

LAÍS DA SILVA PEREIRA

**ESTUDO DAS EFERÊNCIAS DO NÚCLEO PRÉ-ÓPTICO
MEDIAL PARA O NÚCLEO VENTROMEDIAL DO
HIPOTÁLAMO EM ANIMAIS OOFORECTOMIZADOS PRÉ-
PUBERES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Morfofuncionais do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção de Título de Mestre em Ciências.

**São Paulo
2017**

LAÍS DA SILVA PEREIRA

**ESTUDO DAS EFERÊNCIAS DO NÚCLEO PRÉ-ÓPTICO
MEDIAL PARA O NÚCLEO VENTROMEDIAL DO
HIPOTÁLAMO EM ANIMAIS OOFORRECTOMIZADOS PRÉ-
PUBERES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Morfofuncionais do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção de Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Ciências Morfofuncionais.

Orientador: Prof. Dr. Jackson Cioni Bittencourt

Versão Original

**São Paulo
2017**

RESUMO

Pereira, L.S. Estudo das eferências do núcleo pré-óptico medial para o núcleo ventromedial do hipotálamo em animais ooforectomizados pré-puberes. [Dissertação (Mestrado em Ciências Morfofuncionais)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2017.

As projeções do núcleo pré-óptico medial [MPN] para a porção ventromedial do núcleo ventromedial do hipotálamo [VMHvl] fazem parte de um circuito de controle do comportamento sexual feminino [CSF]. Este circuito é influenciado por hormônios ovarianos, neurotransmissores, e pistas ambientais. Para que no adulto o CSF ocorra, além da presença dos fatores endógenos e exógenos agindo no circuito neural, é necessário que ao longo do desenvolvimento do animal, o sistema nervoso venha se desenvolver corretamente, a partir da presença dos hormônios esteroidais. Dessa forma, nosso objetivo é caracterizar e comparar as projeções do MPN que aferem o VMHvl em animais controle e ooforectomizados. Nós utilizamos fêmeas da linhagem *Sprague-Dawley*. Para o grupo controle [GC], aos 90 dias de idade, as fêmeas foram submetidas à cirurgia estereotáxica para injeção iontoforética do traçador anterógrado *Phaseolus vulgaris* [PHA-L] no MPN. Já o grupo ooforectomizado [GO] aos 30 dias de idade, elas foram submetidas à ooforectomia bilateral e ao atingirem 90 dias de idade submetidas à cirurgia estereotáxica como o GC. Como resultado, em ambos os grupos experimentais observamos marcação anterógrada no VMHvl, assim como para outras regiões que integram o circuito do CSF; porém foi observado uma redução das projeções no GO. Sendo assim, estabelecemos a conectividade do MPN com o VMHvl tanto no GC quanto no GO; pois foi visto que a ooforectomia não impede a conexão entre os núcleos que compõe a circuitaria do CSF, apenas causa uma alteração na densidade das projeções e varicosidades do MPN para o VMHvl.

Palavras-chave: Núcleo pré-óptico medial. Hipotálamo. Puberdade. Comportamento sexual feminino. Hormônios Ovarianos.

ABSTRACT

Pereira, LS. Study of the medial preoptic nucleus outputs to the ventromedial nucleus of the hypothalamus in pre-puberal oophorectomized animals. [Masters thesis (Morphofunctional Sciences)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2017

The medial preoptic nucleus [MPN] outputs to the ventromedial portion of the ventromedial nucleus of the hypothalamus [VMHvl] participates in the female sexual behavior [FSB] control circuit. This circuit is influenced by ovarian hormones, neurotransmitters and environmental cues. For adult FSB occurs, besides the presence of endogenous and exogenous factors acting on neural circuitry, it is necessary that over the animal development, the nervous system being develop correctly, through the presence of steroid hormones. Thus, our goal is to characterize and compare the MPN outputs to the VMHvl in control and ovariectomized female animals. We used Sprague-Dawley female rats. For the control group [CG], at 90 days of age, these females underwent stereotactic surgery for iontophoretic injection of the anterograde neuronal tracer *Phaseolus vulgaris* [PHA-L] into the MPN. The oophorectomized group [OG], at 30 days of age, underwent oophorectomy and when they reach 90 days of age they underwent stereotactic surgery as the CG. As a result, in both experimental groups, we observed anterograde labeling in VMHvl, as well as for other regions that are part of the FBS circuit; but in these nuclei, we observed a reduction in the density of the projections on the OG. Therefore, we have established the connectivity from the MPN to the VMHvl in both GC and OG; because it was seen that oophorectomy does not impede the connection between the nuclei that compose the FSB circuitry, it only causes a projections change and varicosity of the MPN to VMHvl

Keywords: Medial preoptic nucleus. Hypothalamus. Puberty. Female Sexual Behavior. Ovarian hormones.

1 INTRODUÇÃO

O comportamento sexual é um comportamento motivacional de grande valia para a sobrevivência e proliferação de todos os animais.

