

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE BIOLOGIA**

**PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**DISSERTAÇÃO**

**ESTUDO DA FUNÇÃO TIREOIDEA, METABOLISMO  
EXTRATIREOIDEO DAS IODOTIRONINAS E PAPEL  
DOS HORMÔNIOS GONADAIS FEMININOS EM RATAS  
SUBMETIDAS À PRIVAÇÃO DE SONO PARADOXAL**

**CRISTINE DE PAULA NASCIMENTO**

**2014**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**ESTUDO DA FUNÇÃO TIREOIDEA, METABOLISMO  
EXTRATIREOIDEO DAS IODOTIRONINAS E  
PAPEL DOS HORMÔNIOS GONADAIS FEMININOS  
EM RATAS SUBMETIDAS À PRIVAÇÃO DE SONO PARADOXAL**

**CRISTINE DE PAULA NASCIMENTO**

Sob orientação da Professora  
**Michelle Porto Marassi**

Dissertação submetida como requisito  
parcial para obtenção do título de  
**Mestre** em Ciências Fisiológicas, no  
Programa Multicêntrico de Pós-  
Graduação em Ciências Fisiológicas.

Seropédica, RJ  
Abril de 2014

612.44  
N244e  
T

Nascimento, Cristine de Paula, 1986-  
Estudo da função tireoidea, metabolismo extratireoideo das iodotironinas e papel dos hormônios gonadais femininos em ratas submetidas à privação de sono paradoxal / Cristine de Paula Nascimento. - 2014.  
79 f.: il.

Orientador: Michelle Porto Marassi.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, 2014.

Bibliografia: f. 62-79.

1. Hormônios tireoideos - Teses. 2. Mulheres - Hormônios sexuais - Teses. 3. Privação do sono - Aspectos fisiológicos - Teses. 4. Sono - Aspectos fisiológicos - Teses. I. Marassi, Michelle Porto, 1981-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE BIOLOGIA**  
**PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**CRISTINE DE PAULA NASCIMENTO**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas, no Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, área de Concentração em Fisiologia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27/03/2014

*Michelle Porto Marassi*

Assinatura

Dr<sup>a</sup> Michelle Porto Marassi. UFRRJ

(Orientadora)

*Luciene de Carvalho*

Assinatura

Dr<sup>a</sup> Luciene de Carvalho Cardoso Weide. UFF

*Luis Carlos Reis*

Assinatura

Dr Luis Carlos Reis, UFRRJ

## AGRADECIMENTOS

*Eu gostaria de agradecer inicialmente a Deus, por ter permitido que tudo isso acontecesse e por sempre mostrar a melhor direção e ajudar em cada caminhada!*

*Gostaria de agradecer à todos os meus familiares... que não entendem... porém apoiam e torcem por mim. Sempre! Obrigada por todo carinho e preocupação dedicados à mim. Essa vida acadêmica é uma loucura, e aí de mim se não fossem vocês. A presença de vocês é valiosa e fez toda a diferença. Vocês tornam as coisas menos difíceis!*

*A minha mãe querida, um agradecimento mais que especial. Agradecimentos infinitos. Obrigada pelo apoio e carinho de sempre. Dizem que amor de pai e mãe não se mede...quem dirá o seu! Vale por tudo! Amo-te muito.*

*Aquela que é tão igual...mas tão diferente.rs. Obrigada pela presença em tudo, até mesmo quando não estás presente de fato! Se ninguém entende nossa intensa ligação...é pq não experimentou a oportunidade de dividir tudo.. inclusive um ventre.rs. te amo querida! Obrigada pelo apoio e ajuda... Sempre! Você é meu orgulho...irmãzoca!*

*Minha tia Lu, que sempre tão presente, sabe de toda dedicação a este trabalho e compreende minha imensa falta de tempo. Amo você teacher...*

*Aos meus pequenos-primos-sobrinhos, obrigada pela admiração! E que um dia eu possa vê-los no meu lugar!*

*Ao Leo, obrigada pelos conselhos, por acreditar na minha capacidade, por compreender todas as fases deste trabalho, por ser a melhor companhia nos estudos e no lazer. “O meu amor é teu... mas dou-te mas uma vez”. Obrigada por tudo... e espero compartilhar todas as coisas com você!*

*Aos amigos de perto que entenderam minha ausência, está aqui a demonstração do que eu andava fazendo.rs. Aos amigos um pouco distante, obrigada pela torcida. E quero agradecer a todos... sem distinção! Em especial aos amigos da turma 2007-1, que caminharam juntos comigo... As minha amigas do 403, que sempre estiveram presentes e se tornaram quase-irmãs. Obrigada pela colaboração e pelos momentos de descontração (festinhas!). Sem citar nomes... vocês estão todos no meu coração. “Tenho amigos para saber quem eu sou, pois vendo-os loucos e santos, bobos e sérios, crianças e velhos, nunca me esquecerei de que a normalidade é uma ilusão imbecil.” Sou grata por cada amigo que tenho!*

*A minha orientadora Michelle Porto Marassi, por ter me convidado e apresentado a tudo isso e, sem duvida, o seu amor pela endocrinologia e pelo dimorfismo sexual... afetou todas as suas meninas, inclusive a mim! Obrigada pela excelente influência! E pela oportunidade e por todos os saberes e momentos agradáveis compartilhados!*

*A todos os Mestres que tive na graduação e pós-graduação, agradeço por todo o conhecimento que foi compartilhado e pelo grande exemplo de profissionais. Vocês fizeram grande diferença no nosso aprendizado, nos motivaram a crescer e fazer sempre o melhor e agora são nossos exemplos.*

*Um agradecimento especial aos amigos que permitiram a conclusão deste trabalho com muito suor e café. rs. Obrigada minha querida amiga Natália Cruz pela eterna companhia e amizade, e certamente testemunha de todo este trabalho, colaborando em todas etapas, sem exceção. Esse trabalho é nosso, né amiga? Agradecimento aos Mestres Nayana Rodrigues, Rafaela Pisani, Beatriz Chaves, Magnum Raymond, Iracema Araújo, Fabricia Viana, Rodrigo Rodrigues e todos aqueles que de alguma forma participaram ou torceram pra que tudo desse certo.*

## RESUMO

NASCIMENTO, Cristine de Paula. **Estudo da função tireoidea, metabolismo extratireoideo das iodotironinas e papel dos hormônios gonadais femininos em ratas submetidas à privação de sono paradoxal.** 2014. 79p. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas), Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2014.

O impacto da privação de sono sobre o sistema endócrino e a influência dos hormônios sexuais femininos nas alterações causadas pela privação de sono tem sido estudados, porém o efeito da privação sobre a função tireoidea ainda não foi avaliado em mulheres. Nosso objetivo foi estudar o efeito da privação de sono paradoxal (PSP) e do sono rebote de 24 horas sobre a função tireoidea e atividade das desidases tipo 1 (D1) e 2 (D2) de fêmeas intactas e ovariectomizadas (Ox). Ratas Wistar intactas e ovariectomizadas (200-250g) foram submetidas à PSP pela metodologia das plataformas múltiplas modificada. Ratas intactas foram distribuídas em Controle; PSP por 24 (PSP24) ou 96 horas (PSP96) e seus respectivos rebotes de 24h (PSP24R e PSP96R), enquanto ratas Ox foram distribuídas em Falsa-operada (FO), Ox, Ox PS por 24 (OxPS24) ou 96 horas (OxPS96) e seus respectivos rebotes de 24h (OxPS24R e OxPS96R). As fêmeas foram submetidas à eutanásia no mesmo dia e o sangue foi coletado para análise de T3, T4, TSH, estradiol, progesterona e corticosterona por Radioimunoensaio. Fígado, rim, tireoide e hipófise foram coletados para avaliação da atividade D1 e tecido adiposo marrom (TAM), hipófise e hipocampo para D2. A captação de iodeto pela tireoide após 15min ou 2h da administração de iodeto marcado ( $\text{NaI}^{125}$ ) foi utilizada para a análise da atividade *in vivo* do co-transportador  $\text{Na}^+\text{T}$  (NIS) e tireoperoxidase (TPO), respectivamente. Todos os procedimentos foram aprovados pelo comitê de ética da UFRRJ N° 23083.000948/2012-30. Observamos perda de peso corporal e aumento da glândula adrenal nas ratas intactas e castradas submetidas à 24 e 96h de PSP. A PSP provocou aumento do T3 e diminuição do TSH em ratas intactas, sendo apenas o TSH normalizado pelo rebote; enquanto as ratas Ox demonstraram diminuição do T4 (OxPS96) e declínio progressivo do T3 ao longo do tempo de privação. A atividade do NIS e TPO não alteraram após PSP nas intactas. A corticosterona não sofreu alteração após PSP, apesar do aumento de peso da glândula adrenal nas ratas Ox. A PSP provocou aumento da atividade D2 no TAM, normalizada pelo rebote, e na hipófise em ratas intactas e Ox. Já a atividade da D1 hepática, renal e tireoidea aumentou em ratas intactas PSP, havendo normalização pelo rebote no rim e tireoide; enquanto ratas OxPS demonstraram redução da D1 hepática e tireoidea e aumento na D1 renal e hipofisária. Em conclusão, a privação de sono de 24 e 96h provocaram alterações na função tireoidea de ratas intactas e castradas. Sugerimos que o aumento da atividade da D1 e D2 observado após PSP esteja contribuindo para a manutenção do T3 sérico, enquanto a redução do T4 e declínio progressivo do T3 observado nas ratas castradas evidenciam a importância dos hormônios sexuais femininos na manutenção dos níveis de T4 em ratas privadas de sono. O efeito normalizador do sono rebote sobre a atividade D1 parece ser dependente de hormônios gonadais femininos, mas independente no caso de hormônios tireoideos e D2.

**Palavras-chave:** Hormônios tireoideos, Iodotironina desidase tipo 1 e 2, atividade do NIS e TPO.

## ABSTRACT

NASCIMENTO, Cristine de Paula. **Study of thyroid function, iodothyronine deiodinase activity and the role of female sexual hormones in female rats subjected to paradoxical sleep deprivation.** 2014. 79p. Dissertation (Master Science in Physiology Science), Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2014.

The effects of sleep deprivation in endocrine system and the influence of ovarian hormones in this effect have been studied. However, sleep deprivation effects on thyroid function have not been reported in women. The purpose was to evaluate how paradoxical sleep deprivation (PSD) and sleep rebound affects the thyroid function and type 1 (D1) and 2 (D2) iodothyronine deiodinases activity of intact and ovariectomized (Ox) female rats. Intact and Ox female Wistar rats (200-250g) were subjected to PSD by modified multiple platform method. Intact female rats were distributed into 5 groups: Control; intact rats subjected to 24 (PSD24) or 96 hours of PSD (PSD96); and respective sleep rebound of 24 hours (PSD24R and PSD96R) and ovariectomized in 6 groups: Sham-operated (FO), Ox, Ox subjected to 24 hours (OxPS24) or 96 hours of PSD (OxPS96) and respective sleep rebound of 24 hours (OxPS24R and OxPS96R). The animals were euthanized on the same day and blood and tissues were collected. Serum concentration of T3, T4, TSH, estradiol, progesterone and corticosterone as well as liver, kidney, thyroid and pituitary D1 activity and brown adipose tissue (BAT), pituitary and hippocampal D2 activity have been examined. Serum hormones were determined by radioimmunoassay. The measurements of thyroid radioiodide ( $^{125}\text{I-Na}$ ) uptake was done 15min and 2h after radioiodide administration for the analysis of the (sodium-iodide symporter) NIS and (thyroperoxidase) TPO *in vivo* activities, respectively. All the procedures were approved by ethics committee of UFRRJ, N°. 23083.000948/2012-30. Intact and Ox female rats subjected to 24 and 96 hours of PSD showed significant body weight loss and increased adrenal weight. PSD produced increased T3 and decreased TSH in intact female and there were rebound effects only TSH; while Ox rats showed reduced T4(PSD96) and progressive decline T3 level. Activity NIS and TPO were unchanged after PSD in intact female rats. There were no differences in serum corticosterone in spite of increased adrenal weight in Ox. D2 activity was increased in TAM and pituitary after PSD and only BAT activity was normalized by period rebound. D1 activity was increased in liver, kidney and thyroid after PSD in intact female rats, in addition thyroid and kidney activity was normalized by rebound. D1 activity was decreased in liver and thyroid and increased in kidney and pituitary after PSD in Ox rats. Our findings indicated that PSD affects thyroid function in intact and castrated females. The increase in D1 and D2 activity after PSD might contribute to maintain serum T3 in intact rats. Furthermore, the decreased T4 and progressive decline T3 level showed in Ox confirm the importance of ovarian hormones to normal serum T4 in female rats which was subjected to PSD. Moreover, ovarian hormone might be important to normalize the effect of sleep rebound in D1 activity but not in HT and D2 activity.

**Key words:** Thyroid hormones, Type 1 and 2 Iodothyronine Deiodinase, NIS and TPO activity.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Padrões das ondas de eletrooculograma (EOG), eletromiograma (EMG) e eletroencefalograma (EEG) durante a vigília, nas quatro fases do sono não REM e no sono REM. Adaptado de Kandel 4ª edição. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 15 |
| <b>Figura 2.</b> Esquema demonstrativo dos diferentes estágios do sono que ocorrem ao longo do ciclo vigília-sono e as alterações observadas em humanos durante a infância até a fase adulta. Adaptado de Kandel, 4ª edição. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 17 |
| <b>Figura 3.</b> Representação esquemática da cascata de desiodação das iodotironinas. Vias de ativação ou inativação das iodotironinas pelas enzimas desiodases tipo 1 (D1), 2 (D2) e 3 (D3). Bianco et al., 2002. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 22 |
| <b>Figura 4.</b> Foto representativa da metodologia das plataformas múltiplas modificada utilizada para a privação de sono paradoxal em nosso estudo. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 31 |
| <b>Figura 5.</b> Esquema representativo do 1º protocolo experimental. Grupos: Controle, Privadas de sono paradoxal por 24 horas (PSP24) e 96 horas (PSP96) e estes com sono rebote de 24 horas (PSP24R e PSP96R). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 32 |
| <b>Figura 6.</b> Esquema representativo do 2º protocolo experimental. Grupos: Falsa operada (FO), Ovariectomizada (Ox), Ox e privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24) e 96 horas (OxPS96) e estes com sono rebote de 24 horas (OxPS24R e OxPS96R). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 33 |
| <b>Figura 7.</b> Ganho de peso corporal (g) nos grupos Controle ( $n=12$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24, $n=14$ ) e 96 horas (PSP96, $n=15$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R, $n=14$ e PSP96R, $n=15$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 37 |
| <b>Figura 8.</b> Peso absoluto (mg) da Adrenal (A) e Hipófise (B) nos grupos Controle ( $n=5$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24, $n=6$ ) e 96 horas (PSP96, $n=6$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R, $n=6$ e PSP96R, $n=4-6$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 39 |
| <b>Figura 9.</b> Peso relativo ( $\mu\text{g/g}$ de peso corporal) da Adrenal (A) e Hipófise (B) nos grupos Controle ( $n=5$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24, $n=6$ ) e 96 horas (PSP96, $n=5-6$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R, $n=6$ e PSP96R, $n=4-6$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 39 |
| <b>Figura 10.</b> Concentração sérica total de T4 (A) e T3 (B) nos grupos Controle ( $n=7-8$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24, $n=8-9$ ) e 96 horas (PSP96, $n=6-7$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R, $n=10$ e PSP96R, $n=9$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 40 |
| <b>Figura 11.</b> Concentração sérica total de TSH nos grupos Controle ( $n=5$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24, $n=10$ ) e 96 horas (PSP96, $n=8$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R e PSP96R, $n=10$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 41 |
| <b>Figura 12.</b> Atividade do NIS <i>in vivo</i> (A) (captação de iodeto após 15 minutos da administração do iodeto radioativo) nos grupos Controle ( $n=14$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24, $n=11$ ) e 96 horas (PSP96, $n=18$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R, $n=11$ e PSP96R, $n=10$ ) e atividade da TPO <i>in vivo</i> (B) (acumulação de iodeto na tireoide após 2 horas da administração do iodeto radioativo) nos grupos Controle ( $n=5$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24, $n=3$ ) e 96 horas (PSP96, $n=4$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R, $n=3$ e PSP96R, $n=5$ ). Não houve diferenças significativas entre os grupos. .... | 42 |
| <b>Figura 13.</b> Atividade da desiodase tipo 1 no Fígado (A) e no Rim (B) nos grupos Controle ( $n=9$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24, $n=9$ ) e 96 horas (PSP96, $n=9$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R, $n=9-10$ e PSP96R, $n=8-9$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 43 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 14.</b> Atividade da desidase tipo 1 na tireoide (A) e na hipófise (B) nos grupos Controle (n=6-7), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24, n=6-10) e 96 horas (PSP96, n=6-10) e seus respectivos rebotes (PSP24R, n=10 e PSP96R, n=4-9). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05). .....                                                                      | 43 |
| <b>Figura 15.</b> Atividade da desidase tipo 2 no tecido adiposo marrom (TAM) nos grupos Controle (n=7), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24, n=6) e 96 horas (PSP96, n=8) e seus respectivos rebotes (PSP24R e PSP96R, n=8). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05). .....                                                                                         | 44 |
| <b>Figura 16.</b> Atividade da desidase tipo 2 na hipófise (A) e hipocampo (B) nos grupos Controle (n=10), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24, n=9-10) e 96 horas (PSP96, n=10) e seus respectivos rebotes (PSP24R, n=10 e PSP96R, n=8-10). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05). .....                                                                          | 45 |
| <b>Figura 17.</b> Ganho de peso corporal (g) nos grupos Falso operada (FO, n=13), Ovariectomizadas (Ox, n=12), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24(OxPS24, n=9) e 96 horas (OxPS96, n=8) e seus respectivos rebotes (OxPS24R, n=14 e OxPS96R, n=12). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05). .....                                                       | 46 |
| <b>Figura 18.</b> Peso absoluto (mg) da Adrenal (A) e Hipófise (B) nos grupos Falso operada (FO, n= 13), Ovariectomizadas (Ox, n= 12), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24(OxPS24, n= 14) e 96 horas (OxPS96, n= 11-12) e seus respectivos rebotes (OxPS24R, n= 13-14 e OxPS96R, n= 11). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05). .....                   | 47 |
| <b>Figura 19.</b> Peso relativo (µg/g de peso corporal) da Adrenal (A) e Hipófise (B) nos grupos Falso operada (FO, n= 13), Ovariectomizadas (Ox, n= 12), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24, n= 9) e 96 horas (OxPS96, n= 7-8) e seus respectivos rebotes (OxPS24R, n=12-14 e OxPS96R, n=11-12). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05). ..... | 48 |
| <b>Figura 20.</b> Concentração sérica total de T4 (A) e T3 (B) nos grupos Falso operada (FO, n=11-13), Ovariectomizadas (Ox, n=12), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24, n=12-14) e 96 horas (OxPS96, n=10-11) e seus respectivos rebotes (OxPS24R, n=15 e OxPS96R, n=12). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05). .....                         | 49 |
| <b>Figura 21.</b> Concentração sérica total de corticosterona nos grupos Falso operada (FO, n=8), Ovariectomizadas (Ox, n=8), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24, n=6) e 96 horas (OxPS96, n=7) e seus respectivos rebotes (OxPS24R e OxPS96R, n=7). Não houve diferenças significativa entre os grupos.....                                                                           | 50 |
| <b>Figura 22.</b> Concentração sérica total de estradiol (A) e progesterona (B) nos grupos Falso operada (FO, n=6-7), Ovariectomizadas (Ox, n=7-8), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24, n=7) e 96 horas (OxPS96, n=7) e seus respectivos rebotes (OxPS24R e OxPS96R, n=6-7). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05). .....                      | 50 |
| <b>Figura 23.</b> Atividade da desidase tipo 1 no Fígado (A) e no Rim (B) nos grupos Falso operada (FO, n=11-13), Ovariectomizadas (Ox, n=12), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24, n=13-14) e 96 horas (OxPS96, n=12) e seus respectivos rebotes (OxPS24R, n=13-14 e OxPS96R, n=12). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05). .....              | 52 |
| <b>Figura 24.</b> Atividade da desidase tipo 1 na Tireoide (A) e na Hipófise (B) nos grupos Falso operada (FO, n=10-12), Ovariectomizadas (Ox, n=12), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24, n=14) e 96 horas (OxPS96, n=9-12) e seus respectivos rebotes (OxPS24R, n=11-12 e OxPS96R, n= 9-10). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05). .....     | 53 |

**Figura 25.** Atividade da desidase tipo 2 no tecido adiposo marrom (TAM) nos grupos Falso operada (FO,  $n=11$ ), Ovariectomizadas (Ox,  $n=12$ ), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24,  $n=14$ ) e 96 horas (OxPS96,  $n=12$ ) e seus respectivos rebotes (OxPS24R,  $n=13$  e OxPS96R,  $n=9$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ). .....54

**Figura 26.** Atividade da desidase tipo 2 na Hipofise nos grupos Falso operada (FO,  $n=12$ ), Ovariectomizadas (Ox,  $n=12$ ), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24,  $n=13$ ) e 96 horas (OxPS96,  $n=10$ ) e seus respectivos rebotes (OxPS24R,  $n=13$  e OxPS96R,  $n=11$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ). .....54

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Ganho de peso corporal (gramas, médias  $\pm$  erro padrão da média) nos grupos Controle, Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24) e 96 horas (PSP96) e seus respectivos rebotes (PSP24R e PSP96R). Os valores negativos representam perda de peso e letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ). ..... 38
- Tabela 2.** Concentração sérica total de T4, T3 e TSH nos grupos Controle, Privado de sono paradoxal por 24(PSP24) e 96 horas (PSP96) e seus respectivos rebotes (PSP24R e PSP96R). Os valores representam a média da dosagem hormonal dos grupos  $\pm$  erro e letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ). ..... 41
- Tabela 3.** Ganho de peso corporal (gramas, médias  $\pm$  erro padrão da média) nos grupos Falso operada (FO), Ovariectomizadas (Ox), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24) e 96 horas (OxPS96) e seus respectivos rebotes (OxPS24R e OxPS96R). Os valores negativos representam perda de peso e letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ). ..... 46
- Tabela 4.** Concentração sérica total de T4 e T3 nos grupos Falso operada (FO), Ovariectomizadas (Ox), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24) e 96 horas (OxPS967) e seus respectivos rebotes (OxPS24R e OxPS96R). Os valores representam a média da dosagem hormonal dos grupos  $\pm$  erro e  $n =$  número total de animais..... 49
- Tabela 5.** Concentração sérica total de estradiol e progesterona nos grupos Falso operada (FO), Ovariectomizadas (Ox), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24) e 96 horas (OxPS967) e seus respectivos rebotes (OxPS24R e OxPS96R). Os valores representam a média da dosagem hormonal dos grupos  $\pm$  erro padrão da média e letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ). ..... 51

# SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                           |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                                                                                                                                 | <b>14</b> |
| <b>2 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>                                                                                                                                      | <b>15</b> |
| 2.1 Sono .....                                                                                                                                                            | 15        |
| 2.2 Vigília .....                                                                                                                                                         | 15        |
| 2.3 Sono não-REM .....                                                                                                                                                    | 16        |
| 2.4 Sono REM .....                                                                                                                                                        | 16        |
| 2.5 Neurofisiologia do sono .....                                                                                                                                         | 17        |
| 2.6 Sono e regulação hormonal .....                                                                                                                                       | 18        |
| 2.7 Dimorfismo sexual no padrão de sono .....                                                                                                                             | 20        |
| 2.8 Hormônios tireoideos .....                                                                                                                                            | 20        |
| 2.8.1 Síntese dos hormônios tireoideos .....                                                                                                                              | 20        |
| 2.8.2 Co-transportador Na <sup>+</sup> I <sup>-</sup> (NIS) e tireoperoxidase (TPO) .....                                                                                 | 21        |
| 2.8.3 Controle da concentração sérica dos hormônios tireoideos .....                                                                                                      | 22        |
| 2.9 Iodotironina desiodase tipo 1 (D1) .....                                                                                                                              | 23        |
| 2.10 Iodotironina desiodase tipo 2 (D2) .....                                                                                                                             | 23        |
| 2.11 Privação de sono e o sistema endócrino .....                                                                                                                         | 24        |
| 2.12 Privação de sono e ciclo estral .....                                                                                                                                | 26        |
| 2.13 Privação de sono, hormônios tireoideos e gonadais .....                                                                                                              | 27        |
| <b>3 OBJETIVOS .....</b>                                                                                                                                                  | <b>29</b> |
| 3.1 Objetivo geral .....                                                                                                                                                  | 29        |
| 3.2 Objetivos específicos .....                                                                                                                                           | 29        |
| 3.2.1 Efeito da privação de sono paradoxal sobre a função tireoidea e metabolismo extratireoideo das iodotironinas em fêmeas intactas .....                               | 29        |
| 3.2.2 Papel dos hormônios gonadais femininos nos efeitos da privação de sono paradoxal na função tireoidea e metabolismo extratireoideo das iodotironinas em fêmeas ..... | 29        |
| <b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>                                                                                                                                         | <b>30</b> |
| 4.1. Animais .....                                                                                                                                                        | 30        |
| 4.2 Citologia vaginal .....                                                                                                                                               | 30        |
| 4.3 Cirurgia de castração .....                                                                                                                                           | 30        |
| 4.4 Protocolo de privação de sono paradoxal .....                                                                                                                         | 30        |
| 4.5 Protocolos experimentais .....                                                                                                                                        | 31        |
| 4.5.1 Primeiro protocolo experimental .....                                                                                                                               | 32        |
| 4.5.2 Segundo protocolo experimental .....                                                                                                                                | 32        |
| 4.6 Concentração sérica total de T3 e T4 .....                                                                                                                            | 33        |
| 4.7 Concentração sérica total de TSH .....                                                                                                                                | 33        |
| 4.8 Concentração sérica total de corticosterona, estradiol e progesterona .....                                                                                           | 34        |
| 4.9 Atividade da desiodase tipo 1 (D1) e tipo 2 (D2) .....                                                                                                                | 34        |
| 4.9.1 Processamento dos tecidos .....                                                                                                                                     | 34        |
| 4.9.2 Purificação do rT3- <sup>125</sup> I ou T4- <sup>125</sup> I .....                                                                                                  | 34        |
| 4.9.3 Ensaio de atividade da D1 ou D2 .....                                                                                                                               | 35        |
| 4.10 Atividade da tireoperoxidase (TPO) <i>in vivo</i> .....                                                                                                              | 35        |
| 4.11 Atividade do transportador sódio iodeto (NIS) .....                                                                                                                  | 35        |
| 4.12 Análise estatística .....                                                                                                                                            | 35        |

|                                                                                                                                                                                                                               |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>5 RESULTADOS .....</b>                                                                                                                                                                                                     | <b>37</b> |
| 5.1 Resultados do primeiro protocolo experimental – <i>Efeito da privação de sono paradoxal sobre a função tireoidea e metabolismo extratireoideo das iodotironinas em fêmeas intactas</i> .....                              | 37        |
| 5.1.1 Peso corporal .....                                                                                                                                                                                                     | 37        |
| 5.1.2 Peso absoluto e relativo da adrenal, hipófise e tireoide .....                                                                                                                                                          | 38        |
| 5.1.3 Concentração sérica total de T3, T4 e TSH .....                                                                                                                                                                         | 40        |
| 5.1.4 Atividade do NIS e TPO <i>in vivo</i> .....                                                                                                                                                                             | 41        |
| 5.1.5 Atividade da desidase tipo 1(D1) .....                                                                                                                                                                                  | 42        |
| 5.1.6 Atividade da desidase tipo 2(D2) .....                                                                                                                                                                                  | 44        |
| 5.2 Resultados do segundo protocolo experimental – <i>Papel dos hormônios gonadais femininos nos efeitos da privação de sono paradoxal na função tireoidea e metabolismo extratireoideo das iodotironinas de fêmeas</i> ..... | 45        |
| 5.2.1 Peso corporal .....                                                                                                                                                                                                     | 45        |
| 5.2.2 Peso absoluto e relativo da adrenal, hipófise e tireoide .....                                                                                                                                                          | 47        |
| 5.2.3 Concentração sérica total de T3 e T4 .....                                                                                                                                                                              | 48        |
| 5.2.4 Concentração sérica total de corticosterona, estradiol e progesterona.....                                                                                                                                              | 49        |
| 5.2.5 Atividade da desidase tipo 1(D1) .....                                                                                                                                                                                  | 51        |
| 5.2.6 Atividade da desidase tipo 2(D2) .....                                                                                                                                                                                  | 53        |
| <b>6 DISCUSSÃO .....</b>                                                                                                                                                                                                      | <b>55</b> |
| <b>7 CONCLUSÃO.....</b>                                                                                                                                                                                                       | <b>61</b> |
| <b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>                                                                                                                                                                                     | <b>62</b> |

# 1 INTRODUÇÃO

O sono é um estado vital e complexo, caracterizado por processos ativos e altamente organizados, que encontra-se dividido em dois estágios distintos: sono não-REM (sono de ondas lentas) e sono REM (sono paradoxal), sendo o não-REM, subdividido em quatro fases. Estes estágios são bem definidos por padrões eletroencefalográficos e alternam-se ciclicamente durante uma noite de sono, configurando alterações nos diferentes sistemas e funções fisiológicas que irão acompanhar estes ritmos.

A importância do sono para o organismo pode ser evidenciada através das consequências da sua privação, a qual pode desencadear diversas alterações endócrinas, metabólicas e comportamentais em humanos e animais. Além disso, a prevalência de distúrbios de sono e a redução do tempo de sono devido ao trabalho, estudo e/ou atividades sociais na sociedade moderna, justificam o interesse sobre as respostas dos diversos eixos endócrinos e os mecanismos de controle da homeostase após privação de sono aguda e crônica.

Sabe-se que vários aspectos do funcionamento orgânico são controlados pelo sistema nervoso e endócrino e que estes são responsáveis pela manutenção da homeostase do meio interno e capazes de originar respostas apropriadas do organismo frente às alterações ambientais. A privação de sono é frequentemente considerada um tipo de estresse. Diversos estudos em animais demonstram, através de diferentes metodologias, que a privação de sono é capaz de ativar os principais eixos do estresse provocando alterações fisiológicas características desta ativação, além de alterações no comportamento sexual e agressivo, níveis de ansiedade, memória, dentre outras.

Poucos estudos têm demonstrado as implicações da privação de sono na função tireoidea e os poucos existentes utilizaram diferentes metodologias e são realizados predominantemente com machos, certamente devido à grande interferência da ciclicidade estral de fêmeas. Porém, a influência dos hormônios gonadais nos eixos hipotálamo-hipófise-tireoide e hipotálamo-hipófise-adrenal, incluindo a relação entre estes dois, tem sido demonstrada. A presença de dimorfismo sexual no padrão de sono normal e nas alterações endócrinas causadas pela privação de sono, bem como na função tireoidea evidencia a importância do estudo com homens e mulheres, ou machos e fêmeas.

Os hormônios tireoideos (HT) são essenciais para diversas funções nos seres vivos. O T3, hormônio biologicamente ativo, é responsável pela ação biológica dos HT e, portanto, o controle de sua disponibilidade é fundamental para a função normal destes hormônios nos tecidos. Este controle pode ser realizado pelas enzimas iodotironinas desiodases tipo 1 e 2 que estão distribuídas nos diferentes tecidos centrais e periféricos em humanos e animais. Elas atuam ativando ou inativando os HT através de desiodações no anel externo (D1 e D2) ou interno (D1) dos HT, originando T3, que é o hormônio ativo, ou rT3 ou T2, que são biologicamente inativos, respectivamente. Deste modo, torna-se crucial o estudo do eixo hipófise-tireoide bem como o metabolismo das desiodases que irão atuar no controle dos níveis séricos e teciduais de T4 e T3, permitindo assim a ação adequada dos HT no organismo.

