

62  
215



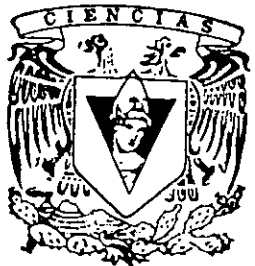
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"CAMBIOS EN EL CICLO SUEÑO-VIGILIA INDUCIDOS POR LA ADMINISTRACION DE PROGESTERONA EN LA FORMACION RETICULAR PONTINA DE LA RATA"

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
B I O L O G A  
P R E S E N T A :  
ROSA ISELA HERNANDEZ GOLLAS

DIRECTOR DE TESIS: DR. IGNACIO CAMACHO ARROYO



1999

2773

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



**MAT. MARGARITA ELVIRA CHÁVEZ CANO**  
**Jefa de la División de Estudios Profesionales de la**  
**Facultad de Ciencias**  
**Presente**

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

**"CAMBIOS EN EL CICLO SUEÑO-VIGILIA INDUCIDOS POR LA ADMINISTRACION DE PROGESTERONA EN LA FORMACION RETICULAR PONTINA DE LA RATA"**

realizado por ROSA ISELA HERNANDEZ GOLLAS

con número de cuenta 9455647-8 , pasante de la carrera de **BIOLOGIA**

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

Propietario DR. IGNACIO CAMACHO ARROYO

Propietario DR. RAUL ALVARADO CALVILLO

Propietario BIOL. JUAN CARLOS ZAMORA CUNNINGHAM

Suplente BIOL. CHRISTIAN HUMBERTO GUERRA ARAIZA

Suplente QUIM. JULIA JEANETT SEGURA URIBE

*J. H. Arroyo*  
*R. Alvarado*  
*J. C. Zamora*  
*C. H. Guerra*  
*J. Segura*

FACULTAD DE CIENCIAS

**Consejo Departamental de BIOLOGIA**

*Edna M. Suárez D.*

**DRA. EDNA MARIA SUAREZ DIAZ**

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

# AGRADECIMIENTOS

Esta tesis fue realizada en el Departamento de Biología de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México y el Laboratorio de Fisiología de la Formación Reticular, del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía.

Un agradecimiento especial al Dr. Ignacio Camacho Arroyo por su apoyo en todo momento durante la realización del presente trabajo.

Al Dr. Raúl Alvarado Calvillo, por darme la oportunidad de realizar mis experimentos en el laboratorio que se encuentra bajo su cargo.

Al Biol. Joaquín Manjarrez Marmolejo, por ser mi amigo y maestro, que con sus enseñanzas mi trabajo experimental fue todo un éxito. Gracias.

A las siguientes personas por su tiempo invertido en la revisión de esta tesis:

Biol. Juan Carlos Zamora Cunningham  
Biol. Christian Humberto Guerra Araiza  
Quím. Julia Jeanett Segura Uribe

# DEDICATORIA

A Dios, por darme la oportunidad de vivir.

A mi madre, la Sra. Antonia Gollas, que es la persona que más quiero y admiro en este mundo, que por su apoyo y cariño he salido adelante y que sin ella esto no sería posible. Te quiero mamá.

A mi padre, Sr. Raúl Hernández, por ser el mejor padre del mundo. que con su apoyo y cariño me ha demostrado que sólo con honradez y trabajo se alcanzan todas las metas. Te quiero papá.

A mi hermano mayor Jesús, que aunque lejos de nosotros ha demostrado ser el mejor hermano y que me ha enseñado que todo se puede hacer si te nace del alma. No olvides que aunque lejos siempre estas aquí. Gracias por tu gran ejemplo. Te quiero y admiro.

Al trío de hermanas feas Hilda, Imelda y Griselda, que con su compañía y apoyo han sido uno de los pilares más grandes para mi y mi carrera. Gracias por estar siempre conmigo. Las quiero mucho.

A mi hermano Raúl, espero que algún día leas esto, y sepas que no estas sólo.

A mis sobrinos, Lalito, Isaac, Toñito y Ernesto para que les sirva de ejemplo y sepan que todo se puede lograr en esta vida si uno le pone empeño y cariño. Los quiero.

**GRACIAS.**

# INDICE

<b>1.- RESUMEN</b>	1
<b>2.- INTRODUCCION</b>	2
<b>3.- ANTECEDENTES</b>	
3.1. Estructura y función de la progesterona (P4)	3
3.2. Metabolismo de la P4	5
3.3. Mecanismos de acción de la P4	6
3.4. Papel de la P4 en el funcionamiento del Sistema Nervioso Central	7
3.5. Características del ciclo sueño-vigilia	10
3.6. Mecanismos Neuroquímicos del ciclo sueño-vigilia	11
3.7. La Formación Reticular Pontina y la regulación del ciclo sueño-vigilia	12
3.8. La P4 y el ciclo sueño-vigilia	13
<b>4.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	17
<b>5.- OBJETIVO</b>	17
<b>6.- MATERIALES Y METODOS</b>	
6.1. Animales de experimentación	18
6.2. Preparación de cánula y electrodos	18
6.3. Implantación de cánula y electrodos	19
6.4. Preparación de la P4	20
6.5. Microinyección de P4 en la Formación Reticular Pontina y registro del ciclo sueño-vigilia	20
6.6. Análisis histológico	25
6.7. Análisis de resultados	25
<b>7.- RESULTADOS</b>	27
<b>8.- DISCUSION</b>	31
<b>9.- CONCLUSIONES</b>	34
<b>10.- REFERENCIAS</b>	35

## 1.- RESUMEN

La Formación Reticular Pontina (FRP) está involucrada en la regulación de procesos vitales para los mamíferos como es el ciclo sueño-vigilia entre otros. La progesterona (P4) es un esteroide neuroactivo que participa en varias funciones del SNC. Se ha demostrado que la P4 posee propiedades ansiolíticas e hipnagógicas en mamíferos. En trabajos recientes se ha observado que durante la fase lútea del ciclo menstrual, donde los niveles de P4 presentan su máxima concentración, se presenta una disminución en la latencia a Sueño Paradójico (SP). En ratas pseudopreñadas, el sueño de ondas lentas (SOL) y el SP aumentan cuando los niveles de P4 son elevados. Se desconoce el papel de la P4 en el ciclo sueño-vigilia y las regiones cerebrales involucradas, por lo que en el presente trabajo se evaluó el efecto de la microinyección de P4 en la FRP de la rata, sobre el número, la duración, el porcentaje y la latencia de cada una de las fases del ciclo sueño-vigilia.

Se utilizaron ratas Wistar hembras y machos. Se implantaron tanto los machos intactos como las hembras ovariectomizadas (una semana antes de la cirugía estereotáxica), con electrodos para registro de sueño y se registraron por 6 horas durante 3 días consecutivos bajo el siguiente esquema: a) primer día con inyección simulada; b) segundo día, con inyección de P4 (7.5 µg/0.2 µL) o vehículo (propilenglicol 0.2 µL); c) tercer día, se administró P4 a las ratas inyectadas el día anterior con vehículo y viceversa. Una vez terminados los registros se les realizó una microinyección de azul de pontamina (0.2 µL) y se perfundieron con solución salina-heparina, y formol al 3.7%.

Las microinyecciones de P4 se localizaron en el núcleo reticularis pontis caudalis. La P4 en la FRP redujo marcadamente la latencia a SP en un 55 % en machos y 63% en hembras, en comparación con la microinyección simulada y el vehículo, sin modificar la duración, la frecuencia o el porcentaje de cada fase. Estos resultados sugieren que la P4 en la FRP de la rata participa en la regulación de la iniciación del SP.

## 2.- INTRODUCCION

La formación reticular es un sistema multineural y polisináptico situado a lo largo de la parte central del tallo cerebral (López-Antunes, 1983). La Formación Reticular a nivel Pontino (FRP) está involucrada en la regulación de procesos vitales para los mamíferos como es el ciclo sueño-vigilia, entre otros. La Progesterona (P4) es un esteroide neuroactivo que participa en varias funciones en el Sistema Nervioso Central (SNC) (Beyer y González-M, 1991; Camacho-Arroyo y cols., 1995). La P4 produce cambios a corto, mediano y largo plazo en el funcionamiento tanto de neuronas como de células gliales, que pueden ocurrir por varios mecanismos involucrados con la interacción de este esteroide con receptores intracelulares específicos a P4 (RP) o con sitios localizados en los receptores a neurotransmisores y canales iónicos (Brann y cols., 1995; Graham y Clarke, 1997). Por estos mecanismos la P4 regula la excitabilidad neuronal y la expresión de varios genes en el cerebro. Se ha reportado que la P4 y sus metabolitos reducidos producen varios efectos en el SNC (Camacho-Arroyo y cols., 1995; Mahesh y cols., 1996). Se ha demostrado que la P4 posee propiedades hipnogénicas en mamíferos (Friess y cols., 1997). La latencia a sueño paradójico (SP) se ve disminuida durante la fase lútea del ciclo menstrual en mujeres, cuando la P4 presenta los niveles mas altos (Lec y cols., 1990), mientras que el sueño de ondas lentas (SOL) decrece antes de la menstruación, cuando los niveles de P4 son bajos (Ho y cols., 1972). Durante el embarazo, el ciclo sueño-vigilia sufre algunas modificaciones y los patrones de sueño varían a través de los tres trimestres de embarazo (Brunner y cols., 1994; Driver y Shapiro, 1992). Durante el ciclo estral de la rata, existe una reducción de SOL y de SP en la noche del día del proestro. Sin embargo las fases del sueño se incrementan durante el pseudoembarazo en ratas cuando los niveles de P4 son elevados (Zhang y cols., 1995). Se desconocen las posibles regiones cerebrales involucradas en los efectos hipnogénicos de la P4, por lo que en el presente trabajo se evaluó el efecto de la microinyección de P4 en la FRP de la rata, sobre el ciclo sueño-vigilia.



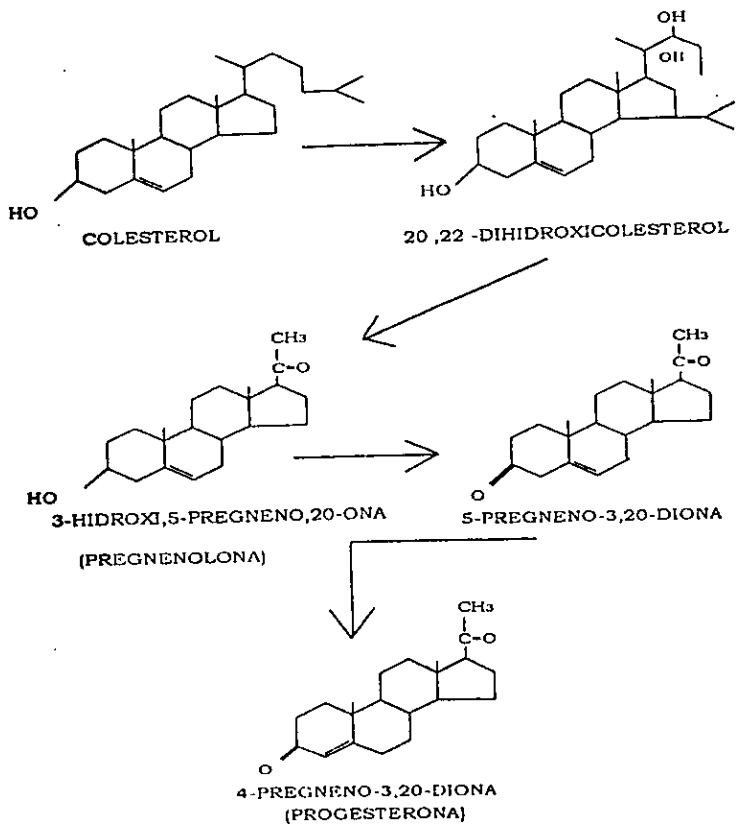
### **3.- ANTECEDENTES**

#### *3.1. ESTRUCTURA Y FUNCION DE LA PROGESTERONA (P4).*

La P4 es una hormona esteroide compuesta de 21 átomos de carbono, que se sintetiza a partir del colesterol en el retículo endoplásmico liso en las células del cuerpo lúteo en el ovario, las glándulas suprarrenales y placenta (Fig. 1). El colesterol es convertido a un intermediario llamado pregnenolona y este último es el que da origen a la P4, la cual tiene una vida media corta que va de horas a días según la especie y es metabolizada en el hígado a pregnandiol (Hick y Díaz, 1988). A la fecha no existe evidencia de la síntesis de P4 en neuronas del SNC, pero sí sus múltiples efectos sobre el funcionamiento del mismo, por lo que se le considera como un esteroide neuroactivo (Paul y Purdy, 1992; Orchinik y McEwen, 1993).