Este determinado comportamento em fêmeas, na fase adulta, está sob íntimo controle de estruturas hipotalâmicas, sendo as primordiais o núcleo pré-óptico medial [MPN] e o núcleo ventromedial do hipotálamo [VMH], cujas projeções do MPN para o VMH, juntamente com outros núcleos, formam um circuito neural (Pfaff, 1979; Simerly, Swanson, 1986; Blaustein, Erskine, 2002; Shimogawa, Sakuma, Yamanouchi, 2015), o qual recebe a influência de fatores exógenos [pistas ambientais] e principalmente fatores hormonais (Blaustein, Erskine, 2002; Canteras N, 2012; Canteras NS, 2012)

Em ambos os sexos, apesar de apresentarem um dimorfismo no circuito neural de controle do comportamento sexual (Hull, Meisel, Sachs, 2002; Canteras NS, 2012) este comportamento, já bem elucidado na literatura, pode ser caracterizado pela presença de duas fases específicas moduladas pela ação de hormônios distintos; sendo a fase inicial referida como fase apetitiva e a fase seguinte como fase consumatória (Blaustein, Erskine, 2002).

Todavia, para que este determinado comportamento se expresse de forma adequada na idade adulta, é necessário que no decorrer do desenvolvimento do animal o sistema nervoso central [SNC] seja modulado e moldado por fatores exógenos [informações e experiências sociais individuais] e principalmente por fatores endógenos [hormônios esteroidais] (Romeo, Richardson, Sisk, 2002; Schulz, Molenda-Figueira, Sisk, 2009). Esta modulação como demonstrada na figura 1, pode ser vista principalmente em duas janelas no desenvolvimento do indivíduo, sendo a primeira durante o desenvolvimento perinatal [desde o dia 18 embrionário até cerca do dia 10 pós-natal] (Arnold, Gorski, 1984; Schulz, Sisk, 2006; Schwarz, McCarthy, 2008) e a segunda durante a puberdade [aproximadamente do dia 28 ao dia 56] (Romeo, Richardson, Sisk, 2002; Schulz et al., 2004; Schulz, Sisk, 2006).

Durante a primeira janela de desenvolvimento, a ação dos hormônios esteroidais no SNC contribui tanto para o surgimento das características encefálicas quanto para a diferenciação dos circuitos neurais entre machos e fêmeas, juntamente com a programação inicial das respostas comportamentais (Flanagan-Cato, 2011), fazendo deste o primeiro período sensível do SNC aos hormônios esteroidais (Phoenix et al., 1959; Sisk, Foster, 2004).

Já na segunda janela de desenvolvimento ocorrerá o refinamento dos circuitos neurais principalmente quanto ao número de células, volume de grupos de células e até mesmo morte celular, assim como a plena maturação e diferenciação do comportamento sexual que serão observadas distintamente, entre os gêneros, no animal adulto (Woolley, 1998; Ahmed et al., 2008; Schulz, Molenda-Figueira, Sisk, 2009), fazendo deste o segundo período sensível do SNC aos hormônios esteroidais (Sisk, Zehr, 2005).

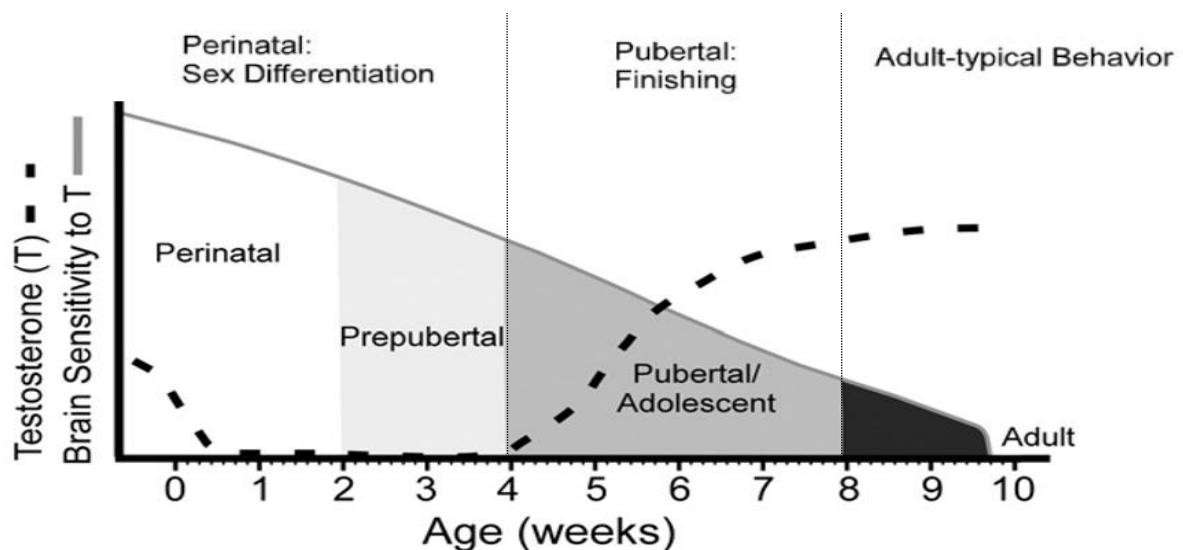


Figura 1 - Representação das duas janelas de desenvolvimento do SNC e do comportamento do indivíduo do sexo masculino frente a ação do hormônio esteroidal testosterona. Adaptação (Schulz et al., 2004; Schulz, Molenda-Figueira, Sisk, 2009).