No presente trabalho, objetivamos abordar as implicações de dois diferentes tempos de privação de sono paradoxal, além da eficiência do sono rebote sobre a função tireoidea e atividade das desiodases em fêmeas. O efeito da privação de sono paradoxal também foi avaliado em ratas castradas visando esclarecer a participação dos hormônios sexuais femininos nas alterações observadas na função tireoidea após privação de sono paradoxal.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Sono

Em mamíferos, o sono e a vigília são dois estados fisiológicos regulados basicamente por dois processos: circadiano e homeostático (BORBÉLY, 1982). O sono e a vigília, bem como outros comportamentos e atividades fisiológicas, apresentam periodicidade circadiana de aproximadamente 24 horas. Nos mamíferos, o núcleo supraquiasmático do hipotálamo anterior é a estrutura responsável pela geração dos ritmos biológicos, dentre eles o ciclo vigília-sono. A luz é um importante sincronizador dos ritmos circadianos (ciclo claro/escuro) e também está ligada à fase ativa do ritmo circadiano em alguns animais (seres humanos) e à fase inativa em outros (ratos e camundongos) (KANDEL, 2000). Além do ciclo claro-escuro, a temperatura corporal também influencia estes ritmos. Em humanos, a temperatura é maior durante o dia e declina gradualmente durante a noite (SZYMUSIAK, 2005). O núcleo supraquiasmático também é responsável pela regulação dos ciclos alimentares, atividade locomotora e hormonal, possibilitando uma coordenação integrada das funções biológicas (CHOU *et al.*, 2003).

Além do circadiano, o ciclo vigília-sono é regulado homeostaticamente de modo que o acúmulo do débito de sono, ou seja, quanto maior o tempo de vigília, mais se acumula a necessidade de dormir, até o momento em que a pressão homeostática é máxima e ocorre o episódio de sono (DEMENT, 1960; BENINGTON *et al.*, 1994).

Na organização estrutural básica normal, há dois tipos de sono: não-REM e REM e o não-REM ainda apresenta-se subdividido em fases: fase 1, 2, 3 e 4. O sono é definido, tanto em seres humanos e animais, através do eletroencefalograma (EEG), que registra a atividade elétrica de grandes grupos de neurônios corticais; o eletromiograma (EMG), através do registro de células musculares; e o eletrooculograma (EOG), que registra a atividade dos músculos responsáveis pelo movimento horizontal dos olhos (LOOMIS *et al.*, 1937; DEMENT; KLEITMAN, 1957), como demonstrado na Figura 1.



**Figura 1.** Padrões das ondas de eletrooculograma (EOG), eletromiograma (EMG) e eletroencefalograma (EEG) durante a vigília, nas quatro fases do sono não REM e no sono REM. Adaptado de Kandel 4ª edição.

### 2.2 Vigília

Durante a vigília, o eletroencefalograma (EEG) é dessincronizado, caracterizado por ondas beta, ou seja, ondas de alta frequência e baixa amplitude na faixa de 14-30 Hz (STERIADE, 2003).

### 2.3 Sono não-REM

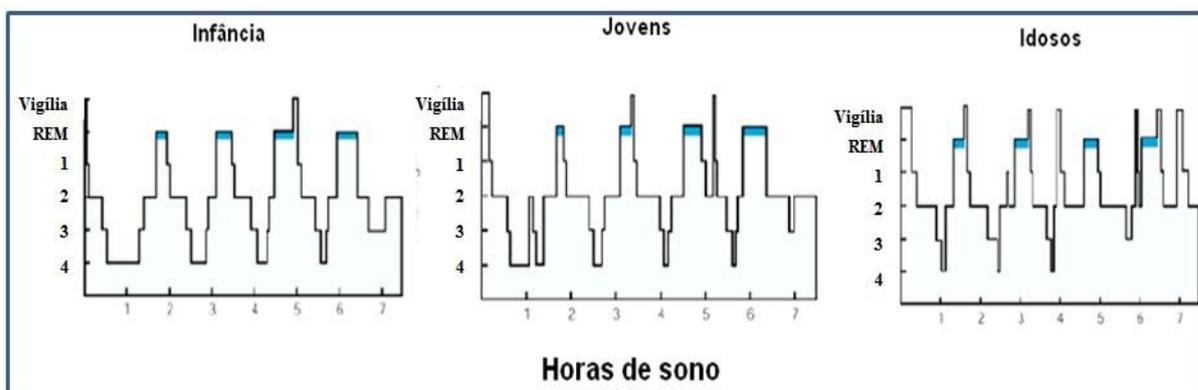
O sono não-REM (do inglês, *non-rapid eye movement*) é caracterizado por EEG sincronizado, marcado por ondas de alta amplitude e baixa frequência. Durante a fase 1, a consciência do ambiente externo desaparece gradualmente e o EEG desacelera, com oscilações predominando na faixa de 4-7 Hz (ondas theta). A Fase 2 é caracterizada pela perda completa da consciência e o aparecimento do complexo K no EEG. Nos estágios 3 e 4, comumente denominado de sono profundo, o EEG é caracterizado pelo aparecimento das ondas delta (1-3 Hz), e estes estágios também são conhecidos como sono de ondas lentas *slow-wave sleep*). O Aumento da intensidade do sono é definido por um aumento na amplitude e incidência de ondas delta no EEG durante o sono não-REM (STERIADE, 2003). Em alguns animais, todo o sono não-REM é conhecido como sono de ondas lentas (KANDEL, 2000).

O sono não-REM é marcado pela diminuição das atividades neural, taxa metabólica, temperatura corpórea, atividade simpática, pressão arterial e frequência cardíaca, porém, nesta fase não ocorre atonia muscular (RECHETSCHAFFEN; SIEGEL, 2000).

### 2.4 Sono REM

O sono REM (do inglês, *rapid eye movement*) é caracterizado por EEG dessincronizado, marcado por ondas de alta frequência e baixa amplitude. O EOG reflete os movimentos rápidos dos olhos e EMG evidencia atonia muscular. Este estágio também é denominado de sono paradoxal porque apresenta uma intensa atividade cortical semelhante a da vigília, porém associada à atonia muscular. Em roedores, a existência da atividade de ondas theta hipocampal (4-8 Hz) é uma importante característica deste estágio (KOCISIS; KAMINSKI, 2006). Em humanos, ondas theta também foram detectadas durante o sono REM, porém a esta atividade não é contínua durante esta fase (CANTERO *et al.*, 2003).

Em seres humanos, um episódio de sono inicia-se com a fase 1 do não-REM, progredindo até a fase 4 e finalmente, o sono REM. No entanto, indivíduos não permanecem no estágio REM ao longo da noite e os estágios não-REM e REM vão se alternando ciclicamente (KANDEL, 2000; CARSKADON; DEMENT, 2005). Nos seres humanos, o comprimento do ciclo inicial do sono não-REM até o REM é de cerca de 90-110 minutos. Estes ciclos (não-REM e REM) geralmente se repetem de quatro a seis vezes por noite e ao longo desse processo, a duração das fases 3 e 4 do sono de ondas lentas diminui, enquanto o comprimento do sono paradoxal aumenta (KANDEL, 2000). O sono não-REM constitui cerca de 75 a 80% do tempo total de sono, enquanto o REM 20 a 25% (KANDEL, 2000; CARSKADON; DEMENT, 2005). As oscilações entre os diferentes estágios de sono estão demonstradas na Figura 2.



**Figura 2.** Esquema demonstrativo dos diferentes estágios do sono que ocorrem ao longo do ciclo vigília-sono e as alterações observadas em humanos durante a infância até a fase adulta. Adaptado de Kandel, 4ª edição.

Vale ressaltar que o padrão de sono muda continuamente e consideravelmente com a idade. Desde a infância até a idade adulta observamos alterações na forma como o sono é iniciado, o tempo gasto em cada estágio e a eficiência do sono. Em humanos, o sono diário diminui drasticamente de um pico de 17-18 horas no recém-nascido a 10-12 horas aos 4 anos de idade e depois declina gradualmente até uma duração estável de 7-8,5 horas aos 20 anos de idade (KANDEL, 2000). Nos recém-nascidos, os períodos de sono são descontínuos (ADAIR; BAUCHNER, 1993; ROFFWARG *et al.*, 1966) e o início do sono ocorre no estágio REM (JENNI; CARSKADON, 2000; DAVIS *et al.*, 2004). Este padrão diferenciado do sono ocorre porque os ritmos circadianos ainda não foram estabelecidos (DAVIS *et al.*, 2004), e estes só começam a surgir aproximadamente aos 2 a 3 meses de idade, caracterizando um padrão de sono normal (SHELDON, 2002). Pessoas mais velhas normalmente apresentam aumento de distúrbios do sono, apresentando declínio e deficiência na qualidade do sono, provavelmente devido a uma progressiva diminuição do sono de ondas lentas (DIJK *et al.*, 2000; ANCOLI-ISRAEL, 2005; REYNOLDS *et al.*, 1985).

## 2.5 Neurofisiologia do sono

A descoberta dos ciclos de sono despertou considerável interesse pelos mecanismos neurais envolvidos na geração e manutenção do ciclo vigília-sono. O desenvolvimento de novas tecnologias possibilitou a conquista de grandes progressos a respeito das circuitarias responsáveis pela vigília, sono não-REM e REM (HIPÓLIDE, 2007).

Em 1949, Moruzzi e Magoun demonstraram que a ativação do prosencéfalo e córtex cerebral durante a vigília seria mediada por um conjunto de vias ascendentes que se originam no tronco encefálico superior (sistema de ativação reticular ascendente). Atualmente, sabe-se que várias populações neuronais medeiam a ativação cortical durante a vigília (sistemas ativadores da vigília) através de projeções para o tálamo e prosencéfalo basal (SAPER *et al.*, 2005). Dentre os componentes mais importantes desse sistema estão os neurônios colinérgicos do pedúnculo pontino (PPT) e núcleo tegmental latero-dorsal (LDT) da porção lateral do tegmento pontino (LEVEY *et al.*, 1987). O PPT e LDT enviam projeções colinérgicas excitatórias para os núcleos tálamo-cortical e reticular. Além disso, a população de neurônios não-colinérgicos (em grande parte GABAérgicos) se misturam com neurônios colinérgicos no prosencéfalo basal que se projetam para o córtex e, em menor grau, o tálamo, e são igualmente implicados na vigília (BUZSAKI *et al.*, 1988).

Grupos celulares monoaminérgicos promotores da vigília também se projetam para o tálamo, hipotálamo lateral, prosencéfalo basal e córtex cerebral (SAPER, 1984). Esse sistema monoaminérgico inclui neurônios noradrenérgicos do locus coeruleus, neurônios dopaminérgicos da substância cinzenta periaquedutal ventral, neurônios serotoninérgicos dos núcleos dorsal e medial da rafe mesencefálica e neurônios histaminérgicos do núcleo tuberomamilar (SAPER *et al.*, 2005). Em geral, esses neurônios apresentam mais disparos durante a vigília do que durante o sono não-REM enquanto que durante o REM praticamente não exibem atividade, evidenciando o papel crucial destas regiões para a ativação cortical presente na vigília (CHEMELLI *et al.*, 1999; MOCHIZUKI *et al.*, 2004).

Assim, projeções de neurônios colinérgicos, monoaminérgicos e produtores de orexina do hipotálamo lateral atuam de forma coordenada no sistema de excitação durante a vigília e, para que o sono ocorra torna-se necessário a inibição destes circuitos. Estudos tem revelado o papel crítico do núcleo pré-óptico ventrolateral (VLPO) na inibição destes circuitos de excitação durante o sono (SHERIN *et al.*, 1996), já que neurônios do VLPO são ativos durante o sono (LU *et al.*, 2000). Acredita-se que esta região, por meio de neurônios GABAérgicos, enviam projeções inibitórias aos neurônios relacionados a vigília (STEININGER *et al.*, 2001).

No sono paradoxal, caracterizado pela intensa atividade elétrica e metabólica, a área responsável pelos eventos fisiológicos ocorridos nesta fase é a região dorsal da formação reticular mesencefálica e pontina (núcleos tegmental látero-dorsal e pedúnculo pontino) e a área ventral do locus coeruleus. A área reticular pontina lateral e bulbar medial apresenta alta taxa de disparo neuronal durante esse estágio do sono, enquanto que exibem pequena ou nenhuma atividade durante o sono não-REM e vigília (HENLEY; MORRISON, 1974).

Diante das intensas alterações nas funções biológicas que ocorrem durante todo o ciclo vigília-sono, os múltiplos mecanismos envolvidos nestes eventos fisiológicos ainda requerem mais investigações. Não se acredita que o controle do ciclo vigília-sono seja exercido por apenas uma região. A contribuição de inúmeros estudos neurofisiológicos (neuroanatômicos e neurofuncionais) é fornecer informações consideráveis sobre as principais regiões cerebrais envolvidas na vigília e nos estágios do sono.

## 2.6 Sono e regulação hormonal

Segundo Steiger (2003), a avaliação da atividade endócrina constitui-se como um dos métodos para o estudo do sono em várias espécies, incluindo humanos, juntamente com o eletroencefalograma (EEG), evidenciando a importância do componente endócrino no ciclo vigília-sono.

O sono exerce um efeito modulador importante na maioria dos componentes do sistema endócrino e padrões distintos na secreção de diversos hormônios são observados ao longo do período de sono (ANDERSEN; BITTENCOURT, 2007).

A concentração plasmática de hormônio do crescimento (GH) atinge seu pico 90 minutos após o início do sono e, portanto este pico está diretamente relacionado com o sono de ondas lentas (estágios 3 e 4 do sono não-REM) (TAKAHASHI *et al.*, 1968). Em relação ao gênero, estudos têm demonstrado dimorfismo sexual na secreção de GH. Em homens, o pulso de liberação de GH após o início do sono é geralmente o maior e muitas vezes o único pulso secretório em 24 horas, enquanto nas mulheres os pulsos são mais frequentes, ocorrendo pulsos ao longo do ciclo circadiano além daqueles durante o sono (VAN CAUTER, 2005).

A concentração de cortisol normalmente atinge os valores máximos nas primeiras horas da manhã (4-8 horas), declinando durante o dia até apresentar os menores níveis no início do sono (FOLLENIUS *et al.*; 1992). Na segunda metade da noite, momento que há um

predomínio do sono REM, ocorre um discreto aumento na concentração sérica deste hormônio até atingir o pico pela manhã, próximo ao horário de acordar (FRIESS *et al.*, 1995).

A secreção de prolactina demonstra um padrão sono-dependente evidenciada por altas concentrações durante o sono e reduzida concentração durante a vigília. Apesar da relação com o sono, a secreção não está associada a um estágio específico (VAN CAUTER, 2005).

Em humanos, um ritmo circadiano distinto tem sido descrito para a tireotrofina ou hormônio tireotrófico (TSH). As concentrações de TSH estão reduzidas durante o dia e aumentadas à noite, atingindo valores máximos próximos ao início do sono. Uma ação inibitória do sono sobre a secreção de TSH é evidenciada pelo declínio gradual de TSH durante a noite de sono, atingindo valores mínimos nas primeiras horas da manhã (LUCK *et al.*, 1976; PARKER *et al.*, 1987; BRABANT *et al.*, 1990; VAN CAUTER; TASALI, 2011).

Também podemos observar uma relação da liberação dos hormônios gonadais durante as fases do sono. Em homens, as concentrações de testosterona são baixas durante o início do sono e apresentam níveis máximos nas primeiras horas da manhã (EVANS *et al.*, 1971; LEJEUNE *et al.*, 1987).

Por outro lado, diversos hormônios e peptídeos são conhecidos pela sua participação na regulação do sono. O Hormônio liberador do hormônio de crescimento (GHRH) é um hormônio com atividade promotora do sono. Após administração sistêmica e central em animais de laboratório, o GHRH aumentou o sono de ondas lentas (EHLERS *et al.*, 1986; OBÁL *et al.*, 1988), o que também foi confirmado em humanos, além de promover o aumento da secreção de hormônio do crescimento (GH) e diminuição do cortisol (KERKHOFS *et al.*, 1993; MARSHALL *et al.*, 1999; PERRAS *et al.*, 1999).

A GHrelina, que é um importante secretagogo de GH em humanos e roedores, também pode atuar promovendo o sono (ARVAT *et al.*, 2001). Como o GHRH, este hormônio promoveu aumento do sono de ondas lentas e secreção GH em homens jovens. Além disso, os níveis de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e cortisol também estavam aumentados após administração da GHrelina (WEIKEL *et al.*, 2003).

O Hormônio liberador de corticotrofina (CRH) também pode influenciar o sono em humanos e roedores. Em ratos, a administração intracerebroventricular promoveu diminuição do sono de ondas lentas (EHLERS *et al.*, 1986) e após 72h de privação de sono, o CRH diminuiu o sono de ondas lentas, prolongou o período de latência do sono e aumentou o REM (MARROSU *et al.*, 1990). Em humanos, a administração pulsátil intravenosa promoveu diminuição do sono de ondas lentas e do REM, com elevados níveis de cortisol (HOLSBOER *et al.*, 1988).

Em humanos, a infusão contínua (BORN *et al.*, 1991) e administração pulsátil intravenosa de cortisol aumentou o sono de ondas lentas e reduziu o REM (FRIESS *et al.*, 1994).

É bem definido que os hormônios sexuais influenciam o sono e o ciclo circadiano (HALL *et al.*, 2005) configurando uma série de diferenças no padrão de sono normal entre homens e mulheres, em humanos e animais.

Em humanos, mulheres de meia-idade apresentam mais sono de ondas lentas quando comparadas com homens de mesma idade (REYNOLDS *et al.*, 1985) porém, homens gastam mais tempo no estágio 1 do sono (BIXLER *et al.*, 1984) e apresentam maior número de despertares (KOBAYASHI *et al.*, 1998), apesar das mulheres relatarem maiores dificuldades para dormir e mais distúrbios do sono do que homens (LINDBERG *et al.*, 1997; OHAYON *et al.*, 1997; ANCOLI-ISRAEL, 2000).

Bright & Fishbein (1987), utilizando camundongos Swiss-Webster, demonstraram que fêmeas passaram mais tempo em sono paradoxal do que machos durante o dia em um ciclo claro/escuro de 12/12h, enquanto que machos apresentaram mais sono de ondas lentas durante a noite quando comparadas com fêmeas. Fang *et al.* (1988) observaram padrão oposto nas

diferenças sexuais em relação ao sono paradoxal em ratos, demonstrando aumento do sono paradoxal em machos. Em ratas ovariectomizadas, Deurveilher *et al.* (2009) demonstraram que a reposição hormonal com estradiol ou estradiol e progesterona foi capaz de diminuir sono não-REM e REM.

## **2.7 Dimorfismo sexual no padrão de sono**

Os diversos trabalhos que relatam diferenças no padrão de sono entre homens e mulheres (BRIGHT; FISHBEIN, 1987; FANG *et al.*, 1988; REYNOLDS *et al.*, 1985; BIXLER *et al.*, 1984; LINDBERG *et al.*, 1997; OHAYON *et al.*, 1997; ANCOLI-ISRAEL, 2000) sugerem que os hormônios sexuais podem desempenhar um papel importante na regulação do sono.

Estudos demonstram que estas influências podem ocorrer tanto durante o desenvolvimento quanto na idade adulta. É bem conhecido que a diferenciação do sistema nervoso, bem como as diferenças comportamentais entre homens e mulheres, depende da exposição perinatal aos andrógenos ou à ausência deles. Várias descobertas sugerem que as diferenças sexuais no sono paradoxal podem ser controladas por andrógenos durante o desenvolvimento (ANDERSON *et al.*, 1986; BEATTY, 1979; GOY; MCEWEN, 1985; WARD, 1984; WEISZ, 1982).

Em camundongos, o estresse pré-natal é capaz de alterar a secreção perinatal de testosterona provocando alterações no comportamento sexual e no cérebro do macho adulto (ANDERSON *et al.*, 1986; BEATTY, 1979; GOY; MCEWEN, 1985; WARD, 1984; WEISZ, 1982) e esta interferência provoca inversão do padrão de sono dos machos para o padrão feminino, mas não tem nenhum efeito sobre o padrão de sono nas fêmeas (FISHBEIN; BRIGHT, 1987). Em camundongos machos, a castração neonatal foi capaz de aumentar o sono paradoxal cujo efeito pode ser revertido com a administração neonatal de testosterona, o que não foi visualizado quando a administração foi realizada na idade adulta. Além disso, a administração neonatal de testosterona também diminui o sono paradoxal em fêmeas (YANG; FISHBEIN, 1995).

## **2.8 Hormônios tireoideos**

### **2.8.1 Síntese dos hormônios tireoideos**

A glândula tireoide é um dos maiores órgãos endócrinos, composta por dois lobo unidos por um istmo de parênquima glandular. A unidade funcional da glândula é o folículo, formado por uma camada única de células foliculares tireoidianas (tireócitos), cujo interior é preenchido por colóide. A tireoide é responsável pela síntese e secreção da 3,5,3',5'-tetraiodotironina (tiroxina ou T4) e, em menor quantidade, de 3,5,3'-triiodotironina (T3). Os hormônios tireoideos (HT) são importantes para o crescimento e desenvolvimento normais (GREENSPAN, 1994), desempenham papel fundamental no metabolismo, além de serem necessários para a função normal de quase todos os tecidos (YEN, 2001). O T3 é considerado o hormônio biologicamente ativo devido a sua maior afinidade dos receptores de hormônio tireoidianos (TR) por T3. O mecanismo molecular dos HT ocorre, classicamente, através de sua ligação a estes receptores nucleares que, por sua vez, se ligam ao DNA, alterando a expressão gênica de diferentes genes nas células alvos e, conseqüentemente, modificando funções nos diversos tecidos (LAZAR, 2003).

A síntese dos HT depende de várias etapas: síntese de tireoglobulina (Tg) e seu transporte e exocitose para a luz folicular; transporte do iodeto pela membrana basal (através do co-transportador Na<sup>+</sup>-I, NIS); oxidação do iodeto, iodação dos resíduos tirosil da Tg e

acoplamento das iodotirosinas (monoiototirosina, MIT e diiodotirosina, DIT) assim formadas, cujos processos são catalisados pela enzima tireoperoxidase (TPO). O acoplamento de uma molécula de MIT com uma de DIT forma T3, enquanto o acoplamento de duas moléculas de DIT forma T4. Além disso, a ligação do hormônio tireotrófico ou tireoestimulante (TSH) ao seu receptor é requerida para que a síntese hormonal ocorra de forma eficiente (LARSEN *et al.*, 1998).

Após sintetizados, os HT são captados pelas células através de transportadores de membrana. Diferentes transportadores específicos tem sido identificados, incluindo o transportador de monocarboxilato 8 (MCT8), MCT 10 e polipeptídeos transportadores de ânions orgânicos 1C1 (OATP1C1). O MCT8 e 10 são expressos em vários tecidos, onde realizam o transporte de T3, T4, rT3 e T2 através das membranas celulares; OATP1C1 é expresso predominantemente no sistema nervoso central e transporta preferencialmente T4 (HEUER; VISSER, 2009).

A síntese e secreção dos HT é modulada por um sistema de *feedback* negativo que envolve hipotálamo, hipófise e tireoide. O Hormônio liberador de tireotrofina (TRH) sintetizado pelo núcleo paraventricular do hipotálamo, age nas células tireotróficas da hipófise, estimulando a produção e liberação de hormônio tireotrófico ou tireotrofina (TSH). O TSH é o principal modulador da síntese e secreção dos hormônios tireóideos. Os HT regulam negativamente a secreção de TRH e TSH (YEN, 2001).

## 2.8.2 Co-transportador Na<sup>+</sup>I<sup>-</sup> (NIS) e tireoperoxidase (TPO)

Como visto acima, a captação de iodeto realizada pelo NIS (do inglês: *sodium iodide symporter*, co-transportador Na<sup>+</sup>I<sup>-</sup>) é um dos processos requeridos para a síntese dos hormônios tireoidianos. O NIS é uma proteína de membrana localizada na superfície basal e basolateral do tireócito, onde o transporte do iodeto é realizado através de um processo ativo. Como a concentração de iodeto é maior dentro da célula folicular, a captação do iodeto extracelular ocorre contra um gradiente eletroquímico, de modo que para a entrada de um átomo de iodeto (I<sup>-</sup>) são requeridos o transporte de 2 íons sódio (Na<sup>+</sup>) para fora do folículo (WOLFF, 1998; DE LA VIEJA *et al.*, 2000).

Além do NIS, a tireoperoxidase (TPO) é uma enzima que apresenta papel crucial na biossíntese dos HT. A TPO catalisa a oxidação de iodeto, a incorporação do iodo oxidado aos resíduos tirosina da molécula de tireoglobulina (TG) formando o MIT e DIT (organificação do iodo) e o acoplamento de iodotirosinas (MIT e DIT) para a síntese de T3 e T4 (TAUROG, 2000).

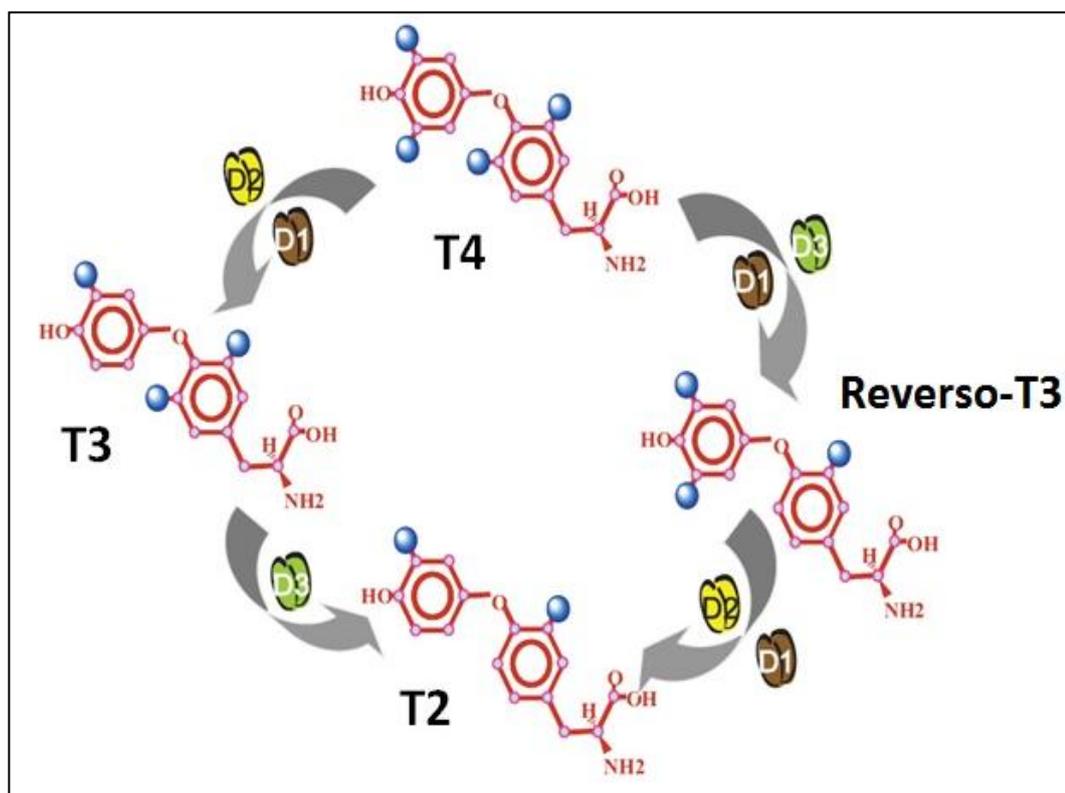
Alguns estudos demonstram relação entre NIS e TPO e os hormônios gonadais, porém os resultados não são conclusivos. O estrogênio pode influenciar a função tireoidea através da estimulação da secreção de TSH ou pela ação direta deste hormônio nos tireócitos (FURLANETTO *et al.*, 1999; CHEN; WLAFFISH, 1978 e 1978a, CHRISTIANSON *et al.*, 1981; FISHER; D'ANGELO, 1971; LISBÔA *et al.*, 1997), o que tem sido evidenciado pela presença de receptores de estrogênio na tireoide de humanos e ratos (HIASA *et al.*, 1993 e 1993a; BANU *et al.*, 2002). Boccabella & Alger, 1984 demonstraram aumento da captação de iodeto radioativo pela tireoide após administração de estradiol em fêmeas ovariectomizadas e hipofisectomizadas, evidenciando um efeito direto do hormônio sexual na tireoide, ou seja, independente do TSH. Lima *et al.* (2006) demonstraram aumento da atividade do NIS (captação do iodeto) e da TPO (organificação do iodo) em ratas ovariectomizadas tratadas com estradiol, acompanhadas de níveis séricos inalterados de TSH, comprovando novamente uma ação direta do estradiol na glândula tireoide. Em contrapartida, Furlanetto *et al.* (1999) demonstraram redução da expressão do gene do co-transportador Na<sup>+</sup>I<sup>-</sup> (NIS) assim como da captação de iodeto em células FRTL-5 da tireoide tratadas com estradiol.

### 2.8.3 Controle da concentração sérica dos hormônios tireoideos

Diferentemente do T4, que é gerado exclusivamente pela tireoide, a maior parte do T3 sérico é produzida pela desiodação periférica do T4 (ST. GERMAIN; GALTON, 1997). Esta desiodação é catalisada por enzimas desiodases, presentes em todos os vertebrados, que podem ativar o T4 e inativar o T4 e T3, dependendo da ação no anel fenólico ou tirosílico. Estas transformações metabólicas dos HT ocorrem em diferentes tecidos periféricos e regulam os efeitos biológicos destes hormônios (BIANCO *et al.*, 2002).

A monodesiodação do T4 é caracterizada pela retirada do átomo de iodo do anel externo (fenólico) ou interno (tirosílico). A desiodação do anel externo, que origina T3, é conhecida como via bioativadora; enquanto a monodesiodação nas posições 5 ou 3 do anel tirosílico, ou anel interno, a via bioinativadora porque origina rT3 e 3,3'-T2 a partir de T4 e T3, respectivamente (KÖHRLE, 1999; BIANCO *et al.*, 2002).

Baseado em diversos fatores, como análise da cinética e padrão de inibição por certas substâncias, como o 6n-propil-2-tiouracil (PTU), duas enzimas com atividade 5' desiodase (desiodação do anel externo) foram identificadas, as desiodases tipo 1 e tipo 2 (D1 e D2, respectivamente). A D1 também catalisa a desiodação do anel interno (tirosílico) das iodotironinas, principalmente quando sulfatadas. Uma terceira enzima foi, ainda, identificada, a desiodase tipo 3 (D3), que catalisa a desiodação no anel interno de T4 e T3, produzindo 3,3',5'-triodotironina (reverso-T3, rT3) e 3,3'-diiodotironina (T2) respectivamente, os quais parecem não ter atividade biológica (BIANCO *et al.*, 2002). A esquematização das desiodações dos HT catalisada pelas enzimas desiodases tipo 1, 2 e 3 são demonstradas na Figura 3.