Sus principales órganos blanco son el útero, la glándula mamaria y el cerebro, entre otros. Las células que sintetizan y liberan la P4 así como las células blanco, presentan enzimas que reducen a esta hormona formando varios metabolitos con actividades características. Dichos metabolitos pueden tener funciones similares o diferentes a la P4, modulando así las acciones de la misma.

Las funciones primordiales de la P4 son: preparar y mantener el endometrio para la implantación del embrión, incrementar la temperatura basal del cuerpo en el momento de la ovulación (Ganong, 1994), estimular la maduración del ovocito, promover el crecimiento uterino, suprimir las contracciones del miometrio, desarrollar el tejido alveolar de las glándulas mamarias para la preparación de la secreción de leche, y también está involucrada en la modulación de la masa ósea (Graham y Clarke, 1997) y en diversas funciones del SNC, como la conducta sexual y la excitabilidad neuronal (Beyer y González-Mariscal, 1991; Majewska, 1987; McEwen, 1991).



**FIG. 1.** Biosíntesis de la progesterona a partir del colesterol (Hicks y Díaz, 1988).

### 3.2. METABOLISMO DE LA P4.

Se tienen evidencias de que el metabolismo de P4 varía tanto en las distintas estructuras cerebrales como en las diferentes especies. Así, en bulbo olfatorio, corteza cerebral y bulbo raquídeo de la rata, el principal metabolito de P4 es la  $5\alpha$ -dihidroprogesterona; mientras que en el mono, el principal metabolito de P4 es la  $20\alpha$ -dihidroprogesterona seguido por la  $5\alpha$ -dihidroprogesterona o la  $3\alpha,5\alpha$ -tetrahidroprogesterona, dependiendo de la estructura cerebral estudiada (Korneyev y cols., 1993). Se ha demostrado que en el cerebro completo del ratón, el metabolito más abundante es la  $20\alpha$ -dihidroprogesterona (Carey y cols., 1994). Los metabolitos de P4 pueden incrementar, prolongar o terminar con los efectos de esta, o proporcionar mecanismos alternativos que modulen sus acciones (Camacho-Arroyo y cols., 1995). La actividad biológica de estos metabolitos a partir de la P4 es diferente en cada especie y en cada ciclo reproductivo de los mamíferos (Graham y Clarke, 1997). El metabolismo de la P4 en el SNC se inicia desde etapas embrionarias en las células gliales, en astrocitos aislados de la corteza cerebral y el cuerpo estriado de la rata, se ha determinado tanto la síntesis de P4 como su bioconversión a metabolitos reducidos desde el día 17 de la gestación en esta especie (Kabbadj y cols., 1993). También la bioconversión de P4 a sus distintos metabolitos varía a lo largo del ciclo reproductivo en distintas regiones cerebrales, de tal forma que, en el hipotálamo a nivel de la eminencia media, es mayor la  $5\alpha$ -reducción de P4 durante el diestro que durante el estro (Karavolas y Hodges, 1990). Durante la lactancia y el destete, las ratas presentan una disminución en la  $5\alpha$ -reducción de P4 tanto en el hipotálamo como en otras estructuras cerebrales en comparación con ratas no lactantes (Karavolas y Hodges, 1993).

### 3.3. MECANISMOS DE ACCION DE LA P4.

La mayoría de los efectos de la P4 en el SNC están mediados a través de su interacción con receptores nucleares (RP) que reconocen específicamente a la hormona (Kato y Onouchi, 1977; Blaustein y Feder, 1980). Los RP están localizados tanto en neuronas como en células gliales, principalmente oligodendrocitos (Jung-Testas y cols., 1992) y pertenecen a una familia de factores de transcripción que son activados por la unión a su ligando específico. En esta familia se encuentran todos los receptores a hormonas esteroideas, tiroideas y al ácido retinoico (Evans, 1988; O'Malley y Tsai, 1993).

Los RP presentan un dominio de unión a la hormona, otro de unión al DNA y otros situados en la región amino-terminal, que participan en la regulación de la transcripción de genes específicos (Gronemeyer, 1993). En general, el mecanismo de acción de los RP se lleva a cabo de la siguiente manera: la unión del ligando al receptor con la subsecuente transformación y activación, la dimerización del receptor y el aumento de su afinidad por secuencias reguladoras en el DNA y cambios en la transcripción (Truss y Beato, 1993). Existen dos isoformas del RP tanto en roedores como en el ser humano, designadas A y B; la diferencia entre las dos es de 164 aminoácidos presentes en el extremo amino-terminal de la isoforma B. Ambas isoformas se codifican por el mismo gen pero son reguladas por distintos promotores (Kastner y cols., 1990). Los niveles de expresión de las isoformas A y B del RP varía en los tejidos blanco (Horwitz y Cols., 1985; Ilenchuk y Walters, 1987). Se ha reportado que la administración de estradiol aumenta la expresión de la isoforma A en el oviducto de pollos maduros, mientras que la expresión de la isoforma B no cambia su expresión con este tratamiento (Syvala y cols., 1997).

Tanto en aves como en mamíferos con ovulación cíclica (roedores), o con ovulación refleja como el gato y el conejo, se han caracterizado dos poblaciones de RP por métodos bioquímicos e inmunohistoquímicos (MacLusky y McEwen, 1978; Cerbón y cols., 1989). Una de estas poblaciones es regulada a la alta por estrógenos y se localiza en varios núcleos

hipotalámicos, entre los que están el núcleo arcuato, el ventromedial, el periventricular, el preamilar y el área preóptica, mientras que la segunda población de RP no es regulada por estrógenos y se encuentra distribuida en varias regiones cerebrales como el cerebelo, la amígdala y la corteza cerebral (Cerbón y cols., 1989; McLusky y McEwen, 1980; Warembourg y cols., 1989). Ambos subtipos de RP presentan las mismas características fisicoquímicas e inmunológicas, lo que sugiere un origen común de estas proteínas pero con un mecanismo de regulación diferente (Cerbón y cols., 1989).

Se tienen evidencias de que la P4 puede ejercer acciones a nivel membranal ya que, en la corteza cerebral y el hipocampo, se han detectado sitios de unión a la hormona en preparaciones de membranas provenientes de terminales sinápticas aisladas (Towle y Sze, 1983; Ke y Ramírez, 1990). Se han descrito sitios de unión a P4 a nivel membranal en sinaptosomas del hipotálamo y del cuerpo estriado de la rata, con el uso de P4 acoplada a la molécula de albúmina. Esos sitios de unión a P4, al parecer, son regulados por estrógenos, ya que la ovariectomía disminuye significativamente el número de tales sitios, mientras que la administración de estrógenos lo aumenta (Tischkau y Ramírez, 1993).

### *3.4. PAPEL DE LA P4 EN EL FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.*

La participación de P4 y sus metabolitos en la modulación de la excitabilidad neuronal se ha descrito desde la década de 1940 cuando se demostraron los efectos anestésicos de estos esteroides (Selye, 1941); desde entonces hasta nuestros días, se ha incrementado el número de evidencias que resaltan la importancia de P4 y sus metabolitos en la regulación de la comunicación mediada tanto por neurotransmisores excitadores como inhibidores. La

administración intravenosa de P4 a ratas ovariectomizadas, sin un pretratamiento con estrógenos, disminuye la respuesta de las células de Purkinje del cerebelo a glutamato, un aminoácido excitador e incrementa las respuestas de las mismas células a un neurotransmisor inhibitorio como el GABA, 15 minutos después de la administración de la hormona. lo que sugiere un efecto de P4 a nivel membranar (Smith y cols., 1987; Smith, 1991).

Por otro lado, se ha informado que la microinyección de P4 en el bulbo raquídeo del gato, estimula la respiración al incrementar tanto la actividad del nervio frénico como la ventilación (Bayliss y cols., 1987). De esta manera, la P4 puede regular la respiración tanto a nivel central como a nivel pulmonar (Camacho-Arroyo y cols., 1994).

Por otra parte, la ansiedad observada durante el síndrome premenstrual se ha asociado a una disminución en la concentración de P4 por lo que esta hormona es frecuentemente usada en el tratamiento de este síndrome (Maddocks y cols., 1986). Se ha informado que diversos metabolitos de P4, como alopregnanolona, 5 $\alpha$ -pregnan-3 $\alpha$ -ol-20-ona y la pregnanolona, disminuyen la ansiedad en roedores (Wieland y cols., 1991; Bitran y cols., 1991) y al parecer están involucrados en los efectos ansiolíticos inducidos por P4 en el humano, ya que se ha demostrado una correlación significativa entre la disminución de ansiedad y el incremento en los niveles plasmáticos de estos metabolitos, después de la administración de P4 (Rodríguez y cols., 1986; Freeman y cols., 1993).

La P4 y sus metabolitos participan en la regulación de diferentes procesos asociados a la reproducción a nivel central (Beyer y González-Mariscal, 1991; Smith y cols., 1969; Feder y Marrone, 1977; Maggi y Perez, 1985). Se ha demostrado por diversos investigadores, que estos esteroides regulan la síntesis y la liberación del péptido liberador de gonadotropinas (LHRH) a nivel hipotalámico en las hembras. En los roedores se ha demostrado que P4 incrementa la actividad de las neuronas LHRHérgicas e induce tanto la expresión del gen que codifica para LHRH, como la liberación de este péptido (Lee y Smith, 1990; Kim y cols., 1989).

El incremento en la liberación de LHRH se ha observado también con la administración de algunos metabolitos de P4, como la 20 $\alpha$ -dihidroprogesterona o la

pregnanolona, tanto en animales con ovulación cíclica como en animales con ovulación refleja, por lo que se ha sugerido que los efectos de P4 sobre la liberación de LHRH pueden ser ejercidos a través de sus metabolitos (Lin y Ramirez, 1990).

Por otro lado, se tienen diversas evidencias que indican que, en los roedores, la administración de P4 tanto por vía sistémica como intrahipotalámica, posterior a la administración de estrógenos, induce la conducta de lordosis en las hembras en un período de una hora; lo cual facilita la cópula (McEwen, 1988).

En los roedores se ha encontrado que los efectos de P4 sobre la conducta de lordosis, dependen de la regulación de RP a nivel hipotalámico ya que, después del efecto inductor inicial de P4 sobre la conducta, las dosis subsecuentes de la hormona la inhiben. Esto se ha relacionado con el decremento en el número de RP inducido por la administración inicial de P4. Esta retroalimentación negativa se ha observado en animales con ovulación refleja como el conejo (Camacho-Arroyo y cols., 1994).