Adicionalmente, durante a puberdade ocorrerá a maturação gonadal, que é um importante fator atuante ao longo da vida adulta, uma vez que manterá os níveis hormonais em proporções adequadas, para que o comportamento sexual venha se expressar adequadamente (Romeo, Richardson, Sisk, 2002; Sisk, Foster, 2004).

Todas essas alterações e modulações ocorridas no SNC são fundamentais para que na fase adulta este integre as informações endógenas e exógenas e coordene respostas comportamentais adequadas à expressão do comportamento sexual entre os gêneros (Schulz, Molenda-Figueira, Sisk, 2009).

Em fêmeas, o comportamento sexual está sob o controle de um circuito neural que sofre ação direta de fatores ambientais e principalmente dos hormônios ovarianos [estradiol e progesterona] (Canteras NS, 2012), porém devido a estes apresentarem uma secreção sequencial e cíclica, ocorrerá uma variação no período em que as fêmeas se encontram receptivas ao acasalamento (Cora, Kooistra, Travlos, 2015).

A secreção sequencial e cíclica dos hormônios ovarianos caracteriza o ciclo reprodutivo de fêmeas [ciclo estral], que apresenta duração de quatro a cinco dias em roedores e consiste em mudanças fisiológicas nas fêmeas que se associam ao período da ovulação. Este ciclo pode ser dividido em quatro fases através da análise da citologia vaginal: diestro I, diestro II, proestro e estro; sendo que durante as fases de diestro I e II verifica-se um início do aumento da liberação de estrógeno, seguida pela liberação da progesterona e do hormônio luteinizante na tarde no proestro e, por fim, a queda do estrógeno no estro, coincidindo com a ovulação e com o período em que a fêmea se encontra receptiva ao macho (Marcondes, Bianchi, Tanno, 2002; Cora, Kooistra, Travlos, 2015).

Dessa forma, devido às mudanças fisiológicas ocorridas nas fêmeas, a caracterização das fases do comportamento sexual irá variar de acordo com o nível hormonal presente. Sendo assim, a fase apetitiva, caracterizada pela aproximação ao macho e adoção de comportamentos proceptivos como grunhidos e saltos, compreende a fase de diestro I e II do ciclo estral; enquanto que a fase consumatória, caracterizada pelo comportamento receptivo que compreende a postura de lordose, a qual é uma dorso-flexão feita para facilitar a montagem do macho, compreende a fase de estro do ciclo estral (Pfaff, 2002).

Posto isto, podemos dizer que a integração hormonal e ambiental aos mecanismos neurais são os maiores contribuintes para a adequada expressão do controle do comportamento sexual feminino, contanto que o SNC tenha sido apropriadamente sensibilizado ao longo do desenvolvimento (Blaustein , Erskine, 2002; Sisk , Foster, 2004)

Dentro do circuito neural, o sítio neuronal de maior controle do comportamento sexual feminino é o VMH uma vez que é altamente modulado pelos hormônios ovarianos em fases neonatais e puberais, assim como na fase adulta (Powers, 1970; Sa, Lukoyanova , Madeira, 2009; Griffin , Flanagan-Cato, 2011).

Anatomicamente, o VMH está localizado na zona medial do hipotálamo, lateralmente ao terceiro ventrículo [V3] e dorsalmente a eminência mediana [EM]. É dividido em três partes: parte dorsomedial, parte central e parte ventrolateral, sendo visto em secções horizontais, como uma região oval formada por um grupo moderadamente denso de células polimórficas rodeadas por uma cápsula composta de dendritos e axônios, denominada de complexo de fibras laterais [LFC], rico em neurotransmissores importantes para o comportamento sexual, como a ocitocina e serotonina, e que permite a comunicação desse núcleo com os demais envolvidos na circuitaria comportamental (Flanagan-Cato, 2000; Madeira, Ferreira-Silva , Paula-Barbosa, 2001). Ademais, os neurônios situados no VMH apresentam uma simples arborização dendrítica, possuindo muitos dendritos primários curtos [LPC] e um único dendrito primário longo [LPD] que irá estabelecer comunicação com o LFC de acordo com a fase do ciclo estral em que a fêmea se encontra (Griffin , Flanagan-Cato, 2011).