**Figura 3.** Representação esquemática da cascata de desiodação das iodotironinas. Vias de ativação ou inativação das iodotironinas pelas enzimas desiodases tipo 1 (D1), 2 (D2) e 3 (D3). Bianco *et al.*, 2002.

Diferentes fatores podem provocar alterações nos níveis séricos de HT e estas alterações podem ou não estar ligadas ao metabolismo das desidases. Dentre eles, tem sido demonstrada influência dos hormônios sexuais (LIMA *et al.*, 2006; MARASSI *et al.*, 2007; PANTALEÃO *et al.*, 2010; LISBÔA *et al.*, 1997) e do estresse (BIANCO *et al.*, 1987; CIZZA *et al.*, 1996; KONDO *et al.*, 1997; SERVATIUS *et al.*, 2000).

## 2.9 Iodotironina desidase tipo 1 (D1)

Em humanos, a D1 está presente no fígado, rim, tireoide (ISHII *et al.*, 1982) e hipófise, não sendo detectada atividade D1 no sistema nervoso central (KOENIG, 2005). Em ratos, a D1 é expressa no fígado, rim, sistema nervoso central (SNC), hipófise, intestino, tireoide e placenta (BIANCO *et al.*, 2002). Em verdade, a D1 está amplamente distribuída, havendo maior atividade no fígado e rim do que em outros tecidos, como pulmão, intestino, músculo esquelético, coração, baço, placenta, glândula mamária, linfócitos, tecido adiposo branco e marrom, pele e glândula salivar (KÖHRLE, 1994; LEONARD; KÖHRLE, 1996).

Está bem definido que em ratos, camundongos e humanos, os HT aumentam o mRNA e/ou a atividade da D1 hepática, renal e hipofisária, sendo estes tecidos sensíveis aos níveis de hormônios tireoideos, local e circulante (BERRY *et al.*, 1990; KÖHRLE, 1999). Na glândula tireoide, a D1 também é regulada positivamente pelo TSH (ERICKSON *et al.*, 1982; LEONARD; VISSER, 1986; KÖHRLE, 1999). Em condições de hipertireoidismo, o aumento da atividade D1 hepática, renal e hipofisária foi observado, enquanto no hipotireoidismo foram observadas diminuição de tais atividades e aumento da atividade D1 tireoidea (LEONARD; VISSER, 1986).

Há estudos que sugerem ser a geração de T3 plasmático a partir de T4 a maior contribuição da D1 (principalmente hepática e renal) em humanos (BIANCO *et al.*, 2002) enquanto outros demonstram a contribuição da D2, presente em diferentes tecidos, para o T3 sérico (MAIA *et al.*, 2005). Em ratos, a D1 catalisa, aproximadamente, metade da produção diária extratireoidea de T3 a partir de T4 em ratos (BIANCO *et al.*, 2002). Além disso, tem sido sugerido haver uma contribuição da D1 tireoidea para o T3 circulante, pelo menos em ratos, já que nestes 40% do T3 vêm diretamente da tireoide em comparação com 20% em humanos (KÖHRLE, 1999).

## 2.10 Iodotironina desidase tipo 2 (D2)

Em ratos, a atividade D2 é encontrada predominantemente em hipófise, sistema nervoso central e tecido adiposo marrom (TAM); também é expressa em gônadas, glândula pineal e timo de rato, glândula mamária de camundongo e útero de rata grávida (GERMAIN, 1994; ST. GERMAIN; GALTON, 1997; BIANCO *et al.*, 2002). Em humanos, a atividade D2 também foi identificada na tireoide, no encéfalo fetal e de adulto, na artéria coronária, no coração, na medula espinhal, e na placenta, além de, em quantidade menor, no rim e no pâncreas (TANAKA *et al.*, 1986; CROTEAU *et al.*, 1996; SALVATORE *et al.*, 1996; BIANCO *et al.*, 2002).

Na maioria dos tecidos em que é expressa, a D2 é regulada negativamente pelos hormônios tireoideos, sendo o T4 e o rT3 inibidores mais potentes que o T3, o que mostra não ser a diminuição na atividade da D2 mediada via receptor de T3 nuclear (LEONARD; VISSER, 1986).

Estudos demonstraram que a D2 é a principal fonte local de T3 no TAM, sendo essencial na adaptação da termogênese em ratos expostos ao frio (BIANCO; SILVA, 1987; CARVALHO *et al.*, 1991). Jesus *et al.* (2001) demonstraram que animais *knockout* para D2

expostos ao frio apresentam hipotermia, e apenas sobrevivem devido a um aumento dos tremores e uma perda aguda do peso corporal, apesar dos níveis plasmáticos normais de T3.

As diferenças específicas na expressão da D2 entre as espécies indicam que esta enzima tem funções espécie-específicas (BIANCO *et al.*, 2002). Parecia ser um consenso que a principal contribuição fisiológica da D2 era originar o T3 intracelular, mas Hosoi *et al.* (1999) demonstraram expressão e atividade D2 no músculo esquelético humano, sugerindo que a D2 poderia ser, também, uma fonte para a produção de T3 plasmático em humanos. Esta hipótese foi confirmada por Maia *et al.* (2005) os quais sugeriram que a D2 seria a principal fonte extratireoidea de T3 em humanos eutireoideos. Em contrapartida, Schneider *et al.* (2001) observaram, em animais *knockout* para D2, T4 e TSH séricos elevados, mas T3 sérico normal, mostrando que, pelo menos em camundongos, a D2 não seria a principal fonte de T3 plasmático.

Atualmente, apesar de não estar claro os efeitos metabólicos dos HT nos diferentes tecidos, o papel crucial das enzimas desiodases para a ação destes hormônios tem sido sugerida. A modulação destas enzimas (ativação ou inativação) nos diferentes tecidos em que elas são expressas, centrais e periféricos, garantem concentrações adequadas de HT, possibilitando que estes exerçam seus efeitos metabólicos adequadamente (BIANCO, 2011).

Estas afirmações a respeito do papel crucial das desiodases na fisiologia dos HT têm sido esclarecida pelos diversos estudos realizados em camundongos geneticamente modificados com deleções de genes alvo para desiodase (ST. GERMAIN *et al.*, 2005) e animais *knockout* para desiodases em tecidos específicos (FONSECA *et al.*, 2010).

## 2.11 Privação de sono e o sistema endócrino

Apesar de várias hipóteses e teorias sobre as possíveis funções do sono, uma única teoria a respeito desse assunto ainda permanece indefinida. Apesar disso, a importância do sono é evidenciada dada as consequências fisiológicas de sua privação. Portanto, a necessidade diária de sono bem como os efeitos adversos da privação de sono para os diversos sistemas biológicos tem sido alvo de muitos estudos.

Na sociedade moderna, estilos de vida exigentes têm reduzido a duração do sono devido a diversos fatores como vida social, luz artificial, trabalho por turnos ou distúrbios do sono (ANDERSEN *et al.*, 2009) e acredita-se que, em relação às mulheres, isso pode ser agravado devido aos cuidados com crianças e tarefas de casa (ANDERSEN *et al.*, 2008).

Em humanos e animais, a privação de sono provoca diversas alterações. Dentre elas, podem ocorrer reduções na eficiência do processamento cognitivo, do tempo de reação e da responsividade atencional, além de prejuízos na memória, aumento da irritabilidade, alterações metabólicas, endócrinas, imunológicas, quadros hipertensivos, cansaço, náuseas, dores de cabeça, ardência nos olhos e diminuição da libido (SHEPHARD; SHEK, 1997; SPIEGEL *et al.*, 1999; BROUWERS; LENDERS, 2000; BONNET; ARAND, 2003).

Em animais, alterações metabólicas e endócrinas (EVERSON; CROWLEY, 2004; SUCHECKI; TUFIK, 2000; COENEN; VAN LUIJTELAR, 1985; PATCHEV *et al.*, 1991; SUCHECKI *et al.*, 2002 e 2003; ANDERSEN *et al.*, 2003, 2004, 2004a, 2005, 2006a e 2007; BERGMANN *et al.*, 1989; EVERSON; REED, 1995; EVERSON; NOWAK, 2002), aumento da atividade locomotora e do comportamento sexual e agressivo (ANDERSEN *et al.*, 2000, 2002, 2003 e 2009; ARRIAGA *et al.*, 1988; FERGUSON; DEMENT, 1969; FRUSSA-FILHO *et al.*, 2004; PERRY *et al.*, 2007; TRONCONE *et al.*, 1988; TUFIK, 1981 e 1981a; TUFIK *et al.*, 1978) bem como alteração nos níveis de ansiedade (ANDERSEN *et al.*, 2004a e 2005; SILVA *et al.*, 2004 e 2004a, SUCHECKI *et al.*, 1998) tem sido demonstradas.

Tradicionalmente, o sistema autônomo simpatoadrenal e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA, do inglês: *hypothalamic-pituitary-adrenal*) são considerados os principais

sistemas neuroendócrinos envolvidos na resposta ao estresse. A ativação do sistema nervoso simpático resulta na liberação de noradrenalina (norepinefrina) das terminações nervosas simpáticas em todo o organismo e secreção de adrenalina (epinefrina) a partir da adrenal (AXELROD; REISINE, 1984; Johnson *et al.*, 1992) enquanto a ativação do eixo HPA induz a secreção do hormônio liberador de corticotropina (CRH) pelo hipotálamo, que estimula a secreção de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela hipófise, e este desencadeia a liberação de glicocorticóides pela adrenal (cortisol em seres humanos ou de corticosterona em ratos) (STEIGER, 2002; BUCKLEY; SCHATZBERG, 2005).

A metodologia das plataformas múltiplas de privação de sono paradoxal é considerada uma metodologia de estresse devido a ativação de sistemas clássicos resultando na secreção de hormônios do estresse como a corticosterona (COENEN; VAN LUIJTELAAR, 1985; PATCHEV *et al.*, 1991; SUCHECKI *et al.*, 2002; ANDERSEN *et al.*, 2004 e 2005) e catecolaminas (FAROOQUI *et al.*, 1996; ANDERSEN *et al.*, 2005). Koban *et al.* (2006) demonstraram aumento progressivo da expressão de mRNA de CRH a partir de 5 a 20 dias de privação de sono paradoxal enquanto que Fadda e Fratta (1997) relataram aumento dos níveis de CRH no corpo estriado, áreas límbicas e na pituitária e redução no hipotálamo após 72 h de privação de sono paradoxal. Estes resultados indicam uma possível ativação do eixo HPA, cujo aumento dos níveis de CRH pode estimular a secreção de corticosterona. Diversos estudos demonstraram aumento dos níveis de ACTH e corticosterona após 4 dias de PSP (ANDERSEN *et al.*, 2004b; ANDERSEN *et al.*, 2005; SUCHECKI *et al.*, 1998; SUCHECKI *et al.*, 2002) e elevação da corticosterona a partir de 24 h de PSP (SUCHECKI *et al.*, 1998; ANDERSEN *et al.*, 2005).

A privação de sono é capaz de alterar o eixo HPA e estudos tem demonstrado a relação deste com o eixo hipotálamo-hipofise-tireoide (HPT, do inglês: *hypothalamic-pituitary-thyroid*). Diversos trabalhos sugerem que o estresse pode induzir redução dos HT, porém os resultados não são conclusivos diante das diferentes metodologias utilizadas. Estudos utilizando a técnica de imobilização demonstrou tanto aumento (TURAKULOV *et al.*, 1994) quanto diminuição dos níveis de hormônio tireoidianos (CIZZA *et al.*, 1996). Bianco *et al.* (1987) demonstrou níveis séricos inalterados de T4 e diminuição dos níveis de T3 após 6 e 8 horas de contenção bem como outros fatores estressantes, como o injeção de lipopolissacarídeo (KONDO *et al.*, 1997) e choque na cauda (SERVATIUS *et al.*, 2000) também resultaram na redução dos níveis de hormônios tireoideos.

Considerando os hormônios gonadais femininos, a redução dos níveis de estrógenos, particularmente na menopausa, está associada a perturbações do sono, depressão, irritabilidade, ansiedade, distúrbios de pânico e disfunções cognitivas (CAMPBELL; WHITEHEAD, 1997; ARPELS, 1996; SHERWIN *et al.*, 1998). Distúrbios do sono, como insônia, são relatados mais frequentemente por mulheres quando comparadas com homens (LINDBERG *et al.*, 1997) e pesadelos são relatados duas vezes mais por mulheres (OHAYON *et al.*, 1997). Apesar de algumas mulheres não apresentarem sintomas pré-menstruais e insônia secundária, a insônia e os seus sintomas associados frequentemente ocorrem no início da menstruação (FREEMAN *et al.*, 2004). Flutuações hormonais que ocorrem durante o ciclo menstrual ou estral podem estar associadas com as variações do sono entre homens e mulheres que ocorrem em humanos e ratos.

Diversos estudos demonstram que a privação de sono paradoxal é capaz de alterar os níveis de hormônios gonadais (ANDERSEN *et al.*, 2003, 2004a, 2005b, 2006a, 2007). Andersen *et al.* (2004a) demonstraram que a PSP por 96h pelo método da plataforma múltipla, em ratos machos, resulta em uma diminuição significativa de testosterona, um aumento de progesterona e corticosterona, e o período de rebote por 24 horas foi capaz de normalizar as alterações da progesterona e da corticosterona. Analisando os níveis de hormônios gonadais após PSP pelo mesmo período e metodologia em fêmeas, Antunes *et al.*

(2008) observaram no grupo submetido à privação na fase diestro do ciclo estral, baixos níveis de estrona e estradiol, e altos níveis de progesterona e corticosterona.

Influência dos hormônios sexuais na recuperação da privação de sono também tem sido demonstrada. Corsi-Cabrera *et al.* (2003) relataram, em homens e mulheres, que a recuperação do sono normaliza padrões eletroencefalográficos após um período de 38 horas de privação de sono paradoxal. Os valores correspondentes ao período anterior à privação foram atingidos após uma noite de recuperação em homens, enquanto o mesmo período não foi suficiente para reverter todos os efeitos da privação em mulheres; dessa forma, os autores afirmam a existência de mecanismos compensatórios em mulheres, que adiam a recuperação do sono, sugerindo que as mulheres necessitam de mais sono do que homens para se recuperarem.

## 2.12 Privação de sono e ciclo estral

O ciclo reprodutivo das ratas é chamado ciclo estral e é caracterizado por 4 fases: proestro, estro, metaestro (ou diestro I) e diestro (ou diestro II). A duração média do ciclo é de 4 dias (LONG; EVANS, 1922; FREEMAN, 1988). Em fêmeas, cada fase do ciclo apresenta níveis de hormônios sexuais distintos (BRANCHEY *et al.*, 1971; HAIM *et al.*, 2003).

Durante o ciclo estral, as concentrações de prolactina, LH e FSH permanecem baixas e aumentam na tarde do proestro. Os níveis de estradiol começam a aumentar no metaestro, atingindo níveis máximos durante o proestro, retornando aos valores basais no estro. A secreção de progesterona também aumenta durante metaestro e diestro, seguida de uma diminuição. Depois os níveis de progesterona voltam a aumentar para atingir o seu segundo pico no final do proestro (SPORTNITZ *et al.*, 1999; SMITH *et al.*, 1975).

A citologia vaginal é utilizada para a determinação das fases do ciclo estral (LONG; EVANS, 1922; HOAR; HICKMAN, 1975). A caracterização de cada fase é baseada na proporção entre três tipos de células observadas no esfregaço vaginal: células epiteliais, cornificadas e leucócitos. No proestro, o esfregaço vaginal é caracterizado pela predominância de células epiteliais nucleadas, no estro é constituído principalmente por células queratinizadas anucleadas, no metaestro apresenta a mesma proporção entre leucócitos, células cornificadas e células epiteliais nucleadas e no diestro o esfregaço é caracterizado pela predominância de leucócitos (LONGA; EVANS, 1922; MANDL, 1951).

Algumas evidências indicam que as alterações do sono, em mulheres, estão associadas ao ciclo menstrual, o que seria explicado pelas variações hormonais que ocorrem durante o ciclo. Entre as mudanças, estão incluídas alterações na fase 2 do sono de ondas lentas e no percentual de sono REM ou sua latência (LEE *et al.*, 1990; ISHIZUKA *et al.*, 1994; DRIVER *et al.*, 1996), assim como diminuição do sono REM na fase luteal (BAKER *et al.*, 1999).

Em ratos também podem ocorrer alterações do sono durante o ciclo estral (KLEINLOGEL, 1975; SCHWIERIN *et al.*, 1998). Foi observada redução acentuada na quantidade noturna de sono não-REM e REM na fase do proestro em comparação com as outras fases. O proestro é fase do ciclo estral em que os esteróides ovarianos estão mais elevados (COLVIN *et al.*, 1968; ZHANG *et al.*, 1995; SCHWIERIN *et al.*, 1998). Além disso, a ovariectomia provocou aumento do sono REM e esta alteração foi suprimida pela reposição hormonal, evidenciando a influência dos níveis de hormônios gonadais (DEURVEILHER *et al.*, 2009 e 2011; BRANCHEY *et al.*, 1971; COLVIN *et al.*, 1969; YAMAOKA, 1980; PAUL *et al.*, 2009; SCHWARTZ; MONG, 2011 e 2013). Em contraste com estes resultados, Fang e Fishbein (1996) e Andersen *et al.* 2008 não relataram alterações no padrão de sono normal durante o ciclo estral.

Antunes *et al.* (2006), utilizando a metodologia das plataformas múltiplas, não observaram alterações no ciclo estral de fêmeas durante os quatro dias de privação de sono

paradoxal, porém observaram a interrupção da ciclicidade nos grupos submetidos à privação nas fases do proestro e diestro durante a primeira semana do período de recuperação, sugerindo efeitos distintos e tardios/duradouros da privação sobre o ciclo de fêmeas.

A técnica da plataforma múltipla é conhecida por ser um procedimento estressante enquanto que em humanos, o estresse provoca efeitos fisiológicos e comportamentais adversos (SELYE *et al.*, 1976) e também tem sido descrito como a causa de alterações no ciclo menstrual em mulheres (RABIN *et al.*, 1988; GENAZZANI *et al.*, 1991). O estresse pode alterar a neurotransmissão e a liberação de hormônios envolvidos na regulação da fisiologia reprodutiva e do comportamento, portanto não é surpreendente que ele tenha sido relatado por afetar a função reprodutiva nas mulheres (GENAZZANI *et al.*, 1991; ANDERSEN *et al.*, 2005)

Os esteróides gonadais regulam diversos aspectos do eixo HPA. A atividade do eixo apresenta diferença entre homens e mulheres, sendo observado, em ratos, maior secreção de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e corticosterona em fêmeas que em machos, em condições basais e de estresse (VIAU, 2002). Os níveis séricos de corticosterona sofrem influência dos hormônios gonadais o que se torna evidente pela variação da secreção de glicocorticóides durante as fases do ciclo estral, apresentando valores mais elevados no proestro, fase que apresenta altas concentrações de hormônios ovarianos (VIAU; MANEY, 1991; BURGESS; HANDA, 1992; CAREY *et al.*, 1995).

Antunes *et al.* (2006), além da observação da ciclicidade estral, realizaram dosagens hormonais ao final de 4 dias de privação de sono paradoxal e encontraram baixos níveis de estradiol e estrógeno e altos níveis de progesterona e corticosterona em fêmeas submetidas a privação na fase diestro do ciclo estral. Neste mesmo grupo experimental foi observado um período de anestro constante durante 8 dias de recuperação, o que poderia ser explicado pelas alterações hormonais verificadas ao final da privação. Estas observações sugerem que cada fase do ciclo estral reage de forma diferente quando submetidas a um período de privação de sono e que a fase diestro parece ser o período afetado por esta condição de estresse.

### **2.13 Privação de sono, hormônios tireoideos e gonadais**

Na sociedade moderna, exigentes estilos de vida têm reduzido a duração do sono devido a diversos fatores como vida social, luz artificial, trabalho por turnos, ou distúrbios do sono (ANDERSEN *et al.*, 2009). Os efeitos desta privação de sono ainda não estão claramente definidos, porém estudos têm relacionado a maior ocorrência de distúrbios de sono em mulheres, quando comparada aos homens (CAMPBELL; WHITEHEAD, 1997; ARPELS, 1996; SHERWIN *et al.*, 1998; LINDBERG *et al.*, 1997; OHAYON *et al.*, 1997).

Vários estudos demonstram haver influência dos esteróides gonadais sobre a função tireoidea. Estes trabalhos se baseiam na maior incidência de disfunção tireoidea em mulheres do que em homens, e no fato de que essas disfunções frequentemente aparecem concomitantemente com mudanças nos níveis endógenos (DONDA *et al.*, 1990).

Diversos estudos demonstram influência dos hormônios gonadais sobre a função tireoidea. Marassi *et al.* (2007) encontraram maiores níveis séricos de T3 e menores níveis de TSH, demonstrando a presença de dimorfismo sexual na função tireoidea. A ovariectomia foi capaz de reduzir os níveis de T4 (PANTALEÃO *et al.*, 2010) e T3, o qual foi restaurado com a reposição hormonal (LIMA *et al.*, 2006).

Poucos trabalhos relacionam a influência da privação de sono sobre a função tireoidea. Balzano *et al.* (1990) e Everson *et al.* (1995) demonstraram diminuição dos níveis séricos totais e livres de T3 e T4 e aumento da atividade da D2 no TAM de ratos machos privados de sono total pela metodologia dos discos giratórios, e apesar da hipotiroxinemia provocada pela privação de sono, Everson & Reed, (1995) não demonstraram alterações na concentração de

TSH. Everson e Nowak (2002) demonstraram, que a privação do tempo total de sono provoca aumento da expressão do pré-pro-TRH, mas não encontra diferença na expressão da D2 no hipotálamo; no entanto, nestes estudos não foi realizada análise sobre as atividades das desidases.

Contradizendo os estudos acima, Van Cauter e Tasali (2011), observaram aumento de até 200% nos níveis de TSH acompanhados de pequeno aumento de T3 e T4 inalterado, após uma noite de privação de sono total. O T4 sérico aumentou após a segunda noite e os elevados níveis de TSH declinaram apenas após vários dias de privação de sono, sugerindo *feedback* negativo dos hormônios tireoideos na liberação do TSH.

## 3 OBJETIVOS

### 3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da privação de sono paradoxal de 24 e 96h, bem como o efeito do sono rebote de 24 horas, sobre a função tireoidea e o metabolismo extratireoideo das iodotironinas em fêmeas, além de estudar o papel dos hormônios gonadais femininos neste contexto.

### 3.2 Objetivos específicos

No primeiro momento, estudamos o efeito da privação do sono paradoxal sobre a função tireoidea de fêmeas intactas e posteriormente, para avaliarmos a participação/importância dos hormônios sexuais femininos nos possíveis efeitos da privação de sono sobre a função tireoidea, submetemos fêmeas castradas à privação de sono paradoxal, dessa forma, nossos objetivos específicos foram divididos em duas partes, sendo a primeira com fêmeas intactas e a segunda com castradas.

#### 3.2.1 Efeito da privação de sono paradoxal sobre a função tireoidea e metabolismo extratireoideo das iodotironinas em fêmeas intactas

Na primeira parte, em ratas intactas submetidas à 24 e 96 horas de privação de sono paradoxal, bem como ao sono rebote de 24 horas, objetivamos avaliar:

- As concentrações séricas totais de T3, T4 e TSH;
- A atividade da desidase tipo 1 (D1) no fígado, rim, tireoide e hipófise; e tipo 2 (D2) no tecido adiposo marrom (TAM), hipófise e hipocampo;
- A atividade, *in vivo*, da tireoperoxidase (TPO) e do cotransportador sódio-iodeto (NIS) na glândula tireoide;
- Peso corporal e peso das glândulas hipófise, adrenal e tireoide.

#### 3.2.2 Papel dos hormônios gonadais femininos nos efeitos da privação de sono paradoxal na função tireoidea e metabolismo extratireoideo das iodotironinas em fêmeas.

Na segunda parte, em ratas castradas submetidas à 24 e 96 horas de privação de sono paradoxal, bem como ao sono rebote de 24 horas, objetivamos avaliar:

- As concentrações séricas de corticosterona, estradiol e progesterona;
- As concentrações séricas totais de T3 e T4;
- A atividade da desidase tipo 1 (D1) no fígado, rim, tireoide e hipófise; tipo 2 (D2) no tecido adiposo marrom (TAM) e hipófise;
- Peso corporal e peso das glândulas hipófise, adrenal e tireoide.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Animais

Ratas Wistar (200-250g) foram obtidas do biotério da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), mantidas em temperatura controlada (22°C), ciclo claro/escuro de 12h (7 às 19hs), com comida e água *ad libitum*. Todo o protocolo experimental foi aprovado pelo comitê de ética e bem estar animal da UFRRJ, processo N°. 23083.000948/2012-30.

### 4.2 Citologia vaginal

O esfregaço vaginal foi realizado todos os dias de manhã entre 09:00h e 10:00h. A coleta da secreção vaginal foi realizada com o auxílio de pêra e ponteira de plástico contendo soro fisiológico (NaCl 0,9%). Para a coleta, a ponteira foi inserida na vagina das fêmeas, não profundamente, e o esfregaço vaginal coletado foi colocado na lâmina para a posterior visualização no microscópio óptico. A determinação do ciclo foi baseada na presença de três tipos celulares no esfregaço vaginal. A lâmina de proestro apresenta predominância de células epiteliais nucleadas, o estro é constituído por células queratinizadas anucleadas, o metaestro apresenta a mesma proporção entre leucócitos, células epiteliais e cornificada e o diestro apresenta predominância de leucócitos (MARCONDES, 2002).

### 4.3 Cirurgia de castração

A cirurgia de castração (ovariectomia) foi realizada nas fêmeas adultas, 21 dias antes do fim do experimento (MARASSI *et al.*, 2007). Os animais foram previamente anestesiados com uma combinação de Ketamina na dose de 50 mg/kg e Xilazina na dose de 5 mg/kg intraperitonealmente na mesma seringa, e posteriormente, foi realizada a remoção bilateral dos ovários. Ratas falsa-operadas sofreram todo o estresse cirúrgico, sendo as gônadas apenas expostas e não removidas.

### 4.4 Protocolo de privação de sono paradoxal

O protocolo utilizado para a privação de sono paradoxal (PSP) foi baseado na metodologia das plataformas múltiplas modificada (Nunes & Tufik, 1994). Para a execução do protocolo foram utilizados tanques de 57 × 48 × 21cm e plataformas circulares (6,5 de diâmetro). As plataformas foram distribuídas nos tanques (8 a 10 plataformas por tanque) e estes foram preenchidos com água. As plataformas ficaram submersas até 1cm abaixo de suas superfícies. Os animais foram colocados no tanque contendo as plataformas (5 a 6 ratas por tanque) de modo que fosse permitido a movimentação dos animais entre elas (Figura 4). Quando estes animais atingem a fase de sono paradoxal, ocorre a atonia muscular e assim, eles despertam ao cair na água. Os animais ficaram no tanque durante todo o tempo do experimento, exceto para a limpeza diária do tanque.



**Figura 4.** Foto representativa da metodologia das plataformas múltiplas modificada utilizada para a privação de sono paradoxal em nosso estudo.

#### 4.5 Protocolos experimentais

Este estudo foi dividido em dois protocolos experimentais. No primeiro, realizamos o protocolo de privação de sono paradoxal em ratas intactas (não-castradas) e no segundo, em ratas castradas (ovariectomizadas).

No experimento com fêmeas intactas, foi realizada a análise do esfregaço vaginal durante 10 dias antes do início do experimento para o acompanhamento do ciclo estral. Apenas fêmeas com ciclos regulares foram utilizadas (ANDERSEN *et al.*, 2008). A regularidade do ciclo estral também foi acompanhada durante o experimento. No grupo das fêmeas castradas, foi realizada análise do esfregaço vaginal antes da cirurgia, para verificar a regularidade do ciclo estral destes animais. A cirurgia de castração foi realizada duas semanas antes do experimento de privação (DEURVEILHER *et al.*, 2009). Uma semana antes do início do experimento os animais foram mantidos na sala de privação de sono e três dias antes eles foram submetidos à adaptação por uma hora nos tanques de privação de sono.

#### 4.5.1 Primeiro protocolo experimental

Neste protocolo, ratas intactas foram submetidas a dois tempos de privação de sono paradoxal. As fêmeas foram randomicamente distribuídas em 5 grupos experimentais:

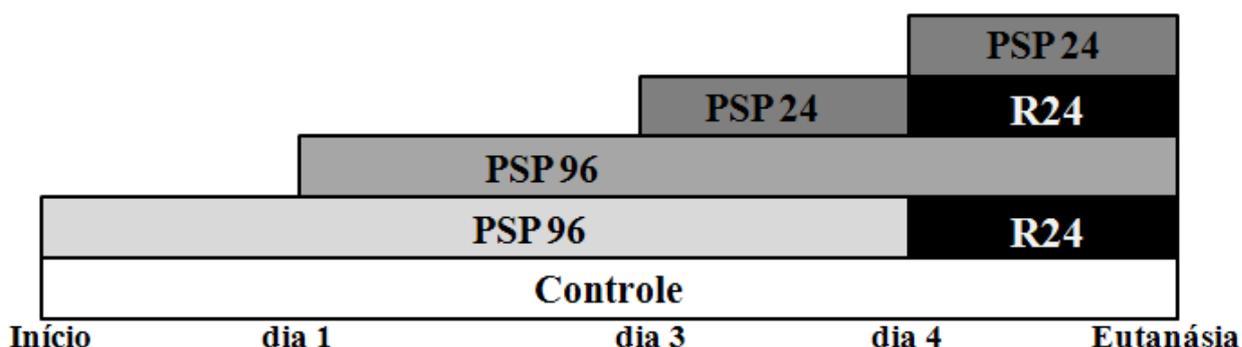
1- controle, ratas que foram mantidas na sala de experimento, com padrão de sono normal;

2- privadas de sono paradoxal por 24 h (PSP24), ratas que permaneceram no tanque de privação de sono paradoxal durante 24 h;

3- PSP24 com sono rebote de 24h (PSP24R), ratas que foram mantidas no tanque de privação durante 24h e, após este período, puderam dormir livremente por 24h antes da eutanásia;

4- privadas de sono paradoxal por 96 h (PSP96), ratas que permaneceram no tanque de privação de sono paradoxal durante 96h;

5- PSP96 com sono rebote de 24h (PSP96R), ratas que foram mantidas no tanque de privação de sono paradoxal durante 96h e, após este período, puderam dormir livremente por 24h antes da eutanásia (Figura 5).



**Figura 5.** Esquema representativo do 1º protocolo experimental. Grupos: Controle, Privadas de sono paradoxal por 24 horas (PSP24) e 96 horas (PSP96) e estes com sono rebote de 24 horas (PSP24R e PSP96R).

