow TC, McGinnis MY, Krey LC y McEwen BS. 1982. Nuclear Progesterin receptor in the rat brain and pituitary. *Neuroendocrinology* 34: 426-432.
214. Ramírez-Orduña JM, Lima-Hernandez FJ. 2007. Lordosis facilitation by LHRH, PGE2 or db-cAMP requires activation of the kinase A pathway in estrogen primed rats. *Pharmacol Bichem Behav* 86: 169-175.

215. Raz L, Khan MM, Mahesh VB, Vadlamudi RK y Brann DW. 2008. Rapid estrogen signaling in the brain. *Neurosignals* 16: 140-153.
216. Razandi M, Pedram A, Park ST Y Levin ER. 2003. [Proximal events in signaling by plasma membrane estrogen receptors](#). *J Biol Chem* 278: 2701-2712.
217. Revankar CM, Cimino DF, Sklar LA, Arterburn JB y Prossnitz ER. 2005. A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. *Science* 307: 1625-1630.
218. Rhodes ME y Frye CA. 2006. ERbeta-selective SERMs produce mnemonic-enhancing effects in the inhibitory avoidance and water maze tasks. *Neurobiol Learn Mem* 85:183-191.
219. Rissman EF, Wersinger SR, Fugger HN Y Foster TC. 1999. Sex with knockout models: Behavioral studies of estrogen receptor Alpha. *Brain Res* 835:80-90.
220. Rissman, EF. 2008. Roles of oestrogen receptors Alpha and Beta in behavioural neuroendocrinology, beyond yin/yang. *J Neuroendocrinol* 20: 873-879.
221. [Roepke](#) TA, [Xue](#) C, [Bosch](#) MA, [Scanlan](#) TS, [Kelly](#) MJ y [Rønnekleiv](#) OK. 2008. Genes associated with membrane-initiated signaling of estrogen and energy homeostasis. *Endocrinology* 149: 6113-6124.
222. Rønnekleiv OK y Kelly MJ. 2005. Diversity of ovarian steroid signaling in the hypothalamus. *Front Neuroendocrinol* 26: 65-84.
223. Rosenfeld Mg y Glass Ck. 2001. Coregulator codes of transcriptional regulation by nuclear receptors. *J Biol Chem* 274: 36865-368668.
224. Ross J, Claybaugh C, Clemens LG y Gorski RA. 1971. Short latency induction of estrous behavior with intracerebral gonadal hormones in ovariectomized rats. *Endocrinology* 89: 32-38.
225. Rubin BS y Barfield RJ. 1980. Priming of estrous responsiveness by implants of 17 Beta-estradiol in the ventromedial hypothalamic nucleus of female rats. *Endocrinology* 106: 504-509.
226. Russell KS, Haynes MP, Sinha D, Clerisme E y Bender JR. 2000. Human vascular endothelial cells contain membrane binding sites for estradiol, which mediate rapid intracellular signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 5930-5935.

227. Sellix MT, Egli M, Henderson RP y Freeman ME. 2004. Ovarian steroid hormones modulate circadian rhythms of neuroendocrine dopaminergic neuronal activity. *Brain Res* 1005: 164-181.
228. Shailaja D. Divekar<sup>1</sup>, Geoffrey B. Storch<sup>1</sup>, Katherine Sperle, David J. Veselik, Earl Johnson, Sivanesan Dakshanamurthy, Yuse N. Lajiminmuhip, Rebecca E. Nakles, Li Huang y Mary Beth Martin. 2011. The role of calcium in the activation of estrogen receptor-alpha. *Cancer Res* 71: 1658-1668.
229. Shima N, Yamaguchi Y y Yuri K. 2003. Distribution of estrogen receptor beta mRNA-containing cells in ovariectomized and estrogen-treated female rat brain. *Anat Sci Int* 78: 85-97.
230. Shughrue PJ y Merchenthaler I. 2001. Distribution of estrogen receptor beta immunoreactivity in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 436: 64-81.
231. Shughrue PJ, Lane MV y Merchenthaler I. 1997. Comparative distribution of estrogen receptor-Alpha and Beta mRNA in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 388: 507-525.
232. Siegel S y Castellan NJ. 1995. Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta. Ed. Trillas.
233. Simpkins JW, Singh M, Brock C y Etgen AM. 2012. Neuroprotection and estrogen receptors. *Neuroendocrinology* 96: 119-130.
234. Sinchak K y Micevych PE. 2001. Progesterone blockade of estrogen activation of  $\mu$ -opioid receptors regulates reproductive behavior. *J Neurosci*. 21: 5723-5729.
235. Sinchak K, Garcia BL, Bowlby R, Charukulvanich P, Garcia MP y Sanathara NM. 2010. Mu-opioid receptor neurons and opioid receptor-like receptor neurons in the medial preoptic nucleus project to the region of the ventromedial nucleus of the hypothalamus. Society for Neuroscience. San Diego CA.
236. Sinchak K, Dewing P, Ponce L, Gomez L, Christensen A, Berger M y Micevich P. 2013. Modulation of the arcuate nucleus–medial preoptic nucleus lordosis regulating circuit: A role for GABA-B receptors. *Horm and Behav* 64: 136-143.
237. Smith TJ, Hautamaa D y Maeda N. 1990. Sequence of the putative LDL receptor binding regions of apolipoprotein B in mouse and hamster. *Gene* 95: 307-318.