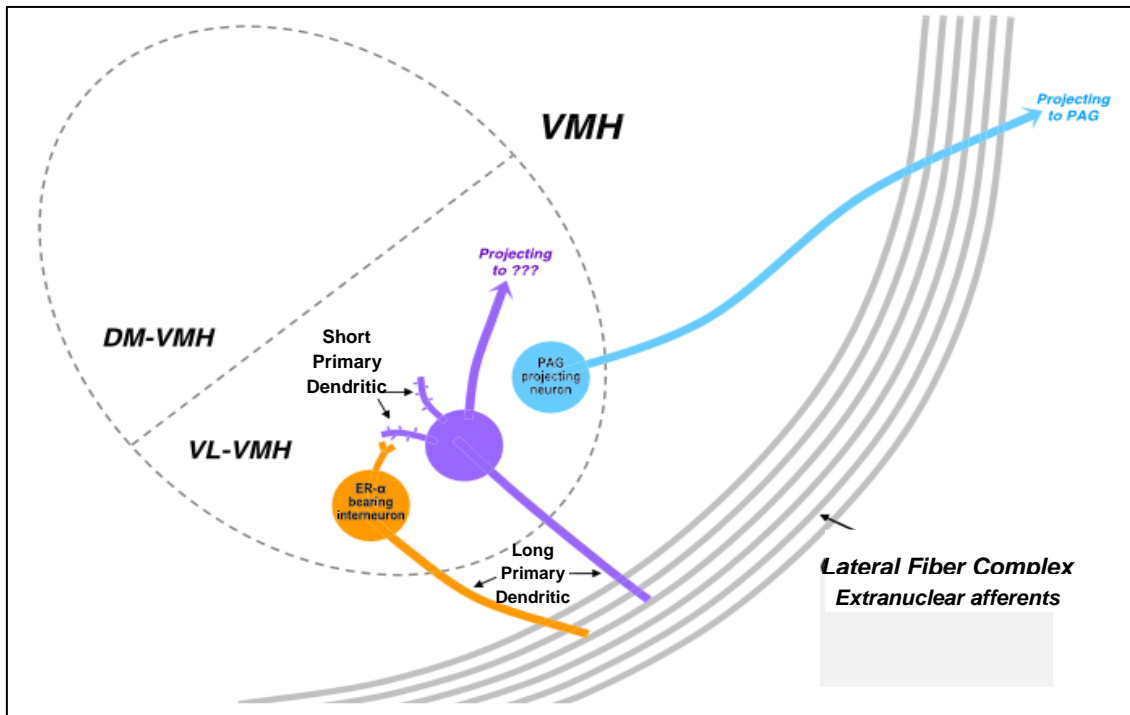


Figura 2 - Ilustração da arborização dendrítica típica dos neurônios do VMH. Abreviações: DM-VMH: parte dorsomedial do núcleo ventromedial do hipotálamo; VL-VMH: parte ventrolateral do núcleo ventromedial do hipotálamo. Modificado: (Flanagan-Cato, 2011; Griffin, Flanagan-Cato, 2011).

Apesar de o VMH ser repleto de conectividade intra e extra nuclear, apenas sua porção ventrolateral [VMHvl] é a que desempenha o papel crucial no comportamento sexual feminino, devido a presença do receptor do tipo alfa para estradiol [ER α] (McEwen, Alves, 1999), que além de se encontrar difuso ao longo de todo o VMHvl apresenta-se ativo durante a ocorrência do comportamento sexual (Sa, Lukoyanova, Madeira, 2009).

A liberação inicial do estradiol seguida pela progesterona é fundamental para a ocorrência do comportamento sexual feminino (Powers, 1970), já que ambos levarão a uma vasta modulação morfológica e neuroquímica do VMHvl (Madeira, Ferreira-Silva, Paula-Barbosa, 2001; Griffin, Flanagan-Cato, 2011)

Morfologicamente, ambos os hormônios estradiol e progesterona, de acordo com a fase do ciclo estral, ocasionam alterações na árvore e nos espinhos dendríticos do VMHvl (Calizo, Flanagan-Cato, 2000; Madeira, Ferreira-Silva, Paula-Barbosa, 2001). Já

neuroquimicamente, atuam sob os neurotransmissores excitatório e inibitório, glutamato e ácido gama-aminobutírico [GABA], respectivamente, ambos apontados por promoverem um importante papel funcional neste núcleo, uma vez que alguns trabalhos indicam que o GABA facilita a lordose (Luine et al., 1999), enquanto que o glutamato inibe tanto a fase apetitiva quanto a fase consumatória do comportamento sexual feminino (Georgescu , Pfaus, 2006).