#### 4.5.2 Segundo protocolo experimental

Neste protocolo, ratas ovariectomizadas foram submetidas a dois tempos de privação de sono paradoxal. As fêmeas foram randomicamente distribuídas em 6 grupos experimentais:

1- falsa operada (FO), ratas que sofreram apenas estresse cirúrgico e foram mantidas na sala de experimento, com padrão de sono normal;

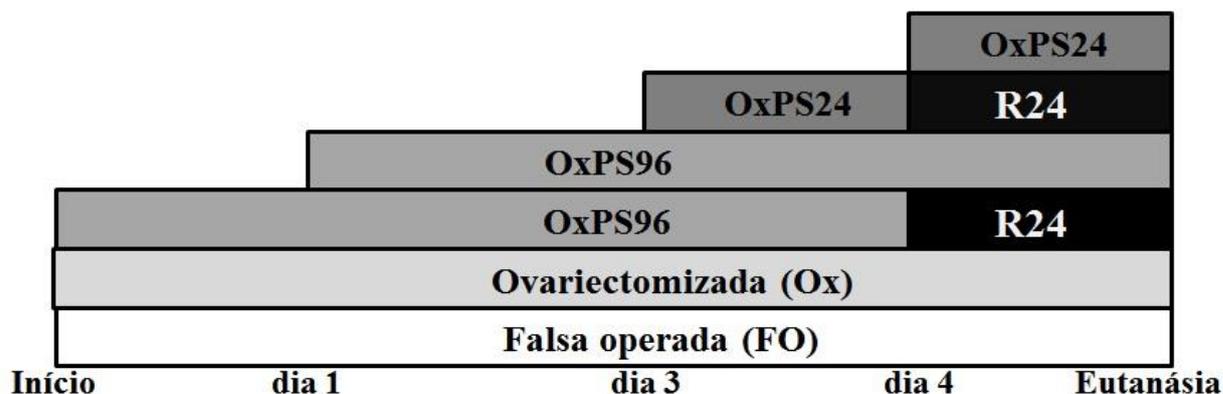
2- ovariectomizadas (Ox), ratas que foram gonadectomizadas e mantidas na sala de experimento, com padrão de sono normal;

3- Ox e privadas de sono paradoxal por 24 horas (OxPS24), ratas castradas que foram mantidas no tanque de privação de sono paradoxal durante 24 horas;

4- OxPSP24 com sono rebote de 24h (OxPS24R), ratas castradas que foram mantidas no tanque de privação durante 24h e, após este período, puderam dormir livremente por 24h antes da eutanásia;

5- Ox e privadas de sono por 96 horas (OxPS96), ratas castradas que foram mantidas no tanque de privação de sono paradoxal durante 96 horas;

6- OxPS96 com sono rebote de 24h (OxPS96R), ratas que foram mantidas no tanque de privação de sono paradoxal durante 96h e, após este período, puderam dormir livremente por 24h antes da eutanásia (Figura 6).



**Figura 6.** Esquema representativo do 2º protocolo experimental. Grupos: Falsa operada (FO), Ovariectomizada (Ox), Ox e privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24) e 96 horas (OxPS96) e estes com sono rebote de 24 horas (OxPS24R e OxPS96R).

O protocolo de privação de sono foi elaborado de modo que todos os grupos experimentais pudessem ser eutanasiados no mesmo dia. O sangue foi coletado e o soro estocado à -20°C para análise de T4, T3, TSH, estradiol, progesterona e corticosterona pela técnica de Radioimunoensaio ou Eletroquimioluminescência (esta última apenas para T3 e T4). Hipófise, tireoide, tecido adiposo marrom (TAM), fígado, rim e hipocampo foram retirados e estocados à -70°C para posterior análise da atividade das iodotironinas desidases tipos 1 e 2. Foi realizado um experimento separado para avaliação da atividade do NIS e da TPO *in vivo* na glândula tireoide.

#### 4.6 Concentração sérica total de T3 e T4

No primeiro protocolo experimental (ratas intactas), as concentrações séricas de T3 e T4 totais foram analisados pela técnica de Eletroquimioluminescência, com equipamento e reativos da Roche Diagnóstica, realizado no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia (LACFAR) da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

No segundo experimento, as concentrações séricas de T3 e T4 foram determinadas com Kits comerciais para RIE de T3 (*DLS – 3100 Active®*, TX, EUA) e T4 (*DLS – 3200, Active®*, TX EUA) totais, contendo anticorpos específicos aderidos à parede dos tubos de polipropileno, e T3 e T4 radiomarcados (<sup>125</sup>I). Os demais procedimentos seguiram as recomendações do fornecedor. As amostras foram dosadas em duplicata e a detecção da radioatividade foi determinada em cintilador de fase sólida Wizard (2470 Wallac Wizard™ *automatic gamma counter*).

Os resultados foram expressos em ng/dl para o T3 e em µg/dl para o T4.

#### 4.7 Concentração sérica total de TSH

As dosagens séricas de TSH foram realizadas por RIE específico, utilizando kit fornecido pelo *National Institute of Diabetes and Kidney Diseases* (NIDDK-Bethesda, EUA).

Este *kit* é composto por TSH murino purificado para a preparação das amostras utilizadas na curva padrão (0,625 a 25 ng/ml), TSH murino purificado para ser iodado e anticorpo de coelho anti-TSH murino (1° Ac). A iodação da molécula de TSH com <sup>125</sup>I foi realizada em nosso laboratório, pelo método da cloramina T, conforme previamente descrito (ORTIGA, 1992). O RIE foi realizado pelo método do 2° anticorpo, com adição de 6% de polietilenoglicol. O TSH sérico foi expresso em ng/ml.

#### **4.8 Concentração sérica total de corticosterona, estradiol e progesterona**

Os níveis séricos de corticosterona, estradiol e progesterona foram analisados através da técnica de Radioimunoensaio (RIE) com Kit específico (corticosterona: *MP Biomedicals*, NY e estradiol e progesterona: *MP Biomedicals*, CA). Todo procedimento foi realizado de acordo com as especificações do Kit. A corticosterona, estradiol e progesterona sérica foram expressos em ng/ml, pg/ml e ng/ml, respectivamente.

#### **4.9 Atividade da desidase tipo 1 (D1) e tipo 2 (D2)**

As atividades da D1 e da D2 foram determinadas pelos métodos previamente publicados (BERRY *et al.*, 1991), como adaptado por Bianco e Larsen (comunicação pessoal).

##### **4.9.1 Processamento dos tecidos**

As amostras de fígado, rim e tecido adiposo marrom (TAM) foram pesadas em balança digital (fígado e rim: 25mg e TAM: 40 mg do tecido/ml de tampão), assim como tireoide, hipófise e hipocampo foram homogeneizados em tampão sucrose-DTT (0,25 M sucrose contendo 10 mM DTT ou 20 mM DTT, para determinação da atividade D1 ou D2, respectivamente). Os tecidos foram homogeneizados em gelo utilizando plotter de vidro. Os homogenatos foram armazenados a - 80°C até o dia do ensaio. Alíquotas de 30 µl foram guardadas separadamente a -20°C para dosagem de proteínas (ptn) pelo método de Bradford (1976), as amostras foram solubilizadas com NaOH 2,5 N pelo menos 30 minutos antes da dosagem (sempre em duplicata) e a albumina sérica bovina (*BSA – Sigma, MO, EUA*) foi utilizada para a construção da curva padrão.

##### **4.9.2 Purificação do rT3-<sup>125</sup>I ou T4-<sup>125</sup>I**

Antes da determinação da atividade da D1 ou da D2 em um determinado tecido, o traçador radioativo foi purificado em virtude do decaimento radioativo e das desidiações espontâneas das iodotironinas marcadas, mesmo na ausência da enzima. Para a purificação, foi utilizada uma coluna de 2 cm de Sephadex L20 (*Amersham Biosciences*) (4 ml de H<sub>2</sub>O/g de gel seco) para se obter somente o rT3 ou o T4 radioativo presente na solução. Uma alíquota de 70 µl da solução de iodotironina marcada foi diluída em 12 ml de H<sub>2</sub>O Milli-Q e aplicada à coluna, seguindo uma lavagem com 6 ml de H<sub>2</sub>O Milli-Q. O rT3 ou T4 marcado foi eluído nove vezes com 500 µl de solução de etanol 70%. O eluato de etanol 70% contendo a iodotironina foi colhido em nove tubos de vidro, de onde foram retirados 3 µl para contagem da radiação gama. Os tubos com mais de 3.000 cpm/3 µl foram reunidos e guardados a 4°C, ao abrigo da luz, até o dia seguinte, quando o ensaio foi realizado.

#### 4.9.3 Ensaio de atividade da D1 ou D2

Para dosar a atividade da D1 e da D2 foram adicionadas as substâncias descritas abaixo de acordo com a ordem enumerada:

- 1) tampão PE (100 mM fosfato de sódio, 1 mM EDTA, pH 6,9) calculado para obter um volume total de reação de 300 µl;
- 2) ditioneitol (DTT) 10 mM para D1 ou 20 mM para D2;
- 3) rT3 frio 1 µM para D1 ou T4 frio 1 nM para D2;
- 4) o homogenato tecidual (D1: volume calculado para conter 15 µg de proteína por fígado, rim e tireóide e 150 µg de proteína da hipófise; D2: volume calculado para conter 50 µg de proteína do TAM e 15 µg de proteína da hipófise e hipocampo).

A adição de 50 µl (50000 cpm) do rT3-<sup>125</sup>I ou 100 µl (100000 cpm) do T4-<sup>125</sup>I em todos os tubos iniciou a reação. Durante 60 minutos para D1 ou 180 minutos para D2, os tubos foram incubados a 37°C. Decorrido o tempo de incubação, a reação foi interrompida colocando-se os tubos em banho de gelo. Em seguida, foram adicionados 200 µl de soro fetal bovino (*Cultilab, BR*) e 100 µl de ácido tri-cloro acético (TCA) 50% para a precipitação das proteínas. Os tubos foram agitados vigorosamente no *vortex* durante 1 minuto e centrifugados (10000xg por 3 minutos em microcentrífuga). Finalmente, 360 µl do sobrenadante foram transferidos para tubos de contagem para medir a radioatividade no contador gama. A atividade da D1 foi expressa em picomoles de rT3/ min.mg de ptn e da D2 em femtomoles de T4/ min.mg de ptn.

#### 4.10 Atividade da tireoperoxidase (TPO) *in vivo*

Para análise da atividade da TPO *in vivo*, injetamos por via intraperitoneal 100µl de iodeto radioativo Na-I<sup>125</sup> (25000 CPM) e os animais foram submetidos à eutanásia 2 horas após esta administração (FERREIRA *et al.*, 2005; LIMA *et al.*, 2006). A glândula tireoide foi retirada e levada para contagem no cintilador de fase sólida Wizard (2470 Wallac Wizard<sup>TM</sup> automatic gamma counter). A atividade da TPO foi expressa em porcentagem do total de I<sup>125</sup> injetado por mg de tireoide (% I/mg Tir).

#### 4.11 Atividade do transportador sódio iodeto (NIS)

Para análise da atividade do NIS *in vivo*, injetamos por via intraperitoneal 100µl de iodeto radioativo Na-I<sup>125</sup> (25000 CPM) e os animais foram submetidos à eutanásia 15 minutos após esta administração (FERREIRA *et al.*, 2005; LIMA *et al.*, 2006). A glândula tireoide foi retirada para contagem em cintilador de fase sólida Wizard (2470 Wallac Wizard<sup>TM</sup> automatic gamma counter). A atividade do NIS foi expressa em porcentagem do total de I<sup>125</sup> injetado por mg de tireoide (% I/mg Tir).

#### 4.12 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média. A análise estatística empregada na comparação dos resultados foi realizada com a utilização do programa de análises estatísticas Graphpad Prism (*Graphpad Software, Inc., San Diego, USA*), sendo analisado por análise de variância univariada paramétrica, seguido de teste de comparação múltipla de Bonferroni. Os dados de TSH sérico foram analisados por variância

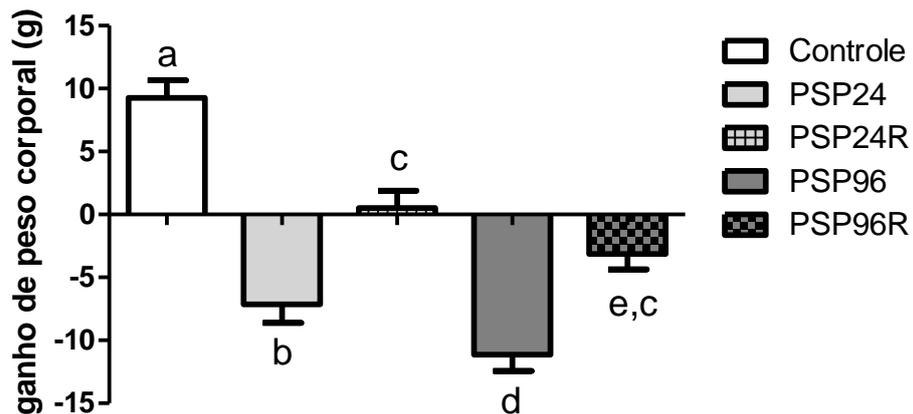
univarida não paramétrica, *Kruskal-Wallis*, seguido de teste de comparação múltipla de Dunn. As diferenças foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Resultados do primeiro protocolo experimental – Efeito da privação de sono paradoxal sobre a função tireoidea e metabolismo extratireoideo das iodotironinas em fêmeas intactas

#### 5.1.1 Peso corporal

A privação de sono paradoxal de 24 e 96h foram capazes de provocar significativa perda de peso nas fêmeas intactas. Fêmeas intactas que foram privadas durante 96h apresentam maior perda de peso quando comparadas às fêmeas do grupo PSP24. O sono rebote de 24h nas fêmeas que foram submetidas a 24h de privação de sono (PSP24R) conseguiu reverter a perda de peso, mas o ganho de peso ainda foi significativamente menor que o grupo controle. Nas fêmeas privadas por 96h, o sono rebote (PSP96R) apenas diminuiu significativamente a perda de peso, porém o ganho de peso não foi reestabelecido (Figura 07 e Tabela 1).



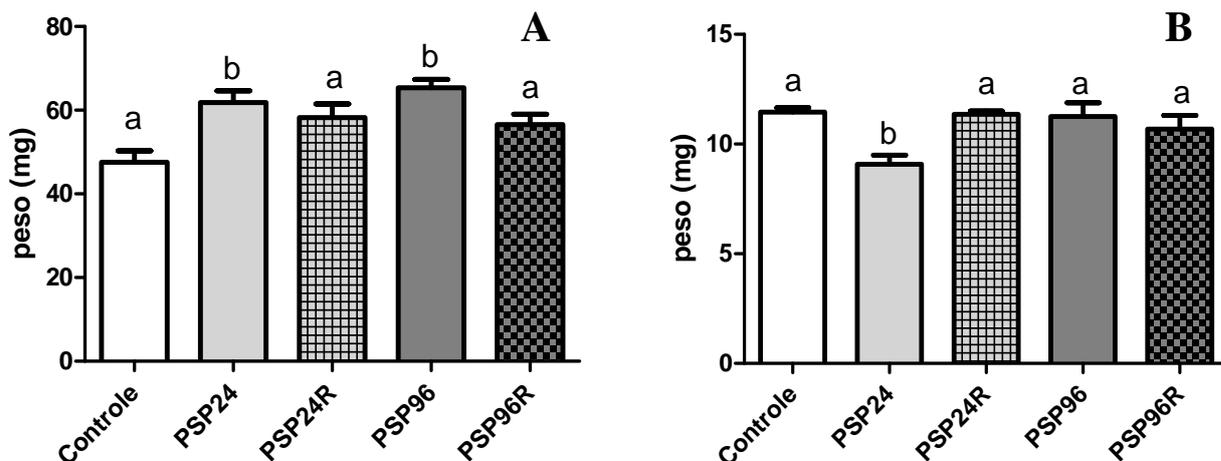
**Figura 7.** Ganho de peso corporal (g) nos grupos Controle ( $n=12$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24,  $n=14$ ) e 96 horas (PSP96,  $n=15$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R,  $n=14$  e PSP96R,  $n=15$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ).

**Tabela 1.** Ganho de peso corporal (gramas, médias  $\pm$  erro padrão da média) nos grupos Controle, Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24) e 96 horas (PSP96) e seus respectivos rebotes (PSP24R e PSP96R). Os valores negativos representam perda de peso e letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

| <b>Grupos</b> | <b>Ganho de peso corporal (g)</b> |
|---------------|-----------------------------------|
| Controle      | 9,25 $\pm$ 1,40 ( $n=12$ ) a      |
| PSP24         | -7,14 $\pm$ 1,47 ( $n=14$ ) b     |
| PSP24R        | 0,50 $\pm$ 1,37 ( $n=14$ ) c      |
| PSP96         | -11,13 $\pm$ 1,31 ( $n=15$ ) d    |
| PSP96R        | -3,13 $\pm$ 1,24 ( $n=15$ ) e,c   |

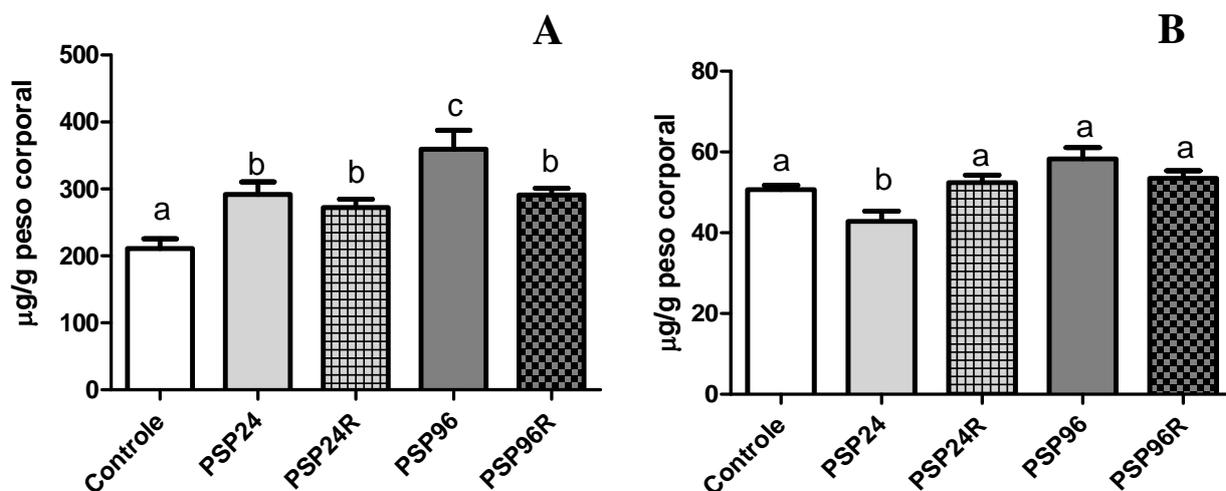
### 5.1.2 Peso absoluto e relativo da adrenal, hipófise e tireoide

A privação de sono paradoxal em ratas intactas foi capaz de provocar alterações contrárias no peso absoluto da adrenal e hipófise, não afetando o peso da tireoide. O peso absoluto da adrenal foi significativamente maior nas fêmeas privadas de sono paradoxal (PSP24 e PSP96) em relação às fêmeas controle. Não observamos diferença significativa no peso absoluto entre as fêmeas que foram submetidas à 24 e 96h de privação (C=47,58 $\pm$ 2,68; PSP24=61,85 $\pm$ 2,80; PSP24R=58,20 $\pm$ 3,27; PSP96=65,37 $\pm$ 2,00; PSP96R=56,58 $\pm$ 2,4mg;  $n=5-6$ ). O sono rebote de 24h em ambos os tempos de privação (PS24R e PS96R) reverteu o aumento do peso absoluto da glândula adrenal. O peso absoluto da hipófise diminuiu significativamente nas fêmeas que foram submetidas à 24h de privação (PSP24) e o sono rebote de 24h foi capaz de normalizar o peso desta glândula. Não observamos alteração no peso absoluto da hipófise nas fêmeas que foram submetidas à 96h de privação (C=11,46 $\pm$ 0,20; PSP24=9,08 $\pm$ 0,41; PSP24R=11,35 $\pm$ 0,16; PSP96=11,25 $\pm$ 0,63; PSP96R=10,68 $\pm$ 0,62mg;  $n=4-6$ ) (Figura 8).



**Figura 8.** Peso absoluto (mg) da Adrenal (A) e Hipófise (B) nos grupos Controle ( $n=5$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24,  $n=6$ ) e 96 horas (PSP96,  $n=6$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R,  $n=6$  e PSP96R,  $n=4-6$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ).

Como observamos diferenças no peso corporal final dos animais estudados, calculamos o peso relativo, normalizando as médias de peso das glândulas pelo peso corporal das ratas. Confirmando os resultados de peso absoluto, o peso relativo da hipófise mostrou a mesma diminuição no grupo privado por 24h ( $C=50,70\pm 1,03$ ;  $PSP24=42,81\pm 2,55$ ;  $PSP24R=52,46\pm 1,82$ ;  $PSP96=58,33\pm 2,78$ ;  $PSP96R=53,48\pm 1,86$   $\mu\text{g/g}$  peso corporal;  $n=4-6$ ) e o peso relativo da adrenal o mesmo aumento nas ratas PSP24 e PSP96, além disso verificamos diferença no peso relativo da adrenal entre os grupos PSP24 e PSP96 e o sono rebote não normalizou o peso da glândula ( $C=211,0\pm 14,41$ ;  $PSP24=291,9\pm 18,88$ ;  $PSP24R=272,4\pm 12,41$ ;  $PSP96=359,4\pm 28,22$ ;  $PSP96R=290,9\pm 10,00$   $\mu\text{g/g}$  peso corporal;  $n=5-6$ ) (Figura 9).

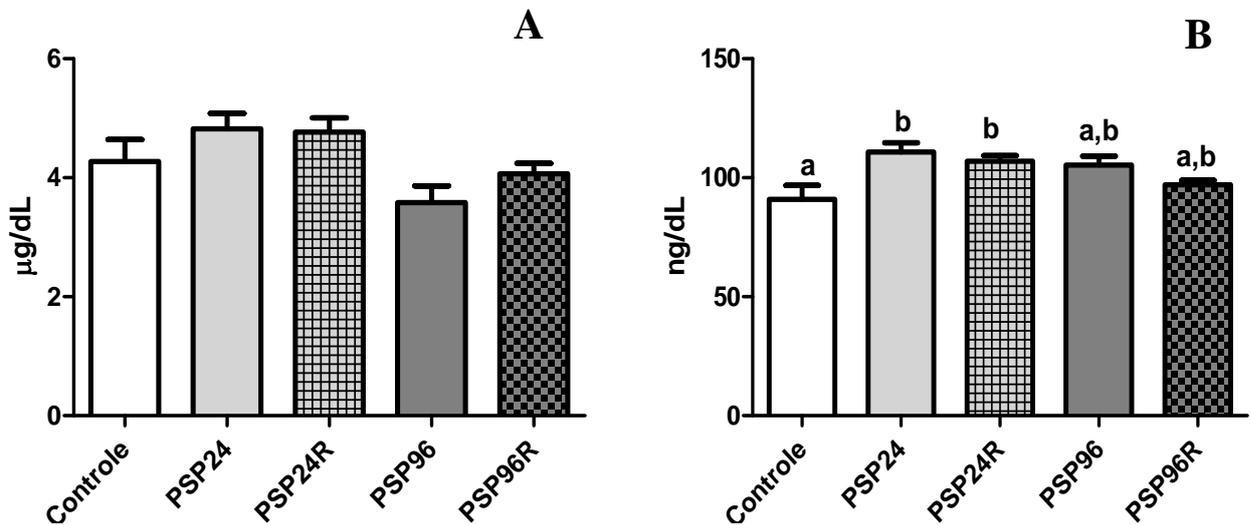


**Figura 9.** Peso relativo ( $\mu\text{g/g}$  de peso corporal) da Adrenal (A) e Hipófise (B) nos grupos Controle ( $n=5$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24,  $n=6$ ) e 96 horas (PSP96,  $n=5-6$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R,  $n=6$  e PSP96R,  $n=4-6$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ).

O peso absoluto ( $C=13,43\pm 0,77$ ;  $PSP24=12,70\pm 0,95$ ;  $PSP24R=12,29\pm 0,69$ ;  $PSP96=13,97\pm 0,60$ ;  $PSP96R=14,00\pm 1,10$ mg;  $n=13-16$ ) e relativo ( $C= 55,44\pm 3,02$ ;  $PSP24=52,00\pm 4,50$ ;  $PSP24R=55,19\pm 3,35$ ;  $PSP96=65,03\pm 2,95$ ;  $PSP96R=61,86\pm 3,49$  $\mu$ g/g peso corporal;  $n= 9-11$ ) da glândula tireoide não diferiram significativamente entre os grupos estudados neste primeiro protocolo experimental.

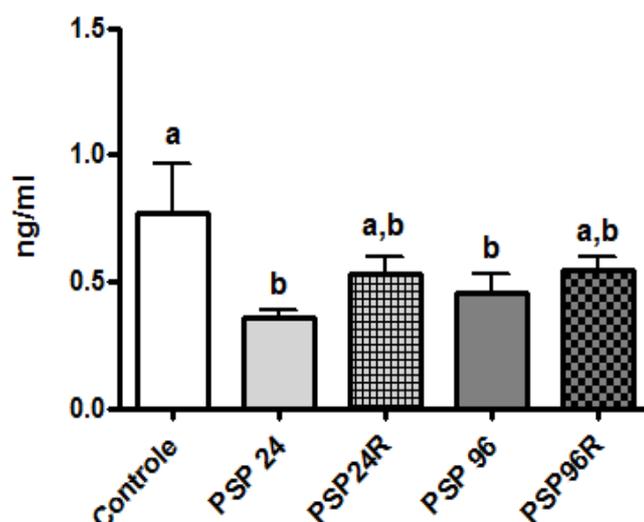
### 5.1.3 Concentração sérica total de T3, T4 e TSH

Os diferentes períodos de privação de sono estudados (24 e 96h) não foram suficientes para alterar significativamente a concentração sérica total de T4, enquanto a privação de 24h provocou aumento significativo do T3 sérico total quando comparados com o controle, e o período rebote de 24h não foi capaz de normalizar estas concentrações. No período de 96h de privação com ou sem sono rebote, não foram observadas alterações significativas na concentração sérica total de T3 (Figura 10 e Tabela 2).



**Figura 10.** Concentração sérica total de T4 (A) e T3 (B) nos grupos Controle ( $n=7-8$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24,  $n=8-9$ ) e 96 horas (PSP96,  $n=6-7$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R,  $n=10$  e PSP96R,  $n=9$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ).

O TSH sérico foi significativamente menor nos grupos privados de sono (PSP24 e PSP96) em relação ao grupo controle e o sono rebote de 24horas foi capaz de normalizar esta alteração em ambos os tempos de privação (Figura 11, Tabela 2).

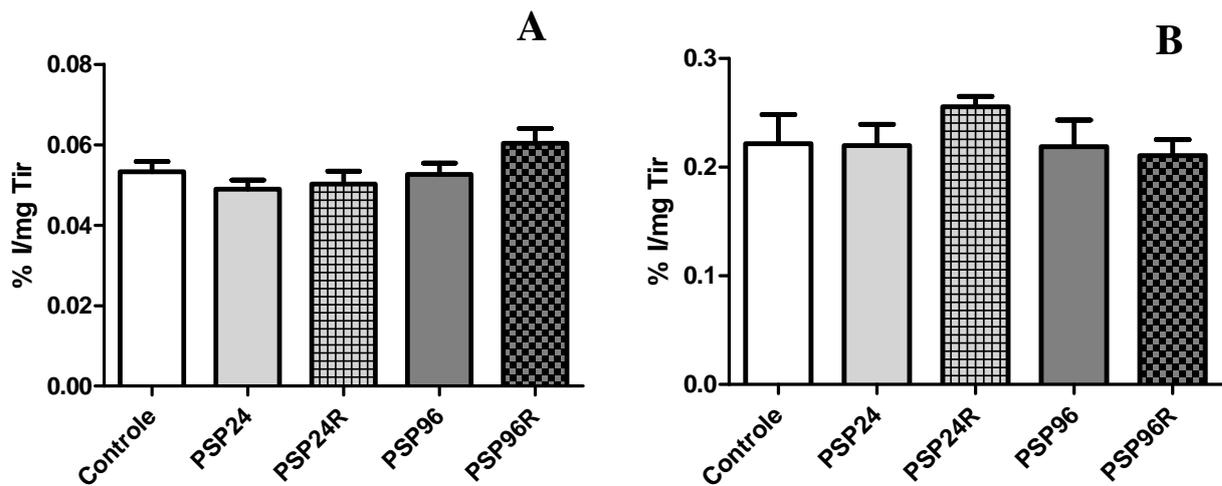


**Figura 11.** Concentração sérica total de TSH nos grupos Controle (n=5), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24, n=10) e 96 horas (PSP96, n=8) e seus respectivos rebotes (PSP24R e PSP96R, n=10). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 2.** Concentração sérica total de T4, T3 e TSH nos grupos Controle, Privado de sono paradoxal por 24(PSP24) e 96 horas (PSP96) e seus respectivos rebotes (PSP24R e PSP96R). Os valores representam a média da dosagem hormonal dos grupos  $\pm$  erro e letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

| Grupos   | T4 ( $\mu\text{g/dL}$ ) | T3 (ng/dL)                  | TSH(ng/mL)                 |
|----------|-------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Controle | 4,27 $\pm$ 0,37 (n=7)   | 90,88 $\pm$ 5,91 (n=8) a    | 0,76 $\pm$ 0,19 (n=5) a    |
| PSP24    | 4,82 $\pm$ 0,25 (n=8)   | 110,80 $\pm$ 3,87 (n=9) b   | 0,36 $\pm$ 0,02 (n=10) b   |
| PSP24R   | 4,77 $\pm$ 0,23 (n=10)  | 106,90 $\pm$ 2,47 (n=10) b  | 0,53 $\pm$ 0,07 (n=10) a,b |
| PSP96    | 3,58 $\pm$ 0,27 (n=6)   | 105,30 $\pm$ 3,74 (n=7) a,b | 0,45 $\pm$ 0,07 (n=8) b    |
| PSP96R   | 4,06 $\pm$ 0,17 (n=9)   | 97,00 $\pm$ 1,98 (n=9) a,b  | 0,54 $\pm$ 0,05 (n=10) a,b |

A atividade do co-transportador sódio-iodeto (NIS) e da tireoperoxidase (TPO) não sofreu alteração com a privação de sono paradoxal no período de 24 e 96 horas nas fêmeas intactas (Figura 12).

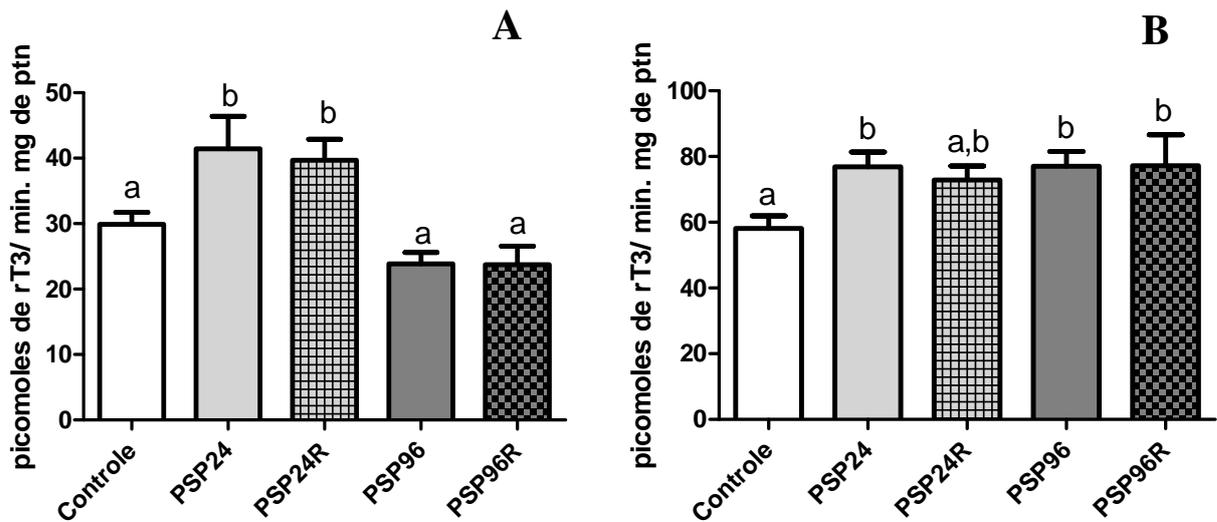


**Figura 12.** Atividade do NIS *in vivo* (A) (captação de iodeto após 15 minutos da administração do iodeto radioativo) nos grupos Controle ( $n=14$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24,  $n=11$ ) e 96 horas (PSP96,  $n=18$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R,  $n=11$  e PSP96R  $n=10$ ) e atividade da TPO *in vivo* (B) (acumulação de iodeto na tireoide após 2 horas da administração do iodeto radioativo) nos grupos Controle ( $n=5$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24,  $n=3$ ) e 96 horas (PSP96,  $n=4$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R,  $n=3$  e PSP96R,  $n=5$ ). Não houve diferenças significativas entre os grupos.