238. Song R, McPherson R, Adam L, Bao Y, Shupnik M, Kumar R y Santen R. 2002. Linkage of rapid estrogen action of MAPK activation by ER $\alpha$ -Shc association and Shc pathway activation. *Mol Endocrinol* 16: 116-127.
239. Sotoca AM, Van Den Berg H, Vervoort J, Van Der Saag P, Strom A, Gustafsson JA, Rietjens I y Murk AJ. 2008. Influence of cellular ERA $\alpha$ /ERB $\beta$  ratio on the ERA $\alpha$ -agonist induced proliferation of human T47d breast cancer cells. *Toxicol Sci* 105: 303-311.
240. Stauffer SR, Coletta CJ, Tedesco R, Nishiguchi G, Carlson K, Sun J, Katzenellenbogen BS y Katzenellenbogen JA. 2000. [Pyrazole ligands: Structure-affinity/activity relationships and estrogen receptor-Alpha-selective agonists.](#) *J Med Chem* 43: 4934-4947.
241. Sylvia VL, Walton J, Lopez D, Dean DD, Boyan BD y Schwartz Z. 2001. 17 $\beta$ -Estradiol-BSA conjugates and 17 $\alpha$ -estradiol regulate growth plate chondrocytes by common membrane associated mechanisms involving PKC dependent and independent signal transduction. *J Cell Biochem* 81: 413-429.
242. Taylor AH y Al-Azzawi F. 2000. Immunolocalisation of oestrogen receptor Beta in human tissues. *J Mol Endocrinol* 24: 145-155.
243. Teng J, Wang ZY, Prossnitz ER y Bjorling DE. 2008. [The G protein-coupled receptor GPR30 inhibits human urothelial cell proliferation.](#) *Endocrinology* 149: 4024-34.
244. Tennent BJ, Smith ER y Davidson JM. 1982. Effects of progesterone implants in the habenula and midbrain on proceptive and receptive behavior in the female rat. *Horm Behav* 16: 352-363.
245. Tesarik J y Mendoza C. 1997. Direct non-genomic effects of follicular steroids on maturing human oocytes: oestrogen versus androgen antagonism. *Hum Reprod Update* 3: 95-100.
246. Thomas P, Pang Y, Filardo EJ y Dong J. 2005. Identity of an estrogen membrane receptor coupled to a G protein in human breast cancer cells. *Endocrinology* 146: 624-632.
247. Turcotte JC y Blaustein JD. 1993. Immunocytochemical localization of midbrain estrogen receptor- and progestin receptor-containing cells in female guinea pigs. *J Comp Neurol* 328: 76-87.
248. Turner RT, Wakley GK, Hannon KS y Bell NH. 1987. Tamoxifen prevents the skeletal effects of ovarian hormone deficiency in rats. *J Bone Miner Res* 2: 449-456.