Além disso, o estrógeno modula diretamente os neurônios do VMHvl, levando a expressão de receptores para progesterona (Griffin , Flanagan-Cato, 2011), contudo uma vez que os receptores para estrógeno e progesterona se encontram distribuídos ao longo do SNC, como no MPN, no núcleo medial da amígdala [MeA] e núcleo intersticial da estria terminal [BNST], a ação moduladora do estrógeno também ocorreria de forma indireta, por meio de aferências dessas regiões para os neurônios do VMHvl (Sa et al., 2010);(Akesson, Ulibarri , Truitt, 1994; Shughrue, Scrimo , Merchenthaler, 1998; Flanagan-Cato, 2000; Shimogawa, Sakuma , Yamanouchi, 2015).

Em um estudo realizado com fêmeas ooforectomizadas e suplementadas posteriormente com estrógeno e estrógeno + progesterona, quando o MPN, MeA e BNST sofrem a ação apenas de um destes hormônios ou de ambos, ocorre um aumento de neurônios imunorreativos à proteína *Fos*, que é um marcador de atividade neuronal, indicando que estes núcleos apresentam-se ativos frente a esses hormônios e a vista disso exerceriam um possível papel modulatório sobre o VMHvl, no controle do comportamento reprodutor (Auger , Blaustein, 1995).

De particular interesse para o presente estudo o MPN, localizado na zona medial do hipotálamo, apresenta neurônios multipolares isodendriticos com dois ou três ramos surgindo direto do soma, com baixa densidade de espinhos dendríticos (Anderson, 1982) e possuindo ambos os tipos de receptores para estrógeno, receptor do tipo alfa ($ER\alpha$) e receptor do tipo beta [$ER\beta$], com maior predominância do $ER\beta$ (Maggi et al., 2004). Ele é um núcleo

sexualmente dimórfico, responsável por integrar todas as informações sensoriais olfativas, neocorticais e viscerais, juntamente com as informações hormonais e somáticas; e através de suas projeções para muitas regiões encefálicas coordena uma variedade de sistemas neurais, mecanismos endócrinos, autônomos e locomotores, elaborando assim, respostas comportamentais e viscerais adequadas para uma variedade de comportamentos adaptativos, sendo o principal o comportamento sexual, mas também o maternal e alimentar (Simerly , Swanson, 1988).

O MPN encontra-se presente em ambos os circuitos neurais de controle do comportamento sexual masculino e feminino. Em fêmeas, devido à presença do ciclo estral, o circuito torna-se mais complexo, como podemos observar na figura 3, apresentando além do MPN diversas estruturas neurais tais como a MeA, o núcleo pré-mamilar ventral [PMv], BNST e o VMHvl.

Dentro do circuito o MPN é responsável por toda a integração do planejamento comportamental e emocional, pois recebe a informação vinda do complexo septo-hipocampal, córtex pré-frontal e áreas pré-límbicas e infra límbicas; além da integração sensorial vindas da MeA e BNST (Canteras NS, 2012), e do envolvimento na motivação sexual (Xiao, Kondo , Sakuma, 2005). Contudo, é um núcleo com efeitos opostos no comportamento, pois ao mesmo tempo em que age no controle da fase apetitiva devido às suas projeções para a área tegmental ventral [VTA], de onde origina eferências dopaminérgicas para o núcleo accumbens [ACB], que é uma região também envolvida na motivação do comportamento sexual (Kato , Sakuma, 2000), age inibindo o comportamento de lordose, por meio de projeções para o VMHvl (Takeo, Chiba , Sakuma, 1993). Isso ocorre, pois, além de ser responsável por realizar o planejamento comportamental e integrar a informação sensorial, este mesmo efetua a integração hormonal, controlando a receptividade da fêmea para que a cópula resulte em fecundação (Simerly , Swanson, 1988; Sinchak et al., 2013).

Sendo assim, as eferências do MPN para o VMHvl faz com que este, no lado sensorial do circuito, receba e integre toda a informação ferormonal, recebida diretamente do MeA, ou indiretamente pelo BNST; e toda a informação proprioceptiva que ocorre através da estimulação da porção cervical da vagina, que é levada diretamente pelo núcleo subparafascicular [SPFp] (Coolen et al., 2003). Já no lado motor, faz com que o VMHvl coordene adequadamente o comportamento de lordose – fase consumatória, através das eferências para a porção ventrolateral da substância cinzenta periaquedutal [PAGvl] (Canteras, Simerly, Swanson, 1994; Flanagan-Cato, Lee, Calizo, 2006) quando a fêmea se encontrar receptiva ao macho.

Dessa forma, podemos inferir que os hormônios esteroidais apresentam um essencial papel no desenvolvimento do indivíduo e na modulação do comportamento sexual no adulto, assim como, na plasticidade dos núcleos que compõe a circuitaria de controle, como o MPN e VMHvl.