Los mecanismos moleculares involucrados en la inducción de la conducta de lordosis, después de la administración de P4 se desconocen; sin embargo, se tienen evidencias de que esta hormona induce cambios en la transcripción y la traducción en las células del SNC ya que sus efectos sobre la conducta sexual pueden ser bloqueados por inhibidores tanto de la síntesis de RNA como de proteínas (Parson y cols., 1982; Brown y cols., 1987).

La conducta de lordosis en roedores puede inducirse, con igual eficacia a la de P4, con la administración de algunos de sus metabolitos, como la  $5\alpha$ -pregnandiona, la  $3\beta,5\beta$ -pregnanolona, la  $5\alpha$ -dihidroprogesterona y la  $20\alpha$ -dihidroprogesterona; esta última, incluso, es más potente que P4 en la facilitación de la conducta sexual (Karavolas y Hodges, 1990; Kubli-Garfias y Whalen, 1977). De esta manera, la participación de P4 en la conducta de lordosis puede ser directa a través de la activación específica de algunos genes, o indirecta a través de sus metabolitos a nivel membranar (McEwen y cols., 1990).

### 3.5. CARACTERÍSTICAS DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA.

El ciclo sueño-vigilia es un fenómeno biológico rítmico que se manifiesta en algunas especies del reino animal con patrones electroencefalográficos y conductuales característicos de los diferentes taxa (Monier y Bremer, 1980). La vigilia (W) se caracteriza electroencefalográficamente por la presencia de ondas de alta frecuencia que van de 8-12 ciclos por segundo (cps) y bajo voltaje ( $< 50 \mu\text{V}$ ) así como por un tono muscular elevado y la manifestación de diversas conductas motoras.

El sueño consta de dos fases: el sueño de ondas lentas (SOL), sincronizado o quieto, y el sueño paradójico (SP) también llamado activo, desincronizado o con movimientos oculares rápidos. En el SOL se presenta una actividad lenta ( $< 5$  cps) de alto voltaje (100 - 200  $\mu\text{V}$ ) con un tono muscular medio. Grupos de ondas de mediana frecuencia (12-18 cps) conocidas como husos de sueño se observan también en esta fase, durante la cual disminuyen la temperatura corporal, la frecuencia cardíaca y la respiratoria (Jouvet, 1962).

Los eventos característicos del SP fueron analizados por primera vez por Aserinsky y Kleitman, quienes en 1953 describieron la aparición de movimientos oculares rápidos en el sueño y señalaron que durante esta fase se presentan las ensoñaciones. El SP siempre va precedido por una fase de SOL y en el humano aparece aproximadamente a los 90 minutos, (Aserinsky y Kleitman, 1953; Dement y Kleitman, 1957).

En el SP la actividad eléctrica cerebral es similar a la que se presenta durante la vigilia, sin embargo el tono muscular alcanza los niveles más bajos del ciclo sueño-vigilia.

El SP presenta dos tipos de fenómenos: los tónicos, que se manifiestan durante toda la etapa, y los fásicos, que ocurren solamente en episodios. La desincronización cortical, la atonía de los músculos posturales y la actividad theta (5 a 7 cps) del hipocampo, constituyen los fenómenos tónicos, mientras que los movimientos oculares rápidos, las sacudidas mioclónicas, las irregularidades cardiorespiratorias y la actividad ponto-geniculo-occipital representan a los eventos fásicos, (Jouvet, 1962; Dement y Kleitman, 1957; Hobson y cols., 1986).



La actividad ponto-geniculo-occipital está constituida por un grupo de potenciales que se presentan de manera secuencial en el puente, el núcleo geniculado lateral y la corteza visual y se presenta segundos antes de la aparición del SP, por lo que se le ha propuesto como un indicador de la generación del SP (Hobson y cols., 1986).

Los diversos estudios que se tienen sobre el ciclo sueño-vigilia indican que la formación reticular (FR) desempeña un papel fundamental en la regulación de este fenómeno (Jouvet, 1963; Hobson y cols., 1986).

### *3.6. MECANISMOS NEUROQUIMICOS DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA.*

Evidencias farmacológicas sugieren que las catecolaminas y la acetilcolina están involucradas en la regulación de la W (Jouvet, 1972; 1975). Jouvet propuso la hipótesis de que neuronas serotoninérgicas del hipotálamo anterior y del núcleo del rafe, son las responsables de la síntesis y acumulación de los factores de sueño durante la W. Esto sugiere que posiblemente la serotonina y el núcleo del rafe puedan componer el sistema activador del SOL (Jouvet, 1972).

La teoría de Jouvet propone también que en la producción del SP están involucrados tanto mecanismos noradrenérgicos como serotoninérgicos y colinérgicos. En gatos, la microinyección de agonistas colinérgicos dentro de la formación reticular pontina medial (FRPm), induce inmediatamente un estado prolongado de SP con las mismas características que se presentan naturalmente en un episodio de SP (Lydic y Baghdoyan, 1994). Registros intracelulares en rebanadas de cerebro de rata, han demostrado que 2/3 partes de las neuronas responden a la aplicación de carbacol, un agonista colinérgico, con una despolarización (Greene y cols., 1989). Tanto en ratas como en gatos, la estimulación de la FRP (Iwahara y cols., 1991), o la microinyección de carbacol en esta área producen atonía muscular (Taguchi y cols., 1992). La microinyección de carbacol al igual que la de idaxozan, un antagonista

adrenérgico, en la FRP de la rata aumenta la cantidad de SP (Gnadt y Pegram; 1986), así como la duración de cada episodio (Bier y McCarley, 1994).

Además de los neurotransmisores mencionados anteriormente, otros neuromoduladores o neurohormonas pueden participar en la regulación del ciclo sueño-vigilia (Jones, 1994). Sin embargo a la fecha, ningún fármaco aislado, neurotransmisor, neuromodulador o neurohormona, se ha identificado como el único o suficiente para la generación y mantenimiento del sueño o la vigilia. En su lugar, múltiples factores como las hormonas esteroideas se han involucrado en el inicio y mantenimiento de estos estados (Jones, 1994).

### *3.7. LA FORMACION RETICULAR PONTINA Y LA REGULACION DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA.*

Los datos disponibles sobre la regulación del ciclo sueño-vigilia en los mamíferos indican que la FRP está involucrada principalmente en la generación y el mantenimiento del SP (Jouvet, 1962; Hobson y cols., 1986).

Se ha observado que las lesiones electrolíticas de la FRP eliminan el SP (Friedman y Jones, 1984; Hobson, 1965; Jones, 1979), aunque las lesiones con ácido kaínico (que dañan principalmente a los somas neuronales) no provocan cambios en el patrón de sueño (Drucker-Colin y Pedraza, 1983).

Los registros de la actividad eléctrica de las neuronas de la FRP han demostrado una asociación importante entre la tasa de disparo neuronal y la fase del ciclo sueño-vigilia en la que se encuentra el animal. Se ha observado que durante la ejecución de movimientos específicos en la vigilia y durante el SP, las células de la FRP presentan una mayor frecuencia de disparo, mientras que durante el SOL, ésta es mínima (Hobson y cols., 1975; Siegel y cols., 1981). Se ha observado que durante el SP hay un incremento en el metabolismo de la glucosa en las neuronas de la FRP, lo cual es indicio de una mayor actividad de estas células en esta fase de sueño (Lydic y cols., 1991).

Los diferentes componentes del SP también se han asociado a cambios en la excitabilidad de las neuronas de la FRP. Registros intracelulares han demostrado una despolarización de las neuronas premotoras de la FRP involucradas en la inhibición de las motoneuronas espinales responsables de mantener el tono muscular, produciendo de esta manera la atonía característica del SP (Fung y cols., 1982).

Respecto a los eventos fásicos del SP, se ha observado que la estimulación de la porción caudal de la FRP produce movimientos oculares conjugados y que las neuronas de la FRP presentan descargas que preceden o se asocian con los potenciales ponto-genículo-occipitales, los cuales son eliminados al lesionar la FRP (Hobson y cols., 1986; Cohen y Komatsuzaki, 1972).

Por otra parte, existen datos que indican que un incremento en la transmisión colinérgica de la FRP induce SP, mientras que una disminución llega a suprimirlo. La administración en esta zona de agonistas colinérgicos, tanto muscarínicos como nicotínicos, y de inhibidores de la acetilcolinesterasa (enzima que degrada a la acetilcolina) como la neostigmina inducen SP, en tanto que la aplicación de antagonistas muscarínicos (escopolamina y atropina) y nicotínicos (galamina) bloquea el efecto inductor de SP producido por los agonistas colinérgicos (Gnadt y Pregram, 1986; Baghdoyan y cols., 1984; Hobson y cols., 1983; Velazquez-Moctezuma y cols., 1991).

### *3.8. LA P4 Y EL CICLO SUEÑO-VIGILIA*

Durante el ciclo menstrual y el embarazo se observan cambios en el ciclo sueño-vigilia (Williams y cols., 1974; Ishizuka y cols., 1989). Durante la fase lútea, donde los niveles de P4 presentan su concentración más alta (de 216.0 a 526.4 pmol/L), se presenta una disminución en la latencia a SP, mientras que en la fase folicular, donde los niveles de P4 son los menores (216.0) se observa una prolongada latencia a SP (Lee y cols., 1990). Hartmann reporta que existe un incremento en la cantidad de SP, justo antes del periodo menstrual (Hartmann, 1966:

1967) y Ho en su estudio expone que el SOL decrece justo antes de la menstruación, pero menciona que no se aprecia ninguna alteración en algún otro parámetro del sueño (Ho 1972).

Durante el ciclo menstrual también hay variación en el poder espectral y en el rango de frecuencia del EEG durante el sueño, así como cambios en la frecuencia de husos de sueño, ya que éstos aumentan justo antes del periodo menstrual; en la fase lútea del ciclo menstrual también se observa un aumento en el SOL y una disminución de la W, así como una menor presencia de trastornos en la respiración durante el sueño (Stahl y cols., 1985). Además se ha demostrado que la P4 participa como estimulante de la ventilación en el sueño durante la fase lútea del ciclo menstrual (England y Farhi, 1976). Este efecto no sólo se observa en las mujeres sino también a hombres que presentan problemas de ventilación durante el sueño (Skatrud y cols., 1978). Algunas mujeres suelen quejarse frecuentemente de trastornos de sueño asociados con la menstruación y el embarazo (Sheldrake y Cormack, 1976; Ishizuka y cols., 1994; Diver y cols., 1996).

Por otro lado en la Clasificación Internacional de los Trastornos de Sueño, se describe un incremento del tiempo de sueño y un aumento en las somnolencias durante el día en el primer trimestre del embarazo, mientras que el final del embarazo está relacionado con despertares y generalmente con un deterioro en la eficiencia del sueño (American Sleep Disorders Association, 1990). El significativo cambio en el SP hacia el fin del embarazo, es confuso, pero puede estar relacionado con los altos niveles circulantes de P4 durante esta etapa (Kawakami y Sawyer, 1964). Aunque a finales del embarazo las mujeres exhiben principalmente dificultades para el mantenimiento del sueño, esto puede ser el resultado de la incomodidad, dolores o molestias relacionados con el alumbramiento (Hertz, 1991).