249. Vathy IU, Etgen AM y Barfield RJ. 1987. Actions of progestins on estrous behaviour in female rats. *Physiol Behav* 40: 591-595.
250. Vida B, Hrabovszky E, Kalamatianos T, Coen CW, Liposits Z y Kallo I. 2008. Oestrogen receptor alpha and beta immunoreactive cells in the suprachiasmatic nucleus of mice, distribution, sex differences and regulation by gonadal hormones. *J Neuroendocrinol* 20: 1270-1277.
251. Walf AA y Frye CA. 2005. ER $\beta$  selective estrogen receptor modulators produce antianxiety behavior when administered systemically to ovariectomized rats. *Neuropsychopharmacology* 30: 1598-1609.
252. Walf AA, Ciriza I, Garcia-Segura LM y Frye CA. 2008. Antisense oligodeoxynucleotides for estrogen receptor-Beta and Alpha attenuate estradiol's modulation of affective and sexual behavior, respectively. *Neuropsychopharmacology* 33: 431-440.
253. Wang C, Prossnitz ER y Shyamal KR. 2007. Expression of G protein-coupled receptor 30 in the hamster ovary: Differential regulation by gonadotropins and steroid hormones. *Endocrinology* 148: 4853-4864.
254. Weigel NL. 1996. Steroid hormone receptors and their regulation by phosphorylation. *J Biochem* 319: 657-667.
255. Whalen [RE](#). 1970. Induction of receptivity in female rats and cats with estrogen and testosterone. *Physiol Behav* 5: 529-533.
256. Wintermantel TM, Campbell RE, Porteous R, Bock D, Grone HJ, Todman MG, Korach KS, Greiner E, Perez CA, Schutz G y Herbison AE. 2006. Definition of estrogen receptor pathway critical for estrogen positive feedback to gonadotropinreleasing hormone neurons and fertility. *Neuron* 52: 271-280.
257. Wurtz JM, Bourguet W, Renaud JP, Vivat V, Chambon P, Moras D y Gronemeyer H. 1996. A canonical structure for the ligand-binding domain of nuclear receptors. *Nat Struct Biol* 3: 87-94.
258. Wyckoff M, Chambliss K, Mineo C, Yuhanna I, Mendelsohn M, Mumby S y Shaul P. 2001. Plasma membrane estrogen receptors are coupled to endothelial nitric-oxide synthase through Gi. *J Biol Chem* 276: 27071-27076.
259. Yanase M y Gorski RA. 1976. Sites of estrogen and progesterone facilitation of lordosis behavior in the spayed rat. *Biol Reprod* 15: 536-543.

260. Yu X, Rajala R, McGinnis JF, Li F, Anderson RE, Yan X, Li S, Elias RV, Knapp RR, Zhou X y Cao W. 2004. Involvement of insulin/phosphoinositide 3-kinase/ akt signal pathway in 17 $\beta$ -estradiol-mediated neuroprotection. J Biol Chem 279: 13086-13094.

261. Zou A, Marschke KB, Arnold KE, Berger EM, Fitzgerald P y Mais DE. 1999. Estrogen receptor Beta activates the human retinoic acid receptor Alpha-1 promoter in response to tamoxifen and other estrogen receptor antagonists, but not in response to estrogen. Mol Endocrinol 13: 418-430.

## 11. ABREVIATURAS UTILIZADAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
CSF	Conducta sexual femenina
BE	Benzoato de estradiol
OVX	Ovariectomia

AC	Adenilato ciclasa
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADP	Adenosina difosfato
FA1	Función de activacion 1
FA2	Función de activacion 2
FA3	Función de activacion 3
ICV	Intracerebroventricular
E <sub>2</sub>	Estradiol
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
APOm	Área preóptica media
ARH	Núcleo arqueado
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
HVM	Hipotálamo ventro medial
ATP	Adenosina trifosfato
RB	Región de bisagra del receptor de la progesterona
Ca <sup>2+</sup>	Ion Calcio
PPT	Propil-pirazol-triol; agonista del receptor de estrógenos Alfa
CDK	Cinasa dependiente de ciclinas
DPN	Diariproniltril; agonista del receptor de estrógenos Beta
COOH	Región carboxilo del receptor a esteroides
HLHL	Hormona liberadora de hormona luteinizante