A privação de sono paradoxal foi capaz de aumentar significativamente a atividade da desidase tipo 1 no fígado, rim e tireoide, enquanto na hipófise não observamos diferenças significativa na atividade entre os grupos estudados.

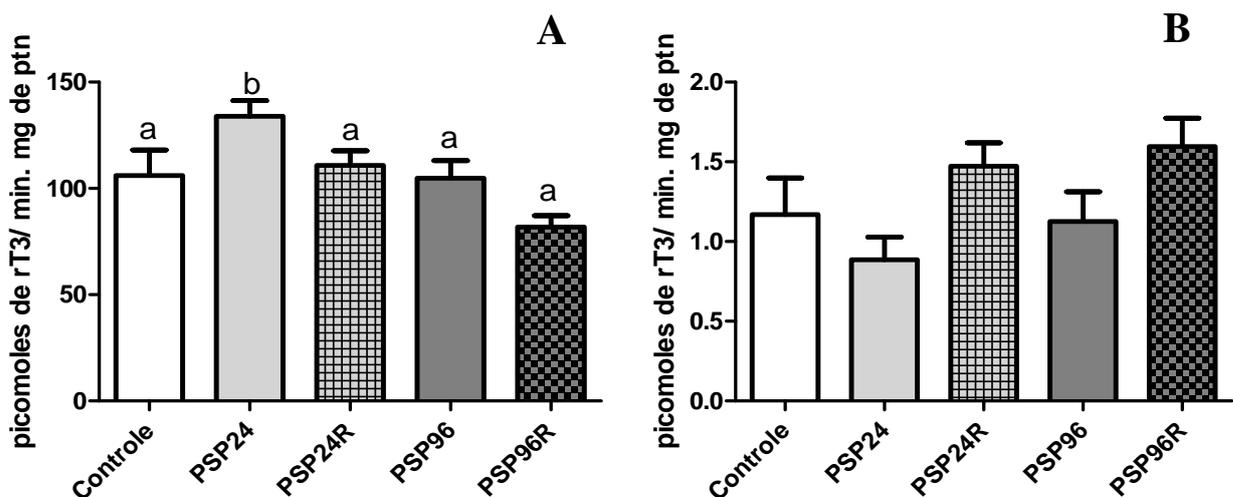
No fígado, a atividade da D1 foi significativamente maior nas fêmeas intactas que foram submetidas à 24h de privação de sono comparadas ao controle, o sono rebote de 24h não foi suficiente para normalizar esta alteração. Nas fêmeas que foram privadas durante 96h não observamos diferenças significativas na D1 hepática (C=29,88±1,84; PSP24=41,43±4,95; PSP24R=39,69±3,20; PSP96=23,85±1,76; PSP96R=23,73±2,84 picomolesrT3/min.mg de ptn;  $n=9-10$ ) (Figura 13).

No rim, os diferentes tempos de privação estudados (24 e 96h) foram capazes de aumentar significativamente a atividade da D1 e o sono rebote de 24h foi capaz de normalizar esta alteração apenas no grupo que permaneceu privado por 24 horas (PSP24R). Não observamos diferença significativa entre as atividades da D1 renal nas fêmeas que foram privadas 24 e 96h (C=58,08±3,84; PSP24=76,90±4,49; PSP24R=72,88±4,23; PSP96=77,05±4,46; PSP96R=77,18±9,41 picomolesrT3/min.mg de ptn;  $n=8-9$ ) (Figura 13).



**Figura 13.** Atividade da desiodase tipo 1 no Fígado (A) e no Rim (B) nos grupos Controle ( $n=9$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24,  $n=9$ ) e 96 horas (PSP96,  $n=9$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R,  $n=9-10$  e PSP96R,  $n=8-9$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ).

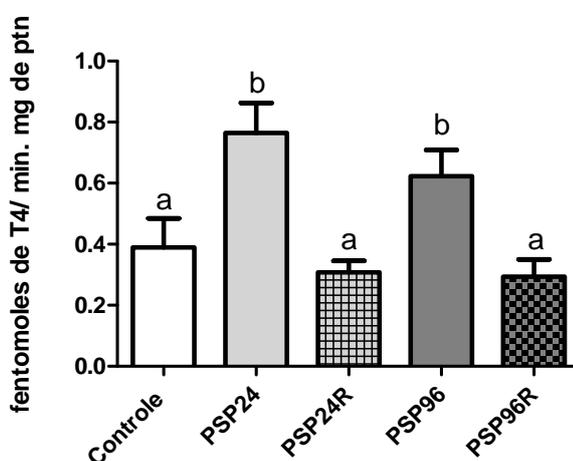
A atividade da D1 tireoidea aumentou significativamente nas fêmeas intactas que foram submetidas à 24h de privação de sono paradoxal e o sono rebote de 24h foi suficiente para normalizar esta alteração. Não observamos alteração na atividade da D1 nas ratas que permaneceram privadas de sono durante 96 horas (C=103,1±11,99; PSP24=133,9±7,42; PSP24R=110,8±6,94; PSP96=104,8±8,42; PSP96R=81,33±5,35 picomoles rT3/min. mg de ptn;  $n=7-10$ ) (Figura 14). A atividade da D1 hipofisaria, como demonstrado na Figura 14, não sofreu alteração com a privação de sono de 24 e 96h (C=1,17±0,22; PSP24=0,88±0,14; PSP24R=1,47±0,14; PSP96=1,12±0,18; PSP96R=1,59±0,17 picomoles rT3/min.mg de ptn;  $n=4-10$ ).



**Figura 14.** Atividade da desiodase tipo 1 na tireoide (A) e na hipófise (B) nos grupos Controle ( $n=6-7$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24,  $n=6-10$ ) e 96 horas (PSP96,  $n=6-10$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R,  $n=10$  e PSP96R,  $n=4-9$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ).

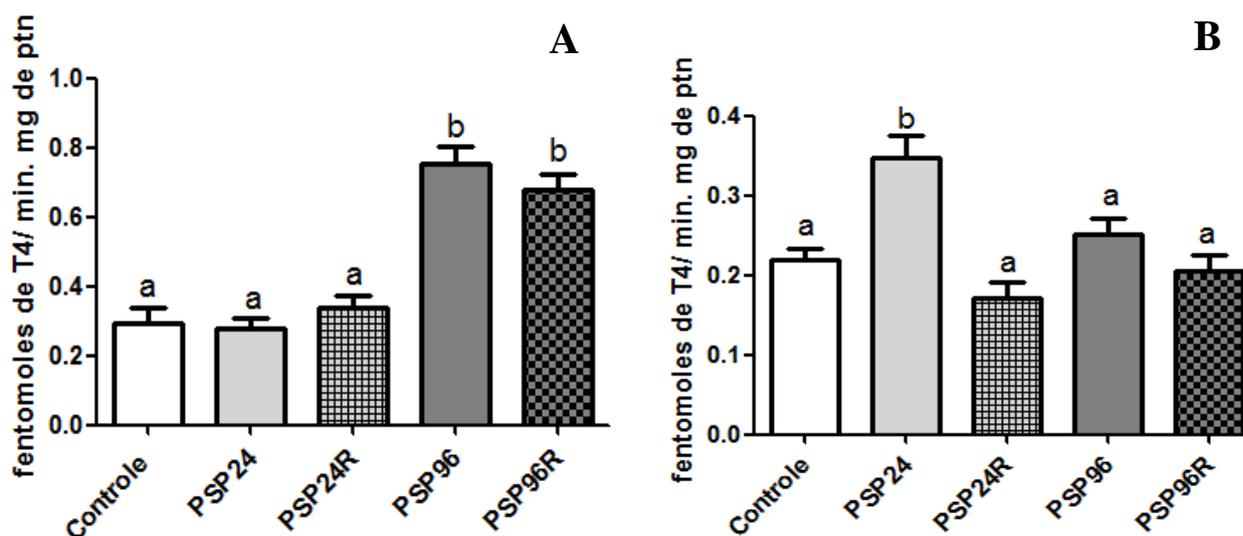
### 5.1.6 Atividade da desidase tipo 2(D2)

A privação de sono paradoxal foi capaz de aumentar a atividade da D2 em todos os tecidos estudados. Perifericamente, a privação de sono provocou aumento significativo da atividade da D2 no tecido adiposo marrom (TAM) nas fêmeas intactas que foram privadas por 24 e 96h. O sono rebote de 24h mostrou-se suficiente para normalizar esta alteração observada em ambos os tempos de privação de sono, comprovada pela ausência de diferença significativa entre os valores de atividade das fêmeas dos grupos rebote e controle. Não observamos diferenças significativas entre as atividades da D2 no TAM de fêmeas que foram privadas por 24 e 96h, apesar do aumento de 94,8% e 58,9% apresentado pelo grupo privado por 24 e 96h, respectivamente ( $C=0,39\pm 0,09$ ;  $PSP24=0,76\pm 0,09$ ;  $PSP24R=0,30\pm 0,03$ ;  $PSP96=0,62\pm 0,08$ ;  $PSP96R=0,29\pm 0,05$  fentomolesT4/min.mg de ptn;  $n=6-8$ ) (Figura 15).



**Figura 15.** Atividade da desidase tipo 2 no tecido adiposo marrom (TAM) nos grupos Controle ( $n=7$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24,  $n=6$ ) e 96 horas (PSP96,  $n=8$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R e PSP96R,  $n=8$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

A privação de sono provocou aumento significativo da atividade da D2 na hipófise e hipocampo. Na hipófise, o aumento foi observado nas fêmeas que foram privadas durante 96h (PSP96) e o sono rebote de 24h foi incapaz de reverter à alteração provocada pela privação ( $C=0,29\pm 0,04$ ;  $PSP24=0,27\pm 0,03$ ;  $PSP24R=0,34\pm 0,03$ ;  $PSP96=0,75\pm 0,05$ ;  $PSP96R=0,67\pm 0,04$  fentomolesT4/min.mg de ptn;  $n=8-10$ ) enquanto no hipocampo, a alteração foi observada nas fêmeas que foram submetidas à 24h de privação (PSP24) e o sono rebote de 24h foi capaz de reverter esta alteração ( $C=0,21\pm 0,01$ ;  $PSP24=0,34\pm 0,02$ ;  $PSP24R=0,17\pm 0,01$ ;  $PSP96=0,25\pm 0,01$ ;  $PSP96R=0,20\pm 0,01$  fentomolesT4/min.mg de ptn;  $n=9-10$ ). Além disso, o aumento da atividade da D2 hipofisária nas fêmeas intactas submetidas à 96h de privação (PSP96) foi maior que 100% quando comparadas às fêmeas controle (Figura 16).

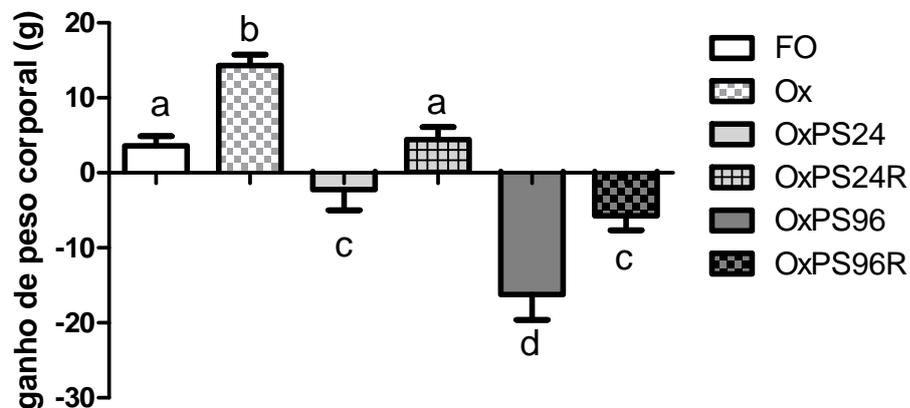


**Figura 16.** Atividade da desidase tipo 2 na hipófise (A) e hipocampo (B) nos grupos Controle ( $n=10$ ), Privado de sono paradoxal por 24 (PSP24,  $n=9-10$ ) e 96 horas (PSP96,  $n=10$ ) e seus respectivos rebotes (PSP24R,  $n=10$  e PSP96R,  $n=8-10$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ).

## 5.2 Resultados do segundo protocolo experimental – *Papel dos hormônios gonadais femininos nos efeitos da privação de sono paradoxal na função tireoidea e metabolismo extratireoideo das iodotironinas de fêmeas*

### 5.2.1 Peso corporal

As fêmeas castradas (Ox) apresentaram aumento significativo do peso corporal em relação às falso operadas (FO) e este aumento foi de quase 4 vezes. A privação de sono por 24 e 96h provocou significativa perda de peso nas ratas castradas quando comparadas com o seu controle castrado (Ox) e o grupo FO e observamos, ainda, maior perda de peso no grupo OxPS96 quando comparado ao OxPS24. Nas castradas que foram submetidas à privação por 96h, a perda de peso foi maior que 200% quando comparadas ao grupo Ox. O sono rebote de 24h não foi suficiente para igualar o ganho de peso das ratas Ox privadas por 24 e 96h ao grupo Ox, apesar do ganho de peso ter atingido valores normais no rebote das fêmeas privadas por 24h, comprovado pela ausência de diferença significativa entre ratas OxPS24R e FO (Figura 17, Tabela 3).



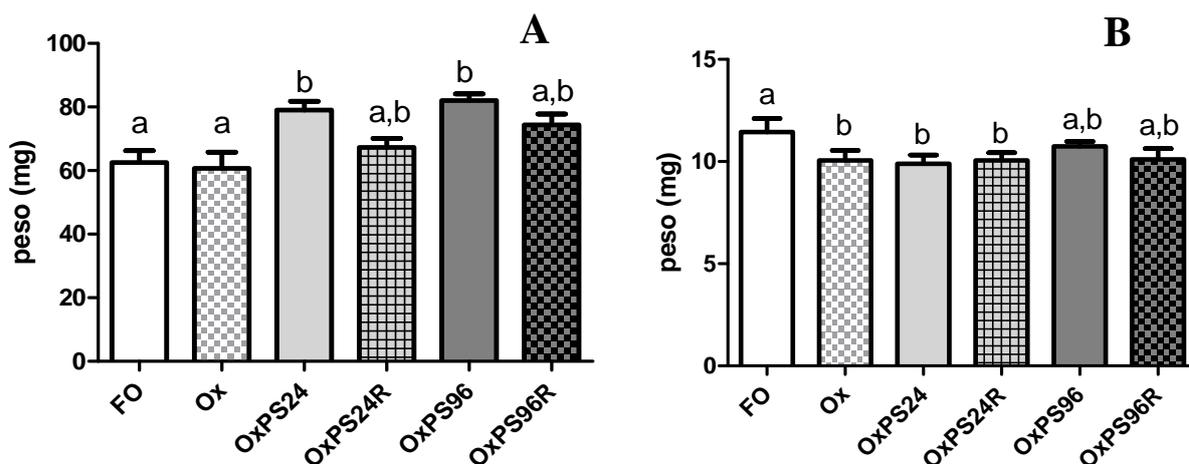
**Figura 17.** Ganho de peso corporal (g) nos grupos Falso operada (FO,  $n=13$ ), Ovariectomizadas (Ox,  $n=12$ ), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24(OxPS24,  $n=9$ ) e 96 horas (OxPS96,  $n=8$ ) e seus respectivos rebotes (OxPS24R,  $n=14$  e OxPS96R,  $n=12$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ).

**Tabela 3.** Ganho de peso corporal (gramas, médias  $\pm$  erro padrão da média) nos grupos Falso operada (FO), Ovariectomizadas (Ox), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24) e 96 horas (OxPS96) e seus respectivos rebotes (OxPS24R e OxPS96R). Os valores negativos representam perda de peso e letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ).

| Grupos  | Ganho de peso corporal (g)    |
|---------|-------------------------------|
| FO      | 3,61 $\pm$ 1,28 ( $n=13$ ) a  |
| Ox      | 14,33 $\pm$ 1,42 ( $n=12$ ) b |
| OxPS24  | -2,22 $\pm$ 2,77 ( $n=9$ ) c  |
| OxPS24R | 4,42 $\pm$ 1,65 ( $n=14$ ) a  |
| OxPS96  | -16,25 $\pm$ 3,37 ( $n=8$ ) d |
| OxPS96R | -5,75 $\pm$ 1,88 ( $n=12$ ) c |

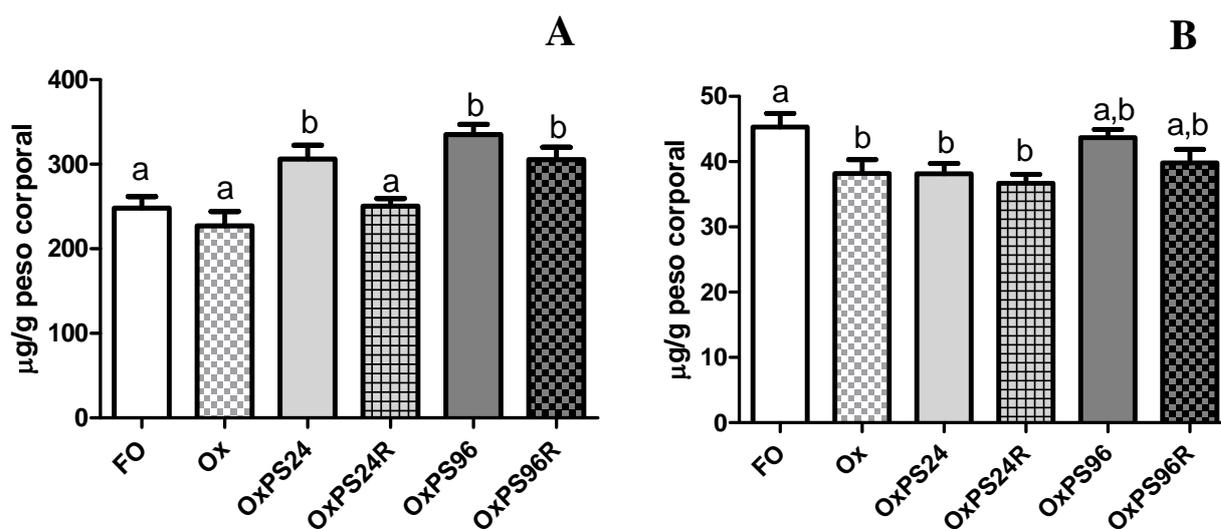
## 5.2.2 Peso absoluto e relativo da adrenal, hipófise e tireoide

A privação de sono paradoxal por 24 e 96h foram capazes de aumentar, de forma significativa, o peso absoluto da adrenal, mas não o da hipófise e tireoide de ratas castradas. O peso absoluto da adrenal não foi alterado com a castração. As fêmeas castradas que foram submetidas à privação por 24 e 96h (OxPS24 e OxPS96) apresentaram aumento significativo da adrenal em relação às ovariectomizadas (Ox) e falsa operada (FO). Não observamos diferença significativa no peso absoluto entre as fêmeas castradas que foram submetidas à 24 e 96h de privação. O sono rebote de 24h em ambos os tempos de privação (OxPS24R e OxPS96R) reverteu o aumento do peso absoluto da glândula adrenal (FO=62,51±3,75; Ox=60,68±5,14; OxPS24=79,00±2,77; OxPS24R=67,31±2,79; OxPS96=82,05±2,06; OxPS96R=74,35±3,44mg;  $n=11-14$ ). O peso absoluto da hipófise diminuiu significativamente com a castração, porém a privação de sono de 24 e 96h (OxPS24 e OxPS96) não alterou o peso da glândula das castradas quando comparadas com o grupo Ox. O peso absoluto da hipófise diminuiu significativamente no grupo OxPS24 e seu rebote OxPS24R quando comparados com o FO (FO=11,45±0,66; Ox=10,05±0,49; OxPS24=9,89±0,42; OxPS24R=10,06±0,37; OxPS96= 10,75±0,24; OxPS96R=10,10±0,53mg;  $n=11-14$ ) (Figura 18).



**Figura 18.** Peso absoluto (mg) da Adrenal (A) e Hipófise (B) nos grupos Falso operada (FO,  $n= 13$ ), Ovariectomizadas (Ox,  $n= 12$ ), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24(OxPS24,  $n= 14$ ) e 96 horas (OxPS96,  $n= 11-12$ ) e seus respectivos rebotes (OxPS24R,  $n= 13-14$  e OxPS96R,  $n= 11$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ).

As alterações encontradas no peso relativo das glândulas das fêmeas castradas seguiram o mesmo padrão do peso absoluto, exceto o peso relativo da adrenal no grupo OxPS96R, neste caso, quando normalizamos as médias de peso das glândulas pelo peso corporal dos animais, o sono rebote não foi capaz de normalizar o peso da glândula alterado pela privação de sono (Adrenal: FO=248,1±13,55; Ox=227,0±17,10; OxPS24= 306,0± 16,63; OxPS24R=250,7±8,91; OxPS96=335,3±11,86; OxPS96R=305,4±14,86  $\mu\text{g/g}$  de peso corporal;  $n=8-13$ . Hipófise: FO=45,31±2,08; Ox=38,21±2,12; OxPS24=38,14±1,59; OxPS24R=36,67±1,38; OxPS96= 43,68±1,25; OxPS96R= 39,83±2,07  $\mu\text{g/g}$  de peso corporal;  $n=7-13$ ) (Figura 19).



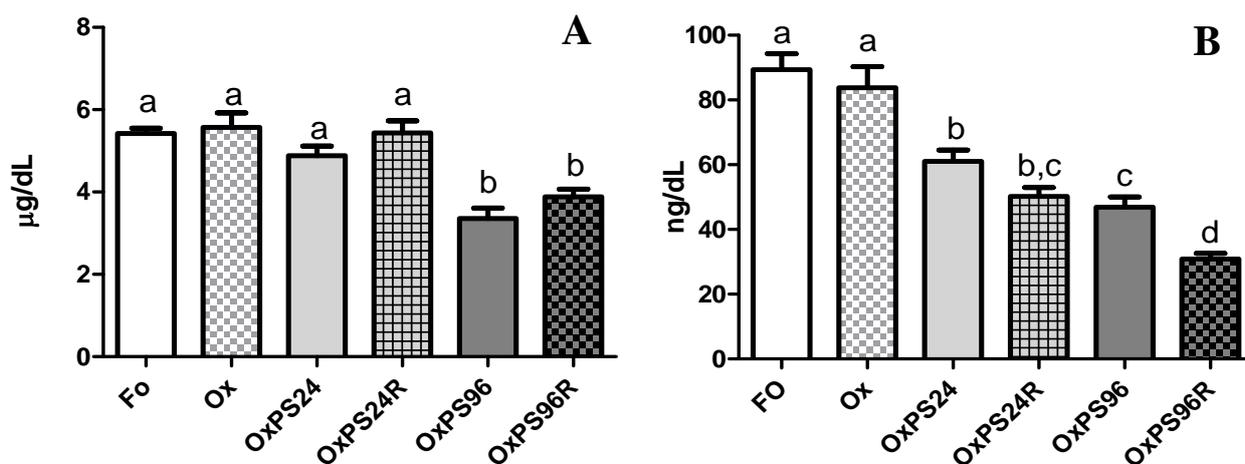
**Figura 19.** Peso relativo ( $\mu\text{g/g}$  de peso corporal) da Adrenal (A) e Hipófise (B) nos grupos Falso operada (FO,  $n=13$ ), Ovariectomizadas (Ox,  $n=12$ ), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24,  $n=9$ ) e 96 horas (OxPS96,  $n=7-8$ ) e seus respectivos rebotes (OxPS24R,  $n=12-14$  e OxPS96R,  $n=11-12$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

O peso absoluto (FO= $11,91 \pm 0,84$ ; Ox= $11,71 \pm 0,85$ ; OxPS24= $12,89 \pm 0,92$ ; OxPS24R= $13,72 \pm 0,85$ ; OxPS96= $12,98 \pm 0,56$ ; OxPS96R= $12,46 \pm 1,01\text{mg}$ ;  $n=10-14$ ) e relativo (FO= $46,87 \pm 2,38$ ; Ox= $43,96 \pm 2,77$ ; OxPS24= $53,40 \pm 4,28$ ; OxPS24R= $51,01 \pm 3,04$ ; OxPS96= $50,81 \pm 3,21$ ; OxPS96R= $49,52 \pm 3,98$   $\mu\text{g/g}$  de peso corporal;  $n=8-13$ ) da glândula tireoide não diferiram significativamente entre os grupos estudados neste segundo protocolo experimental.

### 5.2.3 Concentração sérica total de T3 e T4

A privação de sono por 96h foi capaz de provocar redução significativa na concentração sérica total de T4 nas fêmeas castradas quando comparadas com o seu controle castrado (Ox) e FO, o sono rebote de 24h não foi suficiente para normalizar o T4 neste grupo. Não observamos diferença significativa no T4 sérico das fêmeas castradas que foram privadas por 24h e também verificamos que a castração não provocou alteração no T4 sérico (Figura 20 e Tabela 4).

O T3 sérico declinou progressivamente com o aumento do tempo de duração da privação de sono nas fêmeas castradas evidenciado pela diferença significativa entre a concentração sérica de T3 das ratas castradas que foram submetidas a 24 e 96h de privação. O declínio observado chegou a 44% nas fêmeas castradas que foram privadas durante 96h (OxPS96) e o rebote de 24h deste grupo (OxPS96R) apresentou um declínio ainda maior (63,10%) em comparação com o controle castrado (Ox). A castração não provocou alteração no T3 sérico (Figura 20 e Tabela 4).



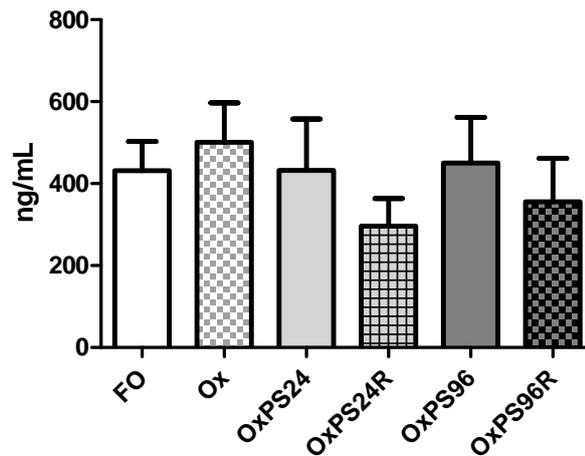
**Figura 20.** Concentração sérica total de T4 (A) e T3 (B) nos grupos Falso operada (FO,  $n=11-13$ ), Ovariectomizadas (Ox,  $n=12$ ), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24,  $n=12-14$ ) e 96 horas (OxPS96,  $n=10-11$ ) e seus respectivos rebotes (OxPS24R,  $n=15$  e OxPS96R,  $n=12$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 4.** Concentração sérica total de T4 e T3 nos grupos Falso operada (FO), Ovariectomizadas (Ox), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24) e 96 horas (OxPS96) e seus respectivos rebotes (OxPS24R e OxPS96R). Os valores representam a média da dosagem hormonal dos grupos  $\pm$  erro e  $n$ = número total de animais.

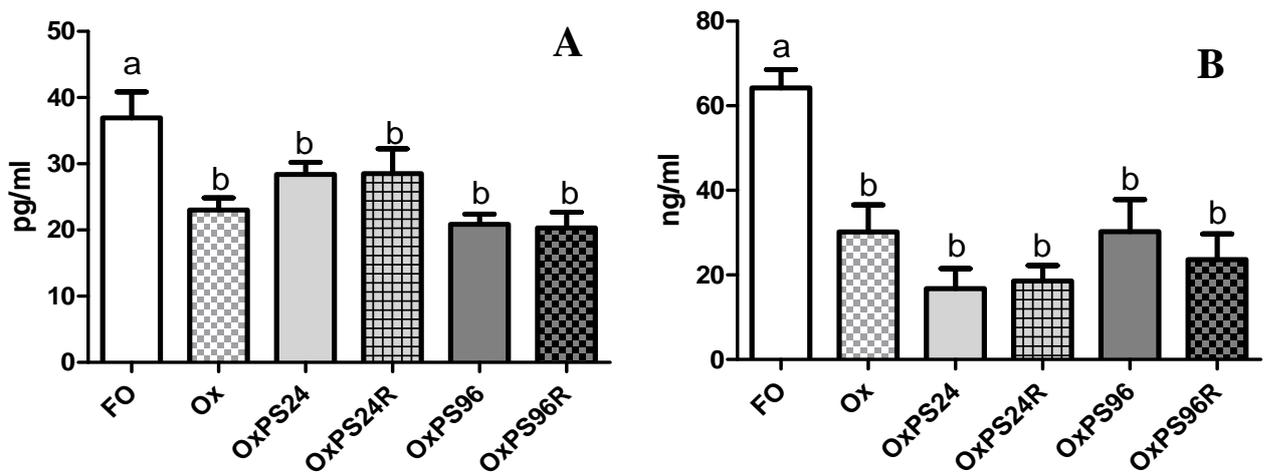
| Grupos         | T4 (µg/dL)             | T3 (ng/dL)                |
|----------------|------------------------|---------------------------|
| <b>FO</b>      | 5,42±0,12 ( $n=11$ ) a | 89,39±4,92 ( $n=13$ ) a   |
| <b>Ox</b>      | 5,57±0,35 ( $n=12$ ) a | 83,78±6,50 ( $n=12$ ) a   |
| <b>OxPS24</b>  | 4,88±0,23 ( $n=14$ ) a | 61,05±3,50 ( $n=12$ ) b   |
| <b>OxPS24R</b> | 5,43±0,29 ( $n=15$ ) a | 50,22±2,75 ( $n=15$ ) b,c |
| <b>OxPS96</b>  | 3,35±0,25 ( $n=10$ ) b | 46,87±3,18 ( $n=11$ ) c   |
| <b>OxPS96R</b> | 3,88±0,18 ( $n=12$ ) b | 30,91±1,72 ( $n=12$ ) d   |

#### 5.2.4 Concentração sérica total de corticosterona, estradiol e progesterona

A privação de 24 e 96h não foi capaz de provocar alterações significativas na concentração sérica de corticosterona nas fêmeas castradas quando comparadas com os grupos Ox e FO (FO=431,9±71,16; Ox=501,2±95,96; OxPS24=432,3±125,20; OxPS24R=296,1±67,86; OxPS96=450,2±111,3; OxPS96R=355,9±105,6ng/mL;  $n= 6-8$ ) e a castração também não alterou a concentração de corticosterona (Figura 21).