Durante el embarazo los patrones de sueño varían a través de los tres trimestres de gestación; se podría asumir que tales variaciones son consecuencia de los marcados cambios hormonales que ocurren durante el embarazo (Bruner y cols., 1994); se ha mostrado que la pregnenolona, precursor de la P4, cuyos niveles se incrementan durante el embarazo, atenúa la potencia del SOL y también afecta al rango de frecuencia de los husos de sueño (Steiger y cols., 1993). La potencia en las frecuencias de los husos de sueño, con una actividad baja y

rango medio de frecuencias, se reduce considerablemente a finales del embarazo. cuando varias hormonas alcanzan sus niveles mas altos (Serón-Ferré y cols., 1993).

La P4 se utiliza como tratamiento para varios trastornos asociados con la hiperventilación alveolar (Kryger y cols., 1978; Morrison y Goldman, 1979); además se ha comparado a mujeres premenopáusicas con mujeres postmenopáusicas (Vermeulen, 1976), encontrando que en éstas últimas, se presenta un aumento en los trastornos de la respiración, como la desaturación de oxígeno (Block y cols., 1979).

Se ha observado que con la administración de medroxiprogesterona, un agonista de la P4, se disminuye el número de apneas obstructivas durante el sueño y se reducen las excesivas somnolencias que se presentan durante el día en estos pacientes (Kingman y cols., 1981). En mujeres postmenopáusicas, la medroxiprogesterona reduce la duración de las hipoapneas, aunque no el número de episodios (Block y cols., 1981). Al igual que en mujeres, en hombres se utiliza el tratamiento con progestágenos para aliviar los trastornos de la respiración durante el sueño, aunque en algunos casos su eficacia es limitada (Orr y cols., 1979; Skatrud y cols., 1981; Strohl y cols., 1981; Dolly y Block, 1983; Rajagopal y cols., 1986).

En un estudio en ratas se evidenció que hay una gran similitud en los cambios electroencefalográficos inducidos por P4 y los moduladores agonistas del receptor GABA<sub>A</sub> durante el sueño, y por otro lado también se observó un incremento en la latencia a SP con altas concentraciones de P4 (Lancel y cols., 1996).

Las hormonas sexuales afectan una gran variedad de funciones conductuales y fisiológicas. En ratas hembras, la inyección de estrógenos y/o P4 produce cambios en la conducta sexual (Davidson y cols., 1968; Edwards y cols., 1968), además de alterar la W nocturna (Colvin y cols., 1968). Por otro lado, la temperatura corporal aumenta durante la noche del proestro, cuando los niveles de estrógenos son más altos, y el efecto se extiende hasta la fase de luz el día del estro (McLean y Coleman, 1971; Kent y cols., 1991). Se ha encontrado que, en la noche del proestro las ratas hembras, son más receptivas a los machos, presentándose una reducción en la cantidad de sueño nocturno en estos animales, pero

inmediatamente después de la cópula existe un significativo incremento de SOL y SP (Zhang y cols., 1995).

La observación de los patrones de sueño en ratas pseudoembarazadas demuestra que existe una reducción de sueño nocturno en el proestro, cuando existe un aumento de hormonas ováricas y pituitarias, pero inmediatamente después de la cópula existe un significativo incremento de SOL y SP nocturnos, el cual perdura durante los tres periodos del pseudoembarazo (Zhang, 1995). En base a esto, se piensa que estas hormonas están estrechamente relacionadas con el pseudoembarazo y con la modulación del sueño (Garland y cols., 1987).

#### **4.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La P4 posee propiedades hipnagógicas; sin embargo, hasta el momento se desconocen los sitios dentro del SNC en los que esta hormona ejerce dichos efectos; por otro lado, la FRP es un sitio clave para la regulación del ciclo sueño-vigilia, por lo que en este trabajo se planteó el estudio de los efectos de la administración de P4 sobre el ciclo sueño-vigilia de la rata, mediante microinyecciones de esta hormona en la FRP.

#### **5.- OBJETIVO**

- Valorar el efecto de la P4 en la FRP sobre el número, la duración, el porcentaje y la latencia de cada una de las fases del ciclo sueño-vigilia de la rata, tanto en hembras ovariectomizadas como en machos intactos.

## **4.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La P4 posee propiedades hipnogénicas; sin embargo, hasta el momento se desconocen los sitios dentro del SNC en los que esta hormona ejerce dichos efectos; por otro lado, la FRP es un sitio clave para la regulación del ciclo sueño-vigilia, por lo que en este trabajo se planteó el estudio de los efectos de la administración de P4 sobre el ciclo sueño-vigilia de la rata, mediante microinyecciones de esta hormona en la FRP.

## **5.- OBJETIVO**

- Valorar el efecto de la P4 en la FRP sobre el número, la duración, el porcentaje y la latencia de cada una de las fases del ciclo sueño-vigilia de la rata, tanto en hembras ovariectomizadas como en machos intactos.



## 6.- MATERIALES Y METODOS

### 6.1. ANIMALES DE EXPERIMENTACION

Se utilizaron ratas hembras y machos (250-300 g) de la cepa Wistar, que se mantuvieron bajo un ciclo de luz:oscuridad 12:12 h, con agua y alimento disponible *ad libitum*.

Las ratas hembras se ovariectomizaron bajo anestesia total con ketamina a una dosis de 80 mg/kg i.p. Quince días después de la cirugía, los animales fueron implantados con los electrodos y la cánula correspondientes para el registro del sueño.

A los machos se les realizó la cirugía estereotáxica sin ningún tratamiento previo.

### 6.2. PREPARACION DE CANULA Y ELECTRODOS

La cánula guía se elaboró a partir de una aguja de acero inoxidable calibre 21, de 1.5 cm de longitud, y su tapón fue elaborado a partir de una aguja calibre 27, al igual que la cánula de microinyección, la cual se encuentra conectada a un tubo de polietileno.

Los electrodos para el registro del EMG fueron elaborados con alambre de acero inoxidable aislado de 200  $\mu\text{m}$  de diámetro, al que se le retiró el aislante de ambas puntas para la recepción de la señal. Los electrodos para EEG se elaboraron con alambre de acero inoxidable aislado de 200  $\mu\text{m}$  de diámetro al cual se le soldó cable en una de las puntas, formando un ángulo de 90°; finalmente para los electrodos del EOG se utilizó alambre de acero inoxidable de 100  $\mu\text{m}$  y en uno de sus extremos se colocó un punto de soldadura para que estuviera en contacto con la órbita ocular del animal; el punto de soldadura se colocó con el fin de evitar que el electrodo se saliera y dañara la órbita ocular.

### 6.3. IMPLANTACION DE CANULA Y ELECTRODOS

Los animales fueron anestesiados con ketamina (Imalgen 1000) a una dosis de 80 mg/kg i.p., y fueron colocados en un aparato estereotáxico. La colocación del animal en el marco estereotáxico fue de la siguiente manera: en los conductos auditivos se introdujeron los lápices o barras estereotáxicas con el cuidado de no lastimar o dañar el sistema auditivo, los lápices fueron fijados con los tornillos a las barras paralelas de manera que quedaran centradas. Para asegurar la sujeción del animal, se montaron los dientes incisivos sobre la barra y se apretó la pinza sobre la nariz (Fig. 2).

Una vez montado el animal en el estereotáxico se lavó y se rasuró la parte superior de la cabeza. Se realizó una incisión ligeramente atrás de los ojos y sobre la línea media de los mismos, se retrajeron los músculos temporales y se limpió el perostio con un bisturí hasta dejar expuesto el cráneo. De acuerdo con las coordenadas: A.P.- 9.5, L:0.8 y V:9.0 y tomando como referencia a Bregma (Atlas Estereotáxico de Paxinos y Watson, 1982), se marcó el sitio donde se realizó el trépano para la FRP derecha; una vez hecho el trépano, se colocó la cánula guía de tal forma que ésta quedara 4 mm arriba del núcleo deseado. Posteriormente se realizaron cinco trépanos más, uno para tierra, dos para los electrodos de corteza para el registro del electroencefalograma (EEG) y dos en los extremos para los tornillos de acero inoxidable que se colocan para una mayor sujeción del conector al cráneo (Fig. 3). También se colocaron dos electrodos en los músculos del cuello, para el registro del electromiograma (EMG) y dos en la órbita ocular del ojo izquierdo para el registro del electrooculograma (EOG). Posteriormente, todos los electrodos se soldaron al conector para colocarles una capa de acrílico dental y que quedaran bien fijos al cráneo; y se cerró la piel con sutura de nylon de 4 ceros (Fig. 4). Una vez suturado el animal, se le administró gamicina en toda la herida para evitar infecciones. En la cánula guía se colocó una aguja (calibre 27) de 1.5 cm de largo, a manera de tapón para evitar que ésta se tapara.

Una vez terminada la cirugía estereotáxica se permitió la recuperación de los animales y su habituación a las condiciones de registro, durante 5 días.

#### *6.4. PREPARACION DE LA P4.*

La progesterona se preparó de la siguiente manera: 7.5 mg de P4 fueron disueltos en 150  $\mu$ L de propilenglicol + 50  $\mu$ L de etanol absoluto, a una temperatura de 25°C. Para la realización de cada uno de los experimentos, se utilizó una solución nueva de P4. Como vehículo se utilizó una solución de 150  $\mu$ L de propilenglicol + 50  $\mu$ L de etanol.

#### *6.5. MICROINYECCION DE P4 EN LA FORMACION RETICULAR PONTINA Y REGISTRO DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA.*

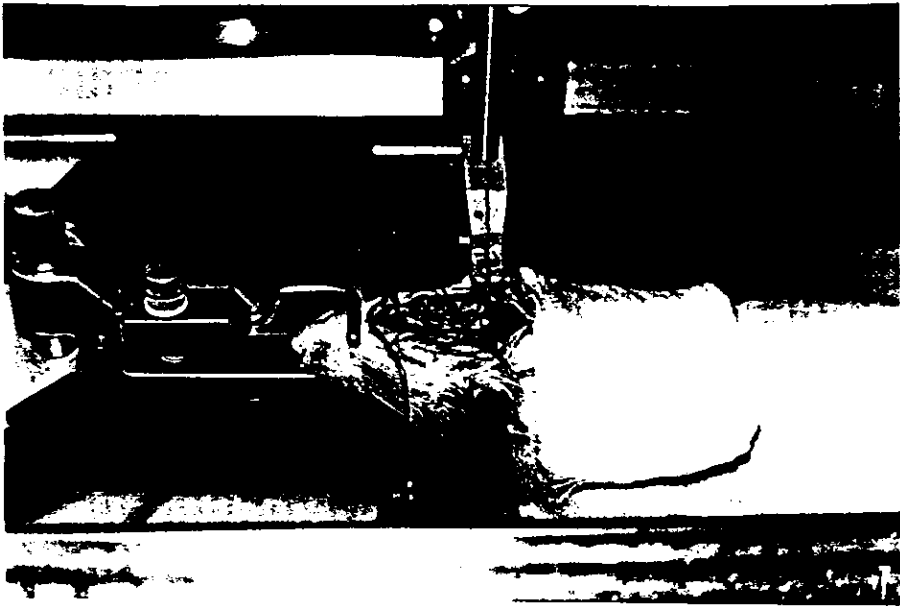
Los registros se realizaron durante seis horas de 8:00 a 14:00 h durante 3 días consecutivos, al inicio de cada registro se realizó la microinyección. El primer día se realizó el registro control en el cual solo se introdujo la cánula de inyección (microinyección simulada), el segundo día a una rata se le inyectó vehículo (0.2  $\mu$ L) y a otra P4 (7.5  $\mu$ g/ 0.2  $\mu$ L); así mismo el tercer día se inyectó a las ratas, pero invirtiendo los fármacos, para cada una de ellas. Para realizar la microinyección, se colocó la cánula de microinyección en el interior de la cánula guía, y se conectó a una microjeringa Hamilton de 10  $\mu$ L por medio del tubo de polietileno. La cánula de microinyección sobresalió 4 mm por debajo de la cánula guía con el fin de evitar que las sustancias se difundieran por capilaridad en ésta. Posteriormente se hizo descender el émbolo del micromanipulador. El fármaco se inyectó en la FRP derecha dejando la cánula insertada durante 3 minutos para asegurar que el fármaco fuera capturado en ese sitio.