MPP	Metil propil pirazol; agonista selectivo del RE $\alpha$
PHTPP	Trifluorometil pirazol pirimidina fenol
G-1	Agonista selectivo del receptor membranal GPR30
GPR30	Receptor acoplado a proteína G 30
CL	Conducta de lordosis
CI	Cociente de lordosis
DUA	Dominio de unión al ADN
DUL	Dominio de unión al ligando
DG	Diacil glicerol
DMSO	Dimetil sulfóxido
GMPc	Guanocin monofosfato ciclico
E-R	Complejo formado por el estrógeno y su receptor
ERK	Proteína cinasa regulada por señales extracelulares
Sc	Subcutáneo
E	Estrógenos
P	Progesterona
ATV	Área tegmental ventral
GC	Guanilato ciclasa
GHRH	Hormona liberadora de gonadotropinas
HAM	Hipotálamo anterior medial
GMPc	Guanosina monofosfato cíclico

GnRH	Hormona liberadora de gonadotropinas
GTP	Guanosina trifosfato
HAM	Área hipotalámica medial
HL	Hormona luteinizante
RP-A	Receptor de la progesterona humano A
RP-B	Receptor de la progesterona humano B
HSP	Proteínas de choque térmico
COOH	Región carboxilo terminal del receptor
IP <sub>3</sub>	Trifosfato de inositol
HSP	Proteínas de choque térmico
ERH	Elementos que responden a la hormona
RB	Region de bisagra del receptor
kDa	Kilodalton
Src	Proteína cinasa Src
IL	Intensidad de lordosis
H7	Inhibidor de la proteína cinasa C
K <sup>+</sup>	Ion fosfato
mGluR-1 <sup>a</sup>	Receptor a glutamato R-1 <sup>a</sup>
MAPK	Proteína cinasa activada por mitógeno
GPR30-KO	Raton Knock-Out para GPR30
MKKKS	Proteína cinasa cinasa MAPK

MKKS	Proteína cinasa MAPK
NA	Noradrenalina
NH2	Región amino del receptor a esteroides
GnRH	Hormona liberadora de Gonadotropinas
NMDA	N-metil D-aspartato
PKA	Proteína cinasa A
PKG	Proteína cinasa G
MCF-7	Línea celular de cáncer de mama (Michigan Cancer Foundation 7)
G-15	Antagonista selectivo del Receptor membranaral GPR30
GPR30-lacZ	Ratones con delección parcial del gen para GPR30
8-bromo-GMPc	Análogo de GMPc
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandina E2
NPY	Neuropeptido Y
PKC	Proteína cinasa G
NA	Noradrenalina
RP-F	Receptor a progesterona funcional
SERMs	Moduladores selectivos de los receptores de estrógenos
E1	Estrona
E2	Estradiol
E3	Estriol
FSH	Hormona folículo estimulante

PD98059	Inhibidor de MAPK
REs	Receptores a estrógenos
RE $\beta$ 2	Isoforma del receptor de estrógenos beta
ICI182780	Antagonista universal del Receptor de estrógenos
CD4+	Linfocitos T cooperadores
CD8+	Linfocitos T cooperadores
PD98059	2- (2-amino-3-metoxifenil) -4H-1- benzopirano -4-ona; inhibidor de la proteína cinasa MAPK
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandina E <sub>2</sub>
PIP2	Fosfatidil inositol bifosfato
IGF-I	Factor de crecimiento insulinico tipo I
POMC	Proopiomelanocortina
PP2	4-amino-5-(4-clorofenil) -7- (t-butil) pirazolo [3,4-d] pirimidina; inhibidor de la proteína cinasa Src
Proteína G	Proteína dependiente de guanosina trifosfato para su activación
PVH	Núcleo paraventricular
RAF	Proteína cinasa de la vía MAPK
RE $\alpha$	Receptor a estrógenos Alfa
RE $\beta$	Receptor a estrógenos Beta
RPA	Receptor a progesterona A
RPB	Receptor a progesterona B

RPcAMPS	(R)-adenosina, cíclico 3',5'- (hidrógeno fosforotioato) trietilamonio; inhibidor de la proteína cinasa A
ERE	Elemento de respuesta al estrógeno
RU486	Mifepristone; Inhibidor del receptor a progesterona
PI3K	Fosfatidil inositol 3 kinasa
SGC	Sustancia gris central
AKt	Proteína cinasa específica de treonina/serina