Sendo assim, a partir de diversos trabalhos que relatam a plasticidade morfológica do MPN entre o período da puberdade até a fase adulta, é questionável se tais alterações plásticas afetam o padrão de eferências deste núcleo em animais adultos que sofreram e não sofreram a ação hormonal durante a puberdade. O presente estudo tem como intuito analisar e comparar como ocorre o padrão de eferências do MPN para o VMHvl, assim como em outras regiões que compõe o circuito do comportamento sexual feminino, em animais ooforectomizados e não ooforectomizados, uma vez que este circuito neural de controle do comportamento sexual feminino em ratas é hormônio-dependente.

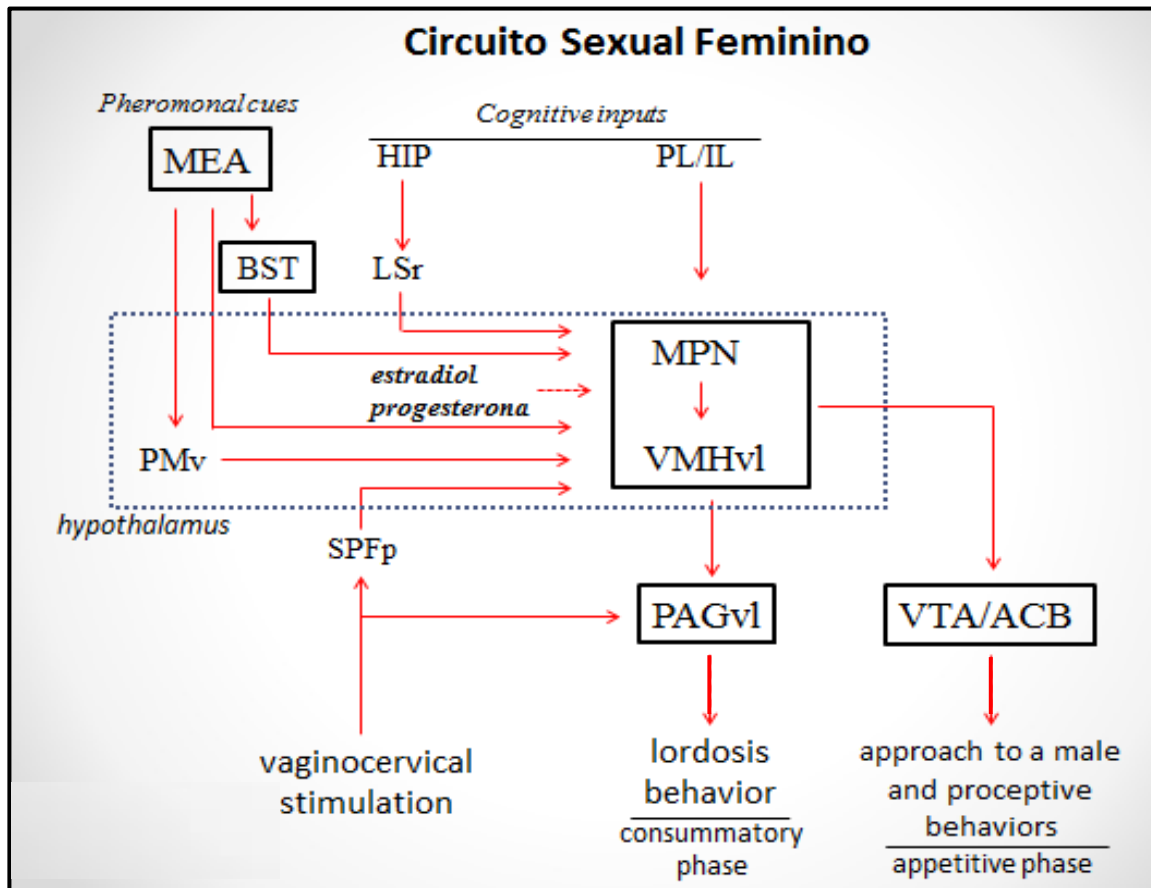


Figura 3 - Representação das conexões estabelecidas entre núcleos intra e extra hipotalâmicos que juntos formam o circuito de controle do comportamento sexual feminino. Abreviações: MeA: núcleo medial da amígdala; BNST: núcleo intersticial da estria terminal; PMv: núcleo pré mamilar ventral; HIP: hipocampo; LSR: septo lateral, parte rostral; PL: cortex pré límbico; IL: córtex infralímbico; MPN: núcleo pré-óptico medial; VMHvl: núcleo ventromedial do hipotálamo, parte ventrolateral; SPFP: núcleo subparafascicular, parte parvicelular; PAGvl: substância cinzenta periaquedutal, parte ventrolateral; VTA: área tegmental ventral; ACB: núcleo accumbens. Canteras, 2012.

As setas contínuas indicam comunicação entre os núcleos, enquanto a seta pontilhada indica papel cíclico de ativação.