**Figura 21.** Concentração sérica total de corticosterona nos grupos Falso operada (FO,  $n=8$ ), Ovariectomizadas (Ox,  $n=8$ ), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24,  $n=6$ ) e 96 horas (OxPS96,  $n=7$ ) e seus respectivos rebotes (OxPS24R e OxPS96R,  $n=7$ ). Não houve diferenças significativa entre os grupos..



**Figura 22.** Concentração sérica total de estradiol (A) e progesterona (B) nos grupos Falso operada (FO,  $n=6-7$ ), Ovariectomizadas (Ox,  $n=7-8$ ), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24,  $n=7$ ) e 96 horas (OxPS96,  $n=7$ ) e seus respectivos rebotes (OxPS24R e OxPS96R,  $n=6-7$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 5.** Concentração sérica total de estradiol e progesterona nos grupos Falso operada (FO), Ovariectomizadas (Ox), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24) e 96 horas (OxPS96) e seus respectivos rebotes (OxPS24R e OxPS96R). Os valores representam a média da dosagem hormonal dos grupos  $\pm$  erro padrão da média e letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

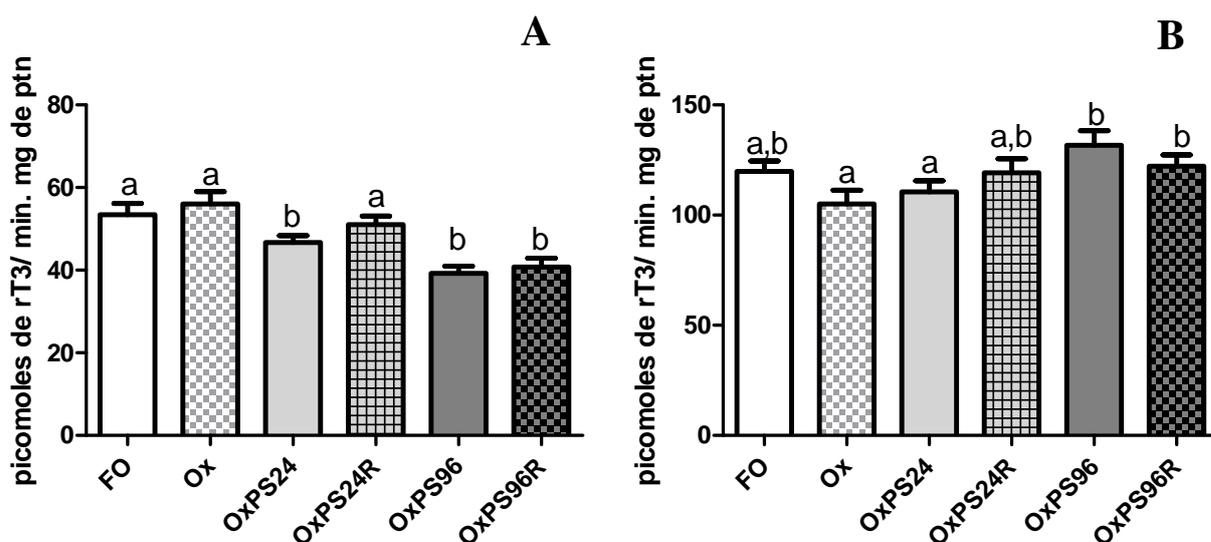
| <b>Grupos</b>  | <b>Estradiol (pg/mL)</b>     | <b>Progesterona (ng/mL)</b>  |
|----------------|------------------------------|------------------------------|
| <b>FO</b>      | 37,58 $\pm$ 4,80 ( $n=5$ ) a | 64,26 $\pm$ 4,31 ( $n=7$ ) a |
| <b>Ox</b>      | 23,01 $\pm$ 1,82 ( $n=8$ ) b | 30,20 $\pm$ 6,38 ( $n=7$ ) b |
| <b>OxPS24</b>  | 28,39 $\pm$ 1,82 ( $n=7$ ) b | 16,76 $\pm$ 4,76 ( $n=7$ ) b |
| <b>OxPS24R</b> | 28,51 $\pm$ 3,75 ( $n=7$ ) b | 18,55 $\pm$ 3,67 ( $n=6$ ) b |
| <b>OxPS96</b>  | 20,87 $\pm$ 1,51 ( $n=7$ ) b | 30,20 $\pm$ 7,65 ( $n=7$ ) b |
| <b>OxPS96R</b> | 20,30 $\pm$ 2,37 ( $n=6$ ) b | 23,61 $\pm$ 6,08 ( $n=7$ ) b |

### 5.2.5 Atividade da desidase tipo 1(D1)

A privação de sono paradoxal foi capaz de provocar alterações significativas na atividade da desidase tipo 1 hepática, renal e tireoidea de ratas castradas, enquanto na hipófise não foram observamos diferenças significativas.

No fígado, a atividade da D1 foi significativamente menor nas fêmeas castradas em ambos os tempos de privação de sono (OxPS24 e OxPS96) comparadas ao grupo Ox e FO. Apenas o rebote de 24h das castradas que foram privadas por 24h (OxPS24R) conseguiu reverter a diminuição da atividade provocada pela privação. O rebote de 24h das fêmeas que foram privadas por 96h não foi suficiente para normalizar a D1 hepática. A castração não alterou a atividade D1 no fígado (FO=53,40 $\pm$ 2,74; Ox=56,02 $\pm$ 3,02; OxPS24=46,69 $\pm$ 1,71; OxPS24R=51,05 $\pm$ 2,02; OxPS96=39,23 $\pm$ 1,71; OxPS96R=40,76 $\pm$ 2,15 picomolesrT3/min.mg de ptn;  $n=11-14$ ) (Figura 23).

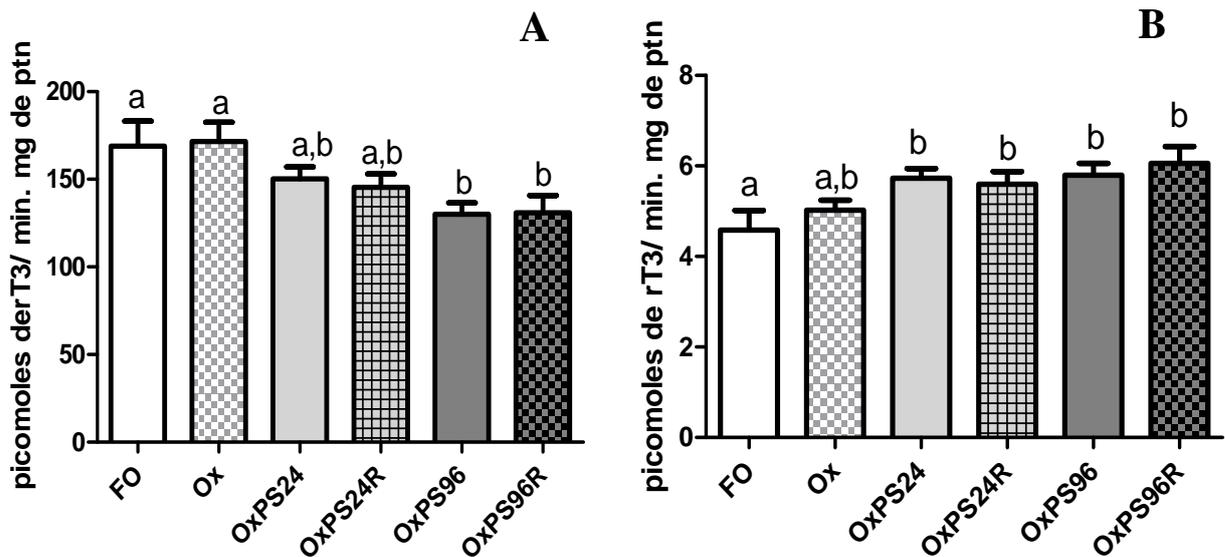
No rim, a atividade da D1 foi significativamente maior nas fêmeas castradas que foram submetidas à 96h de privação de sono (OxPS96) comparadas ao grupo Ox, o sono rebote de 24h deste grupo (OxPS96R) não foi suficiente para normalizar a atividade da D1 renal. A castração e a privação de sono de 24h nas fêmeas castradas não provocaram alterações significativas na atividade da D1 renal (FO=119,9 $\pm$ 4,71; Ox=105,1 $\pm$ 6,19; OxPS24=110,5 $\pm$ 5,07; OxPS24R=119,2 $\pm$ 6,38; OxPS96=131,6 $\pm$ 6,70; OxPS96R=122,2 $\pm$ 5,13 picomolesrT3/min.mg de ptn;  $n=12$  e  $13$ ) (Figura23).



**Figura 23.** Atividade da desidase tipo 1 no Fígado (A) e no Rim (B) nos grupos Falso operada (FO,  $n=11-13$ ), Ovariectomizadas (Ox,  $n=12$ ), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24,  $n=13-14$ ) e 96 horas (OxPS96,  $n=12$ ) e seus respectivos rebotes (OxPS24R,  $n=13-14$  e OxPS96R,  $n=12$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ).

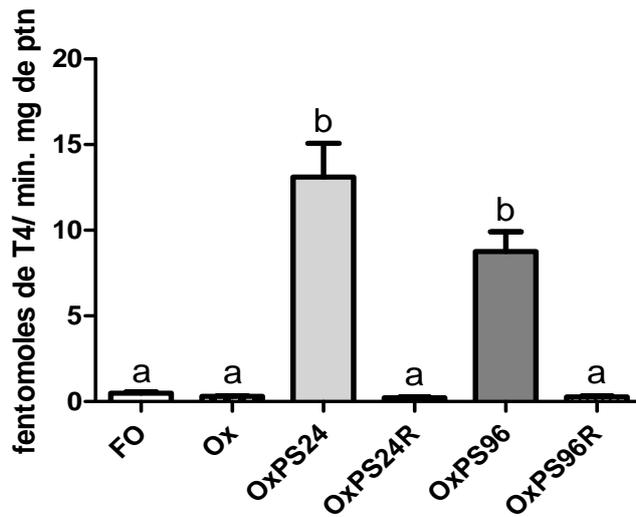
Na tireoide, a atividade da D1 foi significativamente menor nas fêmeas castradas que foram submetidas a 96h de privação de sono (OxPS96) comparadas ao controle castrado (Ox) e FO, o sono rebote de 24h deste grupo (OxPS96R) não foi suficiente para normalizar a atividade da D1 tireoidea. A castração e a privação de sono de 24h nas fêmeas castradas não foram capazes de provocar alterações significativas na atividade da D1 na tireoide (FO=169,0±14,23; Ox=171,6±10,94; OxPS24=150,2±6,88; OxPS24R=145,5±7,67; OxPS96=130,0±6,56; OxPS96R=131,0±9,70 picomoles rT3/min.mg de ptn;  $n=10-14$ ) (Figura 24).

A atividade da D1 hipofisária não sofreu alteração significativa nas fêmeas castradas que foram submetidas à 24 e 96h de privação de sono quando comparadas ao controle castrado (Ox), porém a atividade da D1 tireoidea foi significativamente maior nas fêmeas castradas privadas de sono e seus respectivos rebotes (OxPS24, OxPS96, OxPS24R e OxPS96R) comparadas ao grupo FO. A castração não provocou alterações significativas na atividade da D1 hipofisária (FO=4,58±0,43; Ox=5,02±0,21; OxPS24=5,73±0,21; OxPS24R=5,59±0,27 ; OxPS96=5,79±0,26; OxPS96R=6,05±0,37 picomoles rT3/min. mg de ptn;  $n=9-14$ ) (Figura 24).

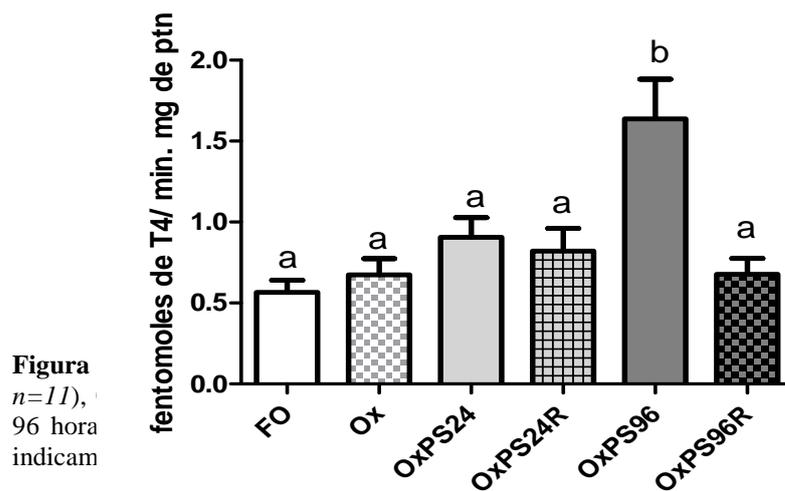


**Figura 24.** Atividade da desiodase tipo 1 na Tireoide (A) e na Hipófise (B) nos grupos Falso operada (FO,  $n=10-12$ ), Ovariectomizadas (Ox,  $n=12$ ), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24,  $n=14$ ) e 96 horas (OxPS96,  $n=9-12$ ) e seus respectivos rebotes (OxPS24R,  $n=11-12$  e OxPS96R,  $n=9-10$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ).

Periféricamente, a privação de sono provocou aumento significativo da atividade da D2 no tecido adiposo marrom (TAM) nas fêmeas castradas que foram privadas por 24 e 96h. Não observamos diferença significativa entre as atividades da D2 no TAM de fêmeas castradas que foram privadas por 24 e 96h (OxPS24 e OxPS96), apesar do aumento de quase 50X e 30X apresentado pelo grupo privado por 24 e 96h, respectivamente. O sono rebote de 24h demonstrou-se muito suficiente para normalizar a atividade desta enzima, o que foi observado em ambos os tempos de privação de sono (OxPS24R e OxPS96R), comprovada pela ausência de diferença significativa entre os valores de atividade das castradas dos grupos rebote e os grupos FO e Ox. A castração não alterou a atividade da D2 no TAM (FO=0,49±0,06; Ox=0,31±0,02; OxPS24=13,11±1,96; OxPS24R=0,22±0,02; OxPS96=8,75±1,16; OxPS96R=0,27±0,05fentomolesT4/min.mg de ptn;  $n=9-14$ ) (Figura 25).



Na hipófise, a atividade da D2 foi significativamente maior nas ratas castradas que foram submetidas à 96h de privação de sono paradoxal e o sono rebote de 24h neste grupo foi capaz de normalizar as alterações provocadas pela privação de sono. A privação de sono paradoxal por 24h e a castração não provocaram alterações significativas na atividade da D2 hipofisária (FO=0,56±0,07; Ox=0,67±0,10; OxPS24=0,90±0,12; OxPS24R=0,82±0,14; OxPS96=1,63±0,24; OxPS96R=0,67±0,09fentomolesT4/min. mg de ptn; n=10-13) (Figura 26).



**Figura**  
n=11),  
96 hora  
indicam

M) nos grupos Falso operad  
paradoxal por 24 (OxPS24, n  
: OxPS96R, n=9). Letras dif

**Figura 26.** Atividade da desiodase tipo 2 na Hipofise nos grupos Falso operada (FO, n=12), Ovariectomizadas (Ox, n=12), Ovariectomizadas Privadas de sono paradoxal por 24 (OxPS24, n=13) e 96 horas (OxPS96, n=10) e seus respectivos rebotes (OxPS24R, n=13 e OxPS96R, n=11). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05).

## 6 DISCUSSÃO

Há estudos suficientes na literatura que demonstram a importância do sono no sistema endócrino e as diversas consequências de sua privação para este sistema em humanos e animais, como visto na revisão apresentada neste trabalho. Diferentes metodologias de privação de sono podem ser aplicadas além da plataforma múltipla modificada utilizada no presente estudo, cuja metodologia é caracterizada pela exclusiva privação do sono paradoxal (sono REM). Dentre elas, a metodologia dos discos giratórios é utilizada para a privação de sono total, REM e não-REM (BERGMANN *et al.*, 1989; EVERSON; REED, 1995; EVERSON; NOWAK, 2002) ou a inserção de objetos novos dentro da caixa do animal quando estes apresentam sinais comportamentais de sonolência ou registro de ondas lentas no eletroencefalograma (DEURVEILHER *et al.* 2009), dentre outras (FRANK *et al.*, 1998; GROSSMAN *et al.*, 2000; GUZMAN-MARIN *et al.*, 2003).

A presença de dimorfismo sexual no padrão de sono normal e nas alterações endócrinas causadas pela privação de sono evidenciam a importância do estudo com homens e mulheres, ou machos e fêmeas. Infelizmente, o estudo do sono em fêmeas torna-se mais difícil devido às alterações hormonais durante o ciclo estral (BRANCHEY *et al.*, 1971; HAIM *et al.*, 2003).

Poucos trabalhos sobre sono são realizados com fêmeas e dentre eles diferentes estratégias são utilizadas a fim de contornar a questão da ciclicidade hormonal existente. Antunes *et al.* (2006), utilizando a metodologia das plataformas múltiplas modificada, submeteu as ratas intactas no tanque de privação em diferentes fases do ciclo estral, de modo que houvesse representante de todas as fases. E ao final de 96 horas de privação de sono REM, dosagens hormonais e ciclicidade estral foram avaliadas. Deurveilher *et al.* (2009) verificou o padrão de sono normal bem como alterações no sono e hormonais após 6 horas de privação em ratas castradas que foram repostas com diferentes concentrações de estradiol ou progesterona e combinação de estradiol e progesterona com o intuito de simular o diestro e proestro, que são as fases que apresentam os menores e maiores níveis de hormonais gonadais, respectivamente.

O desafio do nosso estudo foi avaliar as alterações na função tireoidea bem como no metabolismo extratireoideo das iodotironinas após privação de sono paradoxal em ratas intactas em diferentes fases do ciclo, desse modo, em um mesmo grupo experimental, há fêmeas com diferentes níveis hormonais. No presente estudo, também utilizamos fêmeas castradas para demonstrarmos a importância dos hormônios gonadais nas respostas à privação de sono. De acordo com a literatura, parece clara a influência destes hormônios nos diferentes eixos endócrinos e o nosso trabalho visa elucidar que, apesar da presença de fêmeas com diferentes fases do ciclo e, por conseguinte, diferentes níveis de hormonais gonadais, alterações na função tireoidea e no metabolismo das iodotironinas podem ser encontradas.

A privação de sono tem sido associada com alterações no eixo HPA e a metodologia das plataformas múltiplas modificadas de privação de sono paradoxal (PSP) é considerada um procedimento estressante evidenciada por respostas centrais e periféricas como perda de peso corporal, aumento de peso da adrenal, aumento dos níveis de ACTH e corticosterona (COENEN; VAN LUIJTELAAR, 1985; PATCHEV *et al.*, 1991; SUCHECKI *et al.*, 2002; ANDERSEN *et al.*, 2004 e 2005) e catecolaminas (FAROOQUI *et al.*, 1996; ANDERSEN *et al.*, 2005). Além disso, a privação de sono é capaz de provocar alterações no balanço energético e funções metabólicas demonstrado pela hiperfagia e concomitante perda de massa corporal em animais (SUCHECKI; TUFIK, 2000; SUCHECKI *et al.*, 2003; BERGMANN *et al.*, 1989; EVERSON *et al.*, 1989; EVERSON; WEHR, 1993; EVERSON; CROWLEY, 2004).

Mason (1968) demonstrou que diferentes tipos de agentes estressores podem induzir diferentes níveis de corticosteróides, demonstrando ainda respostas exclusivas para determinados estressores. Atualmente, é amplamente aceito que diferentes estressores físicos, químicos, fisiológicos e psicológicos induzem respostas endócrinas de diferentes intensidades e estas variações também podem ser encontradas dentro e entre espécies diferentes e podem ser acentuada por reprodução seletiva, idade, sexo e condicionamento (GRIFFIN, 1989).

No presente trabalho, fêmeas intactas que foram submetidas a 24 e 96 horas de PSP apresentaram perda de peso de 3,07% e 5,11%, respectivamente. Everson & Crowley (2004), utilizando a metodologia dos discos giratórios, demonstraram perda de peso de 2-5% após 8 dias de privação de sono total em ratos. Apesar da diferença metodológica e de gênero, após 4 dias de privação de sono paradoxal, fêmeas intactas apresentaram perda de peso maior que 5%. Além disso, verificamos aumento de peso absoluto e relativo da glândula adrenal após 24 e 96 horas de privação de sono paradoxal em fêmeas intactas, corroborando com os dados presentes na literatura. Nossos resultados demonstraram que o sono rebote de 24h foi suficiente para reverter a perda de peso corporal nas fêmeas do grupo PSP24, porém a média de ganho de peso não alcançou os valores do grupo controle. No grupo PSP96, o sono rebote de 24h apenas diminuiu a perda de peso das fêmeas intactas. Em relação à glândula adrenal, o rebote demonstrou-se suficiente para normalizar as médias de peso das glândulas.

Neste trabalho, as concentrações séricas de corticosterona de fêmeas intactas não foram avaliadas. Há um aparente consenso na literatura de que a privação de sono provoca elevação dos níveis plasmáticos de glicocorticóides (PATCHEV *et al.*, 1991; SUCHECKI *et al.*, 1998 e 2002; HIPÓLIDE *et al.*, 2006; MEERLO *et al.*, 2002; SGOIFO *et al.*, 2006) enquanto poucos estudos observaram pouco ou nenhum efeito da privação de sono aguda (RECHTSCHAFFEN *et al.*, 1983) ou privação de sono total prolongada (EVERSON; REED, 1995; EVERSON; CROWLEY, 2004) sobre os níveis de glicocorticóides. Porém, a grande maioria destes trabalhos relaciona privação de sono e ativação do eixo HPA em ratos machos. Sabe-se que a atividade do eixo HPA é diretamente influenciada pelos esteróides sexuais, como demonstrado pela pronunciada elevação dos níveis de glicocorticóides em fêmeas quando comparadas com machos (CRITCHLOW *et al.*, 1963; POLLARD *et al.*, 1975). Em ratas ovariectomizadas, o estradiol potencializa a resposta da corticosterona a inúmeros agentes estressores (VIAU; MEANEY, 1991). Além disso, o estrogênio é conhecidamente capaz de estimular a liberação de glicocorticóides e ACTH induzidas pelo estresse (VIAU; MEANEY, 2004; LUND *et al.*, 2004). Apesar destas evidências na literatura, em estudos com fêmeas, Antunes *et al.* (2006) verificaram aumento dos níveis de corticosterona após 96h de privação de sono paradoxal apenas em fêmeas que foram submetidas à privação no diestro, fase do ciclo estral que apresenta os menores níveis de hormônios gonadais, sugerindo uma resposta contrária da privação de sono em relação a ativação do eixo HPT e níveis de hormônios gonadais.

Como descrito anteriormente, a privação de sono é capaz de alterar o eixo HPA e diversos trabalhos, utilizando diferentes metodologias, tem sugerido que o estresse pode induzir redução dos hormônios tireoidianos (BIANCO *et al.* 1987; CIZZA *et al.*, 1996; KONDO *et al.*, 1997; SERVATIUS *et al.* 2000).

Diversos estudos demonstram que, em ratos, o hipotireoidismo experimental resulta em aumento da expressão de mRNA e do conteúdo de TRH no PVN (KÖLLER *et al.*, 1987; SEGERSEN *et al.*, 1987; TAYLOR *et al.*, 1980; YAMADA *et al.*, 1992) e secreção de TRH pelo hipotálamo (RONDEEL *et al.*, 1992).

Poucos estudos relacionam privação de sono e função tireoidea (BERGMANN *et al.*, 1989; EVERSON; REED, 1995; EVERSON; NOWAK, 2002) e os trabalhos existentes utilizam a privação de sono total e animais machos. Nosso grupo é o primeiro a estudar a função tireoidea de fêmeas submetidas à PSP, e interessantemente, os níveis séricos de T4

permaneceram inalterados após privação de sono em ratas intactas, o que difere dos trabalhos com machos que demonstraram que a privação de sono total prolongada (3 semanas) é capaz de provocar um declínio progressivo na concentração sérica de T4 e T3. A redução dos níveis séricos de T4 é um potente estimulador da liberação de TSH pela hipófise (UTIGER, 1987), apesar disso Everson e Reed (1995) não demonstraram alterações na concentração de TSH em resposta a hipotiroxinemia observada após privação de sono total e estudos realizados posteriormente, demonstraram aumento da expressão de mRNA do pre-pro TRH no PVN (EVERSON, NOWAK, 2002). Contraditoriamente, Van Cauter e Tasali (2011), após uma noite de privação de sono total, observaram aumento de até 200% nos níveis de TSH acompanhados de pequeno aumento de T3 e T4 inalterado. Assim, parece que alterações no TSH sérico induzidas pela privação do sono não são reguladas pelo *feedback negativo* exercido pelos HT.

Diferindo dos dados na literatura em machos, em nosso estudo, verificamos significativo aumento do T3 e diminuição do TSH sérico após 24 horas de privação de sono em fêmeas intactas. A manutenção da privação de sono durante 96h resultou em T3 e T4 inalterados, mas TSH sérico ainda baixo, o que sugere uma melhor resposta da tireoide ao TSH capaz de normalizar o T3 que antes estava alto. Neste trabalho, nós avaliamos a atividade do co-transportador Sódio/Iodeto (NIS) e TPO *in vivo*. Apesar do TSH ser um potente estimulador do crescimento e proliferação celular do tireócito e poder aumentar a captação de iodeto por este transportador, o TSH diminuído não alterou estas atividades após PSP (24 e 96h), assim, outras etapas da síntese dos HT podem estar sendo afetadas e/ou podemos relacionar essas alterações no T3 com a modulação das desidases pela PSP nas fêmeas intactas.

A metodologia das plataformas múltiplas para a PSP aplicada neste trabalho não reduziu os níveis séricos de HT e, apesar disso demonstramos aumento significativo da atividade da D2 no TAM das fêmeas intactas e, naquelas submetidas à 24h de privação este aumento chegou próximo a 100%, o que corrobora com os dados presentes na literatura em machos (BALZANO *et al.*, 1990). Balzano *et al.* (1990), utilizando a metodologia do discos giratórios de privação de sono total, demonstraram aumento de 100X na atividade da D2 no BAT após privação prolongada, sendo este aumento na atividade consistente com hipotireoidismo (SILVA; LARSEN, 1996), demonstrado por este grupo, mas não por nós em fêmeas.

Sabe-se que a privação de sono é capaz de ativar o sistema nervoso simpático e consequentemente aumentar os níveis de catecolaminas. O aumento da atividade simpática é conhecido por ser uma via ativadora da atividade D2 no TAM (BIANCO, 2005) e já está bem estabelecido que a atividade das iodotironinas desidases podem impactar a concentração de T3 e T4 tanto sérica quanto tecidual (SCHIMMEL; UTIGER, 1977).

Nós sugerimos que, inicialmente, em ratas intactas, a ativação simpática provocada pela privação de sono e o consequente aumento da atividade da D2 no TAM após 24h de privação tenha sido responsável pelo aumento do T3 sérico. E consequentemente, ao longo do tempo de privação de sono, o maior requerimento de T3 nos tecidos pode ter resultado na concentração sérica normal de T3 que foi mantido pela elevada atividade da D2 no TAM verificada após 96h de privação. Uma das consequências da privação de sono é a hipotermia e aumento do gasto energético (EVERSON *et al.*, 1986 e 1995). O TAM é essencial na termogênese e os HT são requeridos para o controle da temperatura neste tecido. Na hipotermia provocada pela privação de sono, o TAM é ativado e consequentemente, ocorre aumento da atividade da D2, a fim de manter a concentração de T3 requerida pelo tecido nesta condição fisiológica e contribuir para os níveis séricos.

Está claramente definido que a secreção de TSH está sob regulação de *feedback negativo* pelos hormônios tireoidianos a nível hipofisário e hipotalâmico e que o T3, forma

ativa do hormônio tireoidiano, é capaz de suprimir a liberação deste hormônio hipofisário (SILVA; LARSEN,1977). Estudos tem sugerido ação inibitória do sono sobre os níveis séricos de TSH (LUCK *et al.*, 1976; VAN CAUTER; TASALI, 2011), portanto o aumento do TSH sérico seria esperado após privação de sono. Pelo menos em fêmeas intactas, a PSP não foi capaz de aumentar a concentração sérica de TSH e o mecanismo de *feedback* existente entre os HT e hipófise parece explicar a diminuição do TSH sérico observado após 24h de privação de sono em ratas intactas, já no período de 96 horas de privação de sono, as concentrações normais de T3 e T4 não parecem suficientes para explicar a diminuição do TSH sérico. Esta redução dos níveis de TSH, apesar dos níveis normais de T3 e T4, demonstra uma falha no mecanismo de *feedback* entre HT e hipófise. Este resultado pode ser explicado pelo aumento da atividade D2 hipofisária verificado nas ratas que foram submetidas à 96h de privação, que conseqüentemente aumenta a concentração local de T3, resultando um *feedback* negativo na hipófise (BALZANO *et al.*, 1990), explicando os baixos níveis séricos de TSH deste grupo.

Sabe-se que em ratos, camundongos e humanos, os HT aumentam a atividade da D1 hepática, renal e hipofisária (BERRY *et al.*, 1990; KÖHRLE, 1999) e, além disso, pelo menos em ratos, tem sido sugerida uma contribuição da D1 tireoideia para o T3 circulante (KÖHRLE, 1999). Não há na literatura estudos que relacionam a privação de sono e a atividade da D1. Nossos resultados sugerem que o aumento do T3 sérico observado nas fêmeas que foram privadas por 24h foram suficientes para aumentar a atividade da D1 hepática, renal e hipofisária observado neste grupo. As fêmeas que permaneceram privadas por 96h não apresentaram alteração dos níveis séricos de HT porém o aumento na atividade da D1 renal foi mantido.

Neste trabalho, o sono rebote de 24 horas demonstrou-se eficaz na normalização da atividade da D2 no TAM após 24 e 96h de privação e da D2 no hipocampo após 24 de PSP, além também de normalizar a atividade da D1 tireoideia e renal após 24h de privação, sugerindo que pelo menos agudamente (24h de PSP), essa ação normalizadora do sono rebote sobre a atividade da D1 e D2 seja independente de HT, pois o T3 sérico encontra-se aumentado nestas ratas.

Para avaliarmos o papel dos hormônios gonadais nos efeitos da privação de sono sobre a função tireoideia, submetemos fêmeas castradas à PSP. O ganho de peso corporal e diminuição do peso relativo e absoluto da hipófise era esperado com a castração (PERCEGONI *et al.*, 2009). Níveis séricos de estradiol e progesterona significativamente menores nas fêmeas castradas confirmam a eficiência da cirurgia.

Apesar do aumento de peso corporal de quase 4X provocado pela castração, fêmeas castradas que foram submetidas a 24 e 96 horas de PSP apresentaram perda de peso de 0,87% e 6,12%, respectivamente. Além disso, verificamos aumento de peso absoluto e relativo da glândula adrenal após 24 e 96 horas de PSP em fêmeas castradas. Estas características evidenciam a privação de sono como uma metodologia de estresse e corroboram com os dados presentes na literatura (COENEN; VAN LUIJTELAAR 1985; PATCHEV *et al.*, 1991; SUCHECKI *et al.*, 2002; ANDERSEN *et al.*, 2004 e 2005).