Los registros se realizaron con un polígrafo Grass modelo 78-D, a una velocidad de 2.5 mm/seg, y se evaluaron las siguientes fases del ciclo sueño-vigilia:

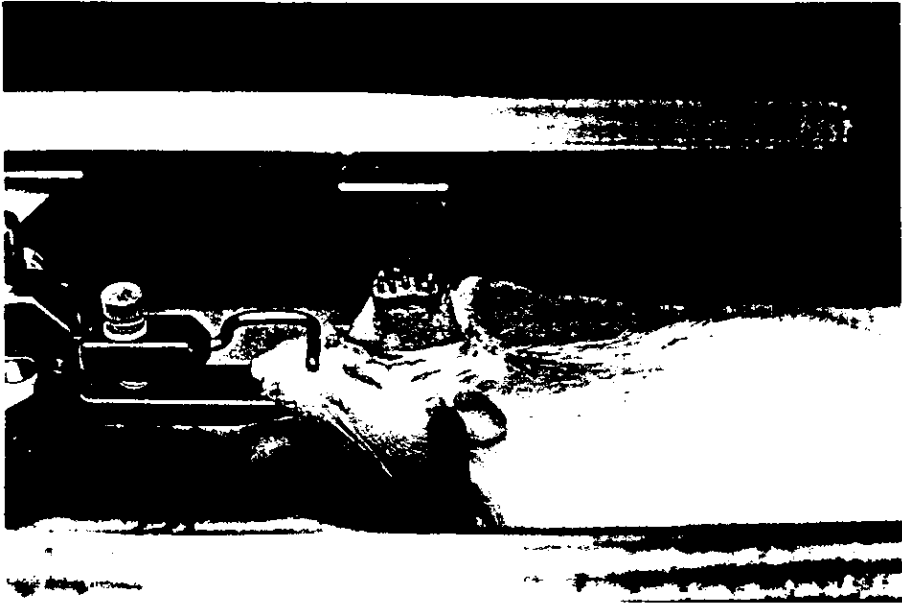
*W*: Actividad eléctrica de bajo voltaje, de frecuencia alta, con gran actividad muscular y movimientos oculares variables.

*SOL*: Actividad EEG de alto voltaje de menor frecuencia, espigas de sueño, movimientos oculares lentos y tono muscular medio.

*SP*: Actividad EEG de bajo voltaje, movimientos oculares rápidos y atonía muscular.



**FIG. 3. TREPANACION E IMPLANTACION DE ELECTRODOS.** Se realizaron trepanos con fresas de acero; dos para la colocación de tornillos de acero inoxidable, uno para la introducción de la cánula guía, uno a cada lado de la sutura parieto-frontal para la inserción de los electrodos en la corteza motora para el registro del EEG, y uno en la parte anterior del cráneo para la implantación del electrodo de tierra. Se colocaron dos electrodos en la órbita ocular para el registro del EOG y dos en los músculos del cuello para el registro del EMG



**FIG. 4. FIJACION DE CONECTOR Y ELECTRODOS.** Los electrodos se soldaron a un conector hembra de siete polos y éstos, junto con la cánula guía, se fijaron al cráneo con acrílico dental. Se administró garamicina sobre la herida y se cerró la piel con sutura de nylon de cuatro ceros.

## 6.6. ANALISIS HISTOLOGICO

Al finalizar la fase experimental, los animales fueron inyectados con azul de pontamina (0.2  $\mu$ L) para verificar el sitio de la microinyección. Se les inyectó 1 mL de pentobarbital i.p., y se perfundieron por vía intracardiaca, con solución salina y heparina para lavar, y formol al 3.7% en salina para fijar el tejido cerebral. Se extrajo el cerebro y se colocó en formol al 3.7% de 24 a 48 h., posteriormente se lavó cada cerebro con agua corriente por unas horas. Los cortes se realizaron en un microtomo de congelación con un espesor de 120  $\mu$ m; éstos fueron montados en un portaobjetos con gelatina y se determinó el sitio de inyección de acuerdo con el Atlas de Paxinos y Watson (1982).

## 6.7. ANALISIS DE RESULTADOS

Los registros fueron calificados y cuantificados manualmente en las siguientes fases: W, SOL y SP (Fig. 5); se analizó el número, la duración, el porcentaje y la latencia de cada una de las fases. Los datos obtenidos de cada uno de los registros en ambos sexos, se analizaron mediante un ANOVA, para muestras repetidas, seguida de una prueba t de Student pareada.

# FASES DEL CICLO SUEÑO - VIGILIA

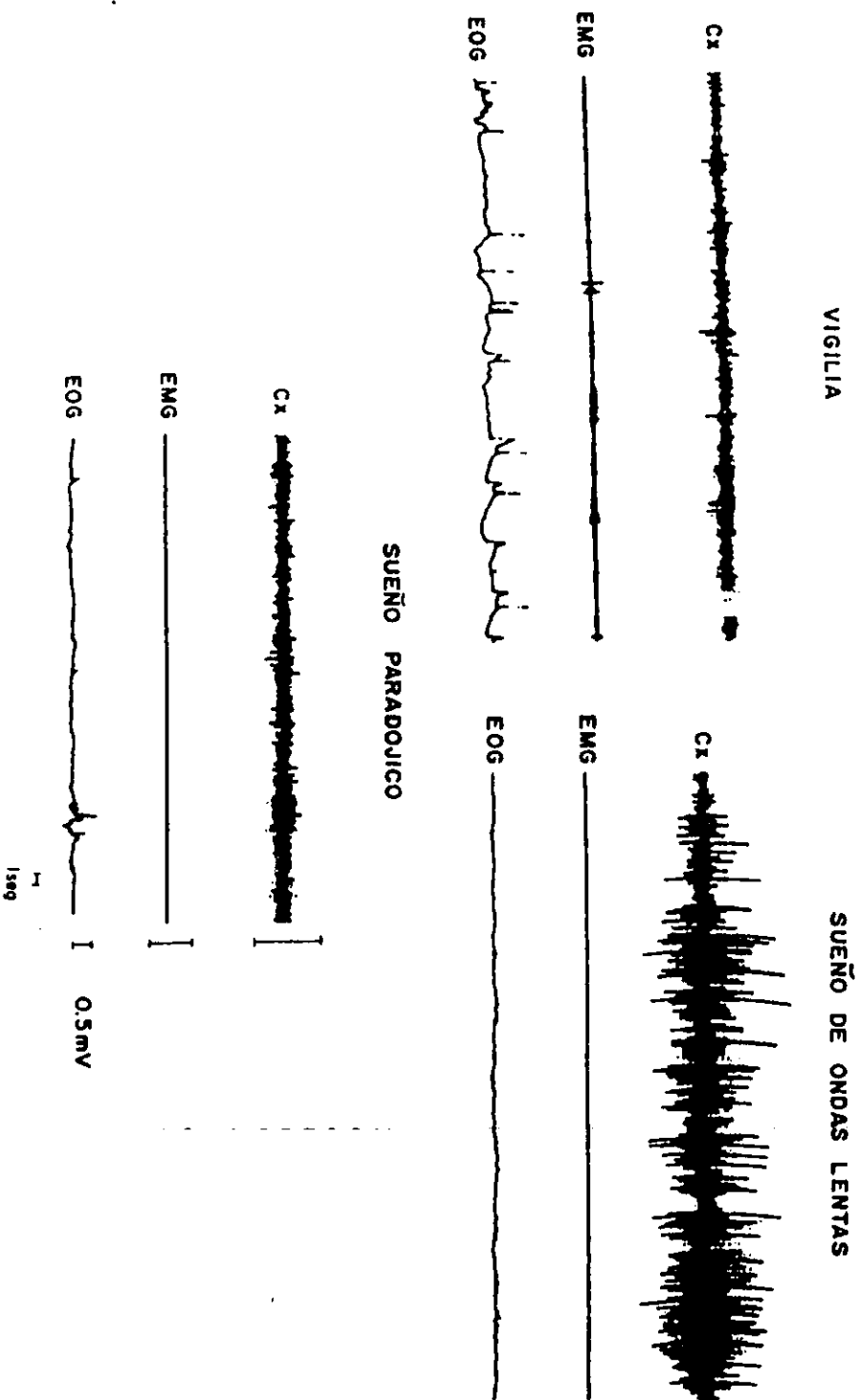


Fig. 5. FASES DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA. Se observan las características electrográficas de las fases del ciclo sueño-vigilia de una rata. Cx Corteza cerebral, EMG electromiograma y EOG electrooculograma (Imagen tomada de un registro del presente trabajo).



## 7.- RESULTADOS

La microinyección de P4 en la FRP redujo significativamente la latencia a SP tanto en machos como en hembras ovariectomizadas. En machos la reducción fue de 55 % mientras que en hembras fue de 63%. En ningún caso se modificó el porcentaje ó la duración de las fases de sueño (Tablas 1 y 2). Aunque se observó una tendencia hacia el aumento en el número de episodios de SP, en machos (55%) y en hembras (39%), en comparación con la microinyección de vehículo; estos cambios no fueron estadísticamente significativos. La W y el SOL no se modificaron por la inyección de P4.

Las microinyecciones de P4 se localizaron en el núcleo reticularis pontis caudalis (Fig. 6) y aunque hubo ligeras diferencias en los sitios de inyección, los registros electrográficos de los animales fueron similares en todos los casos.

## SITIOS DE INYECCION EN LA FRP DE LA RATA



-9.3



-9.8



-10.3



-10.8

Fig. 6. Localización de las microinyecciones de P4 (7.5  $\mu\text{g}/0.2 \mu\text{L}$ ) en la FRP de ratas hembras ( $\Delta$ ) y machos ( $\bullet$ ). Las coordenadas de los esquemas fueron tomadas del atlas de Paxinos y Watson (1982). Cada marca representa el sitio de dos microinyecciones en ambos casos. El sitio de inyección es el núcleo reticularis pontis caudalis.

**TABLA 1**

**EFFECTO DE LA MICROINYECCION DE P4 EN LA FRP SOBRE EL CICLO SUEÑO-VIGILIA DE LA RATA HEMBRA**

	<b>INYECCION SIMULADA</b>	<b>VEHICULO (0.2 µL)</b>	<b>P4 (7.5 µg/0.2 µL)</b>
<b>VIGILIA</b>			
Porcentaje	25.5 ± 2.8	27.9 ± 2.5	20.4 ± 1.0
Numero	26.7 ± 3.7	25.7 ± 2.1	25.7 ± 4.6
Duración (min)	4.1 ± 1.1	4.2 ± 0.5	3.5 ± 0.7
<b>SOL</b>			
Porcentaje	69.7 ± 2.7	67.7 ± 2.4	73.3 ± 1.8
Numero	34.2 ± 4.0	32.0 ± 2.0	35.8 ± 4.0
Duración (min)	8.1 ± 1.1	8.1 ± 0.6	7.9 ± 0.7
Latencia (min)	15.6 ± 4.5	22.0 ± 3.8	11.1 ± 4.2
<b>SP</b>			
Porcentaje	4.8 ± 0.5	4.3 ± 0.5	6.1 ± 1.0
Numero	10.2 ± 1.3	8.5 ± 1.2	11.8 ± 1.6
Duración (min)	1.8 ± 0.2	1.9 ± 0.1	1.9 ± 0.1
Latencia (min)	116.5 ± 18.2	83.8 ± 9.3	43.5 ± 6.1 **

Los valores representan el promedio ± error estándar de 6 animales ovariectomizados, durante 6 horas de registro. El porcentaje de cada fase se expresó respecto al tiempo total de registro. \*\*p < 0.05 comparado con la inyección simulada y el vehículo.