5 CONCLUSÃO

- Estabelecemos a conectividade do MPN com o VMHvl tanto no *GCa* quanto no *GOa'*, assim como para os demais núcleos que compõe o circuito de controle do comportamento sexual feminino.
- Foi visto em análises semi-quantitativa que a ooforectomia realizada pré-pubere no *GOa'* promove uma alteração na densidade das projeções do MPN e na distribuição da marcação dessas projeções ao longo da extensão dos núcleos do comportamento sexual feminino, quando comparado ao *GCa*.
- Em particular no VMHvl, além destas alterações observadas entre o *GCa* e *GOa'*, notamos a partir de nossa análise quantitativa que no *GOa'* há uma diminuição no comprimento e quantidade de axônios, assim como na quantidade de varicosidades.

REFERÊNCIAS*

Ahmed EI, Zehr JL, Schulz KM, Lorenz BH, DonCarlos LL, Sisk CL. Pubertal hormones modulate the addition of new cells to sexually dimorphic brain regions. *Nat Neurosci*. 2008; 11(9): 995-7.

Akesson TR, Ulibarri C, Truitt S. Divergent axon collaterals originate in the estrogen receptive ventromedial nucleus of hypothalamus in the rat. *J Neurobiol*. 1994; 25(4): 406-14.

Anderson CH. Changes in dendritic spine density in the preoptic area of the female rat at puberty. *Brain Res Bull*. 1982; 8(3): 261-5.

Arnold AP, Gorski RA. Gonadal steroid induction of structural sex differences in the central nervous system. *Annu Rev Neurosci*. 1984; 7: 413-42.

Auger AP, Blaustein JD. Progesterone enhances an estradiol-induced increase in Fos immunoreactivity in localized regions of female rat forebrain. *J Neurosci*. 1995; 15(3 Pt 2): 2272-9.

Blaustein JD, Erskine MS. Feminine sexual behavior: cellular integration of hormonal and afferent information in the rodent forebrain. *Hormones, brain and behavior*. 2002; 1: 139-214.

Calizo LH, Flanagan-Cato LM. Estrogen selectively regulates spine density within the dendritic arbor of rat ventromedial hypothalamic neurons. *J Neurosci*. 2000; 20(4): 1589-96.

Canteras N. Hypothalamic Goal-directed Behavior–Ingestive, Reproductive and Defensive. In: Charles Watson, Paxinos G, Puelles L, editors. *The Mouse Nervous System*. San Diego, USA: Copyright Elsevier INC.; 2012. p. 539 - 57.

Canteras NS. Hypothalamic Goal-directed Behavior–Ingestive, Reproductive and Defensive-Chapter 20. 2012.

Canteras NS, Simerly RB, Swanson LW. Organization of projections from the ventromedial nucleus of the hypothalamus: a Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin study in the rat. *J Comp Neurol*. 1994; 348(1): 41-79.

*De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors. [Internet]. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. [2011 Jul 15]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Coolen LM, Veening JG, Petersen DW, Shipley MT. Parvocellular subparafascicular thalamic nucleus in the rat: anatomical and functional compartmentalization. *J Comp Neurol.* 2003; 463(2): 117-31.

Cora MC, Kooistra L, Travlos G. Vaginal Cytology of the Laboratory Rat and Mouse: Review and Criteria for the Staging of the Estrous Cycle Using Stained Vaginal Smears. *Toxicol Pathol.* 2015; 43(6): 776-93.

Flanagan-Cato LM. Estrogen-induced remodeling of hypothalamic neural circuitry. *Front Neuroendocrinol.* 2000; 21(4): 309-29.

Flanagan-Cato LM. Sex differences in the neural circuit that mediates female sexual receptivity. *Front Neuroendocrinol.* 2011; 32(2): 124-36.

Flanagan-Cato LM, Lee BJ, Calizo LH. Co-localization of midbrain projections, progesterin receptors, and mating-induced fos in the hypothalamic ventromedial nucleus of the female rat. *Horm Behav.* 2006; 50(1): 52-60.

Georgescu M, Pfaus JG. Role of glutamate receptors in the ventromedial hypothalamus in the regulation of female rat sexual behaviors I. Behavioral effects of glutamate and its selective receptor agonists AMPA, NMDA and kainate. *Pharmacol Biochem Behav.* 2006; 83(2): 322-32.

Griffin GD, Flanagan-Cato LM. Ovarian hormone action in the hypothalamic ventromedial nucleus: remodelling to regulate reproduction. *J Neuroendocrinol.* 2011; 23(6): 465-71.

Hull EM, Meisel RL, Sachs BD. Male sexual behavior. *Hormones, brain and behavior.* 2002; 1: 3-137.

Kato A, Sakuma Y. Neuronal activity in female rat preoptic area associated with sexually motivated behavior. *Brain Res.* 2000; 862(1-2): 90-102.

Luine VN, Wu V, Hoffman CS, Renner KJ. GABAergic regulation of lordosis: influence of gonadal hormones on turnover of GABA and interaction of GABA with 5-HT. *Neuroendocrinology.* 1999; 69(6): 438-45.