Apesar das evidências de estresse (perda de peso corporal e aumento do peso da adrenal), a privação de sono paradoxal de 24 e 96h não alteraram os níveis séricos de corticosterona. O estrogênio é conhecidamente capaz de estimular a liberação de glicocorticóides e ACTH induzidas pelo estresse (VIAU; MEANEY, 2004; LUND *et al.*, 2004), e portanto, na ausência do estrógeno o eixo HPA pode estar menos reativo, evidenciado pelo níveis inalterados de corticosterona. Apesar disso, acreditamos que os níveis de ACTH estejam elevados devido ao aumento de peso da glândula adrenal.

A redução do T4 sérico e o declínio progressivo do T3 observados nos tempos de 24 e 96 horas de privação de sono paradoxal nas fêmeas castradas corroboram com os achados de

Bergmann *et al.* (1989), Everson e Reed (1995) e Everson e Nowak (2002), mas diferem dos nossos resultados com fêmeas intactas. Como a diminuição de T3 e T4 séricos só aparecem quando a PSP é induzida em fêmeas ovariectomizadas, fica claro que os hormônios gonadais são essenciais para a manutenção dos HT nas ratas privadas de sono, e que isso é um efeito direto dos hormônios sexuais sobre a função tireoidea porque a castração não alterou os níveis de HT, assim, sugerimos que a resposta tireoidea à PSP é sexo-dependente, sendo então os hormônios sexuais femininos verdadeiros protetores da função tireoidea pois impedem a diminuição dos HT causada pela PSP e detectado em machos.

Apesar dos níveis séricos de TSH das fêmeas castradas submetidas à PSP não terem sido avaliados neste estudo, devido a intensa diminuição de T3 e T4 nessas ratas, acreditamos que o eixo HPT esteja alterado e sugerimos níveis reduzidos de TRH e TSH.

A D2 contribui fortemente para os níveis séricos de T3, porém apesar da elevada atividade no TAM observada nas fêmeas castradas após 24 e 96h de privação de sono, os níveis séricos de T3 declinaram progressivamente. Estas concentrações baixas de T3 poderiam ser explicadas pela hipotermia provocada pela privação de sono. Nestas condições, o TAM é ativado e conseqüentemente, ocorre aumento da atividade da D2, a fim de manter a concentração de T3 requerida para a termogênese. A D2 hipofisária foi maior apenas nas fêmeas castradas que permaneceram por 96h de privação de sono, e após esse período de privação, o T3 e T4 sérico estavam baixos, demonstrando então uma falha no controle central, que também foi visto nas ratas intactas. Esta ativação da D2 hipofisária aumenta a concentração local de T3 que conseqüentemente exercem o *feedback* negativo na hipófise, impedindo o controle do TSH hipofisário sobre os níveis séricos de HT (BALZANO *et al.*, 1990). Este aumento da atividade da D2 hipofisária não foi observado após 24h de privação de sono paradoxal em fêmeas castradas, o que poderia ser explicado pelos níveis séricos de T4 normais.

Em fêmeas castradas, a PSP por 24 e 96 horas causou redução da atividade da D1 hepática e tireoidea e esta resposta pode ter sido causada pelas baixas concentrações de T3 e T4, já que a D1 é regulada positivamente pelos níveis de HT circulantes (BERRY *et al.*, 1990; KÖHRLE, 1999), entretanto, essa regulação não foi observada no rim e hipófise, pois a D1 aumentou nesses tecidos. Os hormônios gonadais também regulam positivamente a atividade da D1 hepática (LISBÔA *et al.*, 1997), o que também poderia explicar a diminuição da atividade nas ratas castradas. Além disso, a desiodação hepática e tireoidea contribui para os níveis séricos de T3, o que poderia estar contribuindo para os baixos níveis de T3 sérico.

A influência dos hormônios gonadais femininos na eficiência do sono rebote na normalização da função tireoidea também pode ser sugerida. Na ausência dos hormônios gonadais, o sono rebote não normalizou os níveis séricos de HT, o que também foi visto nas fêmeas intactas, e também a atividade da D1 renal e tireoidea, as quais foram normalizadas no nosso estudo com fêmeas intactas. Verificamos um efeito normalizador eficiente do sono na atividade da D2 no TAM em fêmeas castradas, já que estas atividades se demonstraram bastante elevadas após 24 e 96h de PSD e além disso, a atividade da D2 hipofisária também foi normalizada nestas ratas, o que não foi visto nas intactas, sugerindo que o efeito normalizador do sono rebote seja independente dos hormônios gonadais pelo menos na atividade D2 e nos níveis séricos de HT.

Nossos resultados contrastam com os dados em machos presentes na literatura, confirmando a existência de dimorfismo sexual na resposta tireoidea à PSP. Ao estudarmos a função tireoidea em ratas castradas, deixamos bem claro a importância dos hormônios sexuais femininos nesse dimorfismo, pois fêmeas castradas submetidas à PSP apresentam T3 e T4 séricos diminuídos, enquanto que as ratas intactas também submetidas à PSP tem T4 normal e T3 aumentado, o qual normaliza na PSP de 96h, assim, além da contribuição periférica que observamos através do aumento da atividade da D1 e D2, para esclarecermos a regulação do

eixo HPT neste contexto, pretendemos avaliar o TSH, a atividade do NIS, da TPO e a resposta hipofisária ao TRH nas ratas castradas submetidas à PSP.

## 7 CONCLUSÃO

Nosso trabalho demonstrou que a metodologia das plataformas múltiplas modificada para privação de sono paradoxal é uma técnica estressante, evidenciada pela perda de peso corporal e aumento do peso da adrenal em fêmeas intactas e castradas.

Dados da literatura que relacionam privação de sono e função tireoidea são escassos, realizados predominantemente em machos e utilizam, principalmente, a privação de sono total, nossos resultados de PSP em fêmeas sugerem que o aumento nos níveis séricos de T3 seja independente da atividade do cotransportador Sódio/Iodeto e da tireoperoxidase, uma vez que não observamos alteração nessas atividades na glândula tireoide. E, que portanto, as alterações sejam devido às modificações na atividade das iodotironinas desidases, central e periféricamente.

Além disso, podemos concluir pelos nossos resultados, que a ausência do hormônio sexual feminino e a ativação do sistema simpático pela privação de sono podem ser os responsáveis pela redução de T3 após 24h e de T3 e T4 séricos após 96h de PSP; assim, fica evidente a importância dos hormônios gonadais femininos para a manutenção dos níveis de T3 e T4 em ratas privadas de sono.

O efeito de 24 e 96h de privação de sono em aumentar a atividade da D2 no TAM e hipófise foi encontrado em fêmeas intactas e castradas, porém o aumento no TAM foi mais exacerbado nas fêmeas castradas enquanto na hipófise, o maior aumento foi visualizado nas fêmeas intactas, assim, concluímos que o estímulo para aumentar a atividade D2 na PSP é independente dos hormônios gonadais femininos, diferente da regulação da D1, pois, contrário ao aumento de D1 no fígado, rim e tireoide de fêmeas intactas, a D1 hepática e tireoidea diminuiu nas fêmeas castradas submetidas à PSP.

O sono rebote de 24h demonstrou-se suficiente na normalização do TSH, o que não foi visto nos HT, sugerindo um provável efeito central. Em relação a atividade da D1 renal e tireoidea e D2 no TAM em fêmeas intactas, percebemos um grande efeito normalizador do sono rebote, e na ausência dos hormônios gonadais, este efeito foi mantido apenas sobre a atividade da D2 no TAM além da hipofisária, que também foi normalizada neste grupo. Nossos resultados sugerem que hormônios femininos apresentam um papel importante para o efeito normalizador do sono rebote sobre a D1 enquanto que este efeito no HT e D2 parecem não sofrer influência destes hormônios sexuais.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUID, J.; LARSEN, P.R. Triiodothyronine and thyroxine in hyperthyroidism. Comparison of the acute changes during therapy with antithyroid agents. **Journal of Clinical Investigation**, v. 54, n. 1, p. 201, 1974.

ADAIR, R.H.; BAUCHNER, H. Sleep problems in childhood. **Current Problems in Pediatrics**, v. 23, n. 4, p. 147–170, 1993.

ALLARD, J.S.; TIZABI, Y.; SHAFFERY, J.O.; MANAYE, K. Effects of rapid eye movement sleep deprivation on hypocretin neurons in the hypothalamus of a rat model of deprivation. **Neuropeptides**, v. 41, n. 5, p. 329-337, 2007.

ALVARENGA, T.A.; PATTI, C.L.; ANDERSEN, M.L.; SILVA, R.H.; CALZAVARA, M.B.; LOPEZ, G.B.; FRUSSA-FILHO, R.; TUFFIK, S. Paradoxical sleep deprivation impairs acquisition, consolidation, and retrieval of a discriminative avoidance task in rats. **Neurobiology of learning and memory**, v. 90, n. 4, p. 624-632, 2008.

ANCOLI-ISRAEL, S. Insomnia in the elderly: A review for the primary care practitioner. **Sleep**, v. 23, p. S23–S30; discussion S36–S38, 2000.

ANDERSEN, M.L.; ALVARENGA, T.A.; GUINDALINI, C.; PERRY, J.C.; SILVA, A.; ZAGER, A.; TUFFIK, S. Paradoxical sleep deprivation influences sexual behavior in female rats. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 6, n.8, p. 2162-2172, 2009.

ANDERSEN, M.L.; ANTUNES, I.B.; SILVA, A.; ALVARENGA, T.A.; BARACAT, E.C.; TUFFIK, S. Effects of sleep loss on sleep architecture in Wistar rats: gender-specific rebound sleep. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 32, n. 4, p. 975-983, 2008.

ANDERSEN, M.L.; MARTINS; ALVARENGA, T.A.; ANTUNES, I.B.; PAPALE, L.A.; TUFFIK, S. Progesterone reduces erectile dysfunction in sleep-deprived spontaneously hypertensive rats. **Reprod Biol Endocrinol** v. 5, n. 7, 2007.

ANDERSEN, M.L.; BITTENCOURT, L.R.A. Fisiologia do sono. In: TUFFIK, S. **Medicina e Biologia do sono**, 1<sup>st</sup> ed, Manole, p. 48-58, 2007.

ANDERSEN, M.L.; ANTUNES, I.B.; TUFFIK, S. Effects of paradoxical sleep deprivation on genital reflexes in five rats strains. **Hormones and Behavior**, v. 49, n. 2, p. 173-180, 2006.

ANDERSEN, M.L.; MARTINS, P.J.; D'AMEIDA, V.; BIGNOTTO; TUFFIK S. Endocrinological and catecholaminergic alterations during sleep deprivation and recovery in male rats. **Journal of Sleep Research**, v. 14, n. 1, p. 83-90, 2005.

ANDERSEN, M.L.; BIGNOTTO, M.; MACHADO, R.B.; TUFFIK, S. Different stress modalities result in distinct steroid hormone responses by male rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, n. 6, p. 791-797, 2004.

ANDERSEN, M.L.; BIGNOTTO, M.; TUFIK, S. Hormone treatment facilitates penile erection in castrated rats after sleep deprivation and cocaine. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 16, n. 2, p. 154-159, 2004a.

ANDERSEN, M. L.; BIGNOTTO, M.; MACHADO, R. B.; TUFIK, S. Effects of chronic stress on steroid hormones secretion in male rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, p. 791–797, 2004b.

ANDERSEN, M.L.; D'ALMEIDA, V.; KO, G.M.; KAWAKAMI, R.; MARTINS, P.J.F.; MAGALHÃES, L.E.; TUFIK, S. Experimental Procedure. In: UNIFESP (Ed.) **Ethical and Practical Principles of the Use of Laboratory Animals**. São Paulo, Brasil, p. 45-69, 2004c.

ANDERSEN, M.L.; BIGNOTTO, M.; TUFIK, S. Influence of paradoxical sleep deprivation and cocaine on development of spontaneous penile reflexes in rats of different ages. **Brain Research**, v. 968, n. 1, p. 130-138, 2003.

ANDERSEN, M. L.; BIGNOTTO, M.; TUFIK, S. Cocaine-induced genital reflexes during paradoxical sleep deprivation and recovery. **Physiology & Behavior**, v. 78, n. 2, p. 255–259, 2003a.

ANDERSEN, M. L.; BIGNOTTO, M.; MACHADO, R. B.; TUFIK, S. Does paradoxical sleep deprivation and cocaine induce penile erection and ejaculation in old rats? **Addiction Biology**, v. 7, n. 3, p. 285–290, 2002.

ANDERSEN, M. L.; PALMA, D.; RUEDA, A. D.; TUFIK, S. The effects of acute cocaine administration in paradoxical sleep-deprived rats. **Addiction Biology**, v. 5, n. 4, p. 417–420, 2000.

ANDERSON, R.H.; FLEMING, D.E.; RHEES, R.W.; KINGHORN, E. Relationship between sexual activity, plasma testosterone, and the volume of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in prenatally stressed and non-stressed rats, **Brain Research**, v. 370, n. 1, p. 1-10, 1986.

ANTUNES, I.B.; ANDERSEN, M.L.; BARACAT, E.C.; TUFIK, S. The effect of paradoxical sleep deprivation on estrous cycles of the female rats. **Hormones and Behavior**, v. 49, n. 4, p. 433-440, 2006.

ARAÚJO, M.P.; ANDERSEN, M.L.; ALBINO, V.C.; GOMES, D.C.; CARVALHO, R.C.; SILVA, R.H.; RIBEIRO, R.A.; TUFIK, S.; FUSSA-FILHO, R. Sleep deprivation abolishes the locomotor stimulant effect of ethanol in mice. **Brain Research Bulletin**, v. 69, n. 3, p. 332-337, 2006.

ARPELS, J.C. The female brain hypoestrogenic continuum from the premenstrual syndrome to menopause. A hypothesis and review of supporting data. **The Journal of Reproductive Medicine**, v. 41, n. 9, p. 633–639, 1996.

ARRIAGA, F.; DUGOVIC, C.; WAUQUIER, A. Effects of lithium on dopamine behavioural supersensitivity induced by rapid eye movement sleep deprivation. **Neuropsychobiology**, v. 20, n. 1, p. 23–27, 1988.

ARVAT, E.; MACCARIO, M.; DI VITO, L. et al. Endocrine activities of ghrelin, a natural growth hormone secretagogue (GHS), in humans: comparison and interactions with hexarelin, a nonnatural peptidyl GHS, and GH-releasing hormone. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 3, p. 1169–1174, 2001.

AXELROD, J.; REISINE, T.D. Stress hormones: their interaction and regulation. **Science**, v. 224, n. 4648, p. 452–459, 1984.

BAKER, F.C.; MALONEY, S.; DRIVER, H.S. A comparison of subjective estimates of sleep with objective polysomnographic data in healthy men and women. **Journal of Psychosomatic Research**, v. 47, n. 4, p. 335-41, 1999.

BALZANO, S.; BERGMANN, B.M.; GILLILAND, M.A.; SILVA, J.E.; RECHTSCHAFFEN, A.; REFETOFF, S. Effect of total sleep deprivation on 5'-deiodinase activity of rat brown adipose tissue. **Endocrinology**, v. 127, n. 2, p. 882-890, 1990.

BENEDETTI, F.; DALLASPEZIA, S.; FULGOSI, M.C.; BARBINI, B.; COLOMBO, C.; SMERALDI, E. Phase advance is an actimetric correlate of antidepressant response to sleep deprivation and light therapy in bipolar depression. **Chronobiology International**, v. 24, n. 5, p. 921-37, 2007.

BANU, S.K.; GOVINDARAJULU, P.; ARULDHAS, M.M. Testosterone and estradiol up-regulate androgen and estrogen receptors in immature and adult rat thyroid glands in vivo. **Steroids**, v. 67, n. 13, p. 1007–1014, 2002.

BEATTY, W.W. Gonadal hormones and sex differences in non-reproductive behaviors in rodents: organizational and activational influences, **Hormones and Behavior**, v. 12, n. 2, 112-163, 1979.

BENINGTON, J.H.; HELLER, H.C. REM-sleep timing is controlled homeostatically by accumulation of REM-sleep propensity in non-REM sleep. **American Journal of Physiology**, v. 266, p. R1992-2000, 1994.

BERGMANN, M.B.; KUSHIDA, C.A.; EVERSON, C.A.; GILLIAND, M.A.; OBERMEYER, W.; RECHTSCHAFFEN, A. Sleep deprivation in rats: II Methodology. **Sleep: Journal of Sleep Research & Sleep Medicine**, v. 12, p. 5-12, 1989.

BERRY, M.J.; KIEFFER, J.D.; HARNEY, J.W.; LARSEN, P.R. Selenocysteine confers the biochemical properties characteristic of the type I iodothyronine deiodinase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 266, n. 22, p. 14155-14158, 1991.

BERRY, M.J.; KATES, A.L.; LARSEN, P.R. Thyroid hormone regulates type I deiodinase messenger RNA in rat liver. **Molecular Endocrinology**, v. 4, n. 5, p. 743-748, 1990.

BIANCO, A. C. Minireview: cracking the Metabolic Code for Thyroid Hormone signaling. **Endocrinology**, v. 152, n. 9, p. 3306–3311, 2011.

BIANCO, A.C.; SALVATORE, D.; GEREBEN, B.; BERRY, M.J.; LARSEN, P.R. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. **Endocrine Reviews**, v. 23, n. 1, p. 38-89, 2002.

BIANCO, A.C.; SILVA, J.E. Intracellular conversion of thyroxine to triiodothyronine is required for the optimal thermogenic function of brown adipose tissue. **Journal of Clinical Investigation**, v. 70, n. 1, p. 295-300, 1987.

BIXLER, E.O.; KALES, A.; JACOBY, J.A.; SOLDATOS, C.R.; VELA-BUENO, A. Nocturnal sleep and wakefulness: Effects of age and sex in normal sleepers. **International Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 1, p. 33-42, 1984.

BORBÉLY, A.A. A two process model of sleep regulation. **Human Neurobiology**, v. 1, p. 195-204, 1982.

BOCCABELLA, A.V.; ALGER, E.A. Influence of estradiol on thyroid: serum radioiodine concentration ratios of gonadectomized and hypophysectomized rats. **Endocrinology**, v. 74, n. 5, p. 680-688, 1964.

BONNET, M.H.; ARAND, D.L. Clinical effects of sleep fragmentation versus sleep deprivation. **Sleep Medicine Reviews**, v. 7, n. 4, p. 297-310, 2003.

BORN, J.; DE KLOET, E.R.; WENZ, H.; KERN, W.; FEHM, H.L. Gluco- and antiminerocorticoid effects on human sleep: a role of central corticosteroid receptors. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 260, n. 2, p. E183-E188, 1991.

BRABANT, G.; PRANK, K.; RANFT, U. et al. Physiological regulation of circadian and pulsatile thyrotropin secretion in normal man and woman. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 70, n. 2, p. 403-409, 1990.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilizing the protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1, p. 248-254, 1976.

BRANCHEY, M.; BRANCHEY, L.; NADLER, R.D. Effects of estrogen and progesterone on sleep patterns of female rats. **Physiology & Behavior**, v. 6, n. 6, p. 743-746, 1971.

BRIGHT, P. F.; FISHBEIN, W. Gender differences in the ultradian cyclicity of sleep. In: **Society for Neuroscience Abstract**, v. 13, p. 264, 1987.

BROUWERS, F.M.; LENDERS, J.W. Sleep-disordered breathing and hypertension. **The New England Journal of Medicine**, v. 343, n. 13, p. 967, 2000.

BUCKLEY, T.M.; SCHATZBERG, A.F. On the interactions of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and sleep: normal HPA axis activity and circadian rhythm, exemplary sleep disorders. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 90, n. 5, p. 3106-3114, 2005.

BURGESS, L.H.; HANDA, R.J. Chronic estrogen-induced alterations in adrenocorticotropin and corticosterone secretion, and glucocorticoid receptor-mediated function in female rats. **Endocrinology**, v. 131, n. 3, p. 1261-1269, 1992.

BUZSAKI, G.; BICKFORD, R.G.; PONOMAREFF, G.; THAL, L.J.; MANDEL, R.; GAGE, F.H. Nucleus basalis and thalamic control of neocortical activity in the freely moving rat. **The Journal of Neuroscience**, v. 8, n. 11, p. 4007-4026, 1988.

CAMPBELL, S.; WHITEHEAD, M. Oestrogen therapy and the menopausal syndrome. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 4, n. 1, p. 31-47, 1977.

CANTERO, J.L.; ATIENZA, M.; STICKGOLD, R.; KAHANA, M.J.; MADSEN, J.R.; KOCSIS, B. Sleep-dependent theta oscillations in the human hippocampus and neocortex. **The Journal of Neuroscience**, n. 23, n. 34, p. 10897-10903, 2003.

CAREY, M.P.; DETERD, C.H.; DE KONING, J.; HELMERHORST, F.; DE KLOET, E.R. The influence of ovarian steroids on hypothalamic-pituitary-adrenal regulation in the female rat. **Journal of Endocrinology**, v. 144, n. 2, p. 311-321, 1995.

CARSKADON, M.; DEMENT, W. Normal human sleep: An overview. In: KRYGER, M.H.; ROTH, T.; DEMENT, W.C. eds. **Principles and Practice of Sleep Medicine**. 4th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders. p. 13–23. 2005.

CARVALHO, S.D.; KIMURA, E.T.; BIANCO, A.C.; SILVA, J.E. Central role of Brown adipose tissue thyroxine 5-deiodinase on thyroid hormone-dependent thermogenic response to cold. **Endocrinology**, v. 128, n. 4, p. 2149-2159, 1991.

CHEMELLI, R.M.; WILLIE, J.T.; SINTON, C.M.; ELMQUIST, J.K.; SCAMMELL, T.; LEE, C.; RICHARDSON, J.A.; WILLIAMS, S.C.; XIONG, Y.; KISANUKI, Y. et al. Narcolepsy in orexin knockout mice: Molecular genetics of sleep regulation. **Cell**, v. 98, n. 4, p. 437-451, 1999.

CHEN, H.J.; WALFISH, P.G. Effects of age and ovarian function on the pituitary–thyroid system in female rats. **Journal of Endocrinology**, v. 78, n. 2, p. 225–232, 1987a.

CHEN, H.J.; WALFISH, P.G. Effects of estradiol benzoate on thyroid–pituitary function in female rats. **Endocrinology**, v. 103, n. 4, p. 1023–1030, 1978.

CHOU, T.C.; SCAMMELL, T.E.; GOOLEY, J.J.; GAUS, S.E.; SAPER, C.B.; LU, J. Critical role of dorsomedial hypothalamic nucleus in a wide range of behavioral circadian rhythms. **Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 33, p. 10691–10702, 2003.

CHRISTIANSON, D.; ROTI, E.; VAGENAKIS, A.G.; BRAVERMAN, L.E. The sex-related difference in serum thyrotropin concentration is androgen mediated. **Endocrinology**, v. 108, n. 2, p. 529–535, 1981.

COLVIN, G.B.; WHITMOYER, D.I.; LISK, R.D.; WALTER, D.O.; SAWYER, C.H. Changes in sleep–wakefulness in female rats during circadian and estrous cycles. **Brain Research**, v. 7, n. 2, p. 173–181, 1968.

COLVIN, G.B.; WHITMOYER, D.I.; SAWYER, C.H. Circadian sleep–wakefulness patterns in rats after ovariectomy and treatment with estrogen. **Experimental Neurology**, v. 25, n. 4, p. 616–625, 1969.

CORSI-CABRERA, M.; SANCHEZ, A.I.; DEL-RIO-PORTILLA, Y.; VILLANUEVA, Y.; PEREZ-GARCI, E. Effect of 38 h of total sleep deprivation on the waking EEG in women: sex differences. **International Journal of Psychophysiology**, v. 50, n. 3, p. 213–224, 2003.

CRITCHLOW, V.; LIEBELT, R.A.; BAR-SELA, M.; MOUNTCASTLE, W.; LIPSCOMB, H.S. Sex difference in resting pituitary-adrenal function in the rat. **American Journal of Physiology**, v. 205, n.5, p. 807–815, 1963.

CROTEAU, W.; DAVEY, J.C.; GALTON, V.A.; ST. GERMAIN, D.L. Cloning of the mammalian type II iodothyronine deiodinase. **The American Society for Clinical Investigation**, v. 98, n. 2, p. 405-417, 1996.

DAVIS, K.F.; PARKER, K.P.; MONTGOMERY, G.L. Sleep in infants and young children: part one: normal sleep. **Journal of Pediatric Health Care**, v. 18, n. 2, p. 65–71, 2004.

DE LA VIEJA, A.; DOHAN, O.; LEVY, O. et al. Molecular analysis of the sodium/iodide symporter: impact on thyroid and extrathyroid pathophysiology. **Physiological Reviews**, v. 80, n. 3, p. 1083-1105, 2000.

DEMENT W.C. The effects of dream deprivation. **Science**, v. 131, p. 1705-1707, 1960.

DEURVEILHER, S.; RUSAK, B.; SEMBA, K. Female reproductive hormones alter sleep architecture in ovariectomized rats. **Sleep**, v. 34, n. 4, p. 519–530, 2011.

DEURVEILHER, S.; RUSAK, B.; SEMBA, K. Estradiol and progesterone modulate spontaneous sleep patterns and recovery from sleep deprivation in ovariectomized rats. **Sleep**, v. 32, n. 7, p. 865-877, 2009.

DIJK, D. J.; DUFFY, J. F.; CZEISLER, C. A. Contribution of circadian physiology and sleep homeostasis to age-related changes in human sleep. **Chronobiology International**, v. 17, n. 3, p. 285–311, 2000.

DONDA, A.; REYMOND, F.; REY, F.; LEMARCHAND-BÉRAUD, T. Sex steroids modulate the pituitary parameters involved in the regulation of TSH secretion in the rat. **Acta Endocrinologica**, v. 122, n. 5, p. 577-584, 1990.

DRIVER, H. E.; DIJK, D. J.; WERTH, E.; BIEDERMANN, K.; BORBÉLY, A. A. Sleep and the sleep electroencephalogram across the menstrual cycle in young healthy women. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 81, n. 2, p. 728–735, 1996.

EHLERS, C. L.; REED, T. K.; HENRIKSEN, S. J. Effects of corticotropin-releasing factor and growth hormone-releasing factor on sleep and activity in rats. **Neuroendocrinology**, v. 42, n. 6, p. 467–474, 1986.

EVANS, J. I.; MACLEAN, A. M.; ISMAIL, A. A.; LOVE, D. Circulating levels of plasma testosterone during sleep. **Proceedings of Royal Society of Medicine**, v. 64, n. 8, p. 841-842, 1971.

EVERSON, C. A.; CROWLEY, W. R. Reduction in circulating anabolic hormones induced by sustained sleep deprivation in rats. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 286, n. 6, p. E1060-E1070, 2004.

- EVERSON, C. A.; NOWAK, T. S. JR. Hypothalamic thyrotropin-releasing hormone mRNA responses to hypothyroxinemia induced by sleep deprivation. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 283, p. E85-E93, 2002.
- EVERSON, C. A.; WEHR, T. A. Nutritional and metabolic adaptations to prolonged sleep deprivation in the rat. **American Journal of Physiology**, v. 264, p. R376–R387, 1993.
- EVERSON, C. A.; BERGMANN, B. M.; RECHTSCHAFFEN, A. Sleep deprivation in the rat: III. Total sleep deprivation. **Sleep**, v. 12, n. 1, p. 13–21, 1989.
- FANG, J.; FISHBEIN, W. Sex differences in paradoxical sleep: influences of estrus cycle and ovariectomy. **Brain Research**, v. 734, p. 275–85, 1996.
- FANG, J.; LEWIS, C.; FISHBEIN, W. Sexual differences in paradoxical sleep in rats. **Society for Neuroscience Abstract**, v. 14, p. 907, 1988.
- FAROOQUI, S.M.; BROCK, J.W.; ZHOU, J. Changes in monoamines and their metabolite concentrations in REM sleep-deprived rat forebrain nuclei. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 54, n. 2, p. 385-391, 1996.
- FERREIRA, A. C. F.; LIMA, L. P.; ARAÚJO, R. L.; MULLER, G.; ROCHA, R. P.; ROSENTHAL, D. et al. Rapid regulation of the thyroid sodium-iodide symporter (NIS) activity by thyrotropin, iodine and fasting. **Journal of Endocrinology**, v. 184, n. 1, p. 69–76, 2005.
- FERGUSON, J.; DEMENT, W. The behavioral effects of amphetamine on REM deprived rats. **Journal of psychiatric research**, v. 7, n. 2, p. 111–119, 1969.
- FISHBEIN, W.; BRIGHT, P. F. Feminization of male sleep cycle rhythmicity by prenatal stress, **Society for Neuroscience Abstract**, v. 13, p. 226, 1987.
- FISHER, J. S.; D'ANGELO, S. A. Stimulatory and inhibitory action of estrogen on TSH secretion. **Endocrinology**, v. 88, n. 3, p. 687–91, 1971.
- FOLLENIUS, M.; BRANDENBERGER, G.; BANDESAPT, J. J.; LIBERT, J. P.; EHRHART, J. Nocturnal cortisol release in relation to sleep structure. **Sleep**, v. 15, n. 1, p. 21-27, 1992.
- FONSECA, T. L.; UETA, C. B.; CAMPOS, M. P. O.; MEDINA, M. C.; ROSENE, M.; GEREBEN, B.; BIANCO, A. C. Tissue-specific deletion of the type II deiodinase gene identifies a role for pituitary D2 in the TSH feedback mechanism. International Thyroid Congress, Paris, 2010.
- FRANK, M. G.; MORRISSETTE, R.; HELLER, H. C. Effects of sleep deprivation in neonatal rats. **American Journal of Physiology- Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 275, n. 1, p. R148-157, 1998.

- FREEMAN, E. W.; SAMMEL, M. D.; RINAUDO, P. J.; SHENG, L. Premenstrual syndrome as a predictor of menopausal symptoms. **Obstetrics & Gynecology**, v. 103, n. 5, p. 960–966, 2004.
- FREEMAN, M. E. The ovarian cycle of the rat. In: E. KNOBIL; J. NEIL. **Physiology of Reproduction**. Raven Press Ltd., New York, p. 1893-1928, 1988.
- FRIESS, E.; VON BARDELEBEN, U.; WIEDEMANN, K.; LAUER, C.; HOLSBOER, F. Effects of pulsatile cortisol infusion on sleep-EEG and nocturnal growth hormone release in healthy men. **Journal of Sleep Research**, v. 3, n. 2, p. 73–79, 1994.
- FRIESS, E.; WIEDEMANN, K.; STEIGER, A.; HOLSBOER, F. The hypothalamic-pituitary-adrenocortical system and sleep in man. **Advances in Neuroimmunology**, v. 5, n. 2, p. 111-25, 1995.
- FRUSSA-FILHO, R.; GONÇALVES, M. T.; ANDERSEN, M. L.; DE ARAÚJO, N. P.; CHINEN, C. C.; TUFIK, S. Paradoxal sleep deprivation potentiates amphetamine-induced behavioural sensitization by increasing its conditioned component. **Brain research**, v. 1003, n. 1, p. 188-193, 2004.
- FURLANETTO, T.W.; NGUYEN, L.Q.; JAMESON, J.L. Estrogen increases proliferation and down-regulates the sodium/iodide symporter gene in FRTL-5. **Endocrinology**, v. 140, n. 12, p. 5705–11, 1999.
- ST. GERMAIN, D. L.; GALTON, V. A. The deiodinase family of selenoproteins. **Thyroid**, v. 7, n. 4, p. 655-668, 1997.
- GENAZZANI, A. R.; PETRAGLIA, F.; DE RAMUNDO, B. M. et al. Neuroendocrine correlates of stress-related amenorrhea. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 626, n. 1, p. 125–129, 1991.
- GIEDKE, H.; SCHWÄRZLER, F. Therapeutic use of sleep deprivation in depression. **Sleep Medicine Reviews**, v. 6, n. 5, p. 361-77, 2002.
- GOY, R. W.; MCEWEN, B. S. **Sexual Differentiation of the Brain**, Cambridge, MA: MIT Press, 1985.
- GREENSPAN, F.S. The Thyroid In: GREENSPAN, F.S.; BAXTER, J.D. **Basic & Clinical Endocrinology**, 4 ed., Appleton & Lange eds, cap 4, p. 160-226, 1994.
- GRIFFIN, F. J. T. Stress and immunity: a unifying concept. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 20, n. 3, p. 263-312, 1989.
- GROSSMAN, G. H.; MISTLBERGER, R. E.; ANTLE, M. C.; EHLEN, J. C.; GLASS, J. D. Sleep deprivation stimulates serotonin release in the suprachiasmatic nucleus. **NeuroReport**, v. 11, n. 9, p. 1929-1932, 2000.
- GUZMAN-MARIN, R.; BASHIR, T.; SUNTSOVA, N.; SZYMUSIAK, R.; MCGINTY, D. Hippocampal neurogenesis is reduced by sleep fragmentation in adult rat. **Neuroscience**, v. 148, n. 1, p. 325-33, 2007.