**TABLA 2****EFFECTO DE LA MICROINYECCION DE P4 EN LA FRP DE LA RATA MACHO.**

	<b>INYECCION SIMULADA</b>	<b>VEHICULO (0.2 µL)</b>	<b>P4 (7.5 µg/0.2 µL)</b>
<b>VIGILIA</b>			
Porcentaje	30.6 ± 5.3	30.9 ± 5.4	29.7 ± 3.8
Número	31.3 ± 4.9	38.3 ± 2.2	41.0 ± 5.1
Duración (min)	4.0 ± 0.7	3.1 ± 0.7	2.9 ± 0.5
<b>SOL</b>			
Porcentaje	67.7 ± 5.1	66.7 ± 5.4	67.8 ± 3.7
Número	34.7 ± 4.7	41.3 ± 1.6	47.8 ± 3.5
Duración (min)	8.0 ± 1.1	6.1 ± 0.4	5.2 ± 0.4
Latencia (min)	16.9 ± 4.6	14.3 ± 2.8	12.3 ± 5.2
<b>SP</b>			
Porcentaje	1.7 ± 0.6	2.4 ± 0.7	2.5 ± 0.7
Número	5.0 ± 0.9	5.2 ± 0.8	8.0 ± 1.2
Duración (min)	1.1 ± 0.2	1.6 ± 0.4	1.0 ± 0.1
Latencia (min)	127.3 ± 35.0	123.6 ± 19.5	57.1 ± 11.6 **

Los valores representan el promedio ± error estándar de 6 animales, durante 6 horas de registro. El porcentaje de cada fase se expresó respecto al tiempo total de registro. \*\*p < 0.05 comparado con la inyección simulada y el vehículo.

## 8.- DISCUSION

Nuestros resultados se correlacionan con lo demostrado durante la fase lútea del ciclo menstrual cuando los niveles de P4 son altos, en donde se observa una disminución en la latencia a SP, además de un aumento en la cantidad de esta misma fase (Lee y cols., 1990; Hartmann, 1966; 1967). Durante el embarazo también se observa algo parecido, ya que durante el último trimestre la cantidad de SP aumenta, (American Sleep Disorders Association, 1990), aunque no podríamos asegurar que este efecto sólo se deba a la P4, ya que otras hormonas que se secretan durante el embarazo, al igual que la P4 alcanzan sus niveles más altos en este último trimestre (Kawakami y Sawyer, 1964).

La reducción en la latencia a SP así como la tendencia hacia un incremento en el número de episodios de SP, después de la administración de P4, observadas en nuestro trabajo, sugiere que esta hormona esteroide en la FRP debe estar involucrada en la regulación de la iniciación del SP, pero no en el mantenimiento de esta fase de sueño, ya que no incrementa la duración del SP.

Aunque todas las inyecciones fueron localizadas en el núcleo reticularis pontis caudalis de la FRP (Fig. 6), no se descarta la posibilidad de que la inducción de SP por P4 pudiera deberse a su acción sobre otras regiones, tales como el núcleo reticularis pontis oralis, el trigémino y el núcleo facial, producido por la difusión de la hormona desde el sitio de inyección a otras áreas, ya que en la generación y mantenimiento de las diferentes fases del sueño, se encuentran involucradas diversos núcleos del SNC, y el SP es activado y regulado por diversas áreas. De manera contraria a nuestros resultados se ha reportado un incremento en la latencia a SP con la administración de concentraciones altas de P4 (180 mg/kg) en ratas macho (Lancel y cols., 1996) y ésta diferencia puede deberse a las dosis y la vía de administración de la hormona, aunque también existe la posibilidad de que la P4 module la iniciación de SP a través de diferentes vías dentro del cerebro.

Por otro lado se ha observado que la administración oral de P4 en hombres disminuye la latencia a SOL y aumenta la fase 2 del sueño (Friess y cols., 1997); esto nos evidencia que la P4 posiblemente actúa en otras áreas del SNC, modificando las diferentes fases del sueño, y no sólo el SP. En un reporte se menciona que después de la administración de P4 se encontraron niveles altos de dos metabolitos de la P4: la alopregnenolona (3 $\alpha$ -hidroxi,5 $\alpha$ -dihidroprogesterona) y la pregnenolona (3 $\alpha$ -hidroxi,5 $\beta$ -dihidroprogesterona) (Friess y cols., 1997), lo que nos da la pauta para pensar que el efecto que estamos observando no sea debido a la P4 como tal, sino a alguno de sus metabolitos, ya que varias de las acciones neurales de la P4 están mediadas por éstos (Camacho-Arroyo y cols., 1995).

Se ha propuesto que los efectos ansiolíticos e hipnóticos de P4 no son directamente producidos por la hormona, pero sí indirectamente a través de sus metabolitos reducidos como la 5 $\alpha$ - y 5 $\beta$ -pregnenolona (Bitran y cols., 1993; Lancel y cols., 1996; Lancel y cols., 1997). La administración sistémica de los metabolitos disminuye la latencia a SOL sin modificar la latencia de SP (Friess y cols., 1997); sin embargo, no se debe descartar la posibilidad de que los efectos de la P4 sobre la latencia a SP sean producidos por sus metabolitos. El metabolismo de la P4 en la FRP, hasta el momento, es desconocido.

Los mecanismos involucrados en la regulación de la iniciación de SP por P4 en la FRP son desconocidos. Los cambios en la inducción de SP por P4 pueden deberse a la interacción con los RP. Esto puede apoyarse por reportes que indican la presencia de RP en la formación reticular del tallo cerebral de la rata, detectados por hibridación *in situ* e inmunohistoquímica (Kastrup y cols., 1998). La P4 también puede modificar el sueño a través de la modulación de receptores a GABA<sub>A</sub>, ya que esta hormona regula la neurotransmisión GABAérgica, además de los cambios en la arquitectura del sueño. Los cambios inducidos por la administración sistémica de P4, como el incremento en los pre-SP, son similares a los observados con la administración de agonistas del GABA<sub>A</sub> (Lancel y cols., 1996). Sin embargo, la microinyección de agonistas del GABA<sub>A</sub>, como el muscimol en la FRP, en contraste con la P4, incrementa la W y disminuye el SOL (Camacho-Arroyo y cols., 1991).

Se ha propuesto que para el disparo y mantenimiento de SP existe un triple mecanismo neuroquímico: serotoninérgico, colinérgico y noradrenérgico (Jouvet, 1969); ésto permite pensar que el efecto de la P4 sobre la generación de SP podría estar dado por la modulación de cualquiera de estos mecanismos. Los efectos de la P4 en el SP pueden ser a través de la neurotransmisión colinérgica en la FRP, ya que existe mucha información sobre el papel clave de la acetilcolina en la iniciación y mantenimiento del SP (Bourgin y cols., 1995; Gnadt y Pegram, 1986; Velázquez-Moctezuma y cols., 1991), y se ha reportado que la P4 aumenta la liberación de acetilcolina en preparaciones neuromusculares de rana (Meiri, 1986).

En el presente trabajo se encontró que la microinyección de P4 en el núcleo reticularis pontis caudalis de la FRP en la rata disminuye la latencia a SP. Con estos resultados podemos sugerir que la P4 participa en la regulación de esta fase del sueño a través de sus efectos en la FRP.

Cabe mencionar que este trabajo sólo se realizó con P4, y en un núcleo específico de la FRP (núcleo reticularis pontis caudalis), y que una perspectiva a futuro sería realizar experimentos donde se usarán varios metabolitos de P4 dentro de este mismo núcleo y comparar los resultados con los obtenidos en el presente trabajo, para evaluar tanto los efectos de la hormona como tal, como los de sus metabolitos. También se podría evaluar la microinyección de esta hormona en núcleos cercanos al núcleo reticularis pontis caudalis, para analizar si el efecto sólo se observa en este núcleo específico, o también se presenta en otros núcleos de la FRP.

## **9.- CONCLUSIONES**

- La P4 participa en la regulación de la iniciación del SP a nivel de la FRP en la rata modificando la excitabilidad neuronal en la FRP.
- La administración de P4 en la FRP de ratas machos intactos y hembras ovariectomizadas disminuye la latencia a SP sin modificar la W y el SOL.
- La FRP está involucrada en la inducción de SP provocado por P4 en la rata.



## 10.- REFERENCIAS

- Aserinsky E, Kleitman N. Regulatory occurring periods of eye motility an concurrent phenomena during sleep. *Science*. 118:273-274; 1953.
- American Sleep Disorders Association. The international classification of sleep disorders. First edition, prepared by the Sleep Disorders Classification Committee, M Thorpy, Chairman. Kailey. Kansas. 1990.
- Baghdoyan HA, Monaco AP, Rodrigo-Angulo ML, Assens F, McCarley RW, Hobson, JA. Microinjection of neostigmine into the pontine reticular formation of cats enhances desynchronized sleep signs, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 231:173-180; 1984.
- Bayliss DA, Milhorn DE, Gallman EA, Cidlowski JA. Progesterone stimulates respiration through a central nervous system steroid receptor-mediated mechanism in cat. *Proc Natl Acad Sci USA*. 84:7788-7792; 1987.
- Beyer C, González-Mariscal G. Effects of progesterone and natural progestins in brain. In : Negro Vilar A; Pérez-Palacios G, eds. *Hormones, reproduction growth and development*. New York. Raven Press: 199-208; 1991.
- Bier MJ, McCarley RW. REM-enhancing effects of the adrenergic antagonist idazoxan infused into the medial pontine reticular formation of the freely moving cat. *Brain Res*. 634: 333-338; 1994.

- Blaustein JD, Feder HH. Nuclear progestin receptors in guinea pig brain measured by an in vitro exchange assay after hormonal treatments that affect lordosis. *Endocrinology* 106:1061-1069; 1980.
- Block AJ, Wynee JW, Boysen PG. Sleep disordered breathing and nocturnal oxygen desaturation in postmenopausal women. *Clin Res.* 27:759A; 1979.
- Block AJ, Wynee JW, Boysen PG, Lindsey S, Martin C, Canton B. Menopause, medroxyprogesterone and breathing during sleep. *Am J Med.* 70:506-510; 1981.
- Bougin P, Escourrou P, Gaultier C, Adrien, J. Induction of rapid eye movement sleep by carbachol infusion into the pontine reticular formation in the rat. *Neuro Report.* 6:532-536; 1995.
- Brann KW, Hendry LB, Mahesh VB. Emerging diversities in the mechanism of action of steroid hormones. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* 52:113-133; 1995.
- Britan D, Hilvers RJ, Kellog CK. Anxiolytic effects of 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -[ $\beta$ -pregnan-20-one]; endogenous metabolites of progesterone that are effective at the GABA<sub>A</sub> receptor. *Brain Res.* 561:157-161; 1991.
- Brown TJ, Moore MJ, Blaustein JD. Maintenance of progesterone-facilitated sexual behavior in female rats requires continued hypothalamic protein synthesis and nuclear progestin receptor occupation. *Endocrinology.* 121:298-304; 1987.
- Brunner DP, Münch M, Biedermann K, Huch R, Huch A, Borbély AA. Changes in sleep and sleep electroencephalogram during pregnancy. *Sleep.* 17:576-582; 1994.