Madeira MD, Ferreira-Silva L, Paula-Barbosa MM. Influence of sex and estrus cycle on the sexual dimorphisms of the hypothalamic ventromedial nucleus: stereological evaluation and Golgi study. *J Comp Neurol.* 2001; 432(3): 329-45.

Maggi A, Ciana P, Belcredito S, Vegeto E. Estrogens in the nervous system: mechanisms and nonreproductive functions. *Annu Rev Physiol.* 2004; 66: 291-313.

Marcondes FK, Bianchi FJ, Tanno AP. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Braz J Biol.* 2002; 62(4A): 609-14.

McEwen BS, Alves SE. Estrogen actions in the central nervous system. *Endocr Rev.* 1999; 20(3): 279-307.

Pfaff DW. *Estrogens and brain function* Springer; 1979.

Pfaff DW. *Hormones, Brain and Behavior, Five-Volume Set* Elsevier Science; 2002. p. 4393.

Phoenix CH, Goy RW, Gerall AA, Young WC. Organizing action of prenatally administered testosterone propionate on the tissues mediating mating behavior in the female guinea pig. *Endocrinology.* 1959; 65: 369-82.

Powers JB. Hormonal control of sexual receptivity during the estrous cycle of the rat. *Physiol Behav.* 1970; 5(8): 831-5.

Romeo RD, Richardson HN, Sisk CL. Puberty and the maturation of the male brain and sexual behavior: recasting a behavioral potential. *Neurosci Biobehav Rev.* 2002; 26(3): 381-91.

Sa SI, Lukoyanova E, Madeira MD. Effects of estrogens and progesterone on the synaptic organization of the hypothalamic ventromedial nucleus. *Neuroscience.* 2009; 162(2): 307-16.

Sa SI, Pereira PA, Paula-Barbosa MM, Madeira MD. Role of neural afferents as mediators of estrogen effects on the hypothalamic ventromedial nucleus. *Brain Res.* 2010; 1366: 60-70.

Schulz KM, Molenda-Figueira HA, Sisk CL. Back to the future: The organizational-activational hypothesis adapted to puberty and adolescence. *Horm Behav.* 2009; 55(5): 597-604.

Schulz KM, Richardson HN, Zehr JL, Osetek AJ, Menard TA, Sisk CL. Gonadal hormones masculinize and defeminize reproductive behaviors during puberty in the male Syrian hamster. *Horm Behav.* 2004; 45(4): 242-9.

Schulz KM, Sisk CL. Pubertal hormones, the adolescent brain, and the maturation of social behaviors: Lessons from the Syrian hamster. *Mol Cell Endocrinol.* 2006; 254-255: 120-6.

Schwarz JM, McCarthy MM. Steroid-induced sexual differentiation of the developing brain: multiple pathways, one goal. *J Neurochem.* 2008; 105(5): 1561-72.

Shimogawa Y, Sakuma Y, Yamanouchi K. Efferent and afferent connections of the ventromedial hypothalamic nucleus determined by neural tracer analysis: implications for lordosis regulation in female rats. *Neurosci Res.* 2015; 91: 19-33.

Shughrue PJ, Scrimo PJ, Merchenthaler I. Evidence for the colocalization of estrogen receptor-beta mRNA and estrogen receptor-alpha immunoreactivity in neurons of the rat forebrain. *Endocrinology.* 1998; 139(12): 5267-70.

Simerly RB, Swanson LW. The organization of neural inputs to the medial preoptic nucleus of the rat. *J Comp Neurol.* 1986; 246(3): 312-42.

Simerly RB, Swanson LW. Projections of the medial preoptic nucleus: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin anterograde tract-tracing study in the rat. *J Comp Neurol.* 1988; 270(2): 209-42.

Sinchak K, Dewing P, Ponce L, Gomez L, Christensen A, Berger M, Micevych P. Modulation of the arcuate nucleus-medial preoptic nucleus lordosis regulating circuit: a role for GABAB receptors. *Horm Behav.* 2013; 64(1): 136-43.

Sisk CL, Foster DL. The neural basis of puberty and adolescence. *Nat Neurosci.* 2004; 7(10): 1040-7.

Sisk CL, Zehr JL. Pubertal hormones organize the adolescent brain and behavior. *Front Neuroendocrinol.* 2005; 26(3-4): 163-74.

Takeo T, Chiba Y, Sakuma Y. Suppression of the lordosis reflex of female rats by efferents of the medial preoptic area. *Physiol Behav.* 1993; 53(5): 831-8.

Woolley CS. Estrogen-mediated structural and functional synaptic plasticity in the female rat hippocampus. *Horm Behav.* 1998; 34(2): 140-8.

Xiao K, Kondo Y, Sakuma Y. Differential regulation of female rat olfactory preference and copulatory pacing by the lateral septum and medial preoptic area. *Neuroendocrinology.* 2005; 81(1): 56-62.