GUZMAN-MARIN, R.; SUNTSOVA, N.; METHIPPARA, M.; GREIFFENSTEIN, R.; SZYMUSIAK, R.; MCGINTY D. Sleep deprivation suppresses neurogenesis in the adult hippocampus of rats. **European Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 8, p. 2111-6, 2005.

HAIM, S.; SHKHAR, G.; ROSSENE, G. E.; ANTAYLOR, N. A.; BEM-ELIYAHU, S. Serum levels of sex hormones and corticosterone throughout 4- and 5-day estrous cycles in fischer rats and their stimulation in ovariectomized females. **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 26, p. 1013–1022, 2003.

HALL, J. E.; SULLIVAN, J. P.; RICHARDSON, G. S. Brief wake episodes modulate sleep-inhibited luteinizing hormone secretion in the early follicular phase. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 90, n. 4, p. 2050–2055, 2005.

HENLEY, K.; MORRISON, A. R. A re-evaluation of the effects of lesions of the pontine tegmentum and locus coeruleus on phenomena of paradoxical sleep in the cat. **Acta Neurobiologiae Experimentalis**, v. 34, n. 2, p. 215-232, 1974.

HEUER, H.; VISSER, T. J. Pathophysiological importance of thyroid hormone transporters. **Endocrinology**, v. 150, n. 3, p. 1078-1083, 2009.

HIASA, Y.; KITAHORI, Y.; YANE, K.; NISHIOKA, H.; NAKAHASHI, K.; KONISHI, N. et al. Establishment of estrogen receptor-positive transplantable rat thyroid tumor cell lines in vivo. **Cancer Research**, v. 53, n. 18, p. 4408–12, 1993.

HIASA, Y.; NISHIOKA, H.; KITAHORI, Y.; YANE, K.; NAKAOKA, S.; KONISHI, N. et al. Immunohistological detection of estrogen receptor in paraffin section of human thyroid tissues. **Oncology**, v. 48, n. 5, p. 421–4, 1993a.

HIPÓLIDE, D. C. Bases neurais do ciclo de vigília e sono. In: TUFIK, S. **Medicina e Biologia do sono**, 1<sup>st</sup> ed, Manole, p. 34-47, 2007.

HIPÓLIDE, D. C.; SUCHECKI, D.; PIMENTEL DE CARVALHO PINTO, A.; CHICONELLI FARIA, E.; TUFIK, S.; LUZ, J. Paradoxical sleep deprivation and sleep recovery: effects on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity, energy balance and body composition of rats. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 18, n. 4, p. 231–238, 2006.

HIPÓLIDE, D. C.; MOREIRA, K. M.; BARLOW, K. B.; WILSON, A. A.; NOBREGA, J. N.; TUFIK, S. Distinct effects of sleep deprivation on binding to norepinephrine and serotonin transporters in rat brain. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 29, n. 2, p. 297-303, 2005.

HOAR, W.; HICKMAN, C. P. Ovariectomy and the estrous cycle of the rat. In: HOAR, W.; HICKMAN, C. P. **General and comparative physiology**. 2ed. Prentice-Hall, New Jersey, p. 260-265, 1975.

HOLSBOER, F.; VON BARDELEBEN, U.; STEIGER, A. Effects of intravenous corticotropin-releasing hormone upon sleep-related growth hormone surge and sleep EEG in man. **Neuroendocrinology**, v. 48, n. 1, p. 32–38, 1988.

HOSOI, Y.; MURAKAMI, M.; MIZUMA, H.; OGIWARA, T.; IMAMURA, M.; MORI, M. Expression and regulation of type II iodothyronine deiodinase in cultured human skeletal muscle cells. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 84, n. 9, p. 3293-3300, 1999.

ISHII, H.; INADA, M.; TANAKA, K.; MASHIO, Y.; NAITO, K.; NISHIKAWA, M.; MATSUZUKA, F.; KUMA, K.; IMURA, H. Sequential deiodination of thyroxine in human thyroid gland. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 55, n. 5, p. 890-896, 1982.

ISHIZUKA, Y.; POLLAK, C. P.; SHIRAKAWA, S.; USUI, A.; FUKUZAWA, H.; KARIYA, T. et al. Sleep spindle frequency changes during the menstrual cycle. **Journal of Sleep Research**, v. 3, n. 1, p. 26-29, 1994.

JENNI, O. G.; CARSKADON, M. A. Normal human sleep at different ages: Infants to adolescents. In: **Sleep Research Society**, eds. *SRS Basics of Sleep Guide*. Westchester, p. 11-19, 2000.

JOHNSON, E. O.; KAMILARIS, T. C.; CHROUSOS, G. P.; GOLD, P. W. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 16, n. 2, p. 115-30, 1992.

JESUS, L. A.; CARVALHO, S. D.; RIBEIRO, M. O.; SCHNEIDER, M.; KIM, S. W.; HARNEY, J. W.; LARSEN, P. R.; BIANCO, A. C. The type 2 iodothyronine deiodinase is essential for adaptive thermogenesis in brown adipose tissue. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 108, n. 9, p. 1379-85, 2001.

KANDEL, E.R. Principles of Neural Science. 4th Edition, 2000.

KERKHOF, M.; VAN CAUTER, E.; VAN ONDERBERGEN, A.; CAUFRIEZ, A.; THORNER, M. O.; COPINSCHI, G. Sleep-promoting effects of growth hormone-releasing hormone in normal men. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 264, n. 4, p. E594-E598, 1993.

KLEINLOGEL, H. The rat's sleep in oestrous cycle. **Experimental**, v. 31, p. 712-3, 1975.

KOBAN, M.; LE, W. W.; HOFFMAN, G. E. Changes in hypothalamic corticotropin-releasing hormone, neuropeptide Y, and proopiomelanocortin gene expression during chronic rapid eye movement sleep deprivation of rats. **Endocrinology**, v. 147, n. 1, p. 421-431, 2006.

KOBAYASHI, R.; KOHSAKA, M.; FUKUDA, N.; HONMA, H.; SAKAKIBARA, S.; KOYAMA, T. Gender differences in the sleep of middle-aged individuals. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**, v. 52, n. 2, p. 186-187, 1998.

KOCSIS, B.; KAMINSKI, M. Dynamic changes in the direction of the theta rhythmic drive between supramammillary nucleus and the septohippocampal system. **Hippocampus**, v. 16, n. 6, p. 531-540, 2006.

KOENIG, R. J. Regulation of type 1 iodothyronine deiodinase in health and disease. **Thyroid**, v. 15, n. 8, p. 835-840, 2005.

KÖHRLE, J. Local activation and inactivation of thyroid hormones: the deiodinase family. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 151, n. 1, p. 103-119, 1999.

KÖHRLE, J. Thyroid hormone deiodination in target tissues – a regulatory role for the trace element selenium? **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**, v. 102, n. 2, p. 63-89, 1994.

KÖLLER, K. J.; WOLFF, R. S.; WARDEN, M. K.; ZOELLER, R.T. Thyroid hormones regulate levels of thyrotropin-releasing-hormone mRNA in the paraventricular nucleus. **Proceedings of the National Academy of Science**, v. 84, n. 20, p. 7329–7333, 1987.

LARSEN, P. R.; DAVIES, T. F.; HAY, I. D. The Thyroid Gland. In: Wilson, J.D.; Foster, D.W. **Williams Textbook of Endocrinology** 9<sup>a</sup> ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, cap 11, p. 389-515, 1998.

LAZAR, M. A. Thyroid hormone action: a binding contract. **Journal of Clinical Investigation**. v. 112, n. 4, p. 497-499, 2003.

LEE, K. A.; SHAVER, J. F.; GIBLIN, E. C.; WOODS, N. F. Sleep patterns related to menstrual cycle phase and premenstrual affective symptoms. **Sleep: Journal of Sleep Research & Sleep Medicine**, v. 13, p. 403–409, 1990.

LEIBOWITZ, S. M.; LOPES, M. C.; ANDERSEN, M. L.; KUSHIDA, C. A. Sleep deprivation and sleepiness caused by sleep loss. **Sleep Medicine Clinics**, v. 1, n. 1, p. 31–45, 2006.

LEJEUNE-LENAIN, C.; VAN CAUTER, E.; DÉSIR, D.; BEYLOOS, M.; FRANCKSON, J. R. Control of circadian and episodic variations of adrenal androgens secretion in man. **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 10, n. 3, p. 267-76, 1987.

LEVEY, A. I.; HALLANGER, A. E.; WAINER, B. H. Cholinergic nucleus basalis neurons may influence the cortex via the thalamus. **Neuroscience Letters**, v. 74, n. 1, p. 7-13, 1987.

LIMA, L. P; BARROS, I. A.; LISBÔA, P. C.; ARAÚJO, R. L.; SILVA, A. C. M.; ROSENTHAL, D.; FERREIRA, A. C. F.; CARVALHO, D. P. Estrogen effects on thyroid iodide uptake and thyroperoxidase activity in normal and ovariectomized rats. **Steroids**, v. 71, n. 8, p. 653–659, 2006.

LISBOA, P. C.; CURTY, F. H.; MOREIRA, R. M.; PAZOS-MOURA, C. C. Effects of estradiol benzoate on 5'-iodothyronine deiodinase activities in female rat anterior pituitary gland, liver and thyroid gland. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 30, n. 12, p. 1479–84, 1997.

LEONARD, J. L.; KÖHRLE, J. Intracellular pathways of iodothyronine metabolism. In: BRAVERMAN, L. E.; UTIGER, R. D. **Werner and Ingbar's The Thyroid: A Fundamental and Clinical Text**, 7<sup>a</sup> ed, Lippincott-Raven, Philadelphia, p. 125-161, 1996.

LEONARD, J. L.; VISSER, T. J. Biochemistry of deiodination. In: HENNEMANN, G. *Thyroid Hormone Metabolism*, 8<sup>a</sup> ed, Dekker, New York, p. 189-230, 1986.

LINDBERG, E.; JANSON, C.; GISLASON, T.; BJOMSSON, E.; HETTA, J.; BOMAN, G. Sleep disturbances in a young adult population: can gender differences be explained by differences in psychological status? **Sleep**, v. 20, n. 6, p. 213-29, 1997.

LONG, J. A.; EVANS, H. M. **The estrous cycle in the rat and its associated phenomena**. University of California Press, 1922.

LOOMIS, A. L.; HARVEY, E. N.; HOBART, G. A. Cerebral states during sleep as studied by human brain potentials. **Journal of Experimental Psychology**, v. 21, n. 2, p. 127-144. 1937.

LUCKY, A. W.; GOREN, E. N.; JOHNSONBAUGH, R. E. Thyrotropin releasing factor (TRF) in evaluation of thyroid-hormone replacement therapy. **Pediatric Research**, v. 10, n. 4, p. 341-341, 1976.

LUND, T. D.; MUNSON, D. J.; HALDY, M. E.; HANDA, R. J. Androgen inhibits, while oestrogen enhances, restraint-induced activation of neuropeptide neurones in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 16, n. 3, p. 272-278, 2004.

MAIA, A. L.; KIM, B. W.; HUANG, S. A.; HARNEY, J. W.; LARSEN, P. R. Type 2 iodothyronine deiodinase is the major source of plasma T<sub>3</sub> in euthyroid humans. **Journal of Clinical Investigation**, v. 115, n. 9, p. 2524-2533, 2005.

MANDL, A. M. The phases of the oestrous cycle in the adult white rat. **Journal of Experimental Biology**, v. 28, n. 4, p. 576-584, 1951.

MARASSI, M. P.; FORTUNATO, R. S.; DA SILVA, A. C.; PEREIRA, V. S.; CARVALHO, D. P.; ROSENTHAL, D.; DA COSTA, V. M. Sexual dimorphism in thyroid function and type 1 iodothyronine deiodinase activity in pre-pubertal and adult rats. **Journal of Endocrinology**, v. 192, n. 1, p. 121-30, 2007.

MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, n. 4A, p. 609-614, 2002.

MARSHALL, L.; DERAD, L.; STARSBURGER, C. J.; FEHM, H. L.; BORN, J. A determinant factor in the efficacy of GHRH administration in the efficacy of GHRH administration in promoting sleep: high peak concentration versus recurrent increasing slopes. **Psychoneuroendocrinology**, v. 24, n. 3, p. 363-370, 1999.

MARROSU, F.; GESSA, G. L.; GIAGHEDDU, M.; FRATTA, W. Corticotropin-releasing factor (CRF) increases paradoxical sleep (PS) rebound in PS-deprived rats. **Brain Research**, v. 515, n. 1, p. 315-318, 1990.

MASON, J. W. "Over-all" hormonal balance as a key to endocrine function. **Psychosomatic Medicine**, v. 30, n. 5, p. 791-808, 1968.

MEERLO, P.; KOEHL, M.; VAN DER BORGHT, K.; TUREK, F. W. Sleep restriction alters the hypothalamic–pituitary–adrenal response to stress. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 14, n. 5, p. 397–402, 2002.

MOCHIZUKI, T.; CROCKER, A.; MCCORMACK, S.; YANAGISAWA, M.; SAKURAI, T.; SCAMMELL, T. E. Behavioral state instability in orexin knock-out mice. **The Journal of Neuroscience**, v. 24, n. 28, p. 6291-6300, 2004.

MORUZZI, G.; MAGOUN, H. W. Brain stem reticular formation and activation of the EEG. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 1, n. 1, p. 455-473, 1949.

NUNES JR, G. P.; TUFİK, S. Validation of the modified multiple platform method (MMP) of paradoxical sleep deprivation in rats. **Journal of Sleep Research**, v. 23, p. 419, 1994a.

OBÁL, F. JR.; ALFÖLDI, P.; CADY, A. B.; JOHANNSEN, L.; SARY, G.; KRUEGER, J. M. Growth hormone-releasing factor enhances sleep in rats and rabbits. **American Journal of Physiology**, v. 255, p. R310–R316, 1988.

OHAYON, M. M.; MORSELLI, P. L.; GUILLEMINAULT, C. Prevalence of nightmares and their relationship to psychopathology and daytime functioning in insomnia. subjects. **Sleep: Journal of Sleep Research & Sleep Medicine**, v. 20, p. 340–8, 1997.

PANTALEÃO, T. U.; MOUSOVICH, F.; ROSENTHAL, D.; PADRÓN, A. S.; CARVALHO, D. P.; CORRÊA DA COSTA, V. M. Effect of serum estradiol and leptin levels on thyroid function, food intake and body weight gain in female Wistar rats. **Steroids**, v. 75, n. 10, p. 638–642, 2010.

PAUL, K. N.; LAPOSKY, A. D.; TUREK, F. W. Reproductive hormone replacement alters sleep in mice. **Neuroscience Letters**, v. 463, n. 3, p. 239–243, 2009.

PERCEGONI, N.; FERREIRA, A. C.; RODRIGUES, C. F.; ROSENTHAL, D.; CASTELO BRANCO, M. T.; RUMJANEK, V. M. et al. Profile of serum IL-1beta and IL-10 shortly after ovariectomy and estradiol replacement in rats. **Hormone and Metabolic Research**, v. 41, n. 1, p. 50–54, 2009.

PERRAS, B.; MARSHALL, L.; KÖHLER, G.; BORN, J.; FEHM, H. L. Sleep and endocrine changes after intranasal administration of growth hormone-releasing hormone in young and aged humans. **Psychoneuroendocrinology**, v. 24, n. 7, p. 743–757, 1999.

PERRY, J. C.; D'ALMEIDA, V.; ANTUNES, I. B.; TUFİK, S. Distinct behavioral and neurochemical alterations induced by intermittent hypoxia or paradoxical sleep deprivation in rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 32, n. 1, p. 87–94, 2007.

POLLARD, I.; WHITE, B.M.; BASSETT, J.R.; CAIRNCROSS, K. D. Plasma glucocorticoid elevation and desynchronization of the estrous cycle following unpredictable stress in the rat. **Behavioral Biology**, v. 14, n. 1, p. 103–108, 1975.

RABIN, D.; GOLD, P. W.; MARGIORIS, A. N.; CHROUSOS, G. P. Stress and reproduction: physiological and pathophysiologic interactions between the stress and reproductive axes. In: CHROUSOS, G.P.; LORIAUX, D.L.; GOLD, P.W. Mechanisms of Physical and Emotional Stress. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 245, p. 377–387, 1988.

RECHETSCHAFFEN, A.; SIEGEL, J. Sleep and dreaming. In: KANDEL, E. R. **Principles of Neural Science**, 4<sup>th</sup> ed, 2000.

RECHTSCHAFFEN, A.; GILLILAND, M. A.; BERGMANN, B. M.; WINTER, J. B. Physiological correlates of prolonged sleep deprivation in rats. **Science**, v. 221, n. 4606, p. 182–4, 1983.

REYNOLDS, C. F.; KUPFER, D. J.; TASKA, L. S.; HOCH, C. C.; SEWITCH, D. E.; SPIKER, D. G. Sleep of healthy seniors: A revisit. **Sleep: Journal of Sleep Research & Sleep Medicine**, v. 8, n. 1, p. 20–29, 1985.

ROFFWARD, H. P.; MUZIO, J. N.; DEMENT, W. C. Ontogenetic development of the human sleep-dream cycle. **Science**, v. 152, n. 3722, p. 604–619, 1966.

RONDEEL, J. M.; DE GREEF, W. J.; KLOOTWIJK, W.; VISSER, T. J. Effects of hypothyroidism on hypothalamic release of thyrotropin-releasing hormone in rats. **Endocrinology**, v. 130, n. 2, p. 651–656, 1992.

SALVATORE, D.; BARTHA, T.; HARNEY, J. W.; LARSEN, P. R. Molecular biological and biochemical characterization of the human type 2 selenodeiodinase. **Endocrinology**, v. 137, n. 8, p. 3308-3315, 1996.

SAPER, C. B. Organization of cerebral cortical afferent systems in the rat. II. Magnocellular basal nucleus. **Journal of Comparative Neurology**, v. 222, n. 3, p. 313-342, 1984.

SAPER, C. B.; SCAMMELL, T. E.; LU, J. Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. **Nature**, v. 437, n. 7063, p. 1257-1263, 2005.

SCHNEIDER, M. J.; FIERING, S. N.; PALLUD, S. E.; PARLOW, A. F.; ST. GERMAIN, D. L.; GALTON, V. A. Targeted disruption of the type 2 selenodeiodinase gene (DIO2) results in a phenotype of pituitary resistance to T4. **Molecular Endocrinology**, v. 15, n. 12, p. 2137-2148, 2001.

SCHWARTZ, M. D.; MONG, J. A. Estradiol modulates recovery of REM sleep in a time-of-day-dependent manner. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 305, n. 3, p. R271–R280, 2013.

SCHWARTZ, M. D.; MONG, J. A. Estradiol suppresses recovery of REM sleep following sleep deprivation in ovariectomized female rats. **Physiology and Behavior**, v. 104, n. 5, p. 962–971, 2011.

SEABRA, M. DE L.; TUFIK, S. Sodium diclofenac inhibits hyperthermia induced by paradoxical sleep deprivation: the possible participation of prostaglandins. **Physiology and Behavior**, v. 54, n. 5, p. 923-6, 1993.

SEGERSON, T. P.; KAUER, J.; WOLFE, H. C.; MOBTAKER, H.; WU, P.; JACKSON, I. M.; LECHAN, R. M. Thyroid hormone regulates TRH biosynthesis in the paraventricular nucleus of the rat hypothalamus. **Science**, v. 238, n. 4823, p. 78–80, 1987.

SELYE, H. *Stress in Health and Disease*. Boston: Butterworths, Boston, 1976.

SGOIFO, A.; BUWALDA, B.; ROOS, M.; COSTOLI, T.; MEERLO, P. Effects of sleep deprivation on cardiac autonomic and pituitaryadrenocortical stress reactivity in rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 31, n. 2, p. 197–208, 2006.

SHAHAB, M.; IRFANS, S.; ZAMAN, W. U.; WAHAB, F. Short-term fasting attenuates the response of the HPG axis to kisspeptin challenge in the adult male rhesus monkey. **Life Sciences**, v. 83, p. 633-637, 2008.

SHELDON, S. H. Sleep in infants and children. **Sleep: A comprehensive handbook**, p. 507–510, 2002.

SHEPARD, R. J.; SHEK, P. N. Interactions between sleep, other body rhythms, immune responses and exercise. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 22, n. 2, p. 95-116, 1997.

SHERIN, J. E.; SHIROMANI, P. J.; MCCARLEY, R. W.; SAPER, C. B. Activation of ventrolateral preoptic neurons during sleep. **Science**, v. 271, n. 5246, p. 216-219, 1996.

SHERWIN, B. B. Estrogen and cognitive functioning in women. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 217, n. 1, p. 17–22, 1998.

SMITH, M. S.; FREMAN, M. E.; NEIL, J. D. The control of progesterone secretion during the estrous cycle and early pseudopregnancy in the rat: prolactin, gonadotropin and steroid levels associated with rescue of the corpus luteum of pseudopregnancy. **Endocrinology**, v. 96, n. 1, p. 219-226, 1975.

SPIEGEL, K.; LEPROULT, R.; VAN CAUTER, E. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. **The Lancet**, v. 354, n. 9188, p. 1435-1439, 1999.

SPORNITZ, U. M.; SOCIN, C. D.; DAVID, A. A. Estrous stage determination in rats by means of scanning electron microscopic images of uterine surface epithelium. **The Anatomical Record**, v. 254, n. 1, p. 116-126, 1999.

SILVA, R. H.; KAMEDA, S. R.; CARVALHO, R. C.; TAKATSU-COLEMAN, A. L.; NIIGAKI, S. T.; ABILIO, V. C. et al. Anxiogenic effect of sleep deprivation in the elevated plus-maze test in mice. **Psychopharmacology**, v. 176, n. 2, p. 115–122, 2004.

SILVA, R. H.; ABÍLIO, V. C.; TAKATSU, A. L.; KAMEDA, S. R.; GRASSL, C.; CHEHIN, A. B. et al. Role of hippocampal oxidative stress in memory deficits induced by sleep deprivation in mice. **Neuropharmacology**, v. 46, n. 6, p. 895–903, 2004a.

SPIEGEL, K.; LEPROLT, R.; VAN CAUTER, E. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. **The Lancet**, v. 354, n. 9188, p. 1435-9, 1999.

STEIGER, A. Sleep and the hypothalamo-pituitary-adrenocortical system. **Sleep Medicine Review**, v. 6, n. 2, p. 125-38, 2002.

STEIGER, A. Sleep and endocrinology. **Journal of Internal Medicine**, v. 254, n. 1, p. 13-22, 2003.

STEININGER, T. L.; GONG, H.; MCGINTY, D.; SZYMUSIAK, R. Subregional organization of preoptic area/anterior hypothalamic projections to arousal-related monoaminergic cell groups. **Journal of Comparative Neurology**, v. 429, n. 4, p. 638-53, 2001.

STERIADE, M. Neuronal Substrates of Sleep and Epilepsy. Cambridge University Press. 2003.

ST. GERMAIN, D. L.; HERNANDEZ, A.; SCHNEIDER, M. J.; GALTON, V. A. Insights into the role of deiodinases from studies of genetically modified animals. **Thyroid**, v. 15, n. 8, p. 905-916, 2005.

SUCHECKI, D.; ANTUNES, J.; TUFIK, S. Palatable solutions during paradoxical sleep deprivation: reduction of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and lack of effect on energy imbalance. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 5, n. 9, p. 815-821, 2003.

SUCHECKI, D.; TIBA, P.A.; TUFIK, S. Paradoxical sleep deprivation facilitates subsequent corticosterone response to a mild stressor in rats. **Neuroscience Letters**, v. 320, n. 1, p. 45-48, 2002.

SUCHECKI, D.; TIBA, P. A.; TUFIK, S. Social stability attenuates the stress in the modified multiple platform method for paradoxical sleep deprivation in the rat. **Physiology & Behavior**, v. 68, n. 3, p. 309-316, 2000.

SUCHECKI, D.; LOBO, L. L.; HIPOLIDE, D. C.; TUFIK, S. Increased ACTH and corticosterone secretion induced by different methods of paradoxical sleep deprivation. **Journal of Sleep Research**, v. 7, n. 4, p. 276-281, 1998.

SZYMUSIAK, R. Thermoregulation and sleep. In: Sleep Research Society, Basics of Sleep Guide. p. 119-126. 2005.

TANAKA, K.; MURAKAMI, M.; GREER, M. A. Type-II thyroxine 5'-deiodinase is present in the rat pineal gland. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 137, n. 2, p. 863-868, 1986.

TASALI, E.; LEPROULT, R.; EHRMANN, D. A.; VAN CAUTER, E. Slow-wave sleep and risk of type 2 diabetes in humans. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 3, p. 1044-1049, 2008.

TAUROG, A. M. Hormone synthesis: thyroid iodine metabolism. Werner & Ingbar's *The thyroid: a fundamental and clinical text*. 8th ed. Philadelphia: Lippincott, William & Wilkins, p. 61–85, 2000.

TAYLOR, T.; WONDISFORD, F. E.; BLAINE, T.; WEINTRAUB, B. D. The paraventricular nucleus of the hypothalamus has a major role in thyroid hormone feedback regulation of thyrotropin synthesis and secretion. **Endocrinology**, v. 126, n. 1, p. 317–324, 1990.

TRONCONE, L. R.; FERREIRA, T. M.; BRAZ, S.; SILVEIRA-FILHO, N. G.; TUFIK, S. Reversal of the increase in apomorphine-induced stereotypy and aggression in REM sleep deprived rats by dopamine agonist pretreatments. **Psychopharmacology**, v. 94, n. 1, p. 79–83, 1988.

TUFIK, S.; ANDERSEN, M. L.; BITTENCOURT, L. R.; MELLO, M. T. Paradoxical sleep deprivation: neurochemical, hormonal and behavioral alterations. Evidence from 30 years of research. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, n. 3, p. 521-38, 2009.

TUFIK, S. Increased responsiveness to apomorphine after REM sleep deprivation: Supersensitivity of dopamine receptors or increase in dopamine turnover? **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 33, n. 1, p. 732–738, 1981.

TUFIK, S. Changes of response to dopaminergic drugs in rats submitted to REM-sleep deprivation. **Psychopharmacology**, v. 72, n. 3, p. 257–260, 1981a.

TUFIK, S.; LINDSEY; C. J.; CARLINI, E. A. Does REM sleep deprivation induce a supersensitivity of dopaminergic receptors in the rat brain? **Pharmacology**, v. 16, n. 2, p. 98–105 1978.

UTIGER, R. D. Thyrotropin-releasing hormone and thyrotropin secretion. **The Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 109, n. 3, p. 327–335, 1987.

VAN CAUTER, E., TASALI, E. Endocrine physiology in relation to sleep and sleep disturbances. In: KRYGER, M. H.; ROTH, T.; DEMENT, W.C. *Principles and practice of sleep medicine*. Elsevier Saunders, St Louis: MO; p. 291–311, 2011.

VAN CAUTER, E.; BLACKMAN, J. D.; ROLAND, D.; SPIRE, J. P.; REFETOFF, S.; POLONSKY, K. S. Modulation of glucose regulation and insulin secretion by circadian rhythmicity and sleep. **Journal of Clinical Investigation**, v. 88, n. 3, p. 934-942, 1991.

VAN CAUTER, E., SPIEGEL, K. Sleep as mediator of the relationship between socioeconomic status and health: a hypothesis. **Annals of the Nw York Academy of Science**, v. 896, n. 1, p. 254-261, 1999.

VIAU, V. Functional cross-talk between the hypothalamic–pituitary–adrenal and adrenal-axes. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 14, n. 6, p. 506–513, 2002.

VIAU, V.; MEANEY, M. J. Variations in the hypothalamic–pituitary–adrenal response to stress during the estrous cycle in the rat. **Endocrinology**, v. 129, n. 5, p. 2503–2511, 1991.

- VOGEL, G.W. A review of REM sleep deprivation. **Archives of General Psychiatry**, v. 32, n. 6, p. 749-760, 1975.
- WARD, I. L. The prenatal stress syndrome: current status, **Psychoneuroendocrinology**, v. 9, n. 1, p. 3-11, 1984.
- WEIKEL, J. C.; WICHNIAK, A.; ISING, M. et al. Ghrelin promotes slow-wave sleep in humans. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 284, n. 2, p. E407-15, 2003.
- WEISZ, J.; BROWN, B. L.; WARD, I. L. Maternal stress decreases steroid aromatase activity in brains of male and female fetuses. **Neuroendocrinology**, v. 35, n. 5, p. 374-379, 1982.
- WOLFF, J. Perchlorate and the thyroid gland. **Pharmacological Reviews**, v. 50, n. 1, p. 89-105, 1998.
- YAMADA, M.; SATOH, T.; MONDEN, T.; MURAKAMI, M.; IRIUCHIJIMA, T.; WILBER, J.F.; MORI, M. Influences of hypothyroidism on TRH concentrations and preproTRH mRNA levels in rat hypothalamus: a simple and reliable method to detect preproTRH mRNA level. **Neuroendocrinology**, v. 55, n. 3, p. 317-320, 1992.
- YAMAOKA, S. Modification of circadian sleep rhythms by gonadal steroids and the neural mechanisms involved. **Brain Research**, v. 185, n. 2, p. 385-398, 1980.
- YANG, S. W.; FISHBEIN, W. Castration at birth induces female sleep patterns in male mice; neonatal testosterone replacement reverses the effect, **Sleep Reserch**, v. 24, 65, 1995.
- YEN, P. M. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. **Physiological Reviews**, v. 81, n. 3, p. 1097-1142, 2001.
- ZAGER, A.; ANDERSEN, M. L.; RUIZ, F. S.; ANTUNES, I. B.; TUFIK, S. Effect of acute and chronic sleep loss on immune modulation of rats. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 293, n. 1, p. 504-509, 2007.
- ZHANG, S. Q.; KIMURA, M.; INOUE, S. Sleep patterns in cyclic and pseudopregnant rats. **Neuroscience Letters**, v. 193, n. 2, p. 125-128, 1995.
- YEN, P. M. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. **Physiological Reviews**. v. 81, n. 3, p. 1097-1142, 2001.