- Camacho-Arroyo I, Alvarado R, Manjarrez J, Tapia R. Microinjections of muscimol and bicuculline into the pontine reticular formation modify the sleep-waking cycle in the rat. *Neurosci. Lett.* 129: 95-97; 1991.
- Camacho-Arroyo I, Ruiz A, Gamboa-Domínguez A, Pérez Palacios G, Cerbón MA. Immunohistochemical localization of intracellular progesterone and glucocorticoid receptors in the rabbit lung. *J Endocrinol.* 142:311-316; 1994.
- Camacho-Arroyo I, Pérez-Palacios G, Pasapera AM, Cerbón MA. Intracellular progesterone receptors are differentially regulated by sex steroid hormones in the hypothalamus and the cerebral cortex of the rabbit. *J Steroid Biochem Molec Biol.* 50:299-303; 1994.
- Camacho-Arroyo I, Pasapera AM, Pérez-Palacios G, Cerbón MA. La progesterona y sus metabolitos en el funcionamiento del sistema nervioso central. *Rev. Inv. Clin.* 47:329-340; 1995.
- Carey MP, Aniszawsky CA, Fry JP. Metabolism of progesterone in mouse brain. *J. Steroid Biochem Molec Biol.* 50: 213-7; 1994.
- Cerbón MA, Martínez M, Pérez-Palacios G. Oestrogen-insensitive progestin receptors in the central nervous system: physicochemical and immunoreactive characteristics. *J Neuroendocrinol.* 1: 292-298; 1989.
- Cohen B, Komatsuzaki A. Eye movements induced by stimulation of the pontine reticular formation. Evidence for integration in oculomotor pathways. *Exp. Neurol.* 35:101-117; 1972.

- Colvin GB, Whitmoyer RD, Lisk DO, Sawyer CHH. Changes in sleep-wakefulness in female rats during circadian and estrous cycle. *Brain Research*. 7: 173-181; 1968.
- Dement WC, Kleitman N. Cyclic variations in EEG during sleep and their relation to eye movements during sleep to dream activity. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 9:673-690; 1957.
- Dolly FR, Block AJ. Medroxyprogesterone acetate and COPD: effect on breathing and oxygenation in sleeping and awake patients. *Chest*. 4:394-398; 1983.
- Driver HS, Shapiro CM. A longitudinal study of sleep stages in young women during pregnancy and postpartum. *Sleep*. 15:449-453; 1992.
- Driver HS, Dijk D-J, Werth E, Biedermann K, Borbély AA. Sleep and sleep electroencephalogram across the menstrual cycle in young healthy women. *J. Clin Endocrinol. Metab.* 81:728-735; 1996.
- Druker-Colin R, Pedraza JGB. Kainic acid lesions of gigantocellular tegmental field (FTG) neurons do not abolish REM sleep. *Brain. Res.* 272:387-391; 1983.
- England SJ, Farhi LE. Fluctuations in alveolar CO<sub>2</sub> and in base excess during the menstrual cycle. *Respir Physiol*. 26:157-161; 1976.
- Evans R. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily, *Science*. 240: 889-895; 1988.
- Freeman EW, Purdy RH, Coutifaris C, Rickels , Paul SM. Anxiolytic metabolites of progesterone: correlation with mood and performance measures following oral

progesterone administration to healthy female volunteers. *Neuroendocrinology* 58. 478-484; 1993.

- Friedman L, Jones BE. Computer graphics analysis of sleep-wakefulness state changes after pontine lesions. *Brain. Res. Bull.* 13: 53-68; 1984.
- Friess E, Tagaya H, Trachsel L, Holsboer F, Rupprecht R. Progesterone-induced changes in sleep in male subjects. *Am. J. Physiol.* 272: E885-E891; 1997.
- Fung SS, Boxer PA, Morales FR, Chase MH. Hiperpolarizing membrane responses induced in lumbar motoneurons by stimulation of the nucleus reticularis pontis oralis during active sleep. *Brain. Res.* 248: 267-273; 1982.
- Ganong W. Fisiología Médica. Manual Moderno. Decimacuarta edición. pp693-750, 1994.
- Garland HO, Atherton JC, Baylis C, Morgan MRA, Milne CM. Hormone profiles for progesterone, estradiol, during pregnancy and pseudopregnancy in two strains of rat: correlation with renal studies. *J. Endocrinol.*, 113:435-444; 1987.
- Gnadt JW, Pegram GV. Cholinergic brainstem mechanisms of REM sleep in the rat. *Brain. Res.* 384: 26-41; 1986.
- Graham D, Clarke C. Physiological action of progesterone in target tissue. *Endocrine Reviews.* 18(4): 502-519; 1997.
- Greene RW, Gerber U, McCarley RW. Cholinergic activation of medial pontine reticular formation neurons in vitro. *Brain Res.* 476 :154-159; 1989.

- Gronemeyer H. Transcription activation by estrogen and progesterone receptors. *Annu Rev Genet.* 25: 89-123; 1991.
- Hartmann E. Dreaming sleep (the D-State) and the menstrual cycle. *J Nerv Ment Dis.* 143: 405-415; 1966.
- Hartmann E. *The biology of dreaming* Charles C. Thomas, Springfield, 1967.
- Havens MD, Rose JD. Estrogen-dependent and estrogen-independent effects of progesterone on the electrophysiological excitability of dorsal midbrain neurons in golden hamsters. *Neuroendocrinology.* 48: 120-129; 1988.
- Hermann WM, Beach RC. Experimental and clinical data indicating the psychotropic properties of progestogens. *Postgrad. Med. J.* 54 sup.2: 82-87; 1978.
- Hertz G, Fast A, Feinsilver SH, Albertario CL, Schulman H, Fein AM. Sleep in normal late pregnancy. *Sleep* 15(3): 246-251; 1991.
- Hicks Gómez JJ, Díaz Zagoya JC. 1988. *Bioquímica e inmunología II.* De. Fac. Medicina. UNAM. México, D.F.
- Ho A. Sex hormones and sleep of women. *Sleep Res.* 1: 184; 1972.
- Hobson JA. The effects of chronic brain-stem lesions on cortical and muscular activity during sleep and waking in the cat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 19: 41-62; 1965.
- Hobson JA, McCarley RW, Wyzinski PW. Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brain stem neuronal groups. *Science.* 189: 55-58; 1975.

- Hobson JA, Goldberg M, Vivaldi E, Riew O. Enhancement of desynchronized sleep signs after pontine microinjections of the muscarinic agonist betanechol. *Brain. Res.* 275: 173-180; 1983.
- Hobson JA, Lydic R, Baghdoyan HA. Evolving concepts of sleep cycle generation. *Behav. Brain. Sci.* 9: 371- 448; 1986.
- Horwitz KB, Francis MD, Wei LL. Hormone-dependent covalent modification and processing of human progesterone receptor in the nucleus. *DNA* 4: 451-460; 1985.
- Ilenchuk T, Walters M. Rat uterine Progesterone receptor analyzed by [<sup>3</sup>H]R5020 photoaffinity labeling, evidence that the A and B subunits are not equimolar. *Endocrinology.* 120: 1449-1456; 1987.
- Ishizuka Y, Usui A, Shiraishi K, Fukuzawa H, Kariya T, Shirakawa S, Azumi K. A subjective evaluation of sleep during the menstrual cycle. *Sleep Research.* 18:421; 1989.
- Ishizuka Y, Pollak CP, Shirakawa S, Kakuma T, Azumi K, Usui A, Shiraishi K, Fukuzawa H, Kariya T. Sleep spindle frequency changes during the menstrual cycle. *J. Sleep Res.* 3: 26-29; 1994.
- Iwahara T, Wall PT, Garcia-Rill E. Stimulation-induced setting of postural muscle tone in the decerebrate rat. *Brain Res.* 557: 331-335; 1991.
- Jones BE. Elimination of paradoxical sleep by lesions of the pontine gigantocellular tegmental field in the cat. *Neurosci. Lett.* 13: 285-293; 1979.

- Jones BE. Basic Mechanisms of Sleep-Wake states. [En] Kryger MH, Roth T, Dement WC, Principles and practice of sleep medicine.W.B. Saunders. Philadelphia. Second Ed pp145-162, 1994.
- Jouvet M. Recherches sur les structures nerveuses et les mécanismes responsables des différentes phases du sommeil physiologique. Arch. Ital. Biol. 100: 125-206; 1962.
- Jouvet M. The role monoamines and acetylcholine-containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle. Ergeb Physiol. 64: 165; 1972.
- Jouvet M. Cholinergic mechanisms and sleep. In Waser PG (de) : Cholinergic Mechanisms. New York. Raven Press. p455, 1975.
- Jung-Testas I, Renoir M, Bugnard H, Greene GL, Baulieu EE. Demonstration of steroid hormone receptors and steroid action in primary cultures of rat glial cells. J Steroid Biochem Molec Biol 41: 621-631; 1992.
- Kabbadj K, El-Etr M, Baulieu EE, Robel P. Pregnenolone metabolism in rodent embryonic neurons and astrocytes. Glia 7: 170-5; 1993.
- Karavolas HJ, Hodges DR. Neuroendocrine metabolism of progesterone and related progestins. In: Ciba Foundation Symposium. Steroids and neuronal activity. New York: John Wiley:22-55; 1990.
- Karavolas HJ, Hodges DR. Changes in pituitary, hypothalamic and brain progestin-metabolizing enzyme activities during lactation. J Steroid Biochem Molec Biol. 44: 299-303; 1993.



- Kastner P, Krust A, Turcotte B, Stropp U, Tora L, Gronemeyer H, Chambon P. Two distinct estrogen-regulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptor forms A and B. *EMBO J.* 9: 1603-1614; 1990.
- Kastrop Y, Amandusson A, Hallbeck M, Hrata S, Hermanson O, Blomqvist A. Localization of progesterone receptor mRNA and progesterone receptor-like immunoreactivity in the rat brain stem. *Soc. Neurosci. Abstr.* 24: 1853; 1998.
- Kato J, Onouchi T. Specific progesterone receptors in the hypothalamus anterior hypophysis of the rat. *Endocrinology.* 101: 920-928; 1977.
- Kawakami M, Sawyer CH. Conditioned induction of paradoxical sleep in the rabbit. *Exp Neurol.* 9: 470-482; 1964.
- Ke FC, Ramirez VD. Binding of progesterone to nerve cell membranes of rat using progesterone conjugated to <sup>125</sup>I-bovine serum albumin as a ligand. *J Neurochem.* 54: 467-472; 1990.
- Klemm WR. Historical and introductory perspectives on brainstem-mediated behaviors. In: Klemm, W.R. and Vertes, R.P. (Eds). *Brainstem mechanisms of behavior.* Hohn Wiley and Sons, Inc. New York.. 3-32. 1992.
- Kim K, Lee BJ, Park Y, Cho WK. Progesterone increases messenger ribonucleic acid (mRNA) encoding luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) level in the hypothalamus of ovariectomized estradiol-primed prepubertal rats. *Mol Brain Res.* 6:151-8; 1989.

- Kingman P, Strohl MD, Michael J, Hensley MB, Nicholas A, Saunders MB, Steven M, Scharf MD, Brown MD, Roland H, Ingram Jr.MD. Progesterone Administration and Progressive Sleep Apneas. JAMA. 245(12): 1230-1232; 1981.
- Korneyev A, Guidotti A, Costa E. Regional and interspecies differences in brain progesterone metabolism. J Neurochem. 61: 2041-2047; 1993.
- Kryger M, Glas R, Jackson D. Impaired oxygenation during sleep in excessive polycythemia of high altitude: improvement with respiratory stimulation. Sleep. 1:3-17; 1978.
- Kryger M, McCullough, Collins D, Scoggin C, Wil JV, Grover RF. Treatment of excessive polycythemia of high altitude with respiratory stimulant drugs. Am Rev Respir Dis. 117:455-464; 1978.
- Kubli-Garfias C, Whalen RE. Induction of lordosis behavior in female rats by intravenous administration of progestins. Horm Behav. 9:380'6; 1977.
- Lancel M, Crönlein TAM, Müller-Preuß P, Holsboer F. Pregnenolone enhances EEG delta activity during non-rapid eye movement sleep in the rat, in contrast to midazolam. Brain Research. 646: 85-94; 1994.
- Lancel M, Faulhaber J, Holsboer F, Rupprecht R. Progesterone induces changes in sleep comparable to those of agonistic GABA<sub>A</sub> receptor modulators. Am. J. Physiol. 271 (Endocrinol. Metab. 34): E763-E772; 1996.

- Lancel M, Faulhabber J, Schiffelholz T, Romeo E, DiMichele F, Holsboer F, Ruprecht R. Allopregnanolone affects sleep in a benzodiazepine-like fashion. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 282: 1213-1218; 1997.
- Lee KA, Shaver JF, Giblin EC, Woods NF. Sleep patterns relates to menstrual cycle phase and premenstrual affective symptoms. *Sleep.* 13(5): 403-409; 1990.
- Lee WS, Smith MS, Hoffman GE. Progesterone enhances the surge of luteinizing hormone by increasing the activation of luteinizing hormone-releasing hormone neurons. *Endocrinology.* 127:2604-6; 1990.
- Lin WW, Ramirez VD. Infusion of progestins into the hypothalamus of female New Zealand white rabbits: effect on in vivo luteinizing hormone-releasing hormone release as determined with push-pull perfusion. *Endocrinology.* 126:261-72; 1990.
- López Antunez L. Anatomía funcional del sistema nervioso. Limusa. México. pp501-522, 1983.
- Lydic R, Baghdoyan L, Hibbard L, Bonyak EV, De Joseph M, Hawkins RA. Regional brain glucosa metabolism is altered during rapid eye movement sleep in the cat: A preliminary study. *J. Comp. Neurol.* 304: 517-529; 1991.
- Lydic R, Baghdoyan HA. The neurobiology of rapid eye movements sleep. In Saunders NA and Sullivan CE, eds. *Seep and Breathing.* New York : Macel Dekker, 47-77 ; 1994.
- MacLusky MJ, McEwen BS. Oestrogen modulates progesterone receptor concentrations in some rat brain regions but not in others. *Nature* 274: 276-278; 1978.

- MacLusky MJ, McEwen BS. Progesterone receptors in rat brain: distribution and properties of cytoplasmic progesterone-binding sites. *Endocrinology*. 160: 192-202; 1980.
- Maddocks S, Hahn P, Moller F, Ried RL. A double blind placebo-controlled trial of progesterone vaginal suppositories in the treatment of premenstrual syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 154: 573-581; 1986.
- Maggi A, Perez J. Role of female gonadal hormones in the CNS: clinical and experimental aspects. *Life Sci*. 37: 893-7; 1985.
- Mahesh VB, Brann DW, Hendry LB. Diverse modes of action of progesterone and its metabolites. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol*. 56: 209-219; 1996.
- Majewska MD. Steroids and brain activity. *Biochem Pharmacol*. 36:3781-3788; 1987.
- McEwen BS. Genomic regulation of sexual behavior. *J Steroid Biochem*. 30:179-83; 1988.
- McEwen BS, Coirini H, Schumacher M. Steroid effects on neuronal activity: when is the genome involved? In: *Ciba Foundation Symposium. Steroids and Neuronal Activity*. New York : John Wiley, 3-21; 1990.
- McEwen BS. Steroid hormones are multifunctional messengers to the brain. *Trends Endocrinol Metab*. 2:62-67. 1991.
- Meiri H. Is synaptic transmission modulated by progesterone?. *Brain Res*. 385: 193-196; 1986.

- Monier M, Bremer F. Biology of sleep. An interdisciplinary survey. *Experientia*, 39: fasc. 1, 1-142. 1980.
- Morrison DA, Goldman AL. Oral progesterone therapy in COPD. *Am Rev Respir Dis.* 119:154; 1979.
- Obál Jr.F, Opp M, Cady AB, Johannsen L, Krueger JM. Prolactin, vasoactive intestinal peptide, and peptide histidine methionine elicit selective increases in REM sleep in rabbits. *Brain Res.* 490: 292-300; 1989.
- O'Malley BW, Tsai MJ. Overview of the steroid receptor superfamily of gene regulatory proteins. In: Parker MG, editor. *Steroid hormone action*. Oxford: Oxford University Press. 45-63; 1993.
- Orr WC, Imes NK, Martin RJ. Progesterone therapy in obese patients with sleep apnea. *Arch Intern Med.* 139:109-111; 1979.
- Orchinik M, McEwen B. Novel and classical actions of neuroactive steroids. *Neurotransmission.* 1: 1-6; 1993.
- Paul SM, Purdy RH. Neuroactive steroids. *FASEB J.* 6:2311-22; 1992.
- Parson B, MacLusky NJ, Krey L, Pfaff DW, McEwen BS. Hypothalamic protein synthesis essential for the activation of the lordosis reflex in the female rat. *Endocrinology.* 110:620-4; 1982.
- Paxinos G, Watson C. 1982. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. New York. Academic Press .

- Rajagopal KR, Albrecht PH, Jabbari B. Effects of medroxyprogesterone acetate in obstructive sleep apnea. *Chest*. 90:815-821; 1986.
- Rodríguez-Sierra JF, Hagley MT, Hendricks SE. Anxiolytic effects of progesterone are sexually dimorphic. *Life Sci*. 3: 1841-1845; 1986.
- Selye H. The anesthetic effect of steroid hormones. *Proc Soc. Exp Biol. Med*. 46: 116-21; 1941.
- Serón-Ferré M, Ducsay CA, Valenzuela GJ. Circadian rhythms during pregnancy. *Endocrine Rev*. 14: 594-609; 1993.
- Sheldrake P, Cormack M. Variations in menstrual cycle symptom reporting. *J Psychosom Res*. 20:169-177; 1976.
- Siegel JM, Nienhuis R, Wheeler RL, McGinty DJ, Harper RM. Discharge pattern of reticular formation unit pairs in waking and REM sleep. *Exp. Neurol*. 74: 875-891; 1981.
- Skatrud JB, Dempsey JA, Kaiser DJ. Ventilatory response to medroxyprogesterone acetate in normal subjects time course and mechanism. *J Appl Physiol*. 44: 939-944; 1978.
- Skatrud JB, Dempsey JA, Iber C, Berssenbrugge A. Corrections of CO<sub>2</sub> retention during sleep in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis*. 124:260-26, 1981.
- Smith ER, Weick RF, Davidson JM. Influence of intracerebral progesterone on the reproductive system of female rats. *Endocrinology*; 85: 1129-36; 1969.

- Smith SS, Waterhouse BD, Woodward DJ. Sex steroid effects on extrahypothalamic CNS. II. Progesterone, alone and in combination with estrogen modulates cerebellar responses to amino acid neurotransmitters. *Brain Res.* 422: 52-62; 1987.
- Smith SS. Progesterone administration attenuates excitatory aminoacid responses of cerebellar Purkinje cells. *Neuroscience.* 42: 309-320; 1991.
- Steiger A, Trachsel L, Guldner J. Neurosteroid pregnenolone induces sleep-EEG changes in man compatible with inverse agonistic GABA<sub>A</sub>-receptor modulation. *Brain Res.* 615: 267-74; 1993.
- Strohl KP, Hensley MJ, Saunders NA, Scharf SM, Brown R, Ingram G. Progesterone administration and progressive sleep apnea. *J Am Med Assoc.* 245:1230-1250; 1981.
- Syvala H, Vienonen A, Yikomi T, Blauer M, Zhuang Y, Touhima P. Expression of the chicken progesterone receptor forms A and B is differentially regulated by estrogen in vivo. *Biochem Biophys Res Comm.* 231: 573-576; 1997.
- Taguchi O, Kubin L, Pack AL. Evocation of postural atonia and respiratory depression by ponting carbachol in the decerebrated rat. *Brain Res.* 595: 107-115; 1992.
- Tischkau SA, Ramirez VD. A specific membrane binding protein for progesterone in rat brain: sex differences and induction by estrogen. *Proc Natl Acad Sci USA.* 90: 1285-1289; 1993.
- Towle AC, Sze PY. Steroid binding to synaptic plasma membrane: differential binding of glucocorticoids and gonadal steroids. *J. Steroid Biochem.* 18: 135-143; 1983.

1993  
 71  
 94  
 95  
 96  
 97  
 98  
 99  
 100  
 101  
 102  
 103  
 104  
 105  
 106  
 107  
 108  
 109  
 110  
 111  
 112  
 113  
 114  
 115  
 116  
 117  
 118  
 119  
 120  
 121  
 122  
 123  
 124  
 125  
 126  
 127  
 128  
 129  
 130  
 131  
 132  
 133  
 134  
 135  
 136  
 137  
 138  
 139  
 140  
 141  
 142  
 143  
 144  
 145  
 146  
 147  
 148  
 149  
 150  
 151  
 152  
 153  
 154  
 155  
 156  
 157  
 158  
 159  
 160  
 161  
 162  
 163  
 164  
 165  
 166  
 167  
 168  
 169  
 170  
 171  
 172  
 173  
 174  
 175  
 176  
 177  
 178  
 179  
 180  
 181  
 182  
 183  
 184  
 185  
 186  
 187  
 188  
 189  
 190  
 191  
 192  
 193  
 194  
 195  
 196  
 197  
 198  
 199  
 200

- Truss M, Beato M. Steroid hormone receptors and interaction with deoxyribonucleic acid and transcription factors. *Endocrine Rev.* 14: 459-479; 1993.
- Velazquez-Moctezuma J, Shalauta M, Gillin JC, Shiromani PJ. Cholinergic antagonists and REM sleep generation. *Brain. Res.* 543: 175-179; 1991.
- Vertes RP. Brainstem Mechanisms of slow-wave sleep and REM sleep. in Klemm W.R., Vertes R.P. ed. *Braistem Med.* 535-583. 1990.
- Warenbourg M, Jolivet A, Milgrom E. Immunohistochemical evidence of the presence of estrogen and progesterone receptors in the same neurons of the guinea pig hypothalamus and preoptic area. *Brain Res.* 480: 1-15; 1989.
- Wieland S, Lan SC, Mirsadeghi S, Gee KW. Anxiolytic activity of the progesterone metabolite 5 $\alpha$ -pregnane-3 $\alpha$ -20-one. *Brain Res.* 565: 263-268; 1991.
- Williams RL, Karacan I, Hirsch DJ. *The Electroencephalography (EEG) of human sleep: clinical applications.* New York. John Wiley & Sons, 1974.
- Zang SQ, Kimura M, Inoué S. Sleep patterns in cyclic and pseudopregnant rats. *Neurosci. Lett.* 193: 125-128; 